Dissertation zur Erlangung des Doktorgrades
der Fakultät für Chemie und Pharmazie
der Ludwig-Maximilians-Universität München

Biosynthese und Synthese von Sekundärmetaboliten aus den Pilzen *Suillus tridentinus*, *Suillus bovinus* und *Stephanospora caroticolor*

Martin Lang

aus

Weilheim

2002

Erklärung

Diese Dissertation wurde im Sinne von § 13 Abs. 3 bzw. 4 der Promotionsordnung vom 29. Januar 1998 von Herrn Prof. Dr. Wolfgang Steglich betreut.

Ehrenwörtliche Versicherung

Diese Dissertation wurde selbständig, ohne unerlaubte Hilfe erarbeitet.

München, am 6. Mai 2002

Dissertation eingereicht am 16. Mai 2002
1. Gutachter: Prof. Dr. Wolfgang Steglich
2. Gutachter: Prof. Dr. Paul Knochel
Mündliche Prüfung am 20. Juni 2002

Die vorliegende Arbeit wurde in der Zeit von Januar 1998 bis Oktober 2001 unter Anleitung von Herrn Professor Dr. Wolfgang Steglich am Department Chemie der Ludwig-Maximilians-Universität München durchgeführt.

Dank

Meinem verehrten Lehrer, Herrn Professor Dr. Wolfgang Steglich, danke ich herzlich für die vielseitige Thematik, für sein stets großes Interesse an den Fortschritten dieser Arbeit, für zahlreiche Anregungen und für das mir entgegengebrachte Vertrauen.

Herrn Professor Dr. Paul Knochel gilt mein Dank für die Übernahme des Koreferates.

Mein Dank gilt ebenso:

Dr. Peter Spiteller für die schöne Zeit unserer Zusammenarbeit bei der Strukturaufklärung des Stephanosporins.

Markus Heinrich und Stefan Kroiß für die gute Arbeitsgemeinschaft in unserem Labor.

Dr. Kirsten Zeitler für ihre vielfältige Hilfe nicht nur bei Computerproblemen und für die geduldige Erklärung des Röntgenstruktur-Programms.

Kathrin Hohnholt und Andrea Bartsch für ihre große Hilfsbereitschaft bei der Durchführung von HLPC-Schüssen.

Dr. Norbert Arnold für gemeinsame Pilzsammelfahrten in bayerische und sogar österreichische Wälder.

Dr. Christian Haug, meinem Abzugspartner im alten Chemischen Institut, für viele Tips und Diskussionen.

Meinen Kollegen aus dem Arbeitskreis für deren Hilfsbereitschaft, das angenehme Arbeitsklima und für viele Diskussionen: Markus Heinrich, Stefan Kroiß, Gertraud Gruber, Dr. Katharina Aulinger, Claudia Gräf, Dr. Peter Spiteller, Dr. Kirsten Zeitler, Andi Kreipl, Nadine Ermel, Dr. Christian Miksch, Andrea Bartsch, Bernhard Irlinger, Heiner Ebel, Dr. Lydia Kerschensteiner, Dr. Veronika Hellwig, Dr. A. Mühlbauer, Sebastian Knoer, Kathrin Hohnholt, Dr. Marc Heidl, Dr. Christoph Stark, Dr. Christian Haug, Dr. Norbert Arnold, Dr. Nicole und Dr. Robert Feling, Dr. Franz v. Nußbaum, Dr. Tilman Sindlinger, Dr. Christian Winklhofer, Dr. Christian Peschko, Dr. Kai Lamottke und Dr. Matthias Rüth.

Meinen Forschungspraktikanten Marc Bell, Hans-Christian Müller und Ingo Schwab für ihre engagierte und selbständige Mitarbeit. Ingo hat mich auf mehreren Pilzsammeltouren bis in die Berge hinein begleitet und hatte ein gutes Auge für *Stephanospora caroticolor*.

Prof. Dr. Ermias Dagne, Addis Ababa, Äthiopien, für unsere langanhaltendes und interessantes gemeinsames Projekt zur Strukturaufklärung neuer Lignane.

Dr. Kurt Polborn für Röntgenstrukturmessungen dieser Lignane und seine überaus große Hilfsbereitschaft bei Fragen und Problemen.

Claudia Dubler und Dr. Werner Spahl für die Erfüllung meiner Sonderwünsche bei den Messungen der NMR- und Massenspektren.

Prof. Dr. Michael Spiteller für LC/MS-Messungen zur Thematik des Stephanosporins.

Herrn Helmut Huber, Herrn Ivo Brück, R. Seidl, Herrn H. Schulz und Frau A. Käser für die Analysen und Messungen der Spektren.

Fritz Gruber und Saskia Waibler vom Arbeitskreis Winter für die Möglichkeit zur Liposomenextrusion, für PCS-Messungen und für wertvolle Tips.

Frau Edelgard Lenz, Frau Heidemarie Merten und Frau Irmgard Lüben für ihre Hilfe in Verwaltungsangelegenheiten.

Der Deutschen Forschungsgemeinschaft (SFB 369) für finanzielle Unterstützung.

Den Mitgliedern des SFB 369 für interessante Vorträge, Anregungen und Diskussionen.

Markus Heinrich, Hanna Rößler, Dr. Peter Spiteller, Dr. Kirsten Zeitler und Stefan Kroiß für die kritische Durchsicht des Manuskriptes.

Meinen Eltern, die mir durch Ihre finanzielle Unterstützung das Studium ermöglicht haben.

Meiner lieben Frau Zita und unserer kleinen Anna Júlia für ihre Unterstützung in jeder Hinsicht und für ihre große Geduld mit einem promovierenden Familienvater. A végére minden jól sikerült!

