

LITERATURVERZEICHNIS

- [1] S. N. GRAVEN, H. A. LARDY, D. JOHNSON & A. RUTTER, *Biochemistry* 5, 1729 (1966); S. N. GRAVEN, H. A. LARDY & A. RUTTER, *ibid.* 5, 1735 (1966).
 [2] M. M. SHEMYAKIN, *Antimicrobial agents and Chemotherapy*, S. 962 (1965).
 [3] Z. ŠTEFANAC & W. SIMON, *Chimia* 20, 436 (1966) (Vorgetragen am 1. Okt. 1966 an der Sommer-versammlung der Schweiz. Chem. Gesellschaft in Solothurn); *Microchem. J.* 12, 125 (1967).
 [4] H. GERLACH & V. PRELOG, *Liebigs Ann. Chem.* 669, 121 (1963); J. BECK, H. GERLACH, V. PRELOG & W. VOSER, *Helv.* 45, 621 (1962); J. DOMINGUEZ, J. D. DUNITZ, H. GERLACH & V. PRELOG, *Helv.* 45, 129 (1962).
 [5] P. MUELLER & D. O. RUDIN, *Biochem. biophysica Res. Commun.* 26, 398 (1967).
 [6] S. N. GRAVEN, H. A. LARDY & S. ESTRADA-O, *Biochemistry* 6, 365 (1967).
 [7] W. SIMON, J. T. CLERC & R. E. DOHNER, *Microchem. J.* 10, 495 (1966); H. A. WACHTER, R. E. DOHNER & W. SIMON, *Helv.* (in Vorbereitung).
 [8] F. WOLDBYE, *Acta chem. scand.* 9, 299 (1955); A. E. HARVEY JR. & D. L. MANNING, *J. Amer. chem. Soc.* 72, 4488 (1950).

139. Über die Chemie des Vitamins E

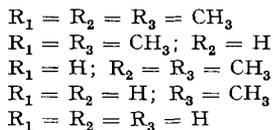
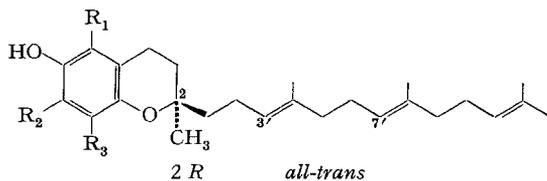
8. Mitteilung [1]

Die Stereochemie von natürlichem γ -Tocotrienol (Plastochromanol-3),
Plastochromanol-8 und Plastochromenol-8¹⁾

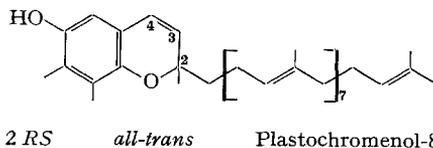
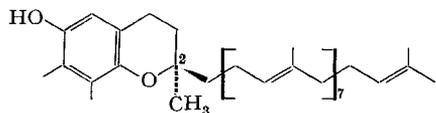
von H. Mayer, J. Metzger und O. Isler

(13. V. 67)

Einleitung. Die den Tocopherolen analogen Tocotrienole (α -, β -, γ - und δ -Tocotrienol = α -, β -, γ - und δ -T-3)²⁾ mit dreifach ungesättigter isoprenoider Seitenkette leiten sich formal vom Tocotrienol²⁾ ab und unterscheiden sich voneinander lediglich



α -Tocotrienol
 β -Tocotrienol
 γ -Tocotrienol (Plastochromanol-3)
 δ -Tocotrienol
 Tocotrienol



¹⁾ Auszugsweise vorgetragen am 4. Internationalen IUPAC-Symposium in Stockholm (26. 6.–2. 7. 1966) (vgl. [2]).

²⁾ Zur Nomenklatur vgl. [3], [4], [5].

durch die Anzahl und die Stellung der Methylgruppen am Chromanolring. Bis heute sind bereits alle Vertreter dieser Verbindungsklasse, mit Ausnahme des Grundkörpers selbst, in der Natur aufgefunden worden. Zur Isolierung und Reindarstellung wurden vor allem Palmöl [4] und Latex von *Hevea brasiliensis* (Gummibaum) [6] [7], in welchen interessanterweise alle vier Tocotrienole bzw. α -, β -, und δ -T-3 nebeneinander vorkommen, sowie Weizenkleie (α - und β -T-3) [8] [9] und Reis (α - und γ -T-3) [4] als natürliche Quellen herangezogen.

Das dem γ -Tocotrienol (= Plastochromanol-3)²⁾ isoprenologe Plastochromanol-8²⁾, das eine ungesättigte Seitenkette von insgesamt acht Isopreneinheiten besitzt, wurde kürzlich aus Blättern von *Hevea brasiliensis* rein erhalten [10]. Die entsprechende 3,4-Dehydroverbindung, das Plastochromenol-8²⁾ (früher Solanachromen genannt) war schon vor längerer Zeit aus Tabak isoliert worden [11].

Unser Interesse an diesen Verbindungen im Rahmen der Chemie des Vitamins E entsprang der Frage nach der Stereochemie und den sich daraus ergebenden biogenetischen Zusammenhängen. Stereochemische Arbeiten auf diesem Gebiet hatten ergeben, dass dem natürlichen α -Tocopherol die (2*R*, 4'*R*, 8'*R*)-Konfiguration zukommt, und dass die natürlichen β - und γ -Tocopherole gleichfalls die 2*R*-Konfiguration besitzen³⁾ [12] [13]. Die biogenetisch naheliegende Annahme, dass auch beim α - und β -Tocotrienol die 2*R*-Konfiguration vorliegt (Seitenkette *all-trans*-konfiguriert), liess sich im Falle zweier Präparate aus Weizenkleie bestätigen [13]. Bei dem aus Tabak isolierten Plastochromenol-8 (7) konnte keinerlei optische Aktivität festgestellt werden [11], jedoch ist dieser Befund wegen der zu erwartenden sehr niedrigen optischen Drehung dieser Verbindung nicht hinreichend.

In der vorliegenden Mitteilung zeigen wir, dass auch γ -Tocotrienol aus Latex von *Hevea brasiliensis*⁴⁾ und Plastochromanol-8 aus Blättern von *Hevea brasiliensis*⁴⁾ die (2*R*, *all-trans*)-Konfiguration besitzen⁵⁾. Weiterhin weisen wir nach, dass die Seitenkette von Plastochromenol-8 aus Tabak ebenfalls *all-trans* konfiguriert, das Asymmetriezentrum an C-2 jedoch racemisch ist.

Wir besprechen zuerst die Festlegung der geometrischen Isomerie der Doppelbindungen der isoprenoiden Seitenketten dieser Verbindungen und behandeln dann die Bestimmung der absoluten Konfiguration an C-2.

Konfiguration der Seitenketten. PENNOCK *et al.* [4] [10] haben gezeigt, dass natürliches γ -Tocotrienol und Plastochromanol-8 auf Grund ihrer UV.- und IR.-Spektren und ihres dünn-schichtchromatographischen Verhaltens mit den synthetisch hergestellten Verbindungen identisch waren. Die von ROWLAND aus Tabak erhaltene Verbindung wurde anfänglich als Plastochromenol-9 [11], später als Plastochromenol-8 [14] angesprochen. Eine definitive Aussage a) über die Länge der isoprenoiden Seitenketten, b) über die Anzahl und Stellung der Doppelbindungen in der Kette und c) über deren *cis-trans*-Isomerie kann durch Vergleich der NMR.- und Massenspektren

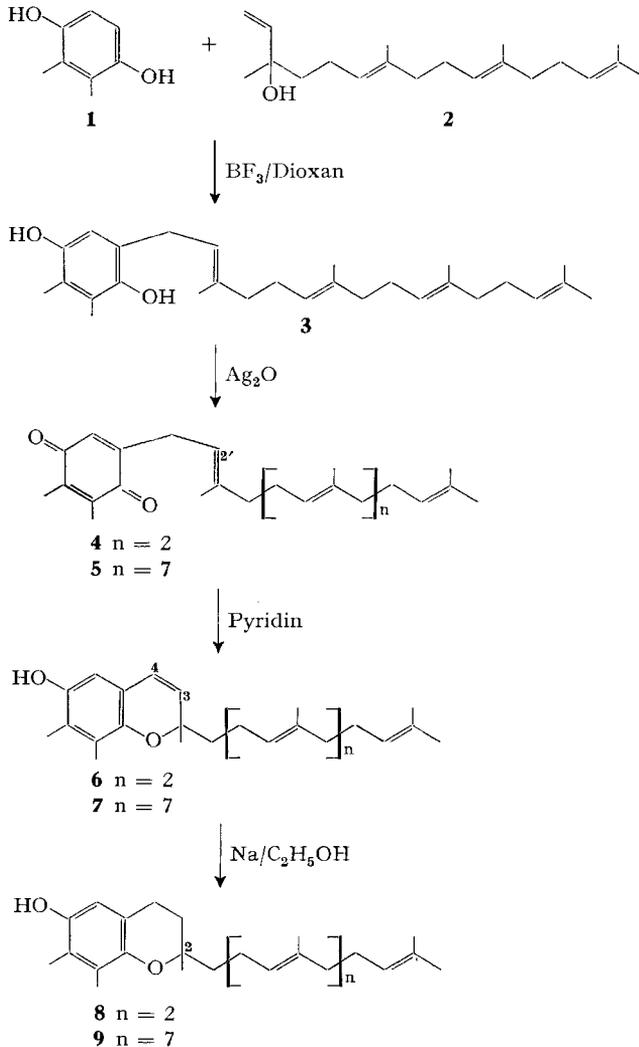
³⁾ Die Stereochemie der Seitenkette von β - und γ -Tocopherol wurde nicht untersucht. Man kann jedoch annehmen, dass auch hier die (4'*R*, 8'*R*)-Konfiguration vorliegt.

⁴⁾ Die beiden Präparate wurden uns freundlicherweise von den Herren Prof. R. A. MORTON und Dr. J. F. PENNOCK, Liverpool, zur Verfügung gestellt, wofür wir ihnen sehr zu Dank verpflichtet sind.

⁵⁾ Die (2*R*, *all-trans*)-Konfiguration für natürliches δ -T-3 wurde noch nicht bestätigt; sehr wahrscheinlich wird sich jedoch auch diese Verbindung in die Reihe einfügen.

und der Gas-Chromatogramme der isolierten mit denjenigen der entsprechenden synthetischen Verbindungen bekannter Konstitution und Stereochemie gemacht werden.

