

## 122. Biosynthese der Verrucarine und Roridine. Teil 5. Synthese von zwei Diastereoisomerenpaaren des [1,8-<sup>14</sup>C]- $\alpha$ - Bisabolols und Versuche zu deren Einbau in Verrucarol

Verrucarine und Roridine, 32. Mitteilung [1]

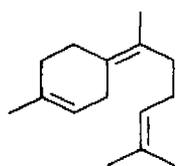
von Waltraut Knöll und Christoph Tamm

Institut für Organische Chemie der Universität, 4056 Basel

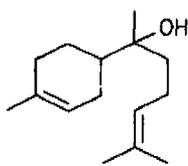
(19. III. 75)

**Summary.** The diastereoisomeric (+)-[1,8-<sup>14</sup>C]-(1'*R*,6*R*,*S*)- $\alpha$ -bisabolol (**2a**) and (-)-[1,8-<sup>14</sup>C]-(1'*S*,6*R*,*S*)- $\alpha$ -bisabolol (**2b**) were synthesized by reaction of the *Grignard* compound of [1,6-<sup>14</sup>C]-5-bromo-2-methyl-2-pentene (**12**) with (+)-(*R*)- and (-)-(*S*)-4-acetyl-1-methyl-1-cyclohexene, (**6a**) and (**6b**) respectively. For the preparation of compound **12**, cyclopropyl methyl ketone was treated with [<sup>14</sup>C]-methyl magnesium iodide to form the carbinol **11**, which was cleaved by HBr. Compounds **6a** and **6b** were synthesized from (+)-(*R*)- and (-)-(*S*)-limonene, (**4a**) and (**4b**), *via* the derivatives **5a**, **6a** and **5b**, **6b** respectively. – This synthesis established the absolute configuration at C(1') of the natural  $\alpha$ -bisabolols: (*R*) for (+)- $\alpha$ -bisabolol and (*S*) for (-)- $\alpha$ -bisabolol. – Feeding experiments with cultures of *Myrothecium roridum* and radioactive (+)- (1'*R*,6*R*,*S*)- and (-)- (1'*S*,6*R*,*S*)- $\alpha$ -bisabolol (**2a**) and (**2b**) gave negative results. These findings indicate that bisabolane derivatives are not intermediates in the biosynthesis of verrucarol (**3**).

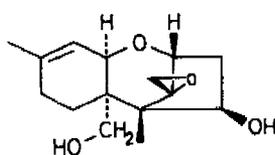
**1. Einleitung.** – In früheren Vorschlägen zur Biosynthese des Trichothecangerüsts ist eine Cyclisation von Farnesylpyrophosphat zu  $\gamma$ -Bisabolen (**1**) postuliert worden [2] [3]. Um diese, inzwischen durch neuere Untersuchungen [4] sehr unwahrscheinlich gewordene Variante des Biosynthesewegs zu überprüfen, haben wir (+)-[1,8-<sup>14</sup>C]-(1'*R*,6*R*,*S*)- $\alpha$ -Bisabolol (**2a**) und (-)-[1,8-<sup>14</sup>C]-(1'*S*,6*R*,*S*)- $\alpha$ -Bisabolol (**2b**) hergestellt und den Einbau dieser Verbindungen in Verrucarol (**3**) untersucht. Zunächst wollten wir für diese Inkorporationsversuche ein geeignetes radioaktives Präparat von  $\gamma$ -Bisabolen (**1**) herstellen. Nachdem sich diese Synthese weder nach Literaturangaben noch aufgrund neuer Reaktionssequenzen [5] für unsere Zwecke befriedigend realisieren liess, entschlossen wir uns, auf  $\alpha$ -Bisabolol (**2**) auszuweichen, in der Hoffnung, dass sich aus dieser Verbindung  $\gamma$ -Bisabolen (**1**) durch enzymatische Dehydratisierung *in vivo* bilde.



**1**  $\gamma$ -Bisabolen



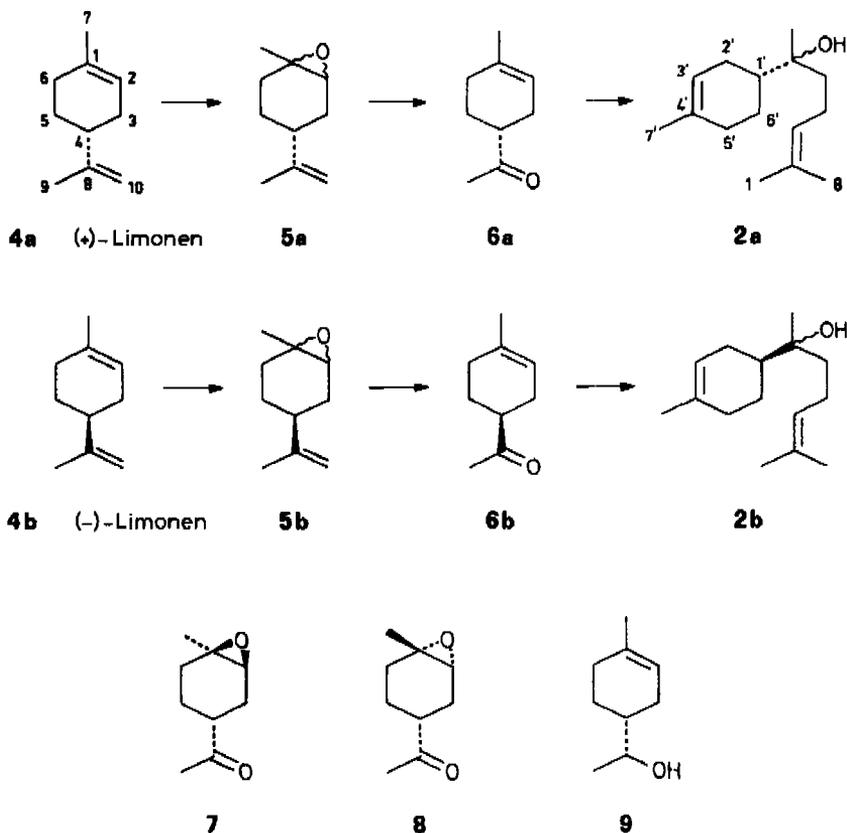
**2**  $\alpha$ -Bisabolol



**3** Verrucarol

**2. Synthesen.** – Die stereoselektive Synthese von (+)- (1'*R*,6*R*,*S*)- $\alpha$ -Bisabolol (**2a**) bzw. (-)- (1'*S*,6*R*,*S*)- $\alpha$ -Bisabolol (**2b**) gelang durch die Umsetzung der *Grignard*-

Verbindung von 5-Brom-2-methyl-2-penten (**12**) mit (+)-(*R*)- bzw. (–)-(*S*)-4-Acetyl-1-methyl-4-cyclohexen (**6a**) bzw. (**6b**) in Anlehnung an das von *Ruzicka & Liguori* [6] beschriebene Verfahren.