Inhalt

Zusammenfassung 1

Teil 1: Synthesen isotopenmarkierter polyprenylierter Arene und Biosynthesestudien an den Röhrlingen *Suillus tridentinus* und *Suillus bovinus* 5

1 Einleitung 5

2 Synthesestrategien zur Herstellung polyprenylierter Arene und Chinone – eine Literaturübersicht 7
2.1 Retrosynthetische Spaltung der allylischen Bindung 9
2.1.1 Die Allyleinheit als Elektrophil 9
2.1.2 Die Allyleinheit als Nucleophil 18
2.1.3 Palladium(0)-katalysierte Kreuzkupplungen 20
2.1.4 Claisen-Umlagerung von 1,1-Dimethylallylarylethern 21
2.1.5 Enzymatische Prenylierung 22
2.2 Retrosynthetische Spaltung der vinylischen Bindung 22
2.3 Retrosynthetische Spaltung der 2',3'-Bindung 23
2.4 Öffnung von Chromenen 24
2.5 Schrittweise Seitenkettenverlängerung 24
2.6 Retrosynthetischer Schnitt durch den Ring 26
2.7 Exkurs: Analyse von Doppelbindungskonfigurationen in Polyisoprenketten mittels NMR-Spektroskopie 27
2.7.1 ^{1}H-NMR-Spektroskopie 27
2.7.2 ^{13}C-NMR-Spektroskopie 28

3 Synthesen polyprenylierter Arene 30
3.1 Wahl der Position der Isotopenmarkierung 30
3.2 Herstellung von (*E*,*E*,*E*)-[1-^{13}C]- und (*E*,*E*,*E*)-[1,2-$^{13}C_2$]Geranylgeraniol (**20***, **20****) 31
3.3 Anmerkungen zur Bromierung von Polyprenylalkoholen 33
3.4 Synthesen prenylierter Verbindungen über die Stille-Reaktion 33
3.4.1 Herstellung von Aryltributylzinnverbindungen 34
3.4.2 Kupplung von Aryltri-*n*-butylstannanen mit Polyprenylbromiden 36
3.5 Synthesen polyprenylierter Phenole 38
3.5.1 [1-^{13}C]Geranylgeranylhydrochinon (**5***) durch Friedel-Crafts-Alkylierung 38
3.5.2 Polyprenylierte Phenole über Arylmetallverbindungen 39
3.6 Synthese polyprenylierter Benzoesäuren durch Kupplung funktionalisierter Arylmagnesiumhalogenide mit Polyprenylhalogeniden 43
3.6.1 Vorüberlegungen 43
3.6.2 Magnesiumorganische Verbindungen mit sensiblen funktionellen Gruppen 44

3.6.3 Verfahren zur effektiven Einführung von Polyprenylsubstituenten in Hydroxybenzoesäurederivate 45
3.6.4 Synthesen polyprenylierter Hydroxybenzoesäurederivate 48
3.7 Prenylierte Benzoesäurederivate in der Natur 54

4 Effektive Synthese von 4-Hydroxy[1-^{13}C]benzoesäure (**92***) 56
4.1 Bedeutung von ring-C-isotopenmarkierter 4-Hydroxybenzoesäure 56
4.2 Literaturbekannte Synthesen von ring-C-isotopenmarkierten 4-Hydroxybenzoesäuren 56
4.3 Synthese von 4-Hydroxy[1-^{13}C]benzoesäure (**92***) aus [2-^{13}C]Malonsäure-diethylester und γ-Pyron 58
4.4 Synthese von 4-Hydroxybenzoesäure (**92***) aus Acetessigsäureethylester und γ-Pyron 60
4.5 Weitere Umsetzungen von γ-Pyron 61
4.5.1 Umsetzung mit Acetylaceton 61
4.5.2 Umsetzung mit Dimedon 62
4.5.3 Umsetzung mit Nitromethan 69
4.6 Diskussion 69

5 Cyclodextrine und Liposomen als Hilfsmittel bei der Applikation unpolarer Biosyntheseintermediate an Pilzfruchtkörper 70
5.1 Solubilisierung durch Komplexierung mit Cyclodextrinen 70
5.1.1 Cyclodextrine 70
5.1.2 Cyclodextrinderivate mit hoher Wasserlöslichkeit 72
5.1.3 Solubilisierung von Hydroxybenzoesäuren und eigene Arbeiten mit Cyclodextrinen 74
5.1.4 Verfütterung Cyclodextrin-komplexierter 4-Hydroxy[1-^{13}C]benzoesäure (**92***) an den Rostroten Lärchenröhrling *Suillus tridentinus* (Bres.) Sing. 76
5.1.5 Solubilisierung von Bovichinon-4 (**101**) 77
5.2 Solubilisierung durch Inkorporation in Liposomen 77
5.2.1 Liposomen 77
5.2.2 Grundsätze des Designs von Liposomen 79
5.2.3 Herstellung von Liposomen mit inkorporierten Verbindungen 79
5.2.4 Wechselwirkungen zwischen Liposomen und Zellen 80
5.2.5 Eigene Arbeiten mit Liposomen 81

6 Zur Biosynthese des Tridentochinons (**102**) im Rostroten Lärchenröhrling *Suillus tridentinus* (Bres.) Sing. 83
6.1 Verbreitung und Habitus des Pilzes 83
6.2 Bisher bekannte Inhaltsstoffe 83
6.2.1 Isolierung und Reinigung von Tridentochinon (**102**) 85
6.3 Bisher durchgeführte Verfütterungsexperimente 85
6.4 Kurze Diskussion der bisherigen Ergebnisse und Planung der eigenen Verfütterungsexperimente 87
6.5 Verfütterung prenylierter Verbindungen in Form von etherischen Lösungen 90
6.5.1 3-(*E*,*E*,*E*)-[1'-^{13}C]Geranylgeranyl-4,5-dihydroxybenzoesäure (**2***) 90

