

167. Über die Strukturaufklärung von (Hydroxy-oxo-cyclopentenyl)alkansäuren, den Aldolkondensationsprodukten von Dioxoencarbonsäuren aus Rinderleber

von Rolf Schödel und Gerhard Spiteller*

Lehrstuhl für Organische Chemie I der Universität Bayreuth, Postfach 3008, Universitätsstrasse 30,
D-8580 Bayreuth

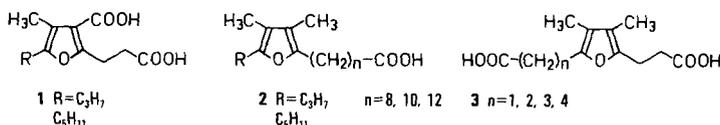
Prof. Dr. Dr. h.c. H.-H. Inhoffen zum 80. Geburtstag gewidmet

(19.VI.85)

Structure Elucidation of (Hydroxy-oxo-cyclopentenyl)alkanoic Acids, the Aldol-Condensation Products of Dioxoene Acids from Cattle Liver

During homogenization of cattle liver the highly instable dioxoene acids **13a**, **13b**, and **13c** are formed. These acids cyclize in alkaline solution to yield pairs of stable (hydroxy-oxo-cyclopentenyl)alkanoic acids, which were isolated as methyl esters **4a/5a**, **4b/5b**, and **4c/5c**. The structures of these compounds were deduced from an enriched 3-mg mixture sample by microchemical reactions combined with a GC/MS analysis of the reaction products. Compound **13a** was obtained as methyl ester by oxidation of the methyl ester of the corresponding F-acid with NaOCl. It was not possible to isolate **13a** in pure form due to its high sensitivity. Instead of the methyl ester of **13a**, **4a** and **5a** were isolated, of which the structures were established.

Einleitung. – Die im Humanurin und -blut vorkommenden Urofuransäuren [1] **1** könnten Abbauprodukte tetrasubstituierter Furancarbonsäuren – sogenannter F-Säuren – **2** sein, die erstmals von *Glass* und *Schlenk* [2] im Fettgewebe von Testes und Leber von Fischen entdeckt wurden. Ausgehend von der Annahme, dass ein Zusammenhang zwischen Urofuransäuren und F-Säuren bestehen könnte, verfütterte *Schlenk* aus Fischen isolierte F-Säuren an Ratten [3], in der Hoffnung, diese würden die F-Säuren zu Urofuransäuren metabolisieren. Entgegen den Erwartungen enthielt der Rattenharn nach dem Verfütterungsexperiment im wesentlichen Carbonsäuren des Typus **3** und nur in Spuren Urofuransäuren. Immerhin verstärkten diese Untersuchungen den Verdacht, dass F-Säuren als Vorläufer der Urofuransäuren anzusehen sind.



Mögliche Vorstufen der Urofuransäuren könnten – wie das Vorkommen von F-Säuren in Fischleber nahelegt [2] – in der menschlichen Leber enthalten sein. Da uns humanes Lebergewebe nicht zur Verfügung stand, griffen wir auf Rinderleber zurück. Über diese Untersuchungen soll im folgenden berichtet werden.

Isolierung von (Hydroxy-oxo-cyclopentenyl)alkansäuren aus Rinderleber. – Wird schlachtfrische Rinderleber im wässrigen Milieu homogenisiert, die Fettfraktion aus dem Homogenisat extrahiert und dann mit NaOH verseift, so erhält man nach Veresterung der erhaltenen Säuren mit CH_2N_2 und anschließender Gradienten-Säulenchromatographie Fraktionen von Methylestern steigender Polarität. In Fraktion D (Cyclohexan/ Et_2O 5:95) dieser Trennung sind Substanzen enthalten, die nach Aussage der MS Furan-Derivate sein könnten. Über die Strukturaufklärung dieser Verbindungen, die sich im Glaskapillargaschromatogramm (GC) durch charakteristische Doppelpeaks zu erkennen geben (Fig. 1), wird im folgenden berichtet.

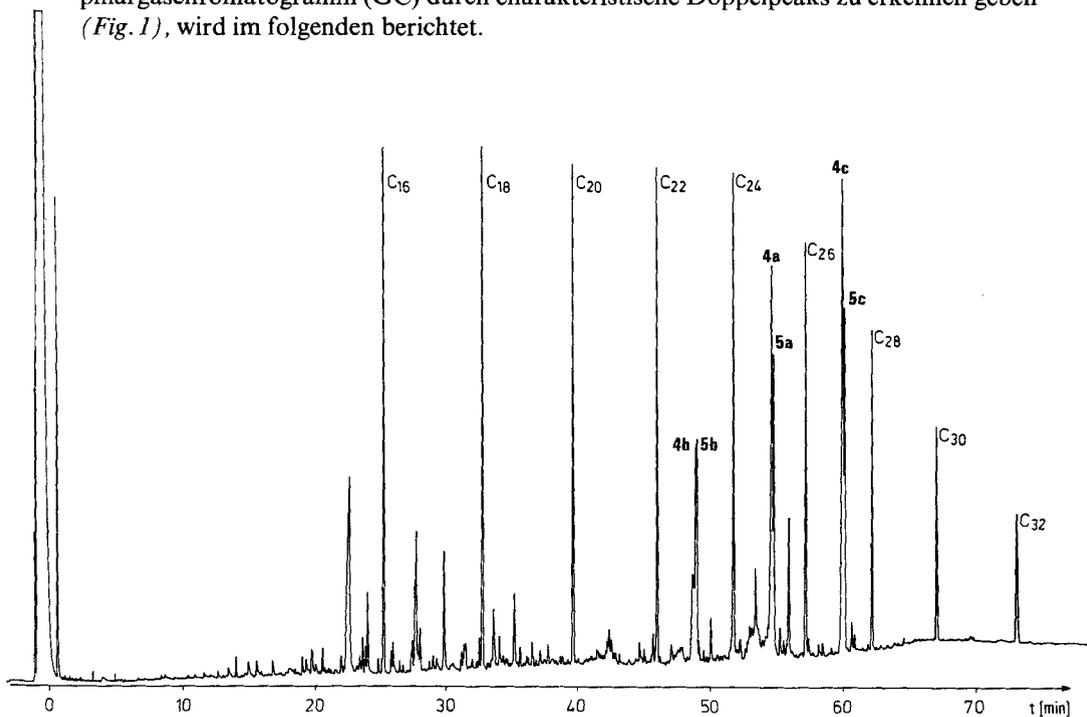


Fig. 1. GC der Fraktion D aus Rinderleberlipidsäuren (Bedingungen: s. Exper. Teil)

Wird eine Leberprobe statt in wässrigem Milieu in gleicher Weise in einem organischen Lösungsmittelgemisch ($\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$) zerkleinert, so fehlen in den GC diese Doppelpeaks. Dies führte zu dem Schluss, dass die diesen Peaks entsprechenden Verbindungen bzw. ihre Vorstufen ursprünglich in der Leber nicht vorhanden sind, sondern erst bei der Zerstörung der Zellen – im wässrigen Medium (intaktbleibende Enzymsysteme!) gebildet werden.