Die beiden Enantiomeren **6a** und **6b** von 4-Acetyl-1-methyl-1-cyclohexen wurden aus (+)- bzw. (–)-Limonen (**4a** bzw. **4b**) gewonnen. Die trisubstituierte Doppelbindung des Cyclohexenrings des Limonens (**4**) reagiert wegen des induktiven Effekts der Alkylsubstituenten schneller mit Ozon und Persäuren als die Methyliden-Doppelbindung der Isopropyliden-Gruppierung. So trat bei der Ozonisierung von Limonen in Gegenwart von Pyridin mit einem Äquivalent Ozon und nach anschliessender Spaltung des Ozonids mit Triäthylamin nahezu selektive Spaltung der Ringdoppelbindung ein; es waren nur Spuren von 4-Acetyl-1-methyl-1-cyclohexen (**6**) im Reaktionsgemisch nachweisbar. Es erwies sich darum als nötig, die Ringdoppelbindung vor der Ozonisierung zu schützen. Dies gelang durch Umsetzung von Limonen (**4**) mit *m*-Chlorperbenzoesäure in Chloroform. Es resultierten aus **4a** bzw. **4b** je ein Gemisch von *cis*- und *trans*-1,2-Epoxy-*p*-menth-8-en (**5a** bzw. **5b**) [7]. Behandlung von **5a** bzw. **5b** mit 1,1–1,4 Äquivalenten Ozon in Methylenchlorid und anschliessende Reduktion des Ozonids sowie des Epoxids mit Zn/Eisessig in Gegenwart von Na-Acetat und NaJ [8] ergab nach Reinigung an einer Kieselgelsäule und durch Destillation

reines 4-Acetyl-1-methyl-1-cyclohexen (**6a**) bzw. (**6b**). Die Reduktion des Epoxids ist demnach eindeutig verlaufen. Aus der Konstanz der optischen Drehwerte von Präparaten, die unter variierten Reaktionsbedingungen hergestellt worden waren, ging hervor, dass keine Racemisierung durch Enolisierung der Ketogruppe stattgefunden hatte. Die spektralen Daten der beiden Enantiomeren **6a** und **6b** waren identisch und im Einklang mit der angenommenen Struktur. Aus einem Versuch, in dem das Ozonid von (+)-(4*R*)-1,2-Epoxy-*p*-menth-8-en (**5a**) mit Triphenylphosphin zersetzt wurde, liessen sich nach chromatographischer Trennung die beiden bisher unbekanntenen Zwischenprodukte, das *cis*- bzw. *trans*-(+)-(4*R*)-1,2-Epoxid **7** bzw. **8** in reiner Form gewinnen. Die Konfiguration des Oxiranrings wurde aus den <sup>1</sup>H-NMR.-Daten abgeleitet. Nach *Tori et al.* [9] werden Protonen, die sich in räumlicher Nachbarschaft zu einem Epoxidring befinden, infolge eines Ringstromeffekts entschirmt. Im Isomeren **7** liegt in der energetisch bevorzugten Konformation (Acetylgruppe äquatorial) das 4-Methinproton über der Ebene des Oxiranrings und erscheint als breites Multiplett bei 2,52 ppm. Beim Isomeren **8** hingegen erscheint es bei ca. 2,15 ppm und wird teilweise von den Signalen der Acetylgruppe und der Methylenprotonen überdeckt.

Die Reaktion der beiden Enantiomeren von 4-Acetyl-1-methyl-1-cyclohexen (**6a** bzw. **6b**) mit der *Grignard*-Verbindung von 5-Brom-2-methyl-2-penten (**12**) ergab die gewünschten diastereoisomeren  $\alpha$ -Bisabolole **2a** bzw. **2b** in Ausbeuten von 21–27%<sup>1)</sup>). Es bildeten sich mehrere Nebenprodukte, von denen wir den Alkohol **9** isolierten. Die beiden  $\alpha$ -Bisabolole **2a** und **2b** zeigten in Chloroform eine optische Drehung von  $[\alpha]_D^{25} = +64,0^\circ$  bzw.  $-60,2^\circ$ <sup>2)</sup>). Zur weiteren Charakterisierung wurden die beiden Präparate mit HCl-Gas in Äther in das bekannte krist. Bisabolen-trihydrochlorid [14] übergeführt. Durch diese Synthese wird die absolute Konfiguration der natürlichen Bisabolole an C(1') festgelegt, nämlich die *R*-Konfiguration für (+)- $\alpha$ -Bisabolol bzw. die *S*-Konfiguration für (–)- $\alpha$ -Bisabolol. Die Versuche, das synthetisierte Diastereoisomerengemisch des  $\alpha$ -Bisabolols mit Hilfe von Gas-, Dünnschicht- oder Säulen-Chromatographie an Kieselgel zu trennen, verliefen bisher erfolglos.

Das für die Synthese von (+)-[1,8-<sup>14</sup>C]-(1'*R*,6*R*,*S*)- $\alpha$ -Bisabolol (**2a**) und (–)-[1,8-<sup>14</sup>C]-(1'*S*,6*R*,*S*)- $\alpha$ -Bisabolol (**2b**) benötigte [1,6-<sup>14</sup>C]-5-Brom-2-methyl-2-penten (**12**) wurde wie folgt bereitet: [<sup>14</sup>C]-Methyljodid (**10**) [hergestellt durch Behandlung von [<sup>14</sup>C]-BaCO<sub>3</sub> mit konz. H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, Reduktion des freigesetzten <sup>14</sup>CO<sub>2</sub> mit LiAlH<sub>4</sub> in (2+3)-Tetrahydrofurfuryloxy-tetrahydropyran zu [<sup>14</sup>C]-Methanol, Überführung des letzteren in den krist. 3,5-Dinitrobenzoesäure-[<sup>14</sup>C]-methylester und Umsetzung des Esters mit 57proz. HJ bei 145°] wurde nach einem modifizierten Verfahren von *Julia et al.* [15] mit Mg in die *Grignard*-Verbindung übergeführt und diese mit Cyclopropyl-

1) *Ruzicka & Liguori* [6] geben für die Reaktion mit racemischem Ausgangsmaterial eine Ausbeute von 56% an und *Gutsche et al.* [10], die mit einem Überschuss an *Grignard*-Verbindung arbeiteten, eine solche von 40%.

2) Versuche zur Verbesserung der Ausbeuten mit Hilfe der Li-Verbindung schlugen fehl, da weder 5-Brom-2-methyl-2-penten noch 5-Chlor-2-methyl-2-penten mit Li reagierten.

3) Für natürliches  $\alpha$ -Bisabolol wurden die folgenden optischen Drehwerte gefunden:

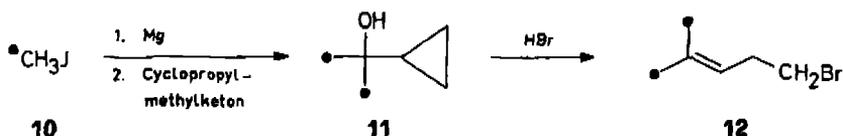
Präparat aus *Populus balsamifera*:  $[\alpha]_D^{20} = +51,7^\circ$  [11];

Präparat aus *Matricaria chamomilla*:  $[\alpha]_D = -55,7^\circ$  [12];

Präparat aus *Myoporum crassifolium*:  $[\alpha]_D^{20} = -67,6^\circ$  [13].

Anscheinend handelt es sich bei diesen pflanzlichen Präparaten um drei der vier möglichen optischen Isomeren.

methyl-ke-ton in [ $^{14}\text{C}$ ]-Dimethyl-cyclopropyl-methanol (**11**) umgewandelt. Behandlung von **11** mit 48proz. HBr bei 10–15° ergab radioaktives 5-Brom-2-methyl-2-penten (**12**) [19], das wie oben beschrieben über die Grignard-Verbindung mit (+)-(R)- bzw. (-)-(S)-4-Acetyl-1-methyl-1-cyclohexen (**6a** bzw. **6b**) umgesetzt wurde.



**3. Einbauversuche.** - Je 100 mg der beiden radioaktiven  $\alpha$ -Bisabolole (**2a**) (1,433 mCi) bzw. (**2b**) (1,581 mCi) wurden in äthanolischer Lösung zu wachsenden Kulturen von *Myrothecium roridum* (Kulturansätze von je 10 Liter) wie üblich zugegeben und die gebildeten Metabolite, Verrucarin A und Roridin A und D, isoliert [3] [16]. Die Stabilität von  $\alpha$ -Bisabolol (**2**) unter den Kulturbedingungen war vorgängig verifiziert worden. Die drei isolierten Antibiotica beider Versuche wiesen keine signifikante Radioaktivität auf. Infolgedessen erübrigte sich die hydrolytische Spaltung zu Verrucarol (**3**).