6.5.2 6-(*E*,*E*,*E*)-[1'-^{13}C]Geranylgeranylbenzol-1,2,4-triol (**6***) ... 90
6.6 Verfütterung prenylierter Verbindungen in Form von Liposomensuspensionen ... 91
6.6.1 3-(*E*,*E*,*E*)-[1'-^{13}C]Geranylgeranyl-4-hydroxybenzoesäure (**1***) ... 91
6.6.2 (*E*,*E*,*E*)-[1'-^{13}C]Geranylgeranylhydrochinon (**5***) ... 91
6.6.3 3-(*E*,*E*,*E*)-[1'-^{13}C]Geranylgeranyl-4,5-dihydroxybenzoesäure (**2***) ... 92
6.6.4 6-(*E*,*E*,*E*)-[1'-^{13}C]Geranylgeranylbenzol-1,2,4-triol (**6***) ... 92
6.7 Isolierung des neuen Naturstoffes 2-Desoxytridentochinon (**116**) aus Pilzfruchtkörpern ... 92
6.8 Mutmaßlicher Ablauf der Makrocyclisierungsreaktion im Pilz ... 96
6.9 Verfütterung von 4-Hydroxy-2-methylbenzoesäure (**125**) und 4,5-Dihydroxy-2-methylbenzoesäure (**127**) ... 98
6.9.1 Synthese von 4-Hydroxy-2-methylbenzoesäure (**125**) und 4,5-Dihydroxy-2-methylbenzoesäure (**127**) ... 100
6.9.2 Durchführung der Verfütterungsexperimente ... 101
6.9.3 Isolierung und Strukturaufklärung des nichtnatürlichen Metaboliten 3-Geranylgeranyl-2-hydroxy-5-methylbenzo-1,4-chinon (**135**) ... 101
6.9.4 Nachweisversuche für 2-Desoxy-2-methyltridentochinon (**126**) mittels GC/MS ... 104
6.10 Zusammenfassung und Diskussion ... 105

7 Zur Biosynthese von Bovichinon-4 (**101**) und Bovilacton-4,4 (**136**) im Kuhröhrling *Suillus bovinus* (Linn. ex Fr.) O. Kuntze ... 108
7.1 Verbreitung und Habitus des Pilzes ... 108
7.2 Bekannte Inhaltsstoffe ... 108
7.2.1 Isolierung und Reinigung der Inhaltsstoffe Bovichinon-4 (**101**) und Bovilacton-4,4 (**136**) ... 110
7.2.2 Zuordnung von ^{1}H- und ^{13}C-NMR-Signalen im Bovilacton-4,4 (**136**) ... 110
7.3 Bisher durchgeführte Verfütterungsexperimente ... 115
7.4 Kurze Diskussion der bisherigen Ergebnisse und Planung der eigenen Verfütterungsexperimente 117
7.5 Verfütterungsexperimente ... 118
7.5.1 Verfütterung von 2-(*E*,*E*,*E*)-[1'-^{13}C]Geranylgeranyl-4-hydroxybenzoesäure (**3***) ... 119
7.5.2 Verfütterung von (*E*,*E*,*E*)-[1'-^{13}C]Geranylgeranylhydrochinon (**5***) ... 119
7.5.3 Verfütterung von 2-(*E*,*E*,*E*)-[1'-^{13}C]Geranylgeranyl-3,4-dihydroxybenzoesäure (**4***) ... 119
7.5.4 Verfütterung von 3-(*E*,*E*,*E*)-[1'-^{13}C]Geranylgeranylbenzol-1,2,4-triol (**7***) ... 120
7.5.5 Verfütterung von [1',2'-$^{13}C_2$]Bovichinon-4 (**101****) ... 122
7.6 Zusammenfassung und Diskussion ... 127
7.6.1 Zur Biosynthese des Bovilactons (**136**) ... 127
7.6.2 Zur Biosynthese des Bovichinons (**101**) ... 133

8 Abschließende Bemerkungen zu den Verfütterungsexperimenten mit *Suillus tridentinus* und *Suillus bovinus* ... 135

Teil 2: Struktur, Synthese und biomimetischer Abbau des Naturstoffes Stephanosporin aus der Karottentrüffel *Stephanospora caroticolor* (Berk.) Pat. 137

9 Vorkommen und Habitus von *Stephanospora caroticolor* 137
10 Bisher bekannte Inhaltsstoffe von *Stephanospora caroticolor* 137
11 Isolierung und Strukturaufklärung von Stephanosporin (**163**) 138
12 Synthese des Naturstoffes Stephanosporin (**163**) 140
13 Abbau von Stephanosporin (**163**) zu 2-Chlor-4-nitrophenol (**162**) 142
13.1 1-Acyl-2-arylhydrazine und ihre Oxidationsprodukte 142
13.1.1 1-Acyl-2-aryldiazene als aktivierte Säurederivate 142
13.1.2 Zur Stabilität von 1-Acyl-2-aryldiazenen 143
13.1.3 Natur des Zerfalls von monosubstituierten Aryldiazenen 144
13.2 Experimentelle Untersuchungen zum Abbau des Stephanosporins 145
13.2.1 Oxidation des Stephanosporins 145
13.2.2 Nachweis des beim Abbau von Stephanosporin auftretenden Arylradikals 146
13.2.3 Mechanismus der Abbaureaktion des Stephanosporins 147
13.2.4 Biologische Aktivität von Stephanosporin und 2-Chlor-4-nitrophenol 148
14 Mit Stephanosporin verwandte Natur- und Wirkstoffe 149