Zur Anreicherung der unbekannteten Verbindungen wurde die Fraktion D aufgetrennt (DC) und weiter gereinigt (HPLC). Auf diese Weise gelang es, die beiden Verbindungen 4a und 5a soweit voneinander zu trennen, dass $^1\text{H-NMR}$ -Messungen ausgeführt werden konnten.

Für die im folgenden beschriebenen chemischen Mikroreaktionen zur Strukturaufklärung reichte der Anreicherungsgrad der Fraktion D aus, da die Umsetzungsprodukte anhand ihrer charakteristischen Doppelpeaks in GC zu erkennen waren.

Strukturaufklärung. – Jedem im GC (*Fig. 1*) angezeigten Doppelppeak entsprechen zwei Verbindungen, die laut Aussage der MS gleiche Masse besitzen (*Fig. 2* und *3*). Die Verbindungen, die in aufeinanderfolgenden Doppelppeaks enthalten sind, unterscheiden sich voneinander jeweils um 28 Masseneinheiten (ME) oder um eine (CH_2CH_2)-Einheit.

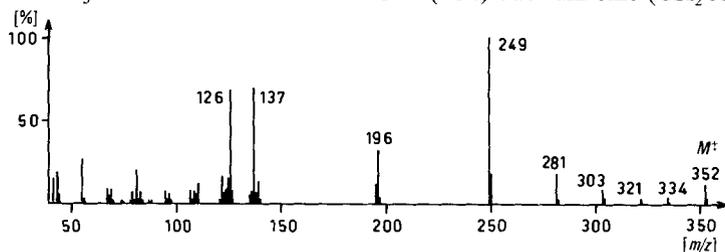


Fig. 2. MS von 4a

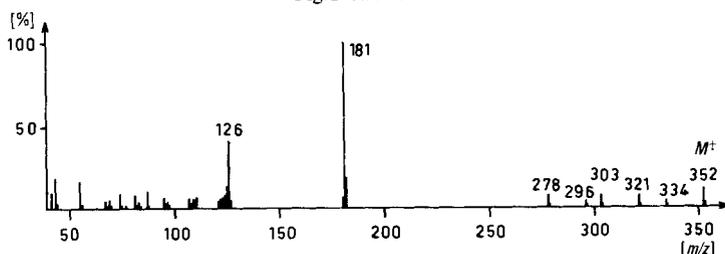
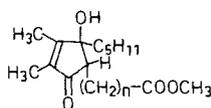
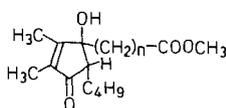


Fig. 3. MS von 5a



4a n=7
b n=5
c n=9



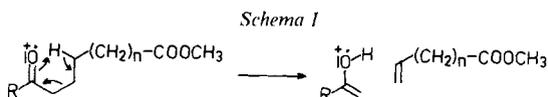
5a n=8
b n=6
c n=10

Durch Hochauflösungsmessungen wurden die Summenformeln der Molekülionenpaare zu $\text{C}_{19}\text{H}_{32}\text{O}_4$ (**4b/5b**), $\text{C}_{21}\text{H}_{36}\text{O}_4$ (**4a/5a**) und $\text{C}_{23}\text{H}_{40}\text{O}_4$ (**4c/5c**) bestimmt. Die Spektren der zwei in einem Doppelppeak angezeigten Verbindungen (*Fig. 2* und *3*) unterscheiden sich ausserordentlich stark bezüglich der Bruchstückbildung. In der einen Reihe der Homologen entstehen Hauptspaltstücke aus dem Molekülion offensichtlich jeweils durch Verlust eines Carbonsäureester-Restes der allgemeinen Formel $(\text{CH}_2)_n\text{COOCH}_3$ ($n = 6, 8, 10$), so dass alle Homologe dieser Reihe durch intensive Schlüsselionen der Masse 181 gekennzeichnet sind (*Fig. 3*). Die Spektren der anderen Reihe sind durch Schlüsselionen der Masse 196 gekennzeichnet sowie durch Ionen, die den Verlust von C_5H_{11} und MeOH anzeigen (Ionen der Masse 277/309, 281/249 und 253/221) (*Fig. 2*). Die Vertreter beider Reihen zeigen ein zusätzliches Schlüsselion der Masse 126, was ihre Verwandtschaft andeutet.

In den Spektren aller Verbindungen finden sich Ionen bei $M^+ - 18$, die auf die mögliche Gegenwart einer OH-Gruppe hinweisen. Um diese Vermutung zu untermauern, wurde eine 50 μg Probe der Fraktion D mit *N*-Methyl-*N*-(trimethylsilyl)trifluoracetamid umgesetzt. GC/MS Untersuchung der Produkte zeigte gegenüber den Ausgangsverbin-

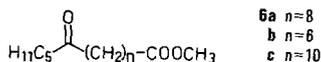
dungen eine Zunahme des Molekulargewichtes um jeweils 72 amu sowie den für Trimethylsilylether charakteristischen Verlust von Trimethylsilanol (90 amu) [4] aus dem Molekülion. Damit war die Gegenwart einer OH-Gruppe in allen Isomeren nachgewiesen. Den Ionen der Masse 181 in den Spektren der einen Reihe der Ausgangsverbindungen entsprechend, treten in den trimethylsilylierten Verbindungen Ionen der Masse 253 (= 181 + 72) auf. Letztere besitzen enorm hohe Intensität – ein Hinweis, dass die ursprüngliche OH-Gruppe an das C-Atom gebunden sein sollte, das auch den langen Carbonsäureester-Rest trägt. Im Gegensatz dazu ist in den Vertretern der zweiten Reihe die Abspaltung von C_5H_{11} aus dem Molekülion die dominierende Abbaureaktion. Hier muss also der C_5H_{11} -Rest an das die OH-Gruppe tragende C-Atom geknüpft sein.