Das negative Ergebnis dieser Einbauversuche bestätigt, in Übereinstimmung mit dem Nachweis von *cis,trans*-Farnesol als Vorläufer [4], dass ein monocyclisches Sesquiterpen vom Bisabolan-Typ kein biogenetisches Zwischenprodukt der Trichothecan-Biosynthese ist. Zum gleichen Schluss sind kürzlich auch *Forrester & Money* [17] bezüglich der Bildung von Trichothecin in *Trichothecium roseum* gekommen, indem sie weder eine signifikante Inkorporation von  $\alpha$ -Bisabolol (**2**) noch von  $\gamma$ -Bisabolen (**1**) in den Metaboliten beobachten konnten.

Wir danken dem Schweizerischen Nationalfonds zur Förderung der wissenschaftlichen Forschung und der Sandoz AG., Basel, für die grosszügige Unterstützung unserer Arbeit.

### Experimenteller Teil

**1. Allgemeines.** Alle Smp. wurden auf dem Kofler-Block bestimmt und sind korrigiert. Fehlergrenze bis 200° ca.  $\pm 2^\circ$ , darüber  $\pm 3^\circ$ . Die Siedepunkte bei Normaldruck wurden nach der Siwoloboff-Methode bestimmt und sind nicht korrigiert. Die Siedepunkte bei reduziertem Druck wurden während der Destillation bestimmt und sind nicht korrigiert.

Die spezifischen Drehungen wurden mit einem Perkin-Elmer-Polarimeter, Modell 141, die UV.-Spektren mit einem Beckman-D.K.2-Spektrophotometer, die IR.-Spektren mit einem Beckman-IR-8-Spektrometer und die NMR.-Spektren mit einem Varian-A-60-NMR.-Spektrometer aufgenommen. (Bei den NMR.-Spektren bedeuten: *s* = Singulett, *d* = Dublett *t* = Triplett, *q* = Quadruplett, *m* = Multiplett). Die Mikroanalysen verdanken wir dem Mikroanalytischen Laboratorium des Instituts für Organische Chemie der Universität Basel (E. Thommen).

Die Radioaktivitätsbestimmungen wurden von Herrn Dr. F. Kalberer im Isotopenlaboratorium der Firma Sandoz AG, Basel, ausgeführt. Die organischen Substanzproben wurden in Toluol-Scintillator gelöst und die Aktivität auf einem Tri-Carb (Packard) Liquid Scintillation Spectrometer, Modell 3375, durch Direktmessung bestimmt. (Zählhausbeutebestimmung nach der Internal Standard Methode). Für die Radiochromatogramme wurde ein Packard Precision Ratemeter, Series 260, verwendet.

Für die *Gas-Chromatographie* (GC.) diente ein *F & M-Laboratory-Chromatograph*, Modell 700, Trägergas He (Abkürzung F & M) oder ein *Aerograph-1520-Gas-Chromatograph*, Trägergas He (Abkürzung Ae 1520). Gasfluss, wenn nicht anders angegeben, 25 ml/Min.; Ret.-Zeit = Retentionszeit. Es wurden folgende Säulen verwendet:

*F & M*: 1) 6' × 1/4" Aluminiumkolonne, Füllmaterial 10proz. Carbowax 20 M auf 60/80 mesh Chromosorb W, DMCS, aw (Abkürzung Carbowax 20 M). 2) 6' × 1/4" Aluminiumkolonne, Füllmaterial: 10proz. SE 30 auf 80/100 mesh Chromosorb W (Abkürzung SE 30). 3) 6' × 1/4" Aluminiumkolonne, Füllmaterial: 10proz. Poly-*m*-Phenyläther (6-Ring) auf 60/80 mesh Chromosorb W, DMCS, aw (Abkürzung PPE).

*Ae 1520*: 1) 5 m × 1/8" Glaskolonne, Füllmaterial: 3proz. SAIB auf 60/80 mesh Chromosorb G, DMCS, aw (Abkürzung SAIB). 2) 5 m × 1/8" Glaskolonne, Füllmaterial: 3proz. OV 17 auf 60/80 mesh Chromosorb G, DMCS, aw (Abkürzung OV 17).

Zur *Säulenchromatographie* (SC.) nach der Durchlaufmethode diente «Kieselgel 0,05–0,20 mm für die Chromatographie» der Firma *Merck*. Für die *Dünnschichtchromatographie* (DC.) wurde «Kieselgel G nach Stahl für die Dünnschichtchromatographie» der Firma *Merck* verwendet, wobei ungefähr 2proz. Zinksilikat zugesetzt wurde. Die Flecke wurden im allgemeinen durch Bestrahlung mit UV-Licht, durch J<sub>2</sub>-Dämpfe, sowie nachfolgendes Besprühen mit einer Lösung von 3proz. Vanillin/0,5proz. konz. H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> in 96proz. Äthanol und kurzes Erwärmen auf 120–130° sichtbar gemacht.

2. (+)-(4*R*)-1,2-Epoxy-*p*-menth-8-en (**5a**) aus (+)-Limonen (**4a**). Zu einer Lösung von 12,9 g (+)-Limonen (**4a**),  $[\alpha]_D^{25} = +118^\circ$ , in 100 ml Chloroform wurde bei  $-10^\circ$  während 30 Min. unter starkem Rühren eine Lösung von 19,1 g 86proz. *m*-Chlorperbenzoesäure (entspr. 16,4 g aktiver Persäure, 95 mmol) in 250 ml Chloroform so getropft, dass die Temp. nicht über  $-5^\circ$  stieg. Nach Weiterrühren während 30 Min. bei  $-10^\circ$  und einer Std. bei RT. wurden 3,8 g NaOH (95 mmol) in 100 ml H<sub>2</sub>O zugegeben und die organische Phase abgetrennt, 2mal mit 5proz. Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>-Lösung und einmal mit ges. NaCl-Lösung gewaschen und über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet. Nach Entfernen des Lösungsmittels i. V. wurde das Reaktionsgemisch an einer Säule mit 15facher Menge an Kieselgel (Pentan/Äther 8:2) gereinigt und anschliessend im *Hickmann*-Apparat bei 98–100°/14 Torr destilliert. Es wurden 9,0 g (+)-(4*R*)-1,2-Epoxy-*p*-menth-8-en (**5a**) (62,3%) gewonnen, die nach GC. (F & M/PPE, Kolonnentemp. 110°, Ret.-Zeit 9,8 Min.) 95,2% rein waren. Nach DC. (Pentan/Äther 8:2, Rf 0,56, Anfärbung mit Vanillin/Schwefelsäure dunkelviolett) konnten nur Spuren von Verunreinigungen festgestellt werden. Zur Analyse wurde mehrmals im Kugelrohr destilliert. - Sdp. 202°/738 Torr;  $n_D^{25} = 1,4622$ ;  $d_4^{25} = 0,9260$ .  $[\alpha]_D^{25} = +64,2^\circ \pm 0,4^\circ$  ( $c = 1,22$ , Chloroform); Lit.-Werte für *cis*-Epoxid:  $[\alpha]_D^{25} = +55,0$ ; für *trans*-Epoxid:  $[\alpha]_D^{25} = +92,7^\circ$  [7].