Teil 3: Experimentelles 152

15 Methoden und Allgemeines 152
15.1 Analytik 152
15.2 Chromatographie 154
15.3 Extrusion von Liposomen 157
15.4 Allgemeine Arbeitsmethoden, Lösungsmittel, Spezialchemikalien 157
15.5 Bestimmung der Einbauraten isotopenmarkierter Verbindungen 158

16 Synthese von (*E*,*E*,*E*)-Polyprenylalkoholen und -bromiden 159
16.1 ^{13}C-isotopenmarkierter Essigsäureethylester (**9***, **9****) 159
16.2 ^{13}C-isotopenmarkierter Acetessigsäureethylester (**10***, **10****) 160
16.3 C-4-Alkylierung von Acetessigsäureethylester 161
16.4 Herstellung von (*Z*)-Alkenylphosphaten aus β-Ketoestern 164
16.5 Umsetzung von (*Z*)-Alkenylphosphaten mit Me_2CuLi 168
16.6 Reduktion von Acrylsäureethylestern zu Allylalkoholen 171
16.7 Bromierung von Allylalkoholen 174

17 Synthesen polyprenylierter Arene 178
17.1 Allgemeine Arbeitsvorschriften zu Kapitel 17 178
17.2 (*E*,*E*,*E*)-[1'-^{13}C]Geranylgeranylhydrochinon (**5***) 182
17.3 3-Polyprenylbenzol-1,2,4-triole (**7**, **7***, **33**) 183
17.4 6-Polyprenylbenzol-1,2,4-triole (**6**, **6***, **40**) 190

17.5 4-Hydroxy-3-polyprenyl-benzoesäuren (**1**, **1***, **52**) ... 198
17.6 3,4-Dihydroxy-5-polyprenylbenzoesäuren (**2**, **2***, **60**) ... 207
17.7 3,4-Dihydroxy-2-polyprenylbenzoesäuren (**4**, **4***, **68**) ... 217
17.8 4-Hydroxy-2-polyprenylbenzoesäuren (**3**, **3***, **76**) ... 228
17.9 Bovichinon-4 (**101***, **101****) ... 237

18 Umsetzungen von γ-Pyron mit Nucleophilen ... 239
18.1 Synthese von 4-Hydroxy[1-^{13}C]benzoesäure (**92***) ... 239
18.2 Weitere Syntheseprodukte (**93**, **97**, **100**) ... 242

19 Synthese von 4-Hydroxy-2-methylbenzoesäure (**125**) und
4,5-Dihydroxy-2-methylbenzoesäure (**127**) ... 246

20 Verpackung lipophiler Verbindungen in Cyclodextrine und Liposomen ... 248
20.1 Herstellung von Cyclodextrinkomplexen ... 248
20.2 Liposomenpräparationen ... 248

21 Isolierung von Inhaltsstoffen aus *Suillus tridentinus* ... 250
21.1 Fundort ... 250
21.2 Vorreinigung des Rohextraktes ... 250
21.3 Reinigung von Tridentochinon (**102**) und Desoxytridentochinon (**116**) ... 250
21.4 Isolierung von 3-Geranylgeranyl-2-hydroxy-5-methylbenzo-1,4-chinon (**135**) ... 253
21.5 Verfütterungsexperimente mit *S. tridentinus* ... 255

22 Isolierung von Inhaltsstoffen aus *Suillus bovinus* ... 256
22.1 Fundort ... 256
22.2 Vorreinigung des Rohextraktes ... 256
22.3 Reinigung von Bovichinon-4 (**101**) ... 256
22.3.1 Bovichinon-4-dimethylether (**146**) ... 257
22.4 Reinigung von Bovilacton-4,4 (**136**) ... 258
22.5 Verfütterungsexperimente mit *S. bovinus* ... 260

23 Isolierung, Synthese und Abbau von Stephanosporin ... 261
23.1 Fundort von *Stephanospora caroticolor* ... 261
23.2 Isolierung von Stephanosporin-Dikaliumsalz aus *Stephanospora caroticolor* ... 261
23.3 Synthese von Stephanosporin (**163**) ... 262
23.4 Experimente zum Abbau von Stephanosporin (**163**) ... 269
23.5 Biologische Aktivität von Stephanosporin und Derivaten ... 272