Die Schlüsselionen der Masse 196 in den Isomeren der zweiten Reihe (Fig. 2) entsprechen laut Aussage der Hochauflösungsspektren dem Verlust von $CH_2=CH-(CH_2)_n-COOCH_3$ ($n = 3, 5, 7$). Ihre Bildung kann nur durch H-Transfer erfolgen. Solche H-Übertragungsreaktionen sind insbesondere für *McLafferty*-Umlagerungen an Oxogruppen typisch [5] (Schema 1).



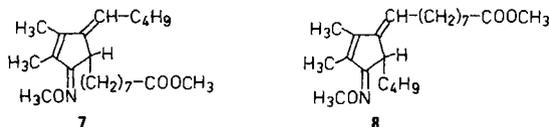
Um die so angezeigte Möglichkeit des Vorhandenseins einer Carbonylgruppe in den Molekülen nachzuweisen, wurden etwa 50 μ g der Fraktion D mit *O*-Methylhydroxylammonium-chlorid umgesetzt [6]. Die Umsetzungsprodukte der Verbindungspaare **4a/5a** und **4c/5c** zeigen im GC wiederum Doppelpeaks. Die zugehörigen MS lassen eine Zunahme des Molekulargewichtes auf 363 bzw. 391 erkennen, entsprechend der erwarteten Methoximbildung, die offenbar von einer H_2O -Abspaltung begleitet ist.

Aus den Bruttoformeln der Ausgangsverbindungen lässt sich das Vorhandensein von vier Doppelbindungsäquivalenten ableiten. Zwei davon müssen nach den eben beschriebenen Versuchen in Form einer Oxo- und einer Methoxycarbonyl-Gruppe vorliegen. Um zu erkennen, ob die Verbindungen (C,C)-Doppelbindungen enthielten, wurde das Material einer Hydrierung mit Pt(IV)-oxid als Katalysator in EtOH unterworfen. Wir erhielten unter diesen Bedingungen nur unumgesetztes Ausgangsmaterial zurück. Dagegen entstanden bei Hydrierung mit Pd/C als Katalysator um 16 amu leichtere Verbindungen. Aus diesen Befunden ist der Schluss zu ziehen, dass die Verbindungen wohl eine hoch substituierte Doppelbindung und dazu allylständig eine OH-Gruppe enthalten, die bei der versuchten Hydrierung mit Pd/C hydrogenolytisch abgespalten worden war [7]. Zur Lokalisierung der Doppelbindung wurde eine Probe des mittels DC angereicherten Estergemisches der Fraktion D einer Ozonolyse unterworfen. Als Hauptprodukte wurden drei homologe Oxocarbonsäure-methylester, **6a**, **6b** und **6c**, erhalten. Ihre Strukturen ergeben sich eindeutig aus den MS [8].



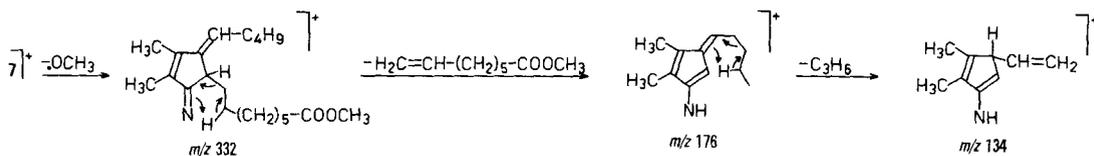
Mit Hilfe der HPLC gelang es – wie vorne erwähnt – die beiden Isomeren **4a** und **5a** soweit anzureichern, dass von beiden Isomeren je ein 1H -NMR-Spektrum aufgenommen

werden konnte. Die NMR-Spektren sind im wesentlichen identisch. Das Fehlen von Resonanzsignalen im Bereich von $\delta = 5-8$ ppm zeigt die Abwesenheit von Protonen, die an eine (C,C)-Doppelbindung gebunden sind. Zwei Quadrupletts ($J = 0,9$ Hz) bei $\delta = 1,58$ ppm und $1,63$ ppm müssen – nach chemischer Verschiebung und Integral – zwei CH_3 -Gruppen an einer Doppelbindung zugeordnet werden [9]. Verbindungen **4a** und **5a** liefern identische UV-Spektren mit einem Absorptionsmaximum bei $\lambda = 231$ nm (in MeOH). Dieser Wert ist charakteristisch für (C,C)-Doppelbindungen, die in Konjugation zu einer Carbonylgruppe stehen. Die Zusammenfassung aller beschriebenen Fakten ergibt als mögliche Formeln die Strukturen **4a** und **5a**.

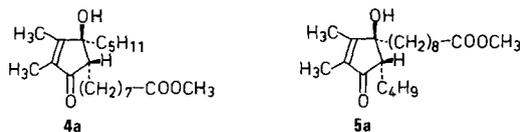


Auch der räumliche Bau der Moleküle lässt sich aus den mikrochemischen Abbauversuchen und den Massenspektren der Reaktionsprodukte erschliessen: Wenn **4a** und **5a** dehydratisiert werden, so entsteht eine Verbindung, in der die nun eingeführte Doppelbindung nicht im Ring sitzt, sondern *exo*-ständig ist. Dies lässt sich aus den Massenspektren der Methoximderivate **7** und **8** klar ableiten, in denen im Fall von **7** nach Verlust von CH_3O und der langen Seitenkette in einer *McLafferty*-Umlagerung ein Ion der Masse 176 entsteht, aus dem dann die Alkylseitenkette wiederum im Zuge einer *McLafferty*-Umlagerung eliminiert wird (*Schema 2*).