C<sub>10</sub>H<sub>16</sub>O (152,2) Ber. C 78,89 H 10,59% Gef. C 79,08 H 10,79%

NMR. (CDCl<sub>3</sub>): Die Signale des *cis*- bzw. *trans*-Epoxids besitzen verschiedene chemische Verschiebungen: u. a. Signale bei 1,31 und 1,33 (2 s, zusammen 3 H an C(7)); 1,68 und 1,69 (2 t, zusammen 3 H an C(9),  $J = 1,2$  Hz); 3,02 (*m*, 1 H an C(2)); 4,68 und 4,73 (2 q, zusammen 2 H an C(10),  $J = 1,2$  Hz) ppm. - IR. (Film): u. a. Banden bei 3070, 2960, 2930, 2860, 1642 (C=CH<sub>2</sub>), 1435, 1380, 1360, 1185, 1120, 1040, 890, 840 und 760 (trisubstit. Epoxid) cm<sup>-1</sup>.

3. (-)-(4*S*)-1,2-Epoxy-*p*-menth-8-en (**5b**) aus (-)-Limonen (**4b**). Aus 11,8 g (-)-Limonen (**4b**),  $[\alpha]_D^{25} = -106^\circ$ , und 19,1 g 86proz. *m*-Chlorperbenzoesäure (entsprechend 16,4 g aktiver Persäure) wurden wie oben beschrieben 8,7 g (-)-(4*S*)-1,2-Epoxy-*p*-menth-8-en (**5b**) (66%) gewonnen, das nach DC. einheitlich war und den gleichen Rf-Wert aufwies wie **5a**. - Sdp. 201°/740 Torr;  $n_D^{25} = 1,4630$ ;  $[\alpha]_D^{25} = -54,5^\circ$  ( $c = 1,107$ , Chloroform) (Vgl. [10]). - Die NMR.- und IR.-Spektren stimmten mit denjenigen von **5a** überein.

C<sub>10</sub>H<sub>16</sub>O (152,2) Ber. C 78,89 H 10,59% Gef. C 79,14 H 10,59%

4. (+)-(R)-4-Acetyl-1-methyl-1-cyclohexen (**6a**). Eine Lösung von 6,1 g (+)-(4*R*)-1,2-Epoxy-*p*-menth-8-en (**5a**) (Reinheit 95,2%) in 400 ml trockenem Methylenchlorid wurde 5,5 Std. bei  $-77^\circ$  bis zur leichten Blaufärbung ozonisiert (entspr. 1,09 Äquiv. O<sub>3</sub>). Zur Entfernung des überschüssigen Ozons wurde durch die Lösung während 30 Min. N<sub>2</sub> geleitet. Nach Einengen i. V. auf ca. 50 ml wurde die Lösung unter Schütteln während 15 Min. zu einer gekühlten Suspension von 14,9 g Zn in 36,5 ml Eisessig, 3,4 g Na-Acetat und 10,2 g NaJ getropft. Anschliessend wurde ein Grossteil des restlichen Methylenchlorids i. V. abdestilliert und weitere 110 Min. bei RT. geführt

(Gesamtreaktionsdauer 2,5 Std.). Hierauf wurde das Zn abfiltriert und mehrmals mit Methylchlorid und Eisessig gewaschen. Das Filtrat wurde 6mal mit Methylchlorid extrahiert, die Extrakte 2mal mit 2N NaOH und 2mal mit ges. NaCl-Lösung gewaschen, über  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  getrocknet und i. V. eingedampft. Der Rohextrakt wurde an einer Säule mit 36facher Menge an Kieselgel (Methylchlorid) gereinigt und anschliessend im Kugelrohr bei 90–100°/14 Torr destilliert. Es resultierten 1,97 g (+)-(R)-4-Acetyl-1-methyl-1-cyclohexen (**6a**) (35,7%), das nach DC. (Methylchlorid, Rf 0,39, Anfärbung mit Vanillin/Schwefelsäure zitronengelb) einheitlich war und nach GC. (F & M/Sc 30, Kolonnentemp. 107°, Ret.-Zeit 5,3 Min.) eine Reinheit von 99,0% aufwies. Zur Analyse wurde mehrmals im Kugelrohr destilliert (Reinheit 99,6%). - Sdp. 214°/745 Torr (Zers.);  $n_D^{25} = 1,4674$ ;  $[\alpha]_D^{25} = +122,3^\circ$  ( $c = 1,157$ , Chloroform).

$\text{C}_9\text{H}_{14}\text{O}$  (138,2) Ber. C 78,21 H 10,21% Gef. C 78,15 H 10,49%

NMR. ( $\text{CDCl}_3$ ): u. a. Signale bei 1,67 (s, 3 H an C(7)); 2,18 (s, 3 H,  $\text{COCH}_3$ ); 5,40 (m, 1 H an C(2)). - IR. (Film): u. a. Banden bei 3010, 2960, 2920, 2860, 1710 (C=O), 1440, 1355 ( $\text{CH}_3\text{CO}$ ), 1225, 1170, 1155, 800 (trisubstit. C=C)  $\text{cm}^{-1}$ .

5. (-)-(S)-4-Acetyl-1-methyl-1-cyclohexen (**6b**). 6,1 g (-)-(S)-1,2-Epoxy-p-menth-8-en (**5b**) wurden, wie unter 4. beschrieben, während 88 Min. ozonisiert (entspr. 1,4 Äquiv.  $\text{O}_3$ ). Zur Reduktion des Ozonids und des Epoxids wurden 13 g Zn, 36,5 ml Eisessig, 3,5 g Na-Acetat und 10,2 g NaJ verwendet. Die Reduktionsdauer betrug 2 Std. Es resultierten 2,99 g (-)-(S)-4-Acetyl-1-methyl-1-cyclohexen (**6b**) (54,1%), das nach GC. (F & M/SE 30, Kolonnentemp. 109°, Ret.-Zeit 4,8 Min.) eine Reinheit von 98,8% aufwies. Zur Analyse wurde mehrmals im Kugelrohr destilliert (Reinheit 99,6%). - Sdp. 214°/745 Torr;  $n_D^{25} = 1,4685$ ;  $[\alpha]_D^{25} = -122,7^\circ$  ( $c = 1,483$ , Chloroform).

$\text{C}_9\text{H}_{14}\text{O}$  (138,2) Ber. C 78,21 H 10,21% Gef. C 77,98 H 10,21%

6. Cis- und trans-(+)-(4R)-4-Acetyl-1,2-epoxy-1-methyl-cyclohexan **7** und **8**. 1,68 g (+)-(4R)-1,2-Epoxy-p-menth-8-en (**5a**) (Reinheit 90,9%) in 100 ml trockenem Methylchlorid wurden ozonisiert (entspr. 1,45 Äquiv.  $\text{O}_3$ ). Nach Zugabe von 2,80 g Triphenylphosphin bei -10° wurde i. V. eingedampft. Das Reaktionsgemisch wurde in Pentan/Äther 7:3 aufgenommen und vom ungelösten Triphenylphosphinoxid abfiltriert. Reinigung an einer Säule mit 60facher Menge an Kieselgel (Pentan/Äther 7:3) gab 224 mg reines cis-(+)-(4R)-4-Acetyl-1,2-epoxy-1-methyl-cyclohexan (**7**), 136 mg reines trans-(+)-(4R)-4-Acetyl-1,2-epoxy-1-methyl-cyclohexan (**8**) und 483 mg Gemisch der cis- und trans-Isomeren. Totalausbeute 843 mg (49,0%). Jedes der beiden Isomeren wurde im Kugelrohr destilliert.

cis-(+)-(4R)-4-Acetyl-1,2-epoxy-1-methyl-cyclohexan (**7**): Sdp. ca. 235°/740 Torr;  $n_D^{25} = 1,4619$ ;  $[\alpha]_D^{25} = +50,9^\circ$  ( $c = 0,980$ , Chloroform). Reinheit nach GC. 90% (F & M/PPE, Kolonnentemp. 138°, Ret.-Zeit 12,0 Min.). Die Substanz scheint sich zu zersetzen. Nach DC. (Pentan/Äther 7:3, Rf 0,30; Anfärbung mit Vanillin/Schwefelsäure hellgelb) war die Substanz einheitlich.