Rac. *all-trans*- γ -Tocotrienol (**8**) kann, ähnlich wie α - und β -Tocotrienol [9], ausgehend von 2,3-Dimethylhydrochinon (**1**) und synthetischem *d,l-all-trans*-Geranylinalool (**2**) hergestellt werden. Kondensation in Gegenwart von BF_3 -Ätherat in Dioxan bei Raumtemperatur lieferte glatt 2,3-Dimethyl-5-geranyl-hydrochinon (**3**), das sofort mit Ag_2O in ätherischer Lösung zu dem entsprechenden Chinon **4**, dem Plastochinon-4 (PQ-4)⁶⁾ (UV.-Maximum bei 255 nm [$E_{1\text{cm}}^{1\%} = 440$], in $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$), oxy-



⁶⁾ PQ-4 ist bereits 1963 von ECK & TREBST [15] aus Kastanienblättern isoliert und in seiner Konstitution aufgeklärt worden (vgl. auch [16] [17]).

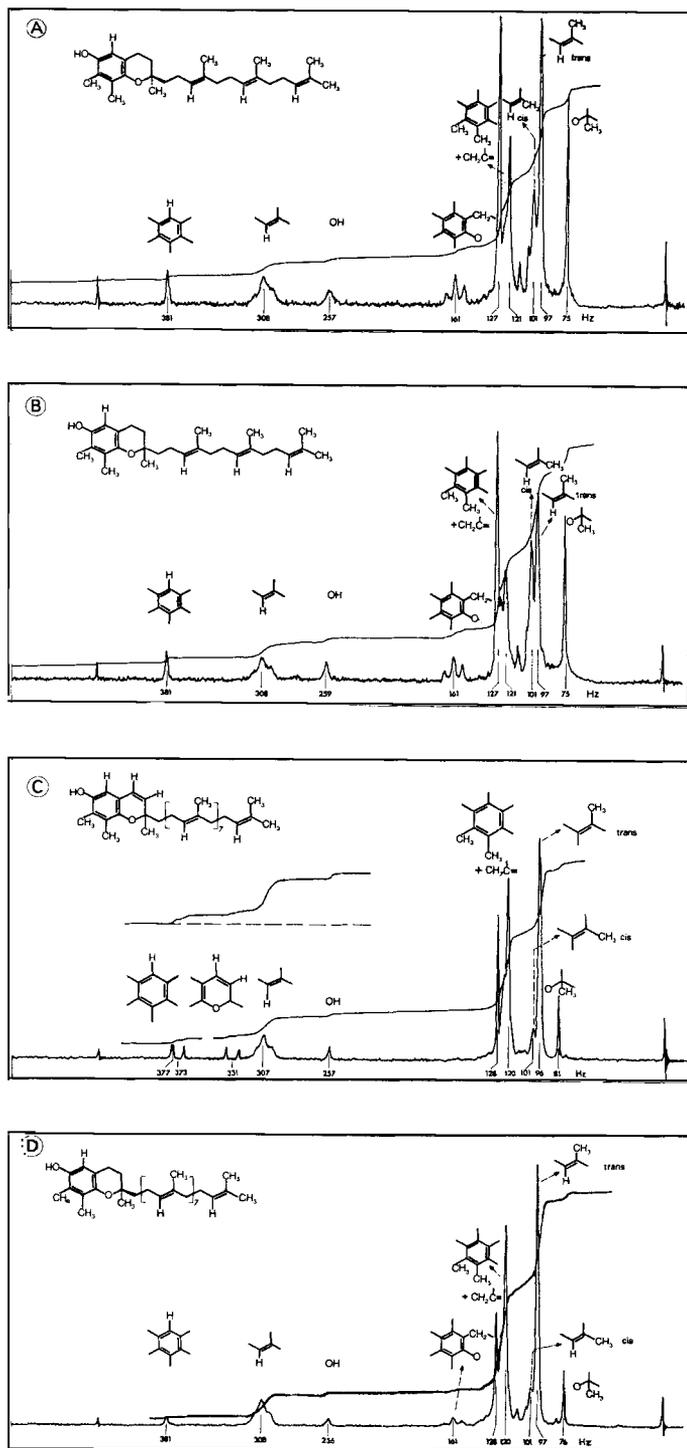


Fig. 1. NMR.-Spektren⁷⁾:
 A) Natürliches γ -Tocotrienol; B) cis-trans- γ -Tocotrienol; C) all-trans-Plastochromenol-8; D) Natürliches Plastochromanol-8

⁷⁾ NMR.-Spektren in $CDCl_3$ -Lösung bei 60 MHz aufgenommen. Chemische Verschiebungen in Hz, bezogen auf Tetramethylsilan (TMS = 0) als internem Standard.

diert wurde. Aus dem NMR.-Spektrum⁷⁾ liess sich auf Grund des Intensitätsverhältnisses der Signale für die Seitenketten-Methylgruppen bei 96, 100 und 105 Hz in Analogie zum Plastochinon-9 (PQ-9) und PQ-3 [18] abschätzen, dass das Chinon **4** vorwiegend in der *all-trans*-Form vorlag; das nur schwach ausgeprägte Signal bei 105 Hz deutete auf die Anwesenheit von ca. 5–7% **4** mit *cis*-konfigurierter 2',3'-Doppelbindung.

Die Cyclisierung von PQ-4 (**4**) zu dem entsprechenden *all-trans*-3,4-Dehydro- γ -tocotrienol (**6**) (UV.-Maxima bei 233, 268, 276 und 322 nm [$E_{1\text{cm}}^{1\%} = 532, 121, 111,5$ und 88], in $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$) gelang nach der Methode von MCHALE & GREEN [19] durch 24-stdg. Kochen in Pyridin. Anschliessende Reduktion der 3,4-Doppelbindung von **6** mit Natrium in siedendem Alkohol ergab reines *rac. all-trans*- γ -Tocotrienol (Plastochromanol-3) (**8**) (UV.-Maximum bei 296 nm [$E_{1\text{cm}}^{1\%} = 91$], in $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$).

Rac. cis-trans- γ -Tocotrienol (**8**) wurde ganz analog aus *cis-trans*-Geranylinalool⁹⁾ hergestellt.

Fig. 1 zeigt die NMR.-Spektren⁷⁾ von natürlichem γ -Tocotrienol (deckungsgleich mit demjenigen von *rac. all-trans*- γ -T-3) und von *rac. cis-trans*- γ -T-3. Aus dem Intensitätsverhältnis (ca. 1:3) der Signale bei 381 Hz (aromatisches Proton) und bei 308 Hz (olefinische Protonen) und aus dem Fehlen jeglicher Signale in der Gegend von 0–70 Hz (Abwesenheit von Verunreinigungen mit cyclischer Seitenkette) kann auf das

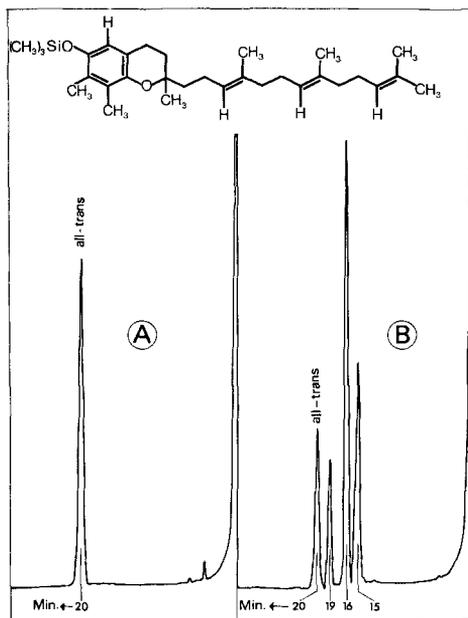


Fig. 2. Gas-Chromatogramme⁸⁾¹⁰⁾: A) Trimethylsilyläther von *all-trans*- γ -Tocotrienol; B) Trimethylsilyläther von *cis-trans*- γ -Tocotrienol

⁸⁾ Vgl. den experimentellen Teil.

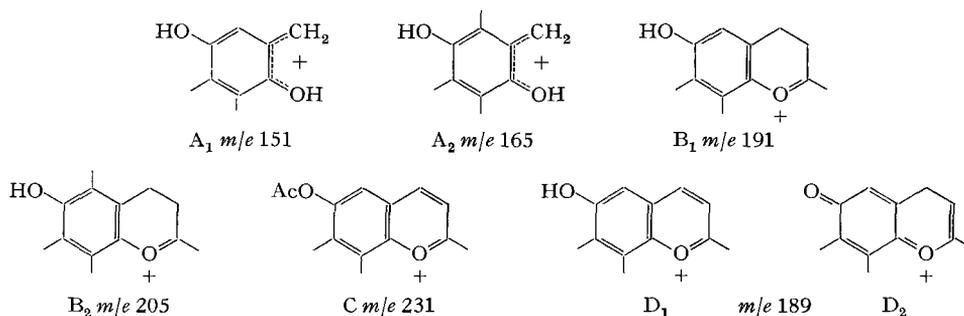
⁹⁾ Herstellung und Isomerenzusammensetzung wie in [9], Anm. 12, angegeben.

¹⁰⁾ Der Pik bei 16 Min. ist in normaler Intensität wiedergegeben, während derjenige bei 20 Min. doppelt, derjenige bei 19 Min. 10fach und derjenige bei 15 Min. 50fach verstärkt ist.

Vorliegen einer intakten, dreifach ungesättigten Seitenkette geschlossen werden. Ferner lässt der Vergleich der Intensitäten der Signale für die olefinischen *trans*-CH₃- (bei 97 Hz) und *cis*-CH₃-Gruppen (bei 101 Hz) vermuten, dass das Naturprodukt eine *all-trans*-konfigurierte Seitenkette besitzt.

Den Beweis für die *all-trans*-Konfiguration der Seitenkette lieferte das Gas-Chromatogramm (Apiezon-N/Gaschrom Q)⁸). Wie aus Fig. 2 ersichtlich, zeigt der Trimethylsilyl-Äther von natürlichem γ -T-3 nur einen einzigen Pik ($R_t = 20$ Min.), der im Gemisch mit dem Trimethylsilyl-Äther von synth. *all-trans*- γ -T-3 einheitlich bleibt, während man bei dem Trimethylsilyl-Derivat von γ -T-3 aus *cis-trans*-Geranylinalool⁹) eine Aufspaltung in vier Pike (Retentionszeiten 20, 19, 16 und 15 Min.), entsprechend den vier erwarteten geometrischen Isomeren¹¹), beobachtet.