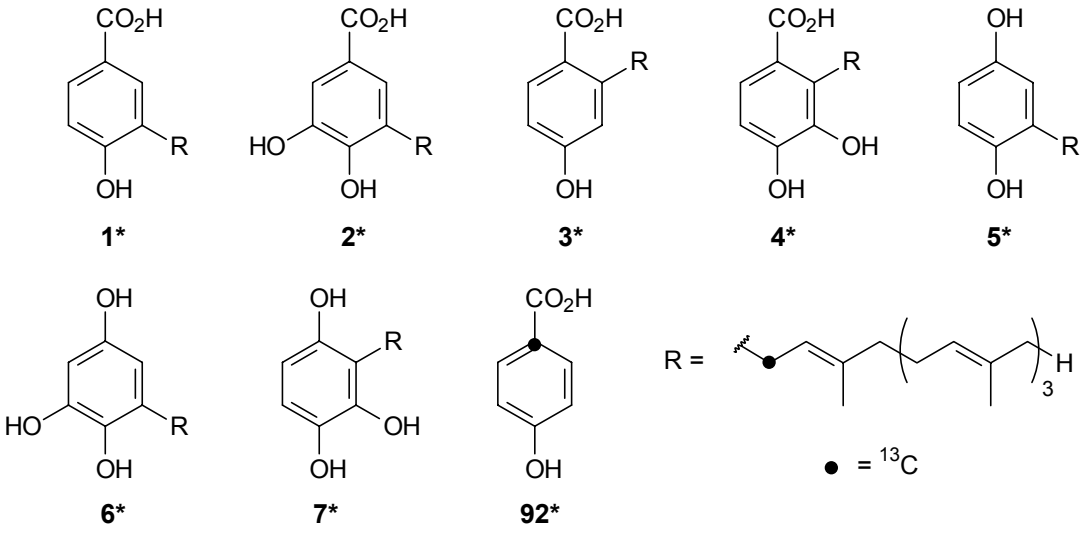
Anhang ... 273

24 Abkürzungen ... 273
25 Literatur ... 276

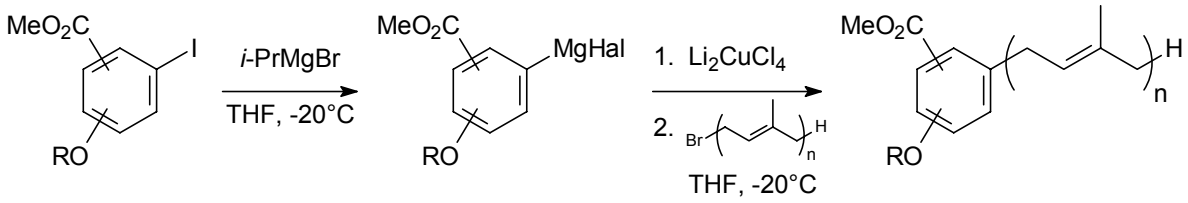
Zusammenfassung

Der erste Teil der vorliegenden Arbeit beschäftigt sich mit Untersuchungen zur Biosynthese von Meroterpenoiden in Röhrlingen.

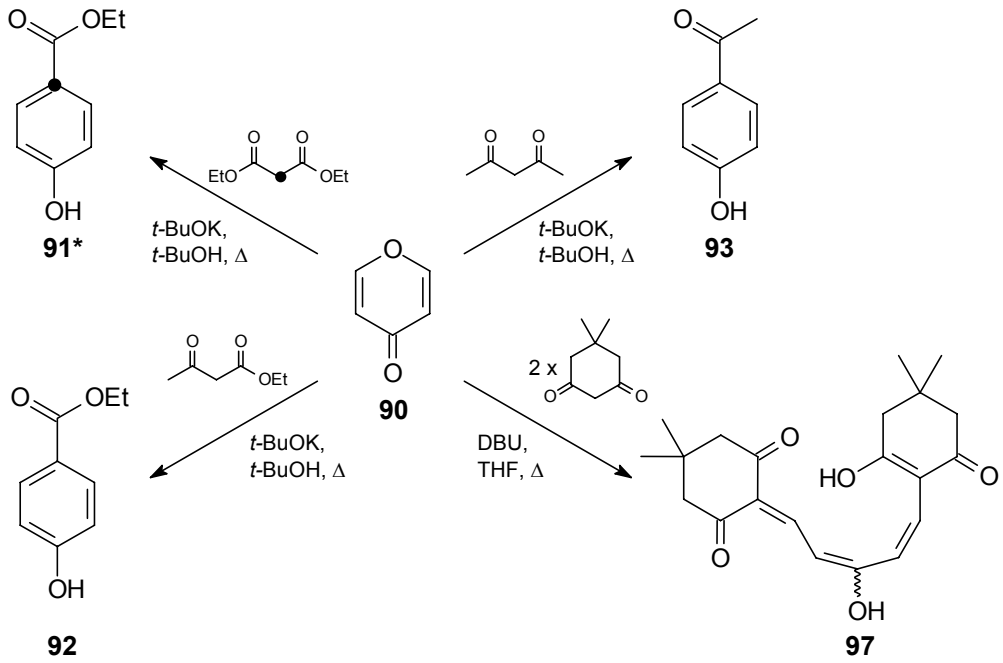
- Zu Beginn werden die Synthesen der zur Durchführung der Verfütterungsexperimente erforderlichen ^{13}C-isotopenmarkierten Verbindungen beschrieben. Dabei handelt es sich um die polyprenylierten Hydroxybenzoesäuren und Phenole **1*-7*** sowie um 4-Hydroxy[1-^{13}C]-benzoesäure (**92***).



Zur Herstellung insbesondere der Benzoesäurederivate **1-4** erwiesen sich die bisher bekannten Verfahren als ungeeignet oder zu ausbeutenschwach. Für die Einführung von Polyprenylketten in Hydroxybenzoesäurederivate wurde eine neue Methodik entwickelt, welche auf moderner magnesiumorganischer Chemie beruht. Das Verfahren liefert hohe Ausbeuten und verläuft ohne signifikante Isomerisierung der dem aromatischen Ring benachbarten allylischen Doppelbindung.

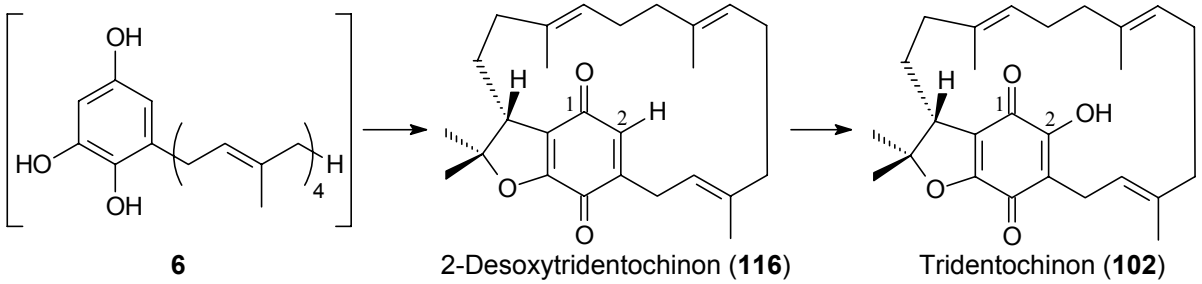


• Die Effektivität der Synthese von 4-Hydroxy[1-^{13}C]benzoesäureethylester (**91***) aus γ-Pyron (**90**) und [2-^{13}C]Malonsäurediethylester wurde verbessert. Durch die Bildung von Produkten wie 4-Hydroxyacetophenon (**93**) oder **97** wurde das Potential der Umsetzung von γ-Pyron (**90**) mit Nucleophilen weiter ausgeleuchtet.