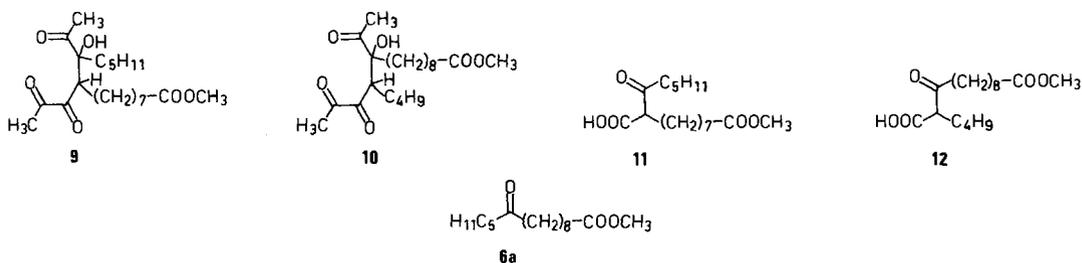
Schema 2



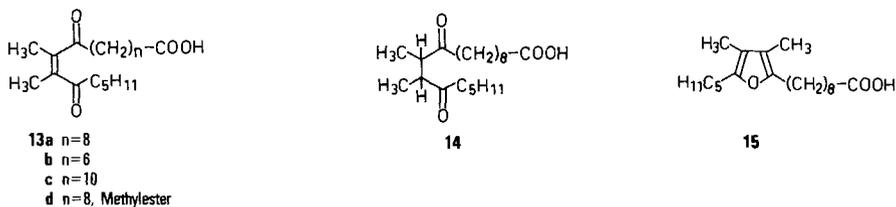
Die H_2O -Eliminierung bei der Oximbildung unter Ausbildung von **7** und **8** ist nur erklärbar, wenn die ringständige OH -Gruppe und das benachbarte H -Atom am Ring zueinander *cis*-ständig sind. Somit haben **4a** und **5a** die folgenden Raumformeln:



Die abgeleiteten Strukturen ermöglichen auch die Erklärung der Entstehung der Ozonolyseprodukte: primär erfolgt die Spaltung der (C,C)-Doppelbindung im Ring und es bilden sich (ausgehend von **4a** und **5a**) **9** und **10**. Diese Zwischenstufen werden weiter abgebaut zu den β -Oxo-säureestern **11** bzw. **12**, welche unter Decarboxylierung in **6a** übergehen.



Die Ähnlichkeit der Isomeren **4a** und **5a** und ihrer Homologen legte die Vermutung nahe, dass sie aus der gemeinsamen Vorstufe **13a** (bzw. **13b** und **13c**) durch Aldolkondensation unter Beteiligung jeweils einer der den Carbonylgruppen benachbarten CH_2 -Gruppen entstanden sein könnten, zumal bei der Aufarbeitung des biologischen Materials (Fettverseifung) NaOH verwendet wurde.

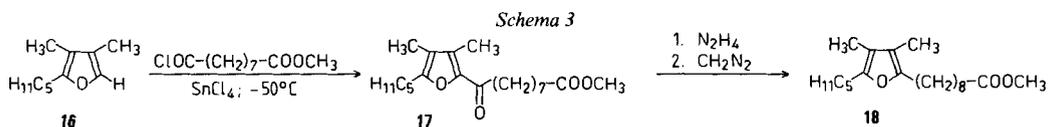


Ein Zusammenhang zwischen den Dicarbonylverbindungen und den F-Säuren ist ersichtlich: Das Dihydroprodukt von **13a**, die Diketosäure **14**, kann durch Ringschluss die entsprechende F-Säure **15** ergeben.

Es ist bekannt, dass der Furanring von F-Säuren durch Lipoxydasen zu Dioxoensäuren geöffnet werden kann [10]. Dementsprechend könnten ursprünglich im Gewebe vorhandene F-Säuren während des Homogenisierungsvorganges in analoger Weise durch lebereigene Enzyme zu den offenkettigen Verbindungen umgesetzt worden sein. Diese wären dann im Zuge der Aufarbeitung zu den (Hydroxy-oxo-cyclopentenyl)alkansäuren cyclisiert.

Strukturbeweis. – Um die nur aus Spektren abgeleiteten Strukturen zu beweisen, synthetisierten wir zunächst den F-Säure-methylester **18** in einer Modifikation des von *Schlenk et al.* [11] angegebenen Weges. Das zunächst nach *Schlenk* dargestellte 3,4-Dimethyl-2-pentylfuran **16** wurde mit Nonandisäurechloridmonomethylester unter SnCl_4 -Katalyse zum Oxo-F-Säuremethylester **17** umgesetzt [12]. Durch nachfolgende *Wolff-Kishner*-Reduktion und anschließende Veresterung mit CH_2N_2 wurde **18** erhalten (*Schema 3*).

Den Furanring öffneten wir oxidativ nach *Takayama* und *Migita* [13] mit NaOCl in H_2O_2 -haltiger Lösung. Durch Aufnahme eines MS des isolierten Rohproduktes über



Experimenteller Teil

1. *Allgemeines.* A) Glaskapillargaschromatogramme (GC): *Carlo-Erba-4160* (Säulenlänge: 30 m (*WCOT, OV 101*), Innendurchmesser: 0,3 mm; Trägergas: H_2 ; Injektortemp.: 280°; Detektortemp.: 280° (FID); Säulentemp.: 80–280° (Programmierung: 2°/min). B) GC/MS: *Varian-3700*-Gaschromatograph, gekoppelt mit einem *Varian-MAT-312*-Massenspektrometer mit kombinierter EI/CI-Ionenquelle; Ionisierungsenergie: 70 eV, Datensystem-*MAT-SS-200, PDP-11/34*-Rechner, GC-Bedingungen wie unter A. Bruttoformeln wurden durch 'peak matching' [16] am selben Gerät bestimmt. C) HPLC: *Hyperchrome*-Fertigsäule (*Shandon ODS Hypersil, 3 μ*; Fa. *Bischoff, Leonberg*), gekoppelt mit folgenden Komponenten (Fa. *LKB, Bromma*): HPLC-Pump-2150, HPLC-Controller-2152, UV-Detektor *Uvicord-SD-2158*; 2-Kanalschreiber 2210. D) Säulenchromatographie: Glassäule (8 mm Innendurchmesser), 3 g Kieselgel 60 (*Fluka AG, Buchs*) in Cyclohexan. E) DC: Glasplatten 20 × 20 cm, 1 mm dick, beschichtet mit Kieselgel *PF₂₅₄* (Fa. *Merck, Darmstadt*), 1 h bei 110° aktiviert, Entwicklungskammer (Fa. *Desaga, Heidelberg*) mit 50 ml Laufmittel beschichtet, 1 h Kammersättigung. F) Ozonolyse: Ozongenerator *Modell 500* (Fa. *Fischer, Meckenheim*). G) UV (EtOH): *Beckman DU 8* Spektrophotometer. H) IR ($CHCl_3$): *Perkin-Elmer-PE-297. 1*) 1H -NMR (C_6D_6): *Bruker-WM-250*, TMS als innerer Standard. J) Die Trägergase wurden in einem Trockenturm (Blaugel, Molekularsieb) nachgetrocknet. K) Sämtliche Lsgm. wurden vor Gebrauch destilliert.