Beweisend für die Länge der Seitenkette und für die Anzahl und Stellung ihrer Doppelbindungen ist das Massenspektrum¹²)¹³). In letzter Zeit ist eine ganze Reihe von Verbindungen mit isoprenoiden Ketten massenspektrometrisch untersucht worden, so z. B. die Plastochinone [16] [17] [21], die Ubichinone [22] [23] und Ubichromenole [22] und das Phyllochinon [24]. Dabei wurden charakteristische Fragmentierungsbilder erhalten, die eine eindeutige Aussage über den isoprenoiden und chinoiden bzw. aromatischen Bestandteil der Molekel gestatten. Im Massenspektrum des natürlichen γ -Tocotrienols (vgl. Fig. 3) beobachtet man einen intensiven Molekelion-Pik bei m/e 410 und drei weitere sehr schwache Pike bei m/e 342, 274 und 206, entsprechend dem sukzessiven Verlust dreier Isopreneinheiten (m/e 68) (C₅H₈). Dem Hauptfragment m/e 151 dürfte die Formel A₁ zukommen, während der Pik bei m/e 191 wahrscheinlich durch das Fragment B₁, das durch Verlust der Seitenkette entsteht, verursacht wird. Im niedrigen Massenbereich treten intensive Pike bei m/e 81 (C₆H₉), 69 (C₅H₉) (65%), und 41 (C₃H₅) auf, die für isoprenoide Ketten charakteristisch sind.



Rac. *all-trans*-Plastochromenol-8 (**7**) (UV.-Maxima bei 229, 258 [Schulter], 267, 274 [Schulter], 332 nm [$E_{1\text{cm}}^{1\%} = 308, 58, 61,5, 53,5$], in Hexan) wurde in Analogie zum γ -T-3 durch Cyclisierung von natürlichem *all-trans*-PQ-9 (**5**) [18] [25] [26] in siedend-

¹¹) Die Zuordnung der Pike kann in Analogie zum *cis-trans*- α -T-3 [9] so erfolgen, dass der Pik bei 19 Min. dem 3'-*trans*, 7'-*cis*-, derjenige bei 16 Min. dem 3'-*cis*, 7'-*trans*- und derjenige bei 15 Min. dem di-*cis*-Isomeren entspricht.

¹²) Aufgenommen mit einem AEI-MS-9-Massenspektrometer bei 70 eV; Direkteinlass; Ionenquellentemperatur 260°.

¹³) Die Länge isoprenoider Ketten kann auch mit Hilfe der quantitativen NMR.-Spektroskopie bestimmt werden (vgl. z. B. [20]).

dem Pyridin synthetisiert, wobei auch hier erwartet werden durfte, dass keine *trans-cis*-Isomerisierung der Doppelbindungen stattfindet. In Fig. 1 ist das NMR.-Spektrum von synthetischem *all-trans*-Plastochromenol-8, das mit demjenigen der aus Tabak isolierten Verbindung⁸⁾ deckungsgleich ist, dargestellt. Das Verhältnis der Intensitäten der Signale bei 377 (aromatisches Proton), 373 und 331 (olefinische Protonen der Chromen-Doppelbindung) und bei 307 Hz (olefinische Protonen der Seitenkette) (ca. 1 bzw. 3:8), sowie bei 101 und 96 Hz (olefinische *cis*- bzw. *trans*-CH₃-Gruppen) deutet zusammen mit dem Fehlen von Resonanzen bei 0–75 Hz auf das Vorliegen einer intakten, *all-trans*-konfigurierten Seitenkette.

Die *all-trans*-Konfiguration der Seitenkette ergab sich weiterhin aus dem Gas-Chromatogramm⁸⁾. Das isolierte Plastochromenol-8 wurde, wie weiter unten geschildert, ohne Änderung der Konfiguration in Plastochromanol-8 verwandelt; dessen Trimethylsilyl-Äther wurde sodann im Gemisch mit denjenigen von natürlichem bzw. partialsynthetischem *all-trans*-Plastochromanol-8 verglichen, wobei keine Aufspaltung der Pike zu beobachten war.

Über die genaue Länge der Seitenkette und die Anzahl und Stellung der Doppelbindungen gibt wiederum das Massenspektrum Aufschluss. Fig. 3 zeigt das mit demjenigen einer partialsynthetischen Probe identische Spektrum des O-Acetylderivates von Plastochromenol-8 aus Tabak. Der relativ schwache (4%) Molekelion-Pik erscheint wie erwartet bei *m/e* 790. Weiter findet man Pike bei *m/e* 775 (*M* – CH₃ an C-2), 748 (Verlust von Keten) und 733 (*M* – CH₃ an C-2–Keten). Charakteristisch für eine isoprenoide Kette aus acht Isopreneinheiten ist das Auftreten einer Serie von acht Piken sehr geringer Intensität bei *m/e* 721, 653, 585, 517, 449, 381, 313 und 245, entsprechend dem sukzessiven Verlust von acht Isoprenresten (*M* – 69 – 7 × 68). Dem Basispik bei *m/e* 231 ist wohl das Fragment C zuzuordnen, das durch Verlust der gesamten Seitenkette entsteht. Das gleiche Fragment findet sich auch als Basispik beim O-Acetyl-3,4-dehydro- γ -tocotrienol⁸⁾. Das Fragment D₁, welches für den Pik bei *m/e* 189 verantwortlich ist, das auch beim O-Acetyl-3,4-dehydro- γ -tocotrienol auftritt⁸⁾ und auch den Basispik beim 3,4-Dehydro- γ -tocotrienol⁸⁾ verursacht, wird durch Abspaltung von Keten aus C gebildet. Ein Fragment der gleichen Massenzahl, das jedoch die wahrscheinliche Konstitution D₂ besitzt, verursacht im Spektrum von PQ-4 (4) den intensiven Pik bei *m/e* 189⁸⁾; dieses Fragment war auch schon beim PQ-9, beim PQ-3 und bei den Plastochinonen B, C und D postuliert worden [16] [17] [21]¹⁴⁾.

Die Überführung von rac. *all-trans*-Plastochromenol-8 (7) in rac. *all-trans*-Plastochromanol-8 (9) (UV.-Maxima bei 294 und 300 nm [*E*_{1cm}^{1%} = 54 und 54], in Hexan) gelang durch Reduktion mit Natrium in siedendem Alkohol. Dem NMR.-Spektrum kann man entnehmen, dass auch bei dieser Operation keine Veränderung (*trans-cis*-Isomerisierung oder Cyclisierung) der Seitenkette eintritt. Fig. 1 zeigt das Spektrum von natürlichem Plastochromanol-8, das mit demjenigen der synthetischen Verbindung deckungsgleich ist. Die Intensitäten der Signale bei 381 Hz (aromatisches Proton) und 308 Hz (olefinische Protonen der Seitenkette) verhalten sich ungefähr wie

¹⁴⁾ Beim PQ-4 (4) tritt, wie bei anderen Plastochinonen [16] und Ubichinonen [22] [23], neben dem Molekelion-Pik bei *m/e* 408 ein (*M* + 2)-Pik bei *m/e* 410 auf, der auf eine im Spektrometer stattfindende Disproportionierung zurückzuführen sein dürfte,

produkte. Die dazu erforderliche Einführung einer Methylgruppe in die freie 5-Stellung des Heterocyclus gelang mit Hilfe der MANNICH-Reaktion.

Das natürliche γ -Tocotrienol wurde durch Umsetzung mit Dipropylamin und 40-proz. wässriger Formalin-Lösung in Äthylenglykol bei Raumtemperatur zuerst in die MANNICH-Base **10** (UV.-Maximum bei 300 nm [$E_{1\text{cm}}^{1\%} = 81,5$], in $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$) verwandelt, deren katalytische Hydrierung (5-proz. Palladiumchlorid-Lösung) bei 50 Atm. und 140° ($2R, 4'RS, 8'RS$)- α -Tocopherol¹⁵⁾ (**12**) ergab, das sich mit einem authentischen synthetischen Präparat [28] in jeder Hinsicht identisch erwies. Die $2R$ -Konfiguration des erhaltenen α -Tocopherols wurde durch Messung der spezifischen Drehung seines Kaliumferricyanid-Oxydationsproduktes **14** ($[\alpha]_{\text{D}}^{25} \ll \text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6 \gg = +24,5^\circ$ ¹⁶⁾); $[\text{M}]_{\text{D}} = +208^\circ$; Isooctan) sichergestellt. Daraus folgt, dass auch das natürliche γ -Tocotrienol die $2R$ -Konfiguration besitzen muss. (In nachstehender Tabelle sind die optischen Drehungen der aus den isolierten Verbindungen hergestellten Kaliumferricyanid-Oxydationsprodukte **14** bzw. **15** im Vergleich zu derjenigen des $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ -Oxydationsproduktes von ($2R, 4'RS, 8'RS$)- α -Tocopherol [28] zusammengestellt.)

Optische Drehungen der Kaliumferricyanid-Oxydationsprodukte **14** bzw. **15**

Hergestellt aus	$[\alpha]_{\text{D}}^{25}$ (Isooctan)	$[\text{M}]_{\text{D}}$	Konfiguration an C-2
($2R, 4'RS, 8'RS$)- α -Tocopherol	+25,8° [28]	+221°	R
γ -Tocotrienol	+24,3° ¹⁶⁾	+208°	R
Plastochromanol-8	+14,0° ¹⁶⁾	+218°	R
Plastochromenol-8	0	0	RS

In ähnlicher Weise wurde das natürliche Plastochromanol-8 zuerst in die MANNICH-Base **11** (UV.-Maximum bei 300 nm [$E_{1\text{cm}}^{1\%} = 44,9$], in $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$) und diese dann in das $2R$ -Hexadecahydrotocochromanol-8 (**13**) (UV.-Maximum bei 291 nm [$E_{1\text{cm}}^{1\%} = 39,4$], in $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$) (Seitenkette racemisch), ein α -Tocopherol-Analoges mit acht statt drei Isoprenresten, übergeführt. Das Massenspektrum¹²⁾ lieferte, wie erwartet, das korrekte Molekulargewicht (Molekelion-Pik = Basispik bei m/e 780), wodurch die quantitative Hydrierung aller Doppelbindungen in der Kette bewiesen wird. Die in 5-Stellung eingeführte Methylgruppe wird durch das Auftreten der Pike bei m/e 205 (Fragment B_2) und 165 (Fragment A_2) angezeigt. Die $2R$ -Konfiguration des erhaltenen Hexadecahydrotocochromanol-8 (**13**) wurde durch Messung der spezifischen und molekularen Drehungen seines Kaliumferricyanid-Oxydationsproduktes **15** festgelegt. Die Konstitution dieses Oxydationsproduktes wurde nicht streng bewiesen, jedoch darf in Analogie zum $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ -Oxydationsprodukt **14** des α -Tocopherols [27] angenommen werden, dass es eine ähnliche Spirodienon-Struktur **15** besitzt. Es zeigt wie dieses UV.-Maxima (in Hexan) bei 292, 297 und 333 nm ($E_{1\text{cm}}^{1\%} = 31,7, 31,4$ und $7,5$), und im IR.-Spektrum eine schwache Carbonylbande bei $6,06 \mu$. Aus der spezifischen Drehung ($[\alpha]_{\text{D}}^{25} \ll \text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6 \gg = +14,0^\circ$ ¹⁶⁾, Isooctan) lässt sich die molekulare Drehung $[\text{M}]_{\text{D}} = +218^\circ$ berechnen. Dies bedeutet, dass das Hexadecahydrotocochromanol-8 und damit auch das natürliche Plastochromanol-8 die $2R$ -Konfiguration besitzen (vgl. Tabelle).