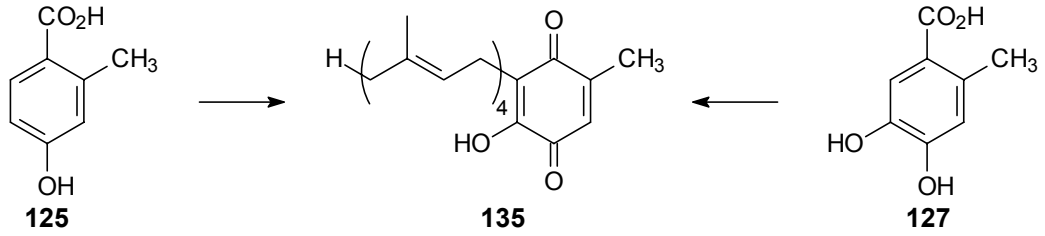


• Zur Applikation an Pilzfruchtkörper wurden potentielle Biosynthesezwischenstufen erstmals mit Cyclodextrinderivaten komplexiert oder in Liposomen eingeschlossen. Auf diese Weise konnten die lipophilen Verbindungen in wäßrigem Medium verfüttert und auf eine Anwendung unphysiologischer organischer Lösungsmittel verzichtet werden. Durch die verbesserte Resorption wurden z.T. gesteigerte Einbauraten erzielt oder ein Einbau überhaupt erst möglich gemacht.

• Aus *Suillus tridentinus* konnte die seit langem postulierte, bisher aber unbekannte unmittelbare Vorstufe des Hauptfarbstoffes Tridentochinon (**102**), das 2-Desoxytridentochinon (**116**), isoliert werden. Damit ist gezeigt, daß in der Biosynthese des Ansachinons **102** die Makrocyclisierung *vor* der Einführung der 2-Hydroxygruppe erfolgt.

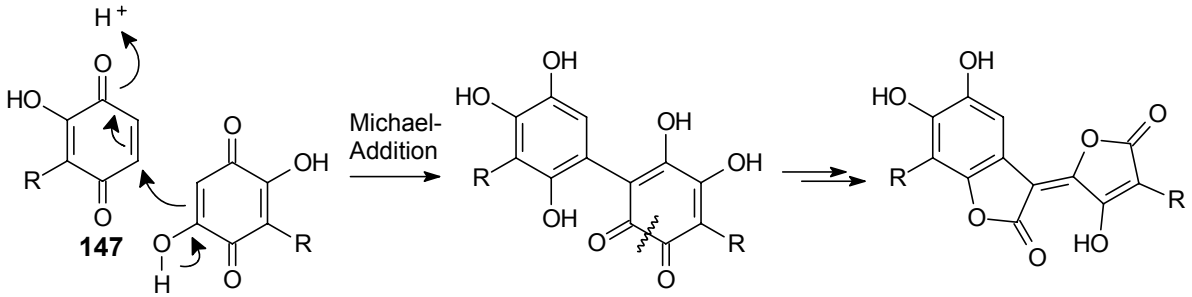


- Bisher war bekannt, daß Hydroxybenzoesäuren von *Suillus tridentinus* in *meta*-Stellung zur Carboxylgruppe geranylgeranyliert werden. Nach Verfütterung sowohl von 4-Hydroxy-2-methylbenzoesäure (**125**) als auch von 4,5-Dihydroxy-2-methylbenzoesäure (**127**) an *S. tridentinus* wurde unerwarteterweise der nichtnatürliche Metabolit 3-Geranylgeranyl-2-hydroxy-5-methylbenzo-1,4-chinon (**135**) isoliert. Dieses Ergebnis zeigt, daß *S. tridentinus* auch in der Lage ist, die Geranylgeranyleinheit in *ortho*-Stellung zur Carboxylgruppe einzuführen. Diese Prenylierungsposition ist für den verwandten Röhrling *Suillus bovinus* charakteristisch.



125 **135** **127**

- Die Biosynthese des Bovilactons-4,4 (**136**), eines Farbstoffes aus *Suillus bovinus*, konnte aufgeklärt werden. Durch Verfütterungsexperimente wurde gezeigt, daß im Pilz eine Kupplung von 3-Geranylgeranylbenzol-1,2,4-triol (**7**) bzw. dessen oxidiertem Äquivalent **147** mit Bovichinon-4 (**101**) stattfindet. Anschließend erfolgt eine oxidative Umlagerung zu Bovilacton-4,4 (**136**).