$\text{C}_9\text{H}_{14}\text{O}$  (154,2) Ber. C 70,10 H 9,15% Gef. C 69,72 H 8,89%

NMR. ( $\text{CDCl}_3$ ): u. a. Signale bei 2,52 (br. s, 1 H an C(4)); 3,05 (t, 1 H an C(2),  $J = 2,2$  Hz); 2,13 (s, 3 H,  $\text{CH}_3\text{CO}$ ); 1,30 (s, 3 H an C(7)) ppm. - IR. (Film): u. a. Banden bei 2975, 2955, 2850, 1700 (C=O), 1430, 1380, 1357 ( $\text{CH}_3\text{CO}$ ), 1168, 1120, 1030, 960, 835 und 755 (trisubstit. Epoxid)  $\text{cm}^{-1}$ .

trans-(+)-(4R)-4-Acetyl-1,2-epoxy-1-methyl-cyclohexan (**8**): Sdp. ca. 235°/740 Torr;  $n_D^{25} = 1,4649$ ;  $[\alpha]_D^{25} = +91,2^\circ$  ( $c = 0,987$ , Chloroform). Reinheit nach GC. 79% (F & M/PPE, Kolonnentemp. 138°, Ret.-Zeit 15,8 Min.). Die Substanz scheint sich zu zersetzen. Nach DC. einheitlich (Pentan/Äther 7:3, Rf 0,23, Anfärbung mit Vanillin/Schwefelsäure hellgelb).

$\text{C}_9\text{H}_{14}\text{O}$  (154,2) Ber. C 70,10 H 9,15% Gef. C 69,84 H 9,36%

NMR. ( $\text{CDCl}_3$ ): u. a. Signal bei 2,97 (t, 1 H an C(2),  $J = 2,5$  Hz); 2,11 (s, 3 H,  $\text{CH}_3\text{CO}$ ); 1,32 (s, 3 H an C(7)) ppm. - IR. (Film) u. a. Banden bei 2975, 2955, 2860, 1700 (C=O), 1430, 1380, 1353 ( $\text{CH}_3\text{CO}$ ), 1168, 1120, 1020, 953, 840, 750 (trisubstit. Epoxid)  $\text{cm}^{-1}$ .

7. (+)-(1'R,6R,S)- $\alpha$ -Bisabolol (**2a**). Zum Grignard-Reagens aus 102 mg Mg und 652 mg 5-Brom-2-methyl-2-penten (**12**) (Reinheit nach GC. 98%) in 18 ml abs. Äther wurden unter  $\text{N}_2$  552 mg (+)-(R)-4-Acetyl-1-methyl-1-cyclohexen (**6a**) (Reinheit 99%) in 18 ml abs. Äther getropft. Es wurde 3 Std. unter Rückfluss gekocht und 15 Std. bei RT. gerührt. Nach Zugabe von 20 ml ges.  $\text{NH}_4\text{Cl}$ -Lösung und üblichem Aufarbeiten wurde der Rohextrakt an einer Säule mit 300facher Menge an Kieselgel (Methylchlorid) gereinigt.

Es wurden 240 mg leicht verunreinigtes (+)- $\alpha$ -Bisabolol (**2a**) eluiert. Destillation im Kugelrohr bei 160°/14 Torr und nochmalige Reinigung an einer Säule mit 70facher Menge an Kiesgel (Methylenchlorid) gab 188 mg (+)- $\alpha$ -Bisabolol (**2a**) (21,1%), das nach GC. (F & M/SE 30, Kolonnentemp. 160°, Ret.-Zeit 12,3 Min.; F & M/PPE, Gasfluss 50 ml/Min., Kolonnentemp. 178°, Ret.-Zeit 19,2 Min.; F & M/Carbowax 20 M, Kolonnentemp. 141°, Ret.-Zeit 20,5 Min.; Ae 1520/OV 17, Kolonnentemp. 170°, Ret.-Zeit 33 Min.; Ac 1520/SAIB, Kolonnentemp. 200°, Ret.-Zeit 15 Min.) 99,1% rein war. Nach DC. (Methylenchlorid, Rf 0,24; Anfärbung mit Vanillin/Schwefelsäure schmutziggelb) war die Substanz einheitlich. Zur Analyse wurde 3 Std. bei 24°/12 Torr getrocknet. Die Substanz ist ziemlich empfindlich, es konnte bereits kurze Zeit nach der Reinigung leichte Zers. festgestellt werden. – Sdp. 240°/745 Torr (Zers.);  $n_D^{25} = 1,4900$ ;  $[\alpha]_D^{25} = +63,7^\circ$  ( $c = 1,097$ , Chloroform).

$C_{15}H_{26}O$  (222,4) Ber. C 81,02 H 11,79% Gef. C 80,92 H 12,03%

NMR. (CDCl<sub>3</sub>): u. a. Signale bei 1,12 und 1,15 (2 s, zusammen 3 H, H<sub>3</sub>C(7)); 1,65–1,75 (br. s, 9 H an C(1), C(8) und C(7')) und 5,0–5,6 (m, 2 H an C(3) und C(3')) ppm. – IR. (Film): u. a. Banden bei 3440 (OH, br.), 3010, 2970, 2920, 2860, 2840, 1675, 1442, 1380, 1155, 1110, 1020, 830 und 802 cm<sup>-1</sup>.

8. (–)-(1'S,6R,S)- $\alpha$ -Bisabolol (**2b**). Aus 102 mg Mg, 659 mg 5-Brom-2-methyl-2-penten (**12**) und 554 mg (–)-(S)-4-Acetyl-1-methyl-1-cyclohexen (**6b**) wurden wie unter 7. beschrieben 182 mg reines (–)-(1'S)-(6R,S)- $\alpha$ -Bisabolol (**2b**) (20,4%) gewonnen. Die Substanz wies die gleichen Eigenschaften auf wie (+)-(1'R,6R,S)- $\alpha$ -Bisabolol (**2a**) und zeigte auch die gleichen Spektren. Zur Analyse wurde 3 Std. bei 25°/12 Torr getrocknet. – Sdp. 240°/745 Torr (Zers.);  $n_D^{25} = 1,4895$ ;  $[\alpha]_D^{25} = -60,2^\circ$  ( $c = 0,791$ , Chloroform).

$C_{15}H_{26}O$  (222,4) Ber. C 81,02 H 11,79% Gef. C 80,93 H 11,79%

Bei einem Ansatz wurden durch SC. und anschliessende Destillation im Kugelrohr bei 110°/12 Torr 7,5% Reduktionsprodukt des eingesetzten Ketons **6b**: 1-(4-Methyl-3-cyclohexen-1-yl)-äthanol (**9**) isoliert und mittels DC. (Methylenchlorid, Rf 0,11, Anfärbung mit Vanillin/Schwefelsäure hellgrün), GC. (F & M/SE 30, Kolonnentemp. 118°, Ret.-Zeit 7 Min.) und der NMR.- und IR.-Spektren identifiziert. – IR. (Film): u. a. Banden bei 3460 (OH, br.), 3015, 2970, 2920, 2840, 1675, 1445 und 1380 cm<sup>-1</sup>.

9. Bisabolen-trihydrochlorid. In eine Lösung von 101 mg  $\alpha$ -Bisabolol (**2**) in 2 ml abs. Äther wurde 2 Std. bei –20° trockenes HCl-Gas eingeleitet und anschliessend 2,5 Tage bei RT. stehen gelassen. Nach Abdampfen wurde mehrmals Äther zugegeben und wieder abgedampft, um überschüssiges HCl zu entfernen. Zweimalige Umkristallisation aus abs. Äthanol gab nach Trocknen bei 25°/0,01 Torr während 15 Std. 25 mg Bisabolen-trihydrochlorid (17,6%), Smp. 77,5–78°. Im Lauf der DC. zersetzt sich die Substanz.