¹⁵⁾ Zur Nomenklatur vgl. [29].

¹⁶⁾ Mittelwert der spezifischen Drehungen von Mustern aus verschiedenen Ansätzen.

Zur Bestimmung der Konfiguration an C-2 des aus Tabak isolierten Plastochromenol-8 (**7**) wurde aus diesem, wie bereits bei der synthetischen Verbindung geschildert, mit Natrium in siedendem Alkohol zunächst das Plastochromanol-8 (**9**) hergestellt und dann der oben skizzierte Weg **9** → **11** → **13** → **15** beschritten, wobei die erhaltenen Verbindungen mit den entsprechenden Präparaten aus natürlichem **9** in spektraler und dünnschichtchromatographischer Hinsicht identisch waren. Bei dem $K_3Fe(CN)_6$ -Oxydationsprodukt **15** des so hergestellten Hexadecahydrotocochromenols-8 (**13**) liess sich jedoch im Spektralbereich von 700–235 nm (Isooctan) keine optische Drehung nachweisen. Da im Laufe der Isolierungsoperationen und der Reaktionsschritte **7** → **9** → **11** → **13** mit Sicherheit keine Racemisierung stattfindet und auch eine nicht-enzymatische Cyclisierung von möglicherweise anwesendem Plastochinon-9 ausscheidet⁸), muss daraus der Schluss gezogen werden, dass das in den Tabakstaub-Abfällen enthaltene Plastochromenol-8 bereits als Racemat vorlag. Dies bedeutet, dass die Verbindung wahrscheinlich nicht durch eine enzymatische Reaktion in der Pflanze, sondern als Artefakt während der Trocknungs- und Fermentationsprozesse des Tabaks entstanden ist.

Experimenteller Teil

Allgemeines. – Die *Spektren* wurden in unserer Physikalischen Abteilung (Leitung Dr. M. KOFLER) aufgenommen: Die UV.-Spektren mit einem CARY-Spektrophotometer, Modell 14, die IR.-Spektren von Dr. L. H. CHOPARD-DIT-JEAN mit einem BECKMAN-IR-9-Gitterspektrophotometer (Zweifach-Monochromator), und die NMR.-Spektren von Dr. G. ENGLERT mit einem VARIAN-A-60-Spektrometer (60 MHz) in $CDCl_3$ -Lösung, wenn nicht anders vermerkt. Die Signale sind in Hz angegeben (*s* = Singulett, *d* = Dublett, *t* = Triplett, *m* = Multipllett, *b* = breit, nicht strukturiert), *J* = Kopplungskonstante in Hz; in Klammern die durch elektronische Integration ermittelte auf- bzw. abgerundete Protonenzahl. Interner Standard $Si(CH_3)_4$ (TMS) = 0. Die Massen-(MS.-)Spektren wurden von Dr. W. VETTER und P. MEYER mit einem AEI-MS-9-Massenspektrometer aufgenommen (Direkteinlass, Ionisierungsspannung 70 eV, Ionenquellentemperatur 260°). Es wird jeweils nur der stärkste Pik einer Fragmentgruppe angegeben. Die hinter den Massenzahlen in Klammern angeführten Werte entsprechen den relativen Intensitäten in % des stärksten Piks. Die optischen Drehungen wurden von Dr. F. BURKHARDT mit einem selbstabgleichenden Polarimeter bei 25° aufgenommen; die Genauigkeit der spezifischen Drehungen beträgt $\pm 0,5^\circ/c$.

Die *Gas-Chromatogramme* wurden von Dr. M. VECCHI aufgenommen. Bedingungen: 1. PERKIN-ELMER-Gas-Chromatograph Modell 881, Säule I: Glas, $\varnothing = 2$ mm, Länge 2 m; stationäre Phase: 10% APIEZON-N; Träger: Gaschrom Q (80–100 mesh); Verdünnungsmittel: Pyridin. 2. PYE-ARGON-Chromatograph, Säule II: Glas, $\varnothing = 4,3$ mm, Länge 110 cm; stationäre Phase: 2% UCW 98; Träger: Gaschrom Q (80–100 mesh); Verdünnungsmittel: Pyridin. Darstellung der Trimethylsilyläther nach [30]. Da kein Standard verwendet wurde, dienen die Retentionszeiten (R_t) nur zur Differenzierung von *cis-trans*-Isomeren und zur Identifizierung der Naturprodukte mit den synthetisch hergestellten.

Für die *Dünnschichtchromatogramme* diente Kieselgel G (MERCK) als Träger. Die Flecke wurden durch Besprühen mit Molybdätdi-phosphorsäure Sprühreagenz (MERCK) und anschliessendes Erhitzen auf ca. 100° sichtbar gemacht. DS = Dünnschichtchromatogramm.

Die *präparativen Säulenchromatographien* wurden an Aluminiumoxid (CAMAG) und Kieselgel (MERCK, Korngrösse 0,2–0,5 mm) durchgeführt. Elutionsmittel: tiefs. Petroläther (PÄ) (Sdp. 40–45°), mit Äther (Ä) im angegebenen Volumverhältnis vermischt. Die Abtrennung von Nebenprodukten oder Verunreinigungen wurde laufend dünnschichtchromatographisch kontrolliert.

Alle *Eindampfoperationen* wurden im Rotationsverdampfer im Vakuum bei 40–50° vorgenommen. Trocknung der Extraktionslösungen mit wasserfreiem Natriumsulfat (MERCK).

Die *Analysen* wurden in unserer mikroanalytischen Abteilung von Dr. A. DIRSCHERL ausgeführt.

I. Synthese von *rac. all-trans-* und *cis-trans-γ-Tocotrienol*

1. *2,3-Dimethyl-5-geranylgeranyl-benzochinon (Plastochinon-4) (4)*. – a) *Aus all-trans-Geranyllinalool (2)*. Man versetzte die Lösung von 35 g (0,243 Mol) 2,3-Dimethylhydrochinon (**1**) in 300 ml abs. Dioxan mit 10 ml Bortrifluorid-ätherat und dann tropfenweise innerhalb von 5 Min. mit einer Lösung von 50 g (0,173 Mol) **2** in 50 ml abs. Dioxan und liess 20 Std. bei Raumtemperatur stehen. Dann verdünnte man mit Äther, wusch gut mit Wasser, trocknete und dampfte das Lösungsmittel ab. Den Rückstand verteilte man zur Entfernung von überschüssigem **1** zwischen 3 l PÄ, 2,1 l Methanol und 900 ml Wasser. Die petrolätherische Phase wurde dann mehrmals mit 70-proz. wässrigem Methanol durchgeschüttelt, mit Wasser gewaschen, getrocknet und eingedampft. Der Rückstand (43 g) wurde in 200 ml PÄ gelöst, die Lösung auf -30° bis -40° abgekühlt und die ausgefallenen farblosen wachsartigen Kristalle abzentrifugiert. Diese Operation wurde zweimal wiederholt, wobei man 13,7 g 2,3-Dimethyl-5-geranylgeranylhydrochinon (**3**) erhielt, das sofort in 150 ml abs. Äther gelöst und mit 7,5 g frisch vorbereitetem Silberoxid bei Raumtemperatur gerührt wurde. Nach dem Filtrieren und Entfernen des Äthers verblieben 12,8 g (18% d. Th.) ca. 95-proz. Chinon **4**, das direkt für die folgenden Stufen verwendet wurde. Eine Probe wurde chromatographisch an Aluminiumoxid (neutral, Akt. III; Elution mit PÄ/Ä [95:5]) gereinigt: Gelbes Öl. UV.-Maxima [nm ($E_{1\text{cm}}^{1\%}$)] bei 255 (440) und 260 (430,5) (Schulter). IR.-Spektrum (flüssig): 6,06 μ (CO). NMR.-Spektrum: 386/ t /J = 1,5 (1) 6-CH; 307/ b (4) olef. H in Seitenkette; 186/ d /J = 7,5 (2) 1'-CH₂; 121 + 123 (total 18) 2-CH₃ + 3-CH₃ + CH₂C= in Seitenkette; 96 + 100 + 105 (total 15) CH₃ in Seitenkette. DS: Laufmittel Benzol/Methanol (95:5). MS.-Spektrum [m/e (%)]: 410 (1,5); $M+2$; 408 (2,5); M ; 393 (1,5); $M-CH_3$; 339 (0,6); $M-C_5H_9$; 271 (1); $M-C_5H_9-C_5H_8$; 257 (3,5); 229 (4); 215 (2); 203 (7); $M-C_5H_9-2(C_5H_8)$; 189 (83,5); C₁₂H₁₃O₂; 175 (4,5); 161 (3,5); 151 (23,5); 135 (7); 121 (8,5); 107 (7); 93 (10,5); 81 (32,5); C₆H₆; 69 (100); C₅H₉; 55 (13,5); C₄H₇; 41 (40); C₃H₅.