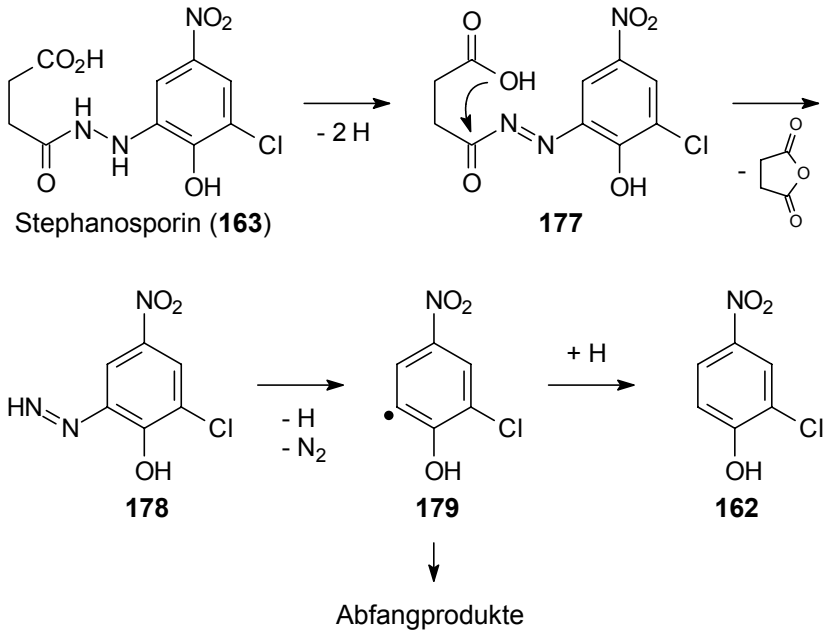


Bovichinon-4 (**101**) (R = Geranylgeranyl) Bovilacton-4,4 (**136**)

Im zweiten Teil der Arbeit werden Strukturaufklärung, Synthese und Abbau des ungewöhnlichen Farbstoffes Stephanosporin (**163**) aus der seltenen Karottentrüffel *Stephanospora caroticolor* beschrieben.

- Bei Stephanosporin handelt es sich um ein Arylhydrazinderivat, welches am β-Stickstoffatom eine Bernsteinsäureeinheit trägt. Stephanosporin (**163**) ist eine biosynthetische Vorstufe von 2-Chlor-4-nitrophenol (**162**), dessen Vorkommen in *St. caroticolor* aus früheren Arbeiten bekannt ist. Der enzymatische Abbau des Stephanosporins zu **162** wird im Pilz aber erst durch äußere Reize wie Kälteschock ausgelöst.

- Der Abbau von **163** zu **162** konnte im Labor nachvollzogen werden. Erster Schritt ist die Oxidation zum Diazen **177**. Für die außergewöhnliche Instabilität des Diazens **177** ist die günstige Positionierung der Carboxylgruppe verantwortlich, welche die intramolekulare Abspaltung von Bernsteinsäureanhydrid unter Bildung des instabilen Monoaryldiazens **178** ermöglicht. Über das Arylradikal **179** erfolgt der Zerfall zu 2-Chlor-4-nitrophenol (**162**). Das intermediäre Auftreten des Radikals **179** wurde durch die Bildung von Abfangprodukten gesichert.



Teil 1: Synthesen isotopenmarkierter polyprenylierter Arene und Biosynthesestudien an den Röhrlingen *Suillus tridentinus* und *Suillus bovinus*

1 Einleitung

Ausgehend von der Struktur eines Naturstoffes lassen sich oftmals Voraussagen oder Mutmaßungen über dessen Biogenese treffen. Ein so aufgestellter hypothetischer Biosyntheseweg muß dann experimentell bestätigt werden. Eine der wichtigsten Methoden zur Erforschung von Biosynthesewegen ist das Verfütterungsexperiment. Dabei werden potentielle Zwischenstufen in isotopenmarkierter Form an den betreffenden Organismus appliziert. Nach einer Inkubationszeit wird der interessierende Metabolit isoliert und auf eventuelle Isotopenanreicherung(en) untersucht. Als Isotope finden hierbei hauptsächlich ^{2}H, ^{3}H, ^{13}C, ^{14}C, ^{15}N, ^{18}O und ^{32}S Anwendung.[1,2] Daneben können Erkenntnisse über Stoffwechselwege beispielsweise auch aus Untersuchungen mit Mutanten gewonnen werden.[1]

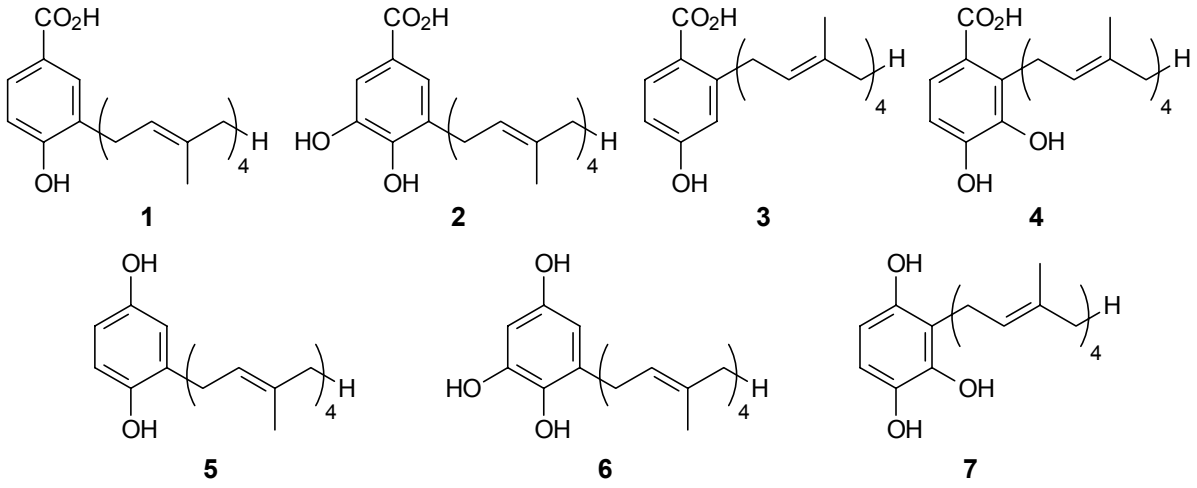


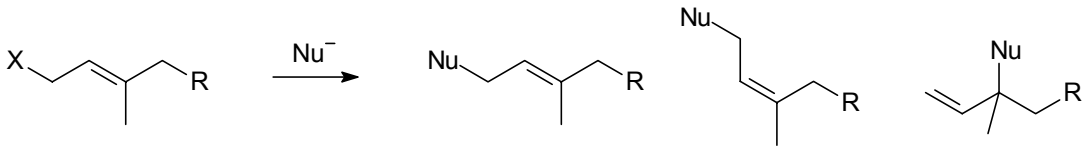
Abbildung 1. Syntheseziele. Zur Verwendung in Verfütterungsexperimenten sind die gezeigten Verbindungen **1**-**7** in ^{13}C-isotopenmarkierter Form herzustellen.