2. *Isolierung der (Hydroxy-oxo-cyclopentenyl)alkansäure-methylester.* Frische Rinderleber (500 g) wurde unter Zusatz von 200 ml dest. H_2O im Haushaltsmixer grob zerkleinert und anschliessend mit einem *Ultra-Turrax*-Antrieb (Fa. *Janke & Kunkel, Staufen i. Br.*) 20 min homogenisiert. Der Leberbrei wurde in zwei Portionen mit je 2000 ml $CHCl_3/MeOH$ 2:1 (*v/v*) extrahiert. Die org. Extrakte wurden zur Entfernung freier Säuren mit 3 × 500 ml 0,4% NaOH gewaschen und dann eingengt. Der gelbe, ölige Rückstand wurde mit 500 ml 4% NaOH ($MeOH/H_2O$ 1:1) 2 h unter Rückfluss erhitzt. Nach Abkühlen entfernte man das 'Unverseifbare' durch 3maliges Ausschüttern mit je 300 ml Et_2O . Die wässr. Phase wurde mit konz. HCl angesäuert und mit 3 × 300 ml Et_2O extrahiert. Nach Trocknen der vereinigten Et_2O -Phasen (Na_2SO_4) wurde Et_2O i. V. abgezogen und der ölige, bräunliche Rückstand mit CH_2N_2 verestert. Diese Methylester wurden anschliessend an einer Kieselsäure chromatographiert. Die Elution erfolgte über einen Stufengradienten: je 10 ml eines Cyclohexan/ Et_2O -Gemisches in den Volumenverhältnissen 95:5, 80:20, 70:30, 50:50 und 5:95. Die Retentionsvolumina betragen: Fraktion A: 0–20 ml, B: 20–30 ml, C: 30–40 ml, D: 40–50 ml. Die beschriebenen Verbindungen waren in Fraktion D enthalten.

Die weitere Aufreinigung erfolgte mittels DC. Die betreffenden Substanzen fanden sich in der Zone mit R_f 0,5–0,7 (Cyclohexan/ $AcOEt$ 3:2 *v/v*). Das so isolierte Material wurde mittels HPLC weiter aufgereinigt. Das Elutionsmittelgemisch war H_2O mit zeitlich veränderlichen Anteilen an MeCN: 0–18 min: 10–100%, linear; 18–21 min: 100%; 21–25 min: 100–10%, linear. Die Flussrate betrug 1,5 ml/min. Die Retentionszeiten: t_R (**4a**) 18,75 min, t_R (**5a**) 18,50 min, t_R (**4c**) 20,30 min, t_R (**5b**) 20,10 min.

Das homologe Isomerenpaar (**4b** und **5b**) wurde offenbar von zur selben Zeit eluierten Verunreinigungen verdeckt und konnte daher nicht beobachtet werden. Die Trennung der Isomeren **4c** und **5c** blieb infolge des geringeren Unterschiedes im Retentionsverhalten gegenüber dem Isomerenpaar **4a** und **5a** unbefriedigend.

3. *Umsetzungsreaktionen mit dem Material der Fraktion D.* Die *Tab.* gibt zunächst eine Übersicht über Ausgangsverbindungen und Umsetzungsprodukte. Bei den einzelnen Reaktionen werden jeweils nur für die Umsetzungsprodukte der Ausgangsverbindungen **4a** und **5a** MS-Abbauwege angegeben. Die Produkte der Homologen geben analoge Massenspektren.

Tabelle. Zusammenfassung aller Ausgangsverbindungen und ihrer Umsetzungsprodukte^{a)}

	Ausg.-Verb.		TMS-Ether		Oxime		Ozonolyse		Hydr.-Produkte	
	RI	MG	RI	MG	RI	MG	RI	MG	RI	MG
4a	2506	352	2532	424	2405	363	1970	270	2415	336
4b	2300	324	n.g.	n.g.	n.g.	n.g.	1771	242	2223	308
4c	2706	380	2731	452	2605	391	2170	298	2605	364
5a	2513	352	2543	424	2421	363	1970	270	2418	336
5b	2303	324	n.g.	n.g.	n.g.	n.g.	1771	242	2228	308
5c	2716	380	2746	452	2622	391	2170	298	2608	364

^{a)} RI = Retentionsindex [17] (*OV 101*), MG = Molgewicht, n.g. = nicht gefunden.

Trimethylsilylierung. Etwa 50 µg Substanz wurden zusammen mit 4 µl *N*-Methyl-*N*-(trimethylsilyl)trifluoroacetamid in ein Schmp.-Bestimmungsröhrchen eingeschmolzen und 12 h bei 60° gehalten. Anschliessend erfolgte die Untersuchung mit der Kombination GC/MS.

TMS-Ether von 4a. MS (70 eV): 424 (5, M^+), 409 (5, $M^+ - \text{CH}_3$), 393 (11, $M^+ - \text{OCH}_3$), 353 (100, $M^+ - \text{C}_5\text{H}_{11}$), 334 (9, $M^+ - (\text{CH}_3)_3\text{SiOH}$), 268 (14, $M^+ - \text{CH}_2=\text{CH}(\text{CH}_2)_5\text{COOCH}_3$), 249 (44, 353 - $(\text{CH}_3)_3\text{SiOCH}_3$), 198 (10, 268 - C_5H_{10}), 137 (42, 249 - $(\text{CH}_2)_6\text{CO}$).

TMS-Ether von 5a. MS (70 eV): 424 (2, M^+), 409 (2, $M^+ - \text{CH}_3$), 393 (4, $M^+ - \text{OCH}_3$), 368 (4, $M^+ \text{C}_5\text{H}_{10}$), 334 (2, $M^+ - (\text{CH}_3)_3\text{SiOH}$), 253 (100, $M^+ - (\text{CH}_2)_8\text{COOCH}_3$).