C₂₈H₄₀O₂ (408,60) Ber. C 82,30 H 9,87% Gef. C 82,18 H 9,69%

b) *Aus cis-trans-Geranyllinalool*: 16,2 g (23%) analog I. 1.a) hergestelltes, ca. 96-proz. Chinon **4**, das direkt in die nächsten Stufen eingesetzt wurde. Das reine Chinon zeigte im Vergleich zu demjenigen aus *all-trans*-Geranyllinalool gleiche UV-, IR-, NMR.-Spektren (Ausnahme: Intensitätsunterschiede in den Signalen bei 96, 100 und 105). Im DS identisch mit dem nach I. 1.a) hergestellten **4**. C₂₈H₄₀O₂ (408,60) Ber. C 82,30 H 9,87% Gef. C 82,26 H 9,79%

2. *Rac. all-trans-O-Acetyl-3,4-dehydro-γ-tocotrienol*. Man kochte die Lösung von 12,3 g nach I. 1.a) hergestelltem **4** in 130 ml abs. Pyridin 24 Std. unter Rückfluss, kühlte dann ab, versetzte mit 130 ml Acetanhydrid und bewahrte das Gemisch 16 Std. bei Raumtemperatur auf. Dann goss man auf Eis, extrahierte mit Äther und wusch mit Wasser neutral. Nach dem Trocknen und Abdampfen des Lösungsmittels erhielt man 14,1 g dunkles Öl, das an 750 g Kieselgel chromatographiert wurde. PÄ/Ä (93:7) eluierte 9,8 g Öl. Destillation im Hochvakuum (230–235° Ölbadtemp., 0,05 Torr) ergab 8,6 g (63,5%) reines *all-trans*-O-Acetyl-3,4-dehydro-γ-tocotrienol. UV.-Maxima (nm [$E_{1\text{cm}}^{1\%}$]) bei 227 (632), 258 (118) (Schulter), 266 (140), 275 (118) (Schulter), 314 (77,5) (Feinsprit). IR.-Spektrum (flüssig): 5,77, 8,24 (OAc); 6,08 (C=C); 6,19, 6,35 μ (Aromat). NMR.-Spektrum: 390/ s (1) 5-CH; 375 + 332/2 d /J = 10 (2) 3-CH + 4-CH; 308/ b (3) olef. H in Seitenkette; 137/ s (3) OAc; 122 + 128 (total 16) 7-CH₃ + 8-CH₃ + CH₂C= in Seitenkette; 96 + 101 CH₃ in Seitenkette; 82/ s (3) 2-CH₃. MS.-Spektrum [m/e (%)]: 450 (1,5); M ; 435 (2); $M-CH_3$; 408 (1); $M-CH_2CO$ (Keten); 231 (100); C₁₄H₁₅O₃; 189 (74); C₁₂H₁₃O₂; 81 (4,5); C₆H₉; 69 (20); C₅H₉; 55 (3); C₄H₇; 41 (12); C₃H₅. DS: Laufmittel Benzol/Methanol (95:5).

C₃₀H₄₂O₃ (450,64) Ber. C 79,95 H 9,39% Gef. C 80,13 H 9,48%

3. *Rac. all-trans-3,4-Dehydro-γ-tocotrienol (6)*. Man versetzte die Lösung von 1,4 g *all-trans*-O-Acetyl-3,4-dehydro-γ-tocotrienol in 14 ml Isopropanol in einer Stickstoffatmosphäre mit 4,2 ml 10-proz. wässrig-methanolischer Kalilauge (10 g KOH in 10 ml Wasser, aufgefüllt mit Methanol auf 100 ml) und bewahrte die dunkle Lösung 45 Min. bei Raumtemperatur auf. Dann verdünnte man mit Wasser, extrahierte mit Äther und wusch mit Wasser neutral. Nach dem Trocknen und Abdampfen des Lösungsmittels resultierten 1,3 g dunkles Öl, das durch Hochvakuumdestillation (Ölbadtemp. 240°, 0,05 Torr) und Chromatographie an Kieselgel (Elution mit PÄ/Ä [9:1]) gereinigt wurde: 644 mg reines *all-trans*-**6** als blassgelbes Öl, UV.-Maxima (nm [$E_{1\text{cm}}^{1\%}$]) bei 233 (532),

268 (121), 276 (111,5), 322 (88) (Feinsprit). IR.-Spektrum (flüssig): 2,92 (OH); 6,1 (C=C); 6,2, 6,33 μ (Aromat). NMR.-Spektrum: 373/s (1) 5-CH; 372 + 328/2 δ /J = 10 (2) 3-CH + 4-CH; 307/b (3) olef. H in Seitenkette: 279/b (1) OH; 127 + 122 + 118 (total 16) 7-CH₃ + 8-CH₃ + CH₂C= in Seitenkette; 100 + 95 CH₃ in Seitenkette; 80/s (3) 2-CH₃. MS.-Spektrum [m/e (%]): 408 (8,5): M; 393 (3): M - CH₃; 339 (0,4): M - C₅H₉; 271 (0,7): M - C₅H₉ - C₅H₉; 255 (2,5); 229 (1,5); 203 (1): M - C₅H₉ - 2 (C₅H₉); 189 (100): C₁₂H₁₃O₂; 175 (2); 149 (1,5); 141 (5); 133 (1); 121 (2); 107 (2,5); 91 (3); 81 (5); 69 (20): C₅H₉; 55 (5): C₄H₇; 41 (16,5): C₃H₅. DS: Laufmittel Benzol/Methanol (95:5) oder (98:2). C₂₈H₄₀O₂ (408,60) Ber. C 82,30 H 9,87% Gef. C 82,40 H 9,90%

4. *Rac. cis-trans-O-Acetyl-3,4-dehydro- γ -tocotrienol*. Diese Verbindung wurde genau gleich wie unter I. 2. beschrieben aus dem nach I. 1. b) hergestellten Chinon **4** synthetisiert. Aus 15,8 g **4** 10,4 g (60%) reines *cis-trans*-O-Acetyl-3,4-dehydro- γ -tocotrienol, das im UV-, IR-, NMR.-Spektrum (Ausnahme: Intensitätsunterschiede in den Signalen bei 96 und 101) mit der *all-trans*-Verbindung identisch war.

5. *Rac. cis-trans-3,4-Dehydro- γ -tocotrienol (6)*. Durch Verseifung des entsprechenden O-Acetyl-derivates und Reinigung analog I. 3. UV-, IR- und NMR.-Spektr. (Ausnahme: Intensitätsunterschiede der Signale 95 und 100 im NMR.) und DS identisch mit denjenigen von *all-trans-6*.

6. *Rac. all-trans- γ -Tocotrienol (8)*. Zu einer siedenden Lösung von 2,57 g *all-trans-6* in 285 ml abs. Alkohol gab man portionenweise 28,5 g Natriumschnitzel, kochte 1 Std. unter Rückfluss, verdünnte dann mit 75 ml abs. Alkohol, kochte weitere 3 Std., versetzte nochmals mit 75 ml Alkohol und liess abkühlen. Das Reaktionsgemisch wurde wie unter II. 3. beschrieben aufgearbeitet, wobei man 2,7 g rotbraunes Öl erhielt. Zweimalige Chromatographie an der 100-fachen Gewichtsmenge Aluminiumoxid (neutral, Akt. III) (Elution mit PÄ/Ä [9:1]) und Destillation im Hochvakuum ergaben 628 mg (24% d. Th.) reines *all-trans-8* als blassgelbes Öl.

Die Verbindung kann auch aus dem entsprechenden reinen O-Acetylderivat (121 mg) (vgl. I. 7.) durch Verseifung mit wässrig-methanolischer Kalilauge analog I. 3. hergestellt werden: 92 mg reines *all-trans-8* nach chromatographischer Reinigung. UV.-Maximum bei 296 nm ($E_{1\text{cm}}^{1\%} = 91$) (Feinsprit)¹⁷⁾; natürliches γ -T-3: 296 nm ($E_{1\text{cm}}^{1\%} = 90,5$). IR.-Spektrum (flüssig): 2,91 (OH); 6,0 (C=C); 6,18 μ (Aromat); identisch mit demjenigen des natürlichen γ -T-3. NMR.-Spektrum: 381/s (1) 5-CH; 308/b (3) olef. H in Seitenkette; 257/b (1) OH; 161/t/J = 6,5 (2) 4-CH₂; 121 + 127 7-CH₃ + 8-CH₃ + CH₂C= in Seitenkette; 97 + 101 CH₃ in Seitenkette; 75/s (3) 2-CH₃; identisch mit demjenigen des natürlichen γ -T-3. (vgl. Fig. 1). MS.-Spektrum [m/e (%]): 410 (53): M; 395 (0,5): M - CH₃; 342 (0,3): M - C₅H₉; 274 (1,5): M - 2 (C₅H₉); 259 (1); 231 (2); 218 (4); 206 (11,5): M - 3 (C₅H₉); 191 (21): M - CH₃ - 3 (C₅H₉); 177 (5,5); 163 (3,5); 151 (100): C₉H₁₁O₂; 135 (8,5); 121 (8); 109 (10); 95 (10); 81 (22,5): C₆H₉; 69 (65): C₅H₉; 55 (13,5): C₄H₇; 41 (29): C₃H₅; identisch mit demjenigen des natürlichen γ -T-3 (vgl. Fig. 3). Im DS (Laufmittel: Benzol/Methanol [98:2] oder [95:5]; PÄ/Ä [1:1]; PÄ/Aceton [95:5]) erscheint *all-trans-8* einheitlich und kann nicht von dem Naturprodukt unterschieden werden.

Gas-Chromatogramm des Trimethylsilyläthers von all-trans-8: Säule I; Temperatur: Einspritzblock 280°, Säule 260°; Gasgeschwindigkeit: 40 ml Helium/Min.; R_t = 20 Min. Im 1:1-Gemisch mit dem Trimethylsilyläther von natürlichem γ -T-3 keine Auftrennung (vgl. Fig. 2).

C₂₈H₄₂O₂ (410,65) Ber. C 81,90 H 10,31% Gef. C 81,52 H 10,18%

7. *Rac. all-trans-O-Acetyl- γ -tocotrienol*. Die Reduktion von 1,8 g *all-trans-6* mit Natrium in Alkohol wurde genau gleich wie unter I. 6. beschrieben durchgeführt, nur wurde das rohe Reduktionsprodukt nach Aufarbeitung sofort mit Acetanhydrid/Pyridin acetyliert und das erhaltene O-Acetylderivat (2 g) an 100 g Kieselgel chromatographiert. PÄ/Ä (95:5) eluierte 1,2 g Öl, das im Hochvakuum destilliert wurde (Ölbadtemp. 230°, 0,03 Torr): 989 mg (50%) reines, blassgelbes *all-trans*-O-Acetyl- γ -tocotrienol. UV.-Maxima [nm ($E_{1\text{cm}}^{1\%}$)] bei 279 (52) und 286 (55) (Feinsprit). IR.-Spektrum (flüssig): 5,77, 8,26 (OAc); 6,0 (C=C); 6,32 μ (Aromat). NMR.-Spektrum (CCl₄): 386/s (1) 5-CH; 305/b (3) olef. H in Seitenkette; 163/t/J = 6,5 (2) 4-CH₂; 132/s (3) OAc; 119 + 126 7-CH₃ + 8-CH₃ + CH₂C= in Seitenkette; 95 + 100 CH₃ in Seitenkette; 76/s (3) 2-CH₃. MS.-Spektrum

¹⁷⁾ Im Falle, dass im UV.-Spektrum von **8** eine schwache Absorption bei 332 nm auftritt (charakteristisch für nicht reduziertes **6**), muss die Reduktion wiederholt werden,

[*m/e* (%): 452 (15): *M*; 410 (28): *M* – CH₂CO (Keten); 342 (1): *M* – Keten – C₅H₈; 330 (1,5); 297 (5); 274 (3,5): *M* – Keten – 2 (C₅H₈); 259 (3); 247 (2); 231 (20); 217 (5); 206 (16): *M* – Keten – 3 (C₅H₈); 193 (35); 177 (7); 163 (4); 151 (85,5): C₉H₁₁O₂; 135 (14); 121 (13); 109 (17); 95 (16); 81 (38): C₆H₉; 69 (100): C₅H₉; 55 (19): C₄H₇; 41 (40): C₃H₅. Spektren und DS identisch mit denjenigen des O-Acetylderivates von natürlichem γ -Tocotrienol. DS: Laufmittel PÄ/Ä (4:1); Benzol/Methanol (95:5).