$C_{15}H_{27}Cl_3$  (313,7) Ber. C 57,42 H 8,67% Gef. C 57,56 H 8,83%

NMR. (CDCl<sub>3</sub>): u. a. Signale bei 1,53 (s, 3 H); 1,60 (s, 6 H); 1,62 (s, 3 H) ppm. – IR. (CHCl<sub>3</sub>): u. a. Banden bei 2940, 2870, 2840, 1440, 1382 und 1372 (gem.-Dimethyl) cm<sup>-1</sup>. (KBr): 3000, 2975, 2960, 2875, 2850, 1465, 1385, 1310, 1235, 1145, 973, 930, 880 und 775 cm<sup>-1</sup>.

10. 3,5-Dinitrobenzoesäure-[<sup>14</sup>C]-methylester. An eine Hochvakuumlinie wurden angeschlossen: ein Kolben mit 987,7 mg [<sup>14</sup>C]-BaCO<sub>3</sub> (34,39  $\mu$ Ci/mg; Totalaktivität: 33,96 mCi), ein Kolben mit 15 ml konz. H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, ein leerer Kolben, ein Reaktionskolben mit einer Suspension von 575 mg LiAlH<sub>4</sub> in 7 ml (2+3)-Tetrahydrofurfuryloxy-tetrahydropyran (*Fluka, pract.*, über Na<sub>2</sub>O getrocknet, abfiltriert und 2mal destilliert; Sdp. 106–108°/6 Torr), ein Kolben mit 20 ml 2N NaOH.

Die LiAlH<sub>4</sub>-Suspension wurde eingefroren und allmählich evakuiert, ebenso die NaOH-Lösung; das ganze übrige System wurde ebenfalls auf 0,001 Torr evakuiert. Hierauf wurde H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> vorsichtig zum BaCO<sub>3</sub> getropft und das freigesetzte CO<sub>2</sub> in den leeren (mit flüssiger Luft gekühlten) Kolben kondensiert. Nach Abklingen der CO<sub>2</sub>-Entwicklung wurde noch 20 Min. mit dem Föhn geheizt bis keine Gasbildung mehr sichtbar war. Die gasvolumetrische Bestimmung des CO<sub>2</sub> mit Hilfe des Hg-Manometers liess auf vollständige Umsetzung schliessen. Hierauf wurde das CO<sub>2</sub> in den Reaktionskolben mit der LiAlH<sub>4</sub>-Suspension kondensiert. Bei offenem Hahn zum Manometer wurde das Reaktionsgemisch aufgetaut und, sobald dies möglich war, magnetisch gerührt. Die Reduktion des CO<sub>2</sub> zu Methanol wurde bei RT. während 140 Min. durchgeführt, und

nur bei starkem Temperaturanstieg wurde mit Eiswasser gekühlt. Der Manometerstand änderte sich bereits nach 60 Min. nicht mehr, jedoch wurden bei längerer Reaktionsdauer bessere Ausbeuten erzielt. Das unreaktierte  $\text{CO}_2$  wurde in der  $\text{NaOH}$ -Lösung absorbiert. Radioaktivitätsbestimmung hiervon zeigte, dass nur  $0,1 \mu\text{Ci CO}_2$  (0,003%) nicht umgesetzt worden war.

Der Reaktionskolben wurde hierauf an die Destillationsapparatur angeschlossen. Nach 15 Min. Spülen der Apparatur mit trockenem  $\text{H}_2$  wurde die Kühlfalle mit flüssigem Stickstoff gekühlt und 10 ml Tetrahydrofurfurylalkohol (*Fluka, purum*, durch neutrales  $\text{Al}_2\text{O}_3$ , Akt. Stufe I, filtriert und destilliert; Sdp.  $61^\circ/7$  Torr), während 25 Min. zugetropft, wobei starke  $\text{H}_2$ -Entwicklung und starkes Erwärmen auftrat. Hierauf wurde das freigesetzte Methanol während 3 Std. im schwachen  $\text{H}_2$ -Strom bei  $110^\circ$  in die Kühlfalle destilliert. Diese wurde an die Hochvakuumlinie angeschlossen und allmählich auf 0,001 Torr evakuiert. Ebenso wurde ein leerer Kolben sowie eine Ampulle, die 1,54 g 3,5-Dinitrobenzoylchlorid (*Fluka, purum*) in 5 ml abs. Pyridin enthielt, an die Hochvakuumlinie angeschlossen und nach Kühlung auf  $-190^\circ$  allmählich evakuiert. Das Methanol wurde aus der Kühlfalle allmählich in den leeren Kolben umgefroren (die Manometerdifferenz liess auf eine Ausbeute von 91,5% schliessen), und von dort in die Ampulle, die hierauf zugeschmolzen wurde. Das Reaktionsgemisch wurde während 5 Min. auf  $70^\circ$  erwärmt und über Nacht bei RT. stehengelassen. Nach Öffnen der Ampulle wurde unter Eiskühlung  $\text{H}_2\text{O}$  zugegeben, das Reaktionsgemisch in Methylchlorid aufgenommen und in einen Scheidetrichter umpipettiert. Es wurde 4mal mit je 100 ml Methylchlorid extrahiert, die Extrakte einmal mit je 100 ml ges.  $\text{NaCl}$ -Lösung, 2N  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ -Lösung, 100 ml 2N  $\text{H}_2\text{SO}_4$  und ges.  $\text{NaCl}$ -Lösung gewaschen, über  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  getrocknet und i. v. abdestilliert. Die Waschwasser, die eine Totalaktivität von  $65,7 \mu\text{Ci}$  (0,2% des eingesetzten  $\text{BaCO}_3$ ) besaßen, wurden verworfen. Das Rohkristallisat wurde 2mal im Kugelrohr bei  $90$ – $100^\circ/0,001$  Torr sublimiert. Es wurden so 1,03 g reines  $^{14}\text{C}$ -Methyl-3,5-dinitrobenzoat (91,0%) gewonnen. Radioaktivität:  $30,0 \mu\text{Ci/mg}$ ; Totalaktivität:  $30,9 \text{ mCi}$ .

Der  $\text{LiAlH}_4$ -Destillationsrückstand wurde weitere 4 Std. wie beschrieben in eine neue Kühlfalle destilliert und das erhaltene Methanol ebenfalls zu 3,5-Dinitrobenzoesäure-methylester umgesetzt. Der Rohextrakt (ca. 3 mg) wurde mit 104 mg inaktivem Ester verdünnt, 5mal im Kugelrohr sublimiert und anschliessend einmal aus Äthanol umkristallisiert. Zur Analyse wurde während 36 Std. bei  $25^\circ/0,001$  Torr getrocknet. Es resultierten 102,8 mg 3,5-Dinitrobenzoesäure-methylester; Radioaktivität:  $1,04 \mu\text{Ci/mg}$ ; Totalaktivität:  $107 \mu\text{Ci}$ .