O-Methyloxim [6]. Die Substanz (0,6 mg) wurde mit einer Lsg. von 10 mg *O*-Methylhydroxylamin-hydrochlorid in 5 ml Pyridin versetzt und bei RT. über Nacht stehen gelassen. Anderntags wurde das überschüssige Pyridin abgezogen und der Rückstand mit $3 \times 0,5$ ml Benzol extrahiert. Nach Eindampfen des Extraktes erfolgte GC/MS-Untersuchung.

O-Methyloxim von 4a. MS (70 eV): 363 (12, M^+), 332 (61, $M^+ - \text{OCH}_3$), 317 (15, $M^+ - (\text{CH}_3)_2\text{O}$), 300 (13, 332 - CH_3OH); 207 (24, $M^+ - \text{CH}_2=\text{CH}(\text{CH}_2)_5\text{COOCH}_3$), 176 (45, 332 - $\text{CH}_2=\text{CH}(\text{CH}_2)_5\text{COOCH}_3$), 165 (100, 207 - C_3H_6), 134 (57, 176 - C_3H_6).

O-Methyloxim von 5a. MS (70 eV): 363 (24, M^+), 332 (63, $M^+ - \text{OCH}_3$), 317 (37, $M^+ - (\text{CH}_3)_2\text{O}$), 307 (5, $M^+ - \text{C}_4\text{H}_8$), 300 (39, 332 - CH_3OH), 276 (83, 332 - C_4H_8), 165 (91, 307 - $\text{CH}_2=\text{CH}(\text{CH}_2)_4\text{COOCH}_3$), 134 (100, 276 - $\text{CH}_2=\text{CH}(\text{CH}_2)_4\text{COOCH}_3$).

Ozonolyse. Die Substanz (0,5 mg) wurde in 5 ml MeOH gelöst und bei -78° 1 h mit O_3 behandelt. Nach oxidativer Aufarbeitung wurden die Produkte mit GC/MS untersucht.

Ozonolyseprodukt von 4a und 5a (= 6a). MS (70 eV): 270 (4, M^+), 239 (12, $M^+ - \text{OCH}_3$), 214 (19, $M^+ - \text{C}_4\text{H}_8$), 199 (17, $M^+ - \text{C}_5\text{H}_{11}$), 182 (7, 214 - CH_3OH), 167 (10, 199 - CH_3OH), 157 (26, $M^+ - \text{CH}_2\text{COC}_5\text{H}_{11}$), 139 (24, 167 - CO), 125 (47, 157 - CH_3OH), 114 (22, $M^+ - \text{CH}_2=\text{CH}(\text{CH}_2)_5\text{COOCH}_3$), 99 (46, $M^+ - (\text{CH}_2)_8\text{COOCH}_3$), 43 (100, CH_3CO^+).

Katalytische Hydrierung. Die Hydrierungen erfolgten in einer üblichen Apparatur für Flüssighydrierungen unter Normaldruck [18]. Die Probe (0,5 mg) wurde in 2 ml EtOH gelöst und nach Zugabe von ca. 0,2 mg des jeweiligen Katalysators (Pd/C 5%; Pt(IV)-oxid) bis zum Ende der H_2 -Aufnahme hydriert. Nach Abfiltrieren des Katalysators und Einengen der Lsg. erfolgte die GC/MS-Untersuchung.

Hydrierungsprodukt von 4a. MS (70 eV): 336 (3, M^+), 305 (8, $M^+ - \text{OCH}_3$), 193 (12, $M^+ - (\text{CH}_2)_6\text{COOCH}_3$), 180 (70, $M^+ - \text{CH}_2=\text{CH}(\text{CH}_2)_5\text{COOCH}_3$), 123 (100, 193 - C_5H_{10}), 110 (50, 180 - C_5H_{10}).

Hydrierungsprodukt von 5a. MS (70 eV): 336 (3, M^+), 305 (8, $M^+ - \text{OCH}_3$), 280 (40, $M^+ - \text{C}_4\text{H}_8$), 248 (18, 280 - CH_3OH), 179 (20, $M^+ - (\text{CH}_2)_7\text{COOCH}_3$), 166 (8, $M^+ - \text{CH}_2=\text{CH}(\text{CH}_2)_6\text{COOCH}_3$), 123 (100, 179 - C_4H_8), 110 (66, 280 - $\text{CH}_2=\text{CH}(\text{CH}_2)_6\text{COOCH}_3$).

4. *Synthesen.* - 9-(3,4-Dimethyl-5-pentyl-2-furyl)-9-oxononansäure-methylester (17) [12]. 3,4-Dimethyl-2-pentyl-furan (3,32 g; 20 mmol) [11] wurde in 15 ml trockenem CHCl_3 gelöst und auf -50° gekühlt. Nonandisäure-chlorid-monomethylester (4,41 g; 20 mmol) [19] in 10 ml trockenem CHCl_3 wurde unter N_2 und kräftigem Rühren zugegeben. Die farblose Lsg. wurde 30 min gerührt. Dann tropfte man 6,5 g (25 mmol) H_2O -freies SnCl_4 in 5 ml trockenem CHCl_3 zu. Die Lsg. wurde 6 h bei -50° weitergerührt und färbte sich dabei langsam tiefrot. Nach Zugabe von 10 ml 6N H_2SO_4 liess man auf RT. erwärmen und trennte die org. Phase ab. Die wässr. Phase wurde 3mal mit je 20 ml CHCl_3 extrahiert. Die vereinigten Extrakte wurden gründlich mit 2N KHCO_3 -Lsg., dann mit dest. H_2O gewaschen. Nach Eindampfen des Lsgm. blieben 7,2 g eines klaren, rotbraunen Öls, das zur weiteren Reinigung an Kieselgelplatten chromatographiert wurde: 1,8 g (25,7%) 17. DC: R_f (Cyclohexan/AcOEt 4:1) 0,41. GC: RI 2463 (OV 101). IR (CHCl_3): 3000, 2930, 2920, 2850, (CH), 1645, (CO), 1530 (Furan-Ringschwingung). $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): 0,9 (t, $J = 6,5$, CH_2CH_3); 1,25-1,4 (m, 10 Aliphaten-H); 1,5-1,75 (m, 6 Aliphaten-H); 1,89 (s, Furan-CH₃); 2,28 (s, Furan-CH₃); 2,3 (t, $J = 7,7$, $\text{CH}_2\text{COOCH}_3$); 2,59 (t, $J = 7,5$, Furan-CH₂); 2,7 (t, $J = 7,5$, COCH₂). MS (70 eV): 350 (18, M^+), 319 (9, $M^+ - \text{OCH}_3$), 293 (2, $M^+ - \text{C}_4\text{H}_8$), 221 (36, $M^+ - (\text{CH}_2)_5\text{COOCH}_3$), 208 (100, $M^+ - \text{CH}_2=\text{CH}(\text{CH}_2)_4\text{COOCH}_3$), 193 (63, $M^+ - (\text{CH}_2)_7\text{COOCH}_3$), 165 (43, 193 - CO), 151 (87, 208 - C_4H_8), 137 (10, 193 - C_4H_8), 109 (31, 165 - C_4H_8). Anal. ber. für $\text{C}_{21}\text{H}_{34}\text{O}_4$ (350,5): C 71,96, H 9,78; gef.: C 71,77, H 9,91.