C₃₀H₄₄O₃ (452,65) Ber. C 79,60 H 9,80% Gef. C 79,84 H 9,75%

8. *O*-Acetylderivat des natürlichen γ -Tocotrienols. Aus 85 mg natürlichem γ -T-3 mit Acetanhydrid/Pyridin 105 mg Rohprodukt. Nach Hochvakuumdestillation (Ölbadtemp. 230°, 0,05 Torr) 89 mg (95%) farbloses Öl. UV.-Maxima [nm ($E_{1\text{cm}}^{1\%}$)] bei 279 (52,5) und 286 (54,5) (Feinsprit).

C₃₀H₄₄O₃ (452,65) Ber. C 79,60 H 9,80% Gef. C 79,41 H 9,78%

9. *Rac.* *cis*-*trans*- γ -Tocotrienol (8). Genau gleich wie *rac.* *all-trans*-8 aus 2,36 g *cis-trans*-6, analog I. 6. hergestellt. 850 mg (36%) reines *cis-trans*-8. UV.-, IR.-, NMR.-Spektren (Ausnahme: Intensitätsunterschiede der Signale bei 97 und 101 im NMR. [vgl. Fig. 1]) und DS identisch mit denjenigen von *all-trans*-8.

Gas-Chromatogramm des Trimethylsilyläthers von *cis-trans*-8 (vgl. Fig. 2): Bedingungen wie bei I. 6. $R_f = 15, 16, 19, 20$ Min.

10. *Rac.* *cis-trans*-*O*-Acetyl- γ -tocotrienol. Genau gleich wie unter I. 7. beschrieben aus 2 g *cis-trans*-6 hergestellt. 1,62 g (80,5%) reines *cis-trans*-*O*-Acetyl- γ -tocotrienol. UV.-, IR.-, NMR.-Spektren (Ausnahme: Intensitätsunterschiede der Signale 95 und 100 im NMR.) und DS identisch mit denjenigen von *all-trans*-*O*-Acetyl- γ -tocotrienol.

C₃₀H₄₄O₃ (452,65) Ber. C 79,60 H 9,80% Gef. C 79,79 H 9,92%

II. Synthese von *rac.* *all-trans*-Plastochromenol-8 und -Plastochromanol-8

1. *Rac.* *all-trans*-Plastochromenol-8 (7). Diese Verbindung wurde durch Cyclisierung von natürlichem *all-trans*-Plastochinon-9 (5) [25] [26] in siedendem Pyridin und anschließende chromatographische Reinigung an Kieselgel (Elution mit PÄ/Ä [9:1]) hergestellt (vgl. [10]). Schwach braunes viskoses Öl. UV.-Maxima [nm ($E_{1\text{cm}}^{1\%}$)] bei 229 (308), 258 (58) (Schulter), 267 (70), 274 (61,5) (Schulter), 332 (53,5) (Hexan); aus Tabak isoliertes 7: 332 nm (53,2). IR.-Spektrum (flüssig): 2,9 (OH); 6,0 (C=C); 6,3 μ (Aromat). NMR.-Spektrum: 377/s (1) 5-CH; 373+331/2 $d/f = 9,5$ (2) 3-CH+4-CH; 307/b (8) olef. H in Seitenkette; 257/s (1) OH; 120+123+128 7-CH₃+8-CH₃+CH₂C=; 96+101 CH₃ an C=C; 81/s (3) 2-CH₃; identisch mit demjenigen des aus Tabak isolierten Plastochromenols-8 (vgl. Fig. 1). Im DS (Laufmittel: Benzol/Methanol [98:2]; PÄ/Aceton [95:5] oder [9:1]) erscheint die Verbindung einheitlich und kann nicht von dem aus Tabak isolierten 7 unterschieden werden.

C₅₃H₈₀O₂ (749,2) Ber. C 84,90 H 10,74% Gef. C 84,84 H 10,56%

2. *Rac.* *all-trans*-*O*-Acetyl-plastochromenol-8. Erhalten durch Acetylierung (Acetanhydrid/Pyridin) und chromatographische Reinigung an Kieselgel [Elution mit PÄ/Ä (97:3)] des nach II. 1. synthetisierten *rac.* *all-trans*-7. Farblose, wachsartige Kristalle. UV.-Maxima (nm [$E_{1\text{cm}}^{1\%}$]) bei 259 (65,5) (Schulter), 267 (78), 273 (65,5) (Schulter), 314 (42,6) (Feinsprit). IR.-Spektrum (flüssig): 5,67, 8,28 (OAc); 6,0 (C=C); 6,19 μ (Aromat). NMR.-Spektrum: 388/s (1) 5-CH; 329+373/2 $d/f = 10$ (2) 3-CH+4-CH; 306/b (8) olef. H in Seitenkette; 137/s (3) OAc; 120+127 7-CH₃+8-CH₃+CH₂C=; 97+101 CH₃ an C=C; 82/s (3) 2-CH₃. MS.-Spektrum [*m/e* (%): 790 (4): *M*; 775 (2): *M* – CH₃; 748 (3): *M* – CH₂CO (Keten); 733 (0,5): *M* – CH₂CO – CH₃; 721 (0,1): *M* – C₅H₉; 653 (0,1): *M* – C₅H₉ – C₅H₈; 585 (0,1): *M* – C₅H₉ – 2 (C₅H₈); 517 (0,15): *M* – C₅H₉ – 3 (C₅H₈); 449 (0,15): *M* – C₅H₉ – 4 (C₅H₈); 381 (0,6): *M* – C₅H₉ – 5 (C₅H₈); 313 (0,7): *M* – C₅H₉ – 6 (C₅H₈); 297 (1,3); 271 (0,9); 255 (0,8); 245 (0,3): *M* – C₅H₉ – 7 (C₅H₈); 231 (100): C₁₄H₁₅O₃; 189 (44): C₁₂H₁₃O₂; 175 (1); 161 (2); 149 (2); 135 (3); 121 (4); 107 (4); 95 (5); 81 (15): C₈H₉; 69 (26): C₅H₉; 55 (5): C₄H₇; 41 (6): C₃H₅ (vgl. Fig. 3). DS: Laufmittel Benzol/Methanol (98:2).

3. *Rac.* *all-trans*-Plastochromanol-8 (9). Zu einer siedenden Lösung von 5,2 g *rac.* *all-trans*-7 in 520 ml abs. Alkohol fügte man portionenweise insgesamt 52 g Natriumschnitzel, kochte in einer Stickstoffatmosphäre 3 Std. unter Rückfluss, verdünnte dann mit 100 ml abs. Alkohol und kochte

weitere 3 Std. Dann versetzte man nochmals mit 100 ml Alkohol, kühlte ab, goss auf Eis und extrahierte mit Äther. Nach dem Neutralwaschen des Ätherextraktes mit Wasser, Trocknen und Abdampfen resultierten 5,9 g rohes Reduktionsprodukt, das an 590 g Kieselgel chromatographiert wurde. PÄ/Ä (4:1) eluierte 3,5 g (67%) reines rac. *all-trans-9*. Blassgelbes, viskoses Öl, das im Kühlschrank zu wachsartigen Kristallen erstarrte. UV.-Maxima [nm ($E_{1\text{cm}}^{1\%}$)] bei 294 (54), 300 (54) (Hexan); natürliches Plastochromanol-8: 294 (61), 300 (56,5) (Hexan). IR.-Spektrum (flüssig): 2,9 (OH); 6,01 (C=C); 6,19, 6,7 (Aromat); 11,85 μ >C=CH-; identisch mit demjenigen des natürlichen Plastochromanols-8. NMR.-Spektrum: 381/s (1) 5-CH; 308/b (8) olef. H in Seitenkette; 256/s (1) OH; 161/t/J = 6,5 (2) 4-CH₂; 120+123+128 7-CH₃+8-CH₃+CH₂C=; 97+101 CH₃ an C=C; 76/s (3) 2-CH₃; identisch mit demjenigen des natürlichen Plastochromanols-8 (vgl. Fig. 1). MS.-Spektrum [m/e (%]): 750 (14): M; 682 (0,3): M-C₅H₈; 614 (0,3): M-2 (C₅H₈); 546 (0,4): M-3 (C₅H₈); 478 (0,7): M-4 (C₅H₈); 410 (0,9): M-5 (C₅H₈); 342 (1): M-6 (C₅H₈); 274 (2,5): M-7 (C₅H₈); 206 (6,8): M-8 (C₅H₈); 191 (24,5): M-CH₃-8 (C₅H₈); 177 (6); 161 (6); 151 (83): C₉H₁₁O₂; 135 (17,5); 121 (19); 109 (20); 95 (27); 81 (65); C₆H₈; 69 (100): C₅H₈; 55 (25); 43 (20); 41 (28): C₃H₆; identisch mit demjenigen des Naturprodukts (vgl. Fig. 3).

Gas-Chromatogramm des Trimethylsilyläthers von 9: Säule II; Temperatur: Einspritzblock 290°, Säule 260°; Gasgeschwindigkeit: 180 ml Argon/Min.; R_t = 123 Min. Im 1:1-Gemisch mit dem Trimethylsilyläther des natürlichen Plastochromanols-8 keine Auftrennung. Im DS (Laufmittel: Benzol/Methanol [98:2] oder [95:5]; Äther; Diisopropyläther; Ä/PÄ [1:1] oder [1:4]) erscheint das *all-trans*-Plastochromanol-8 einheitlich und kann nicht von natürlichem Plastochromanol-8 unterschieden werden.

C₃₃H₃₂O₂ (751,23) Ber. C 84,74 H 11,00% Gef. C 84,94 H 11,07%

4. *Rac. all-trans-O-Acetyl-plastochromanol-8*. Durch Acetylierung von rac. *all-trans-9* mit Acetanhydrid/Pyridin. Blassgelbe, wachsartige Kristalle. UV.-Maxima [nm ($E_{1\text{cm}}^{1\%}$)] bei 279 (36,5), 285 (34,5), 289 (35,7) (Hexan); O-Acetylderivat des natürlichen Plastochromanol-8: 279 (30), 285 (30,3), 289 (31,6) (Hexan). IR.-Spektrum (flüssig): 5,78, 8,29 (OAc); 6,01 (C=C); 6,19 μ (Aromat); identisch mit demjenigen des natürlichen Plastochromanol-8-Derivates. NMR.-Spektrum: 391/s (1) 5-CH; 306/b (8) olef. H in Seitenkette; 162/t/J = 6 (2) 4-CH₂; 135/s (3) OAc; 126+120 7-CH₃+8-CH₃+CH₂C=; 97+100 CH₃ an C=C; 76/s (3) 2-CH₃; identisch mit demjenigen des natürlichen O-Acetyl-plastochromanols-8.