11.  $^{14}\text{C}$ -Methyljodid (10). Zu einer Lösung von 1,13 g 3,5-Dinitrobenzoesäure- $^{14}\text{C}$ -methylester (28,4 mCi) in 7 ml Acetanhydrid wurden bei  $0^\circ$  50 ml gekühlte 57proz.  $\text{HJ}$  (*Merck*,  $d = 1,70$ ) getropft. Nach Zugabe von 2 ml  $\text{H}_3\text{PO}_3$  und 2 Pt-Tetraedern wurde der Reaktionskolben an die Destillationsapparatur angeschlossen, diese während 15 Min. mit  $\text{H}_2$  gespült und die Kühlfalle vorsichtig auf  $-190^\circ$  gekühlt. Die Reaktion wurde während 1,5 Std. bei  $145^\circ$  durchgeführt und gleichzeitig das entstandene  $^{14}\text{C}$ - $\text{CH}_3\text{J}$  im schwachen  $\text{H}_2$ -Strom in die Kühlfalle destilliert. Am Ende der Kühlfalle konnte keine entweichende Radioaktivität festgestellt werden. Die Kühlfalle wurde hierauf an eine Hochvakuumlinie angeschlossen und evakuiert (0,001 Torr). Ein weiterer Kolben, der 3 ml abs. Äther und etwas  $\text{P}_2\text{O}_5$  enthielt, wurde angeschlossen und bei  $-190^\circ$  evakuiert. Ein dritter Anschluss war mit einer evakuierten Brechsigelampulle verbunden. Der Äther wurde in diese Ampulle umgefroren, ebenso das  $^{14}\text{C}$ - $\text{CH}_3\text{J}$  (10) aus der Kühlfalle. Nach Abschmelzen der Ampulle wurde diese bei  $-10^\circ$  aufbewahrt.

12.  $^{14}\text{C}$ -Dimethyl-cyclopropyl-methanol (11). Die Brechsigelampulle mit  $^{14}\text{C}$ - $\text{CH}_3\text{J}$  (10) in Äther (aus 3,5-Dinitrobenzoesäure- $^{14}\text{C}$ -methylester (5 mmol, Totalaktivität 28,4 mCi)), ein Kolben mit 7 ml abs. Äther und etwas  $\text{P}_2\text{O}_5$ , sowie ein Zwickkolben mit aufgesetztem Aceton/Trockeneis-Kühler, der mit trockenem  $\text{N}_2$  entlüftet werden konnte und 135 mg verriebenes Mg (5,5 mmol) enthielt, wurde an eine Hochvakuumlinie angeschlossen. Im Reaktionskolben wurde auf 0,001 Torr evakuiert, der Äther ins Reaktionsgefäss umgefroren, anschliessend die Brechsigelampulle aufgebrochen und das  $^{14}\text{C}$ - $\text{CH}_3\text{J}$ /Äther-Gemisch ebenfalls in den Reaktionskolben umgefroren. Nach Entlüftung mit trockenem  $\text{N}_2$  wurde der Reaktionskolben von der Hochvakuumlinie abgenommen und aufgewärmt. Nach kurzem Heizen setzte heftige Reaktion ein. Das Reaktionsgemisch wurde 2 Std. bei  $32^\circ$  und 30 Min. bei  $25^\circ$  magnetisch geführt bis nahezu alles Mg verbraucht war. Hierauf wurden 459 mg frisch destilliertes Cyclopropyl-methylketon (5,5 mmol) vom Sdp.  $110^\circ/745$  Torr in 5 ml abs. Äther zugetropft und während 1 Std. unter Rückfluss gekocht.

Nach Zersetzen des Reaktionsgemischs mit 10 ml ges.  $\text{NH}_4\text{Cl}$ -Lösung und üblichem Aufarbeiten wurde der Ätherextrakt auf ein Volumen von 100 ml gebracht (1 ml diente zur Radioaktivitätsbestimmung). Das Lösungsmittel wurde grösstenteils über eine *Vigreux*-Kolonne abdestilliert. Nach Zugabe einer Spatelspitze  $\text{Ag}_2\text{SO}_4$  wurde an der Hochvakuumlinie bei  $50^\circ$  und 0,003 Torr destilliert. Radioaktivität 218  $\mu\text{Ci/ml}$ ; Totalaktivität: 21,8 mCi.

13. 1,6- $^{14}\text{C}$ -5-Brom-2-methyl-2-penten (12).  $^{14}\text{C}$ -Dimethyl-cyclopropyl-methanol (11) (Totalaktivität von 21,8 mCi), das noch etwas Äther enthielt, wurde mit 1 ml 48proz. HBr bei  $10^\circ$  während 25 Min. kräftig geschüttelt. Das Reaktionsgemisch wurde 3mal mit je 25 ml Pentan extrahiert, die Extrakte 2mal mit je 25 ml ges. NaCl-Lösung, einmal mit 25 ml ges.  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ -Lösung und weitere 2mal mit je 25 ml ges. NaCl-Lösung gewaschen und über  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  getrocknet. Nach Abfiltrieren des  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  auf einer Glasfritte wurde unter Verwendung einer *Vigreux*-Kolonne eingedampft und während 1 Min. bei  $25^\circ/12$  Torr getrocknet. Es resultierten 578 mg farbloses 1,6- $^{14}\text{C}$ -5-Brom-2-methyl-2-penten (12) (3,55 mmol). Totalaktivität: 20,1 mCi.

14. 1,8- $^{14}\text{C}$ -(-)-(1'R,6R,S)- $\alpha$ -Bisabolol (2a). An eine Hochvakuumlinie wurden ein Kolben mit 292 mg 1,6- $^{14}\text{C}$ -5-Brom-2-methyl-2-penten (12) (Aktivität 10,2 mCi), ein Kolben mit 196 mg inaktivem 5-Brom-2-methyl-2-penten, ein Kolben mit 3 ml abs. Äther und etwas  $\text{P}_2\text{O}_5$ , sowie ein Zweihalskolben mit aufgesetztem Aceton/Trockeneis-Kühler, der über einen Hahn mit trockenem  $\text{N}_2$  entlüftet werden konnte und 84 mg verriebenes Mg (3,44 mmol) enthielt, angeschlossen. Letzterer wurde bei 0,001 Torr ausgeheizt und dann abgekühlt, die anderen nach Einfrieren mit flüssigem  $\text{N}_2$  evakuiert. Alle Reaktionskomponenten wurden in den Reaktionskolben umgefroren, derselbe mit trockenem  $\text{N}_2$  entlüftet und nach Auftauen von der Hochvakuumlinie abgenommen. Nach Zugabe von etwas  $\text{J}_2$  und 5 Min. Heizen setzte heftige Reaktion ein. Während 2,5 Std. wurde unter Rückfluss gekocht bis fast alles Mg verbraucht war.

Hierauf wurden 447 mg (+)-(R)-4-Acetyl-1-methyl-1-cyclohexen (6a) (3,24 mmol) in 10 ml abs. Äther zugetropft, während 2 Std. unter Rückfluss gekocht und über Nacht bei  $R1'$  magnetisch gerührt. Nach Zugabe von 10 ml ges.  $\text{NH}_4\text{Cl}$ -Lösung wurde wie bei Versuch 7. aufgearbeitet. Der stark verunreinigte Rohextrakt wurde an einer Säule mit 300facher Menge an Kieselgel (Methylenchlorid) chromatographiert.

Anschliessende sorgfältige Destillation im Kugelrohr bei  $150^\circ/12$  Torr und nochmalige Reinigung an einer Säule mit 100facher Menge an Kieselgel gab 143 mg reines 1,8- $^{14}\text{C}$ -(-)-(1'R,6R,S)- $\alpha$ -Bisabolol (2a);  $[\alpha]_D^{25} = +64^\circ \pm 3^\circ$  ( $c = 0,96$ , Chloroform). Radioaktivität: 14,9  $\mu\text{Ci/mg}$ ; Totalaktivität: 2,14 mCi.

15. 1,8- $^{14}\text{C}$ -(-)-(1'S,6R,S)- $\alpha$ -Bisabolol (2b). Aus 286,2 mg 1,6- $^{14}\text{C}$ -5-Brom-2-methyl-2-penten (12) (Aktivität 9,96 mCi), 205 mg inaktivem 5-Brom-2-methyl-2-penten, 84 mg Mg und 440,5 mg (-)-(S)-4-Acetyl-1-methyl-1-cyclohexen (6b) (3,19 mmol) wurden ebenso 141,1 mg reines 1,8- $^{14}\text{C}$ -(-)-(1'S,6R,S)- $\alpha$ -Bisabolol (2b) erhalten;  $[\alpha]_D^{25} = -60^\circ \pm 2^\circ$  ( $c = 0,797$ , Chloroform). Radioaktivität: 14,4  $\mu\text{Ci/mg}$ ; Totalaktivität: 2,04 mCi.