9-(3,4-Dimethyl-5-pentyl-2-furyl)nonansäure-methylester (18). 9-(3,4-Dimethyl-5-pentyl-2-furyl)-9-oxononansäure-methylester (1,32 g; 3,77 mmol) wurde zusammen mit 0,75 g (15 mmol) Hydrazinhydrat (100proz.) und 0,84 g (15 mmol) KOH in 30 ml Diethylenglycol gelöst und 1 h unter Rückfluss erhitzt. Danach wurden überschüssiges Hydrazinhydrat und H_2O abdestilliert. Der Rückstand wurde nach Abkühlen in 50 ml Eiswasser geschüttelt, diese Lsg. mit konz. HCl auf pH 1 eingestellt und mit 3×100 ml Et_2O extrahiert. Die vereinigten

Etherextrakte wurden mit 3×50 ml 10% NaCl-Lsg., dann 3×50 ml dest. H_2O gewaschen, getrocknet (Na_2SO_4) und eingedampft. Zurück blieb ein klares gelbes Öl, das mit etherischer CH_2N_2 -Lsg. verestert wurde: 1,14 g (91%) **18**. DC: R_f (Cyclohexan/AcOEt) 0,76. GC: RI 2245 (OV 101). IR ($CHCl_3$): 3000, 2920, 2850 (CH), 1725 (C=O). 1H -NMR ($CDCl_3$): 0,88 (t, $J = 7,3$, CH_2CH_3); 1,28 (m, 12 Aliphaten-H); 1,57 (m, Aliphaten-H); 1,84 (s, Furan- CH_3); 2,3 (t, $J = 7,7$, CH_2COOCH_3); 2,48 (t, $J = 7,3$, 2 Furan- CH_2); 1,67 (s, $COOCH_3$). MS (70 eV): 336 (13, M^+), 305 (4, $M^+ - OCH_3$), 279 (30, $M^+ - C_4H_9$), 179 (100, $M^+ - (CH_2)_7COOCH_3$), 123 (41, 179 - C_4H_8).

8-(5-Hydroxy-3,4-dimethyl-2-oxo-5-pentyl-3-cyclopentenyl)octansäure-methylester (**4a**) und 9-(5-Butyl-1-hydroxy-3,4-dimethyl-4-oxo-2-cyclopentenyl)nonansäure-methylester (**5a**). Verbindung **18** (78 mg; 0,23 mmol) wurde zusammen mit 2,5 ml (22 mmol) 30% H_2O_2 -Lsg. in 25 ml Aceton gelöst und auf 4° gekühlt. Im Dunkeln tropfte man unter Rühren langsam 25 ml (32,5 mmol) einer 10% NaOCl-Lsg. zu [13]. Nach 1 h wurde Aceton i. V. abgezogen und nach Zugabe von 25 ml 4% NaOH 2 h unter Rückfluss erhitzt. Nach Abkühlen und Ansäuern mit konz. HCl wurde die Lsg. mit 3×50 ml Et_2O extrahiert. Die vereinigten Et_2O -Extrakte wurden getrocknet (Na_2SO_4) und eingeeigt. Das anfallende klare, blassgelbe Öl wurde mit CH_2N_2 verestert und an Kieselgelplatten chromatographiert: 68 mg (84%) **4a/5a**. Die Auftrennung des Isomerenpaares gelingt mittels HPLC. Ausserdem wurde der Versuch unternommen, 11,12-Dimethyl-10,13-dioxo-11-octadecensäure-methylester (**13d**) zu isolieren. Dazu wurde nach dem Abziehen von Aceton mit 3mal 20 ml Et_2O extrahiert, die vereinigten Extrakte getrocknet (Na_2SO_4) und am Rotationsverdampfer eingedampft. Vom Rückstand wurde über Direkteinlass sofort ein MS aufgenommen, aus dem auf das Vorhandensein von **13d** im Produktgemisch geschlossen werden konnte.

4a. DC: R_f (Cyclohexan/AcOEt 3:2) 0,6. GC: RI 2506 (OV 101). UV (EtOH): λ_{max} 231 (3,98), 269 (3,19). IR ($CHCl_3$): 3580, 3200–3550 (OH), 3000, 2950, 2920, 2850 (CH), 1695, 1660 (C=O). 1H -NMR (C_6D_6): 0,92 (t, $J = 7,3$, CH_2CH_3); 1,05–1,2 (m, 6 Aliphaten-H); 1,3–1,45 (m, 14 Aliphaten-H); 1,58 (q, $J = 0,9$, C=C- CH_3); 1,63 (q, $J = 0,9$, C=C- CH_3); 2,1 (t, $J = 7,3$, CH_2COOCH_3); 2,2 (m, $COCHCH_2$); 2,35 (s, $COOCH_3$). MS (70 eV): 352 (10, M^+), 334 (4, $M^+ - H_2O$), 321 (3, $M^+ - OCH_3$), 303 (8, 321 - H_2O), 281 (18, $M^+ - C_5H_{11}$), 249 (100, 281 - CH_3OH), 196 (34, $M^+ - CH_2=CH(CH_2)_5COOCH_3$), 137 (68, 249 - $(CH_2)_7CO$), 126 (66, 196 - C_5H_{10}). Anal. ber. für $C_{21}H_{36}O_4$ (352,5): C 71,55, H 10,29; gef.: C 71,71, H 10,23.