III. Absolute Konfiguration an C-2

1. (2R, *all-trans*)-5-[(*Dipropyl-amino*)-methyl]- γ -tocotrienol (**10**). Man versetzte die Lösung von 94 mg natürlichem γ -Tocotrienol in 0,9 ml Dipropylamin mit 0,25 ml 40-proz. wässriger Formalin-Lösung, 0,4 ml Äthylenglykol und einem Tropfen «Tween 60» und rührte das Gemisch in einer Stickstoffatmosphäre 16 Std. bei 70°. Man kühlte dann ab, versetzte mit wenig Wasser, extrahierte mit Äther und wusch die ätherische Phase mit Wasser neutral. Nach dem Trocknen und Abdampfen des Lösungsmittels erhielt man 139 mg rohes Kondensationsprodukt, das an 20 g Aluminiumoxid (neutral, Akt. III) chromatographiert wurde. Elution mit PÄ/Ä (98:2) lieferte 119 mg (99% d. Th.) reine MANNICH-Base **10** als farbloses Öl. UV.-Maximum bei 300 nm ($E_{1\text{cm}}^{1\%} = 81,5$) (Feinsprit). IR.-Spektrum (KBr): 3,09 (OH); 6,04 (C=C); 6,2, 6,27 (Aromat) 11,85 μ (>C=CH-). NMR.-Spektrum: 307/b (3) 3'-, 7'-, 11'-CH; 220/s (2) 5-CH₂; 135-165/m (6) 4-CH₂+N(CH₂)₂; 120+123+127 7-CH₃+8-CH₃+CH₂C=; 97+101 4'-, 8'-, 12'-CH₃; 74/s (3) 2-CH₃; 53/t/J = 6,5 (6) -CH₂CH₃. MS.-Spektrum [m/e (%]): 523 (0,1): M; 422 (3,5): M-HN(C₃H₇)₂; 354 (0,1): M-HN(C₃H₇)₂-C₅H₈; 217 (1,5); 203 (3): C₁₃H₁₆O₂; 189 (1); 175 (1); 165 (8): C₁₀H₁₃O₂; 151 (1); 135 (2); 121 (1,5); 101 (7); 72 (100): H₂CN(C₃H₇)₂; 43 (25) C₃H₇; 30 (76): C₂H₆. DS: Laufmittel: Ä/PÄ (1:4); Benzol/Methanol (98:2).

C₃₅H₅₇O₂N (523,81) Ber. C 80,25 H 10,97 N 2,67% Gef. C 80,10 H 10,89 N 2,96%

2. (2R, 4'RS, 8'RS)- α -Tocopherol (**12**). Die Lösung von 119 mg MANNICH-Base **10** in 0,5 ml Methanol und 0,5 ml Tetrahydrofuran wurde nach Zusatz von 40 mg Norit SX-I und 0,1 ml wässriger Palladiumchlorid-Lösung (5-proz.) 3 Std. bei 140° und 50 Atm. in einer Wasserstoffatmosphäre geschüttelt. Dann wurde mit Äther verdünnt und die ätherische Lösung mit Wasser

neutral gewaschen. Nach dem Trocknen und Abdampfen des Lösungsmittels und nach chromatographischer Reinigung des Rückstandes (120 mg) an 15 g Aluminiumoxid (neutral, Akt. III) (Elution mit PÄ/Ä (9:1)) resultierten 29 mg (30%) reines (2*R*, 4'*RS*, 8'*RS*)-**12**, das mit der authentischen Verbindung [28] identisch war (UV-, IR-, NMR.-Spektren, DS, $K_3Fe(CN)_6$ -Oxydationsprodukt).

$K_3Fe(CN)_6$ -Oxydationsprodukt von (2*R*, 4'*RS*, 8'*RS*)-**12** (**14**): $[\alpha]_D = +24,3^{18}$ ($c = 0,92$, Isooctan). $[M]_D = +208^\circ$

3. (2*R*, all-trans)-5-[(*Dipropyl-amino*)-methyl]-plastochromanol-8 (**11**). 122 mg natürliches Plastochromanol-8 wurden wie bei III.1. beschrieben mit 1 ml Dipropylamin, 0,3 ml 40-proz. wässriger Formalin-Lösung und 0,5 ml Äthylenglykol umgesetzt und aufgearbeitet, wobei man 164 mg rohe MANNICH-Base **11** erhielt. Chromatographische Reinigung an 16 g Aluminiumoxid (neutral, Akt. III) (Elution mit PÄ/Ä [98:2]) ergab 122 mg (87%) reines **11** in Form von wachsartigen, farblosen Kristallen. UV.-Maximum bei 300 nm ($E_{1cm}^{1\%} = 44,9$) (Feinsprit). IR.-Spektrum (flüssig): 6,0 (C=C); 6,18, 6,3 (Aromat); 11,85 μ (>C=CH-). NMR.-Spektrum: 305/ ν (8) H an C=C; 218/ ν (2) 5-CH₂; 130–155/ ν (6) 4-CH₂ + -N(CH₂)₂; 119+122+127 7-CH₃+8-CH₃+CH₂C=; 96+100 CH₃ an C=C; 73/ ν (3) 2-CH₃; 52/ ν ($J = 6,5$ (6) -CH₂CH₃). DS: Laufmittel Ä/PÄ (1:4); Benzol/Methanol (98:2).

$C_{60}H_{97}O_2N$ (864,38) Ber. C 83,37 H 11,30 N 1,62% Gef. C 83,46 H 11,28 N 1,80%

4. (2*R*, 4', 8', 12', 16', 20', 24', 28', 32'*RS*)-Hexadecahydrocyclohexan-8 (**13**). 122 mg MANNICH-Base **11** in 1,4 ml Methanol und 1,4 ml Tetrahydrofuran wurden nach Zusatz von 65 mg Norit SX-I und 0,16 ml wässriger Palladiumchlorid-Lösung (5-proz.) wie unter III.2. beschrieben hydriert. Nach Aufarbeitung resultierten 160 mg hellbraunes Öl, das an 16 g Aluminiumoxid (neutral, Akt. III) chromatographiert wurde. PÄ/Ä (98:2) eluierte 29 mg (26%) reines **13** als farbloses Öl. UV.-Maximum bei 291 nm ($E_{1cm}^{1\%} = 39,4$) (Hexan). IR.-Spektrum (flüssig): 2,76, 2,87 μ (OH). NMR.-Spektrum: 250/ ν (1) OH; 157/ ν ($J = 6,5$ (2) 4-CH₂; 127+130 (9) 5-CH₃+7-CH₃+8-CH₃; 107/ ν ($J = 6,5$ (2) 3-CH₂; 73 -CH₂-; 49+54 >CHCH₃. MS.-Spektrum: 780 (91): *M*; 205 (7): *M* - Seitenkette; 203 (11): C₁₃H₁₅O₂; 191 (1,5); 177 (2); 165 (100): C₁₀H₁₃O₂; 149 (3); 137 (2); 125 (2,5); 111 (5,5); 97 (10); 85 (19): C₆H₁₃; 71 (25): C₅H₁₁; 57 (42): C₄H₉; 43 (26): C₃H₇. DS: Laufmittel Benzol/Methanol (95:5); Ä/PÄ (1:4).

$C_{34}H_{100}O_2$ (781,34) Ber. C 83,00 H 12,90% Gef. C 82,72 H 12,68%

$K_3Fe(CN)_6$ -Oxydationsprodukt von (2*R*, 4', 8', 12', 16', 20', 24', 28', 32'*RS*)-**13** (**15**): UV.-Maxima (nm [$E_{1cm}^{1\%}$]) bei 292 (31,7), 297 (31,4) und 333 (7,5) (Hexan). IR.-Spektrum (flüssig): 6,06 (CO konj.), 6,26 (C=C konj.), 7,94, 9,1 μ (Aryläther). $[\alpha]_D = +14,0^{18}$ ($c = 0,775$, Isooctan). $[M]_D = +218^\circ$.

5. *Rac.* all-trans-Plastochromanol-8 (**9**). 632 mg des nach IV. isolierten Plastochromenols-8 wurden wie unter II.3. beschrieben mit Natrium und Alkohol reduziert und das Reduktionsprodukt gereinigt. Man erhielt 417 mg (66% d. Th.) reines *rac.* all-trans-**9** als schwach braunes, viskoses Öl, das sich mit der nach II.3. synthetisierten Verbindung und mit dem Naturprodukt in seinen spektralen, dünnschicht- und gas-chromatographischen Eigenschaften als identisch erwies.

6. *Rac.* all-trans-5-[(*Dipropyl-amino*)-methyl]-plastochromanol-8 (**11**). Das nach III.5. erhaltene (2*RS*, all-trans)-**9** (379 mg) wurde wie unter III.3. angegeben in die MANNICH-Base übergeführt und gereinigt. Es resultierten 232 mg (53%) reines (2*RS*, all-trans)-**11**, das mit dem nach III.3. hergestellten (2*R*, all-trans)-**11** in seinen spektralen und dünnschichtchromatographischen Eigenschaften identisch war.

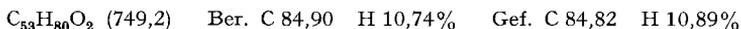
7. *Rac.* Hexadecahydrocyclohexan-8 (**13**). Das nach III.6. hergestellte (2*RS*, all-trans)-**11** wurde wie unter III.4. beschrieben katalytisch hydriert. Aus 229 mg erhielt man 161 mg (78%) reines *rac.* **13**. Mit (2*R*, 4', 8', 12', 16', 20', 24', 28', 32'*RS*)-**13** in spektraler und dünnschichtchromatographischer Hinsicht identisch.

$K_3Fe(CN)_6$ -Oxydationsprodukt von *rac.* **13** (**15**): $[\alpha]_{700-235} = 0^\circ$ ($c = 1,65$, Isooctan). $[M]_{700-235} = 0^\circ$.