Zur Durchführung von Biosyntheseuntersuchungen an Pilzfruchtkörpern der Röhrlinge *Suillus tridentinus* und *S. bovinus* sollten im Rahmen der vorliegenden Arbeit die in Abbildung 1 dargestellten geranylgeranylierten Hydroxybenzoesäuren **1**-**4** und die Hydroxyarene **5**-**7** in ^{13}C-isotopenmarkierter Form synthetisiert werden. Die Herstellung derartiger polyprenylierter

Verbindungen hatte sich in früheren Arbeiten[3-5] als problematisch erwiesen. Nach einem Literaturüberblick über die Prinzipien der Herstellung polyprenylierter Arene und Benzochinone werden die eigenen Synthesearbeiten geschildert. Über die Verfütterungsexperimente und deren Ergebnisse wird später in eigenen Kapiteln berichtet.

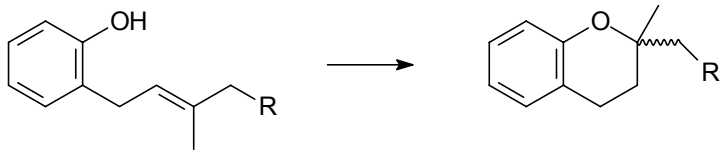
2 Synthesestrategien zur Herstellung polyprenylierter Arene und Chinone – eine Literaturübersicht

Der Transfer von (Poly)prenyleinheiten wird von Wessjohann[6] als die nach der Aldolreaktion möglicherweise zweitwichtigste in der Natur auftretende C–C-Kupplungsreaktion bezeichnet. Seit der Strukturaufklärung der K- und E-Vitamine sowie der Ubichinone wurden viele Anstrengungen unternommen, Arene oder Chinone mit Polyprenylseitenkette synthetisch herzustellen. Die bei der Herstellung polyisoprenoider Verbindungen wichtigsten zu optimierenden Parameter sind die Konfigurationsreinheit der allylischen 2',3'-Doppelbindung sowie – bei den entsprechenden Reaktionstypen – das Verhältnis von α- zu γ-Substitutionsprodukt (Schema 1).



Schema 1. Mögliche Produkte beim nucleophilen Angriff auf trisubstituierte (*E*)-Allylverbindungen.

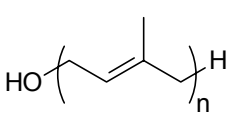
Eine meist unerwünschte Nebenreaktion stellt die von Säuren[7-10] oder Lewis-Säuren[11,12] katalysierte Cyclisierung von *ortho*-Hydroxy-(poly)prenylarenen zu Chromansystemen dar (Schema 2).



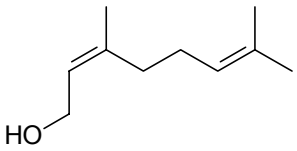
Schema 2. (Lewis-)Säurekatalysierte Cyclisierung von *ortho*-(poly)prenylierten Phenolen zu Chromanen.

Bei längeren Ketten (etwa ab C_{15}) bildet in aller Regel der Polyprenylrest die im Verhältnis zum Aren- oder Chinonteil wertvollere Komponente,[13] für die folglich die Ausbeute zu maximieren ist. Im folgenden wird ein Überblick der Synthesestrategien zu prenylierten Aromaten und Chinonen gegeben. Zur besseren Übersicht sind die Darstellungen in den Schemata durch Weglassen von Substituenten und Reaktionsbedingungen vereinfacht worden. Bei der

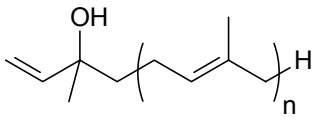
weitaus überwiegenden Zahl der Synthesen wird die (Poly)isoprenkette als solche an den Ring gekuppelt, der retrosynthetische Schnitt also zwischen Ring und Kette gelegt.



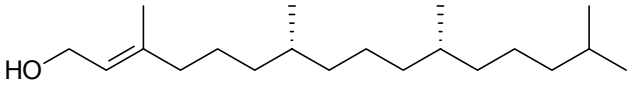
n = 1: Prenol
n = 2: Geraniol
n = 3: *all-trans*-Farnesol
n = 4: *all-trans*-Geranylgeraniol
n = 9: Solanesol



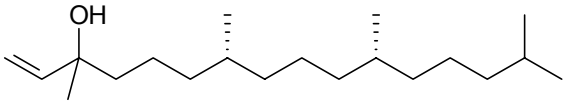
Nerol



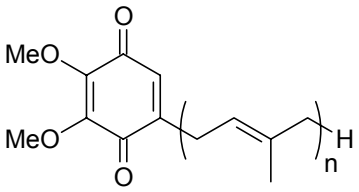
n = 1: Linalool
n = 2: Nerolidol



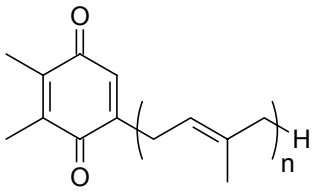
Phytol