16. Versuch zum Einbau von 1,8- $^{14}\text{C}$ -(-)-(1'R,6R,S)- $\alpha$ -Bisabolol (2a). Die Ansätze wurden in der Fa. *Sandoz AG.* durchgeführt. Ein Fermenter mit 10 l sterilisierter Nährlösung (7 g *Casamino acids*, 2 g  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , 2 g  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ , 20 g Glucose, 2 g Malzextrakt, 2 g Pepton, 2 g Hefextrakt *ad 1 l aqua dest.*) wurde mit 50 ml Sporensuspension von *Myrothecium roridum*, Stamm S 1135, geimpft und bei  $27^\circ$  (450 rpm) und Luftdurchfluss (0,4 l/l Kulturbrühe  $\cdot$  Min.) gerührt. Nach 50 Std. wurde eine steril-filtrierte Lösung von 96 mg 2a der Aktivität 1,43 mCi in 20 ml abs. Äthanol steril zugegeben. Nach 24 Std. waren 200 mg/l Roridin A und 40 mg/l Verrucarin A nachweisbar. Nach 49 Std. wurde die Kulturbrühe mit dem Mixer homogenisiert, 4mal mit je 10 l Essigester extrahiert und die organischen Phasen 3mal mit je 2 l  $\text{H}_2\text{O}$  gewaschen. Nach Abdestillation des Lösungsmittels wurden 11,2 g Rohextrakt gewonnen, der an einer Kieselgelsäule (Methylenchlorid mit 0,5–2% Methanol) gereinigt wurde.

Das rohe *Verrucarin A* wurde an einer Kieselgelsäule nachgereinigt und mehrmals aus Methylenchlorid/Äther umkristallisiert. Ausbeute 550 mg. 1. Kristallisat: Smp.  $> 330^\circ$  (Zers); 27 dpm/mg. 2. Kristallisat: Smp.  $> 330^\circ$  (Zers.); 22 dpm/mg.

Das Rohkristallisat von *Roridin A* wurde zuerst an einer Kieselgelsäule gereinigt und anschliessend 4mal aus Methylenchlorid/Äther umkristallisiert; Ausbeute 2,88 g. 1. Kristallisat: Smp.  $195\text{--}203^\circ$ ; 6 dpm/mg. 2. Kristallisat: Smp.  $195\text{--}200^\circ$ ; 4 dpm/mg.

17. Versuch zum Einbau von 1,8-<sup>14</sup>C-(-)-(1'S,6R,S)- $\alpha$ -Bisabolol (2b). Der Ansatz wurde wie unter 16. beschrieben durchgeführt. Als «Tracer» wurde eine steril-filtrierte Lösung von 109,5 mg 2b (Aktivität: 1,58 mCi) in 20 ml abs. Äthanol verwendet. Es resultierten:

*Verrucarin A*: Ausbeute 230 mg. 1. Kristallisat: Smp. > 330° (Zers.); 10 dpm/mg. 2. Kristallisat: Smp. > 330° (Zers.); 9 dpm/mg. 3. Kristallisat: Smp. 330°; 9 dpm/mg.

*Roridin A*: Ausbeute 2,48 g. 1. Kristallisat: Smp. 198–206°; 26 dpm/mg. 2. Kristallisat: Smp. 196–204°; 25 dpm/mg. 3. Kristallisat: Smp. 199–205°; 25 dpm/mg.

*Mischfraktionen*, die Roridin D und Roridin E enthielten, wurden aus Methylenchlorid/Äther/Petroläther umkristallisiert. In den stark verunreinigten Mutterlaugen war Roridin E angereichert, während das Kristallisat hauptsächlich Roridin D enthielt.

*Roridin D*: Das Rohkristallisat wurde an einer Kieselgelsäule gereinigt und anschliessend 6mal aus Methylenchlorid/Äther umkristallisiert; Ausbeute 250 mg. 1. Kristallisat: Smp. 227–230°; 7 dpm/mg. 2. Kristallisat: Smp. 227–231°; 9 dpm/mg. 3. Kristallisat: Smp. 226–230°; 12 dpm/mg.

*Roridin E*: Die obigen Mutterlaugen wurden an einer Kieselgelsäule chromatographiert und 6mal aus Äther umkristallisiert. Ausbeute 78 mg. 1. Kristallisat: Smp. 173–176°; 161 dpm/mg; 2. Kristallisat: Smp. 175–177°; 153 dpm/mg.

## LITERATURVERZEICHNIS

- [1] 31. Mitt.: B. Müller & Ch. Tamm, Helv. 58, 541 (1975).
- [2] L. Ruzicka, Pure appl. Chemistry 6, 493 (1963); H. P. Sigg, R. Mauli, E. Flury & D. Hauser, Helv. 48, 962 (1965); W. O. Godfredsen & S. Vangedal, Acta chem. Scand. 19, 1088 (1965); P. M. Adams & J. R. Hanson, Chem. Commun. 1970, 1569.
- [3] Cf. Ch. Tamm, XXIIIrd. Internat. Congress of Pure and Applied Chemistry, Spec. Lectures, Vol. 5, p. 49, Butterworth, London 1971.
- [4] B. Achilladelis, P. M. Adams & J. R. Hanson, Chem. Commun. 1970, 511; R. E. Evans, A. M. Holtom & J. R. Hanson, J. chem. Soc. Chem. Commun. 1973, 465; Y. Machida & S. Nozoe, Tetrahedron Letters 1972, 1969; Tetrahedron 28, 5113 (1972); P. M. Adams & J. R. Hanson, Chem. Commun. 1971, 1414; D. Arigoni, D. E. Cane, B. Müller & Ch. Tamm, Helv. 56, 2946 (1973). B. Müller & Ch. Tamm, Helv. 58, 483 (1975).
- [5] Vgl. Diss. Waltraut Knöll, Basel 1970.
- [6] L. Ruzicka & M. Liguori, Helv. 15, 3 (1932).
- [7] W. F. Newhall, J. org. Chemistry 29, 185 (1964); E. E. Roayls & J. C. Leffingwell, ibid. 31, 1937 (1966).
- [8] Vgl. J. W. Cornforth, R. H. Cornforth & K. K. Mathew, J. chem. Soc. 1959, 112.
- [9] K. Tori, K. Kitahonoki, Y. Takano, H. Tamida & T. Tsuji, Tetrahedron Letters 1964, 559; N. S. Bhacca & D. H. Williams, Application of NMR-Spectroscopy in Organic Chemistry, Holden-Day Inc., San Francisco 1964.
- [10] C. D. Gutsche, J. R. Maycock & C. T. Chang, Tetrahedron 24, 859 (1968).
- [11] F. Šorm, M. Vrány & V. Herout, Chem. Listy 46, 364 (1952); Chem. Abstr. 47, 8704a (1953).
- [12] F. Šorm, M. Zaoral & V. Herout, Coll. Czechoslov. Chem. Commun. 16, 626 (1951).
- [13] K. G. O'Brien, A. R. Penfold & R. L. Werner, Austral. J. Chemistry 6, 166 (1953).
- [14] L. Ruzicka & E. Capato, Helv. 8, 259 (1925); R. Y. R. Naves & P. Ardizio, Bull. Soc. chim. France 1954, 334.
- [15] M. Julia, S. Julia & R. Guérgan, Bull. Soc. chim. France 1960, 1072.
- [16] R. Achini, B. Müller & Ch. Tamm, Helv. 57, 1443 (1974).
- [17] J. M. Forrester & T. Money, Canad. J. Chemistry 50, 3310 (1972).