IV. Isolierung von Plastochromenol-8 aus Tabak

Zur Isolierung von Plastochromenol-8 wurden die von ROWLAND [11] angegebenen Vorschriften geringfügig abgeändert. 24 kg Tabakstaubbabfälle (Handelsprodukt der Zigarettenfabriken BURRUS, Boncourt, und TURMAC, Zürich) wurden mit 120 l Hexan bei Raumtemperatur extrahiert. Nach mehrfacher Chromatographie des konzentrierten Extraktes an saurem Aluminiumoxid (Akt. I, mit 8% H₂O desaktiviert) und Kieselgel¹⁸) (Elution mit PÄ/Ä-Gemischen [98:2; 97:3; 95:5]) erhielt man 2,6 g eines ca. 92-proz. Präparates, das zur weiteren Reinigung mit Acetanhydrid/Pyridin in das Acetat übergeführt wurde (2,6 g)¹⁹). Chromatographie an 250 g Kieselgel (Elution mit PÄ/Ä [95:5]) lieferte schliesslich 2,5 g reines O-Acetylplastochromenol-8 als blassgelbes Öl. UV.-Spektrum, Maxima [nm ($E_{1\text{cm}}^{1\%}$)] bei 259 (64,5) (Schulter), 267 (77), 273 (66) (Schulter), 314 (42,5) (Feinsprit), identisch mit demjenigen der authentischen Verbindung [11]. UV.-, NMR.- und MS.-Spektrum (vgl. Fig. 3) und DS ausserdem identisch mit denjenigen des nach II. 2. synthetisierten Präparates.

Verseifung des O-Acetylplastochromenols-8 mit methanolischer Kalilauge in Isopropanol analog I. 3. oder mit Lithiumaluminiumhydrid in Äther und anschliessende Endreinigung an 300 g Kieselgel [Elution mit PÄ/Ä (97:3)] ergab 2,1 g (ca. 0,19/100 bezogen auf Tabak-Trockengewicht) schwach braun gefärbtes Plastochromenol-8. Nach dem UV.-Spektrum (Maxima [nm ($E_{1\text{cm}}^{1\%}$)] bei 229 (300), 258 (53) (Schulter), 267 (64,5), 274 (60,5) (Schulter), 332 (50,5)) (Hexan) lag ein ca. 95-proz. Präparat vor, das für die oben beschriebenen Versuche (vgl. III. 5) direkt eingesetzt wurde. Durch weitere Chromatographie wurde reines Plastochromenol-8 erhalten. UV.-Spektrum [Maxima bei 229 (308), 258 (57,9) (Schulter), 267 (69,5), 274 (62) (Schulter), 332 (53,2) (Hexan)] und NMR.-Spektrum (vgl. Fig. 1) sowie DS identisch mit denjenigen von synthetischem Plastochromenol-8. Das DS eines Gemisches mit synthetischem rac. *all-trans*-Plastochromenol-8 (7) zeigte mit verschiedenen Laufmitteln keine Auftrennung.



SUMMARY

The stereochemistry of γ -tocotrienol (plastochromanol-3) from latex of *Hevea brasiliensis* (rubber tree), plastochromanol-8 from leaves of *Hevea brasiliensis*, and plastochromenol-8 from tobacco is reported.

The *all-trans* configuration of the unsaturated side-chains was established by comparing the NMR.-spectra, mass spectra and gas chromatograms with those of the synthetic compounds, which were prepared starting from 2,3-dimethylhydroquinone (1) and *all-trans*- or *cis-trans*-geranyl-linalool (2), and *all-trans*-plastoquinone-9 (5), respectively.

The 2*R*-configuration of γ -tocotrienol and plastochromanol-8 was determined by the following series of reactions: Treatment with dipropylamine and formaldehyde yielded the MANNICH bases 10 and 11. Subsequent catalytic hydrogenation gave (2*R*, 4'*RS*, 8'*RS*)- α -tocopherol (12) and 2*R*-hexadecahydrotocochromanol-8 (13) (side-

¹⁸) Um die Möglichkeit der Bildung von Plastochromenol-8 aus eventuell im Extrakt anwesendem Plastochinon-9 während der Reinigungsoperationen auszuschliessen, wurde Plastochinon-9 in PÄ/Ä an den verwendeten Trägern adsorbiert und nach längerer Verweilzeit mit Äther quantitativ eluiert. Es konnten dabei dünnschichtchromatographisch im Eluat höchstens Spuren von Cyclisierungsprodukt festgestellt werden.

¹⁹) Der Fortschritt der Reinigungsoperation wurde laufend durch dünnschichtchromatographische Kontrolle der einzelnen Fraktionen verfolgt, wobei synthetisches Plastochromenol-8 bzw. dessen O-Acetylderivat als Vergleichssubstanzen dienten. Zur Kontrolle der quantitativen Abtrennung des Plastochromenols von α -Tocopherol und stärker polaren Substanzen, die bis zu den letzten Chromatogrammen in abnehmender Menge als Verunreinigungen auftraten, dienten vorteilhaft die Laufmittel Benzol/Methanol (98:2) und PÄ/Aceton (95:5) oder (9:1).

chain racemic), respectively, the $K_3Fe(CN)_6$ -oxidation products **14** ($[M]_D = +208^\circ$) and **15** ($[M]_D = +218^\circ$, isooctane) of which were correlated with the $K_3Fe(CN)_6$ -oxidation product **14** ($[M]_D = +221^\circ$, isooctane) obtained from synthetic (2*R*,4'*RS*,8'*RS*)- α -tocopherol. The plastochromenol-8 from tobacco proved to be racemic at C-2. It was first reduced to plastochromanol-8, which was then transformed into hexadecahydro-tocochromanol-8 as described. The $K_3Fe(CN)_6$ -oxidation product of the latter did not show any optical activity ($[M]_{700-236} = 0^\circ$, isooctane).

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

LITERATURVERZEICHNIS

- [1] 7. Mitt.: H. MAYER, W. VETTER, J. METZGER, R. RÜEGG & O. ISLER, *Helv.* **50**, 1168 (1967).
- [2] H. MAYER & O. ISLER, Abstr. 4th IUPAC-Symp. Chem. Natl. Prod., Stockholm, 1966, S.124, Almquist & Wiksells, Uppsala.
- [3] J. BUNYAN, D. McHALE, J. GREEN & S. MARCINKIEWICZ, *Brit. J. Nutr.* **15**, 253 (1961).
- [4] J. F. PENNOCK, F. W. HEMMING & J. D. KERR, *Biochem. biophysic. Res. Commun.* **17**, 542 (1964).
- [5] IUPAC-IUB Commission for Biochemical Nomenclature, *Biochim. biophysica Acta* **107**, 1 (1965); *J. biol. Chemistry* **241**, 2987 (1966); *Z. physiol. Chem.* **348**, 266 (1967).
- [6] P. J. DUNPHY, K. J. WHITTLE, J. F. PENNOCK & R. A. MORTON, *Nature* **207**, 521 (1965).
- [7] K. J. WHITTLE, P. J. DUNPHY & J. F. PENNOCK, *Biochem. J.* **100**, 138 (1966).
- [8] J. GREEN, D. McHALE, S. MARCINKIEWICZ, P. MAMALIS & P. R. WATT, *J. chem. Soc.* **1959**, 3362; J. GREEN, P. MAMALIS, S. MARCINKIEWICZ & D. McHALE, *Chemistry & Ind.* **1960**, 73; D. McHALE, J. GREEN, S. MARCINKIEWICZ, J. FEENEY & L. H. SUTCLIFFE, *J. chem. Soc.* **1963**, 784.
- [9] P. SCHUDEL, H. MAYER, J. METZGER, R. RÜEGG & O. ISLER, *Helv.* **46**, 2517 (1963).
- [10] K. J. WHITTLE, P. J. DUNPHY & J. F. PENNOCK, *Biochem. J.* **96**, 17C (1965).
- [11] R. L. ROWLAND, *J. Amer. chem. Soc.* **80**, 6130 (1958).
- [12] H. MAYER, P. SCHUDEL, R. RÜEGG & O. ISLER, *Helv.* **46**, 963 (1963).
- [13] O. ISLER, H. MAYER, J. METZGER, R. RÜEGG & P. SCHUDEL, *Angew. Chem.* **75**, 1030 (1963).
- [14] R. L. ROWLAND & J. A. GILES, *Tob. Sci.* **4**, 29 (1960).
- [15] H. ECK & A. TREBST, *Z. Naturforsch.* **18b**, 446 (1963).
- [16] B. C. DAS, M. LOUNASMAA, C. TENDILLE & E. LEDERER, *Biochem. biophysic. Res. Commun.* **27**, 318 (1965); **26**, 211 (1967).
- [17] D. MISITI, H. W. MOORE & K. FOLKERS, *J. Amer. chem. Soc.* **87**, 1402 (1965).
- [18] O. ISLER, A. LANGEMANN, H. MAYER, R. RÜEGG & P. SCHUDEL, *Bull. natl. Inst. Sci. India* **28**, 132 (1965).
- [19] D. McHALE & J. GREEN, *Chemistry & Ind.* **1962**, 1867.
- [20] A. MALERA, L. F. JOHNSON, C. V. PLANTA, E. BILLETER & M. KOFLER, *Helv.* **43**, 2088 (1960).
- [21] W. T. GRIFFITHS, *Biochem. biophysica Res. Commun.* **25**, 596 (1966).
- [22] R. F. MURACA, J. S. WHITTICK, G. D. DAVES, JR., P. FRIIS & K. FOLKERS, *J. Amer. chem. Soc.* **89**, 1505 (1967).
- [23] H. MORIMOTO, T. SHIMA, I. IMADA, M. SASAKI & A. OUCHIDA, *Liebigs Ann. Chem.* **702**, 137 (1967).
- [24] S. J. DI MARI, J. H. SUPPLE & H. RAPOPORT, *J. Amer. chem. Soc.* **88**, 1226 (1966).
- [25] M. KOFLER, A. LANGEMANN, L. H. CHOPARD-DIT-JEAN, R. RÜEGG, A. RAYROUD & O. ISLER, *Helv.* **42**, 1283 (1959).
- [26] N. R. TRENNER, B. H. ARISON, R. E. ERICKSON, C. H. SHUNK, D. E. WOLF & K. FOLKERS, *J. Amer. chem. Soc.* **81**, 2026 (1959).
- [27] P. SCHUDEL, H. MAYER, J. METZGER, R. RÜEGG & O. ISLER, *Helv.* **46**, 636 (1963).
- [28] H. MAYER, P. SCHUDEL, R. RÜEGG & O. ISLER, *Helv.* **46**, 650 (1963).
- [29] P. SCHUDEL, H. MAYER, J. METZGER, R. RÜEGG & O. ISLER, *Helv.* **46**, 333 (1963).
- [30] C. C. SWEELEY, R. BENTLEY, M. MAKITA & W. W. WELLS, *J. Amer. chem. Soc.* **85**, 2497 (1963).