5a. DC: R_f (Cyclohexan/AcOEt 3:2) 0,6. GC: RI 2513 (OV 101). UV (EtOH): λ_{max} 231 (3,98), 269 (3,19) nm. IR ($CHCl_3$): 3580, 3200–3550 (OH), 3000, 2950, 2920, 2850 (CH), 1695, 1660 (C=O). 1H -NMR (C_6D_6): 0,92 (t, $J = 7,3$, CH_2CH_3); 1,05–1,2 (m, 6 Aliphaten-H); 1,3–1,45 (m, 14 Aliphaten-H); 1,56 (q, $J = 0,9$, C=C- CH_3); 1,63 (q, $J = 0,9$, C=C- CH_3); 2,1 (t, $J = 7,3$, CH_2COOCH_3); 2,2 (m, $COCHCH_2$); 3,35 (s, $COOCH_3$). MS (70 eV): 352 (10, M^+), 334 (4, $M^+ - H_2O$), 321 (6, $M^+ - OCH_3$), 303 (7, 321 - H_2O), 296 (2, $M^+ - C_4H_8$), 278 (6, 296 - H_2O), 181 (100, $M^+ - (CH_2)_8COOCH_3$), 126 (40, 296 - $CH_2=CH(CH_2)_6COOCH_3$). Anal. ber. für $C_{21}H_{36}O_4$ (352,5): C 71,55, H 10,29; gef.: C 71,63, H 10,16.

13d. MS (70 eV, Direkteinlass): 352 (5, M^+), 334 (10, $M^+ - H_2O$), 321 (9, $M^+ - OCH_3$), 281 (7, $M^+ - C_5H_{11}$), 249 (74, 281 - CH_3OH), 199 (11, $M^+ - C(CH_3)=C(CH_3)COC_5H_{11}$), 181 (100, $M^+ - (CH_2)_8COOCH_3$), 137 (63, 249 - $(CH_2)_7CO$), 125 (75, 181 - C_4H_8), 99 (43, $M^+ - C(CH_3)=C(CH_3)CO(CH_2)_8COOCH_3$), 87 (57), 74 (98), 43 (95).

LITERATURVERZEICHNIS

- [1] a) M. Spiteller, G. Spiteller, *J. Chromatogr.* **1979**, *164*, 253; b) M. Spiteller, G. Spiteller, G.-A. Hoyer, *Chem. Ber.* **1980**, *113*, 699; c) J. Pfordt, H. Thoma, G. Spiteller, *Liebigs Ann. Chem.* **1981**, 2298.
- [2] a) R. L. Glass, T. P. Krick, A. E. Eckardt, *Lipids* **1974**, *9*, 1004; b) R. L. Glass, T. P. Krick, D. M. Sand, C. H. Rahn, H. Schlenk, *ibid.* **1975**, *10*, 695; c) R. L. Glass, T. P. Krick, D. L. Olson, R. L. Thorson, *ibid.* **1977**, *12*, 828.
- [3] D. M. Sand, H. Schlenk, H. Thoma, G. Spiteller, *Biochim. Biophys. Acta* **1983**, *751*, 455.
- [4] G. Eglinton, D. H. Hunneman, A. McCormick, *Org. Mass Spectrom.* **1968**, *1*, 593.
- [5] G. Spiteller, 'Massenspektrometrische Strukturanalyse organischer Verbindungen', Verlag Chemie, Weinheim, 1966, S. 124.
- [6] H. M. Fales, T. Luukkainen, *Anal. Chem.* **1965**, *37*, 955.
- [7] H. Rimek, in 'Methoden der organischen Chemie, Houben-Weyl-Müller', Thieme, Stuttgart, 1980, 4. Aufl., Bd. IV/1c, S. 159.
- [8] M. Hamberg, B. Samuelsson, *J. Biol. Chem.* **1967**, *242*, 5344.
- [9] H. Günther, in 'NMR-Spektroskopie', Thieme, Stuttgart, 1983, 2. Aufl., S. 112ff.

- [10] R. F. Boyer, D. Litts, J. Kostishak, R. C. Wijesundera, F. D. Gunstone, *Chem. Phys. Lipids* **1980**, *25*, 237.
- [11] a) C. H. Rahn, D. M. Sand, Y. Wedmid, H. Schlenk, *J. Org. Chem.* **1979**, *44*, 3420; b) C. H. Rahn, D. M. Sand, T. P. Krick, R. L. Glass, H. Schlenk, *Lipids* **1981**, *16*, 360.
- [12] G. Fodor, J.-P. Fumeaux, V. Sankaran, *Synthesis* **1972**, *4*, 464.
- [13] K. Takayama, T. Noguchi, M. Nakano, T. Migita, *Biochim. Biophys. Res. Commun.* **1975**, *75*, 1052.
- [14] H. Schlenk, persönliche Mitteilung (University of Minnesota, The Hormel Institute, 901 16th Avenue N.E., Austin, Minnesota 55912 USA).
- [15] G. Graff, J. L. Gellerman, D. M. Sand, H. Schlenk, *Biochim. Biophys. Acta* **1984**, *799*, 143.
- [16] J. H. Beynon, in 'Mass Spectrometry and its Applications to Organic Chemistry', Elsevier, Amsterdam, 1960, S. 83.
- [17] a) E. Kovats, *Helv. Chim. Acta* **1958**, *41*, 1915; b) E. C. Horning, M. G. Horning, N. Ikekawa, F. Chambaz, P. J. Iakonmaki, C. J. W. Brooks, *J. Gas Chromatogr.* **1967**, *5*, 283; c) E. C. Horning, M. G. Horning, J. Szafranek, P. van Hout, A. L. German, J. P. Thenot, C. D. Pfaffenberger, *J. Chromatogr.* **1974**, *91*, 367.
- [18] F. Zymalkowsky, in 'Methoden der organischen Chemie, Houben-Weyl-Müller', Thieme, Stuttgart, 1980, 4. Aufl., Bd. IV/1c, S. 24.
- [19] R. Huisgen, U. Rietz, *Tetrahedron* **1958**, *2*, 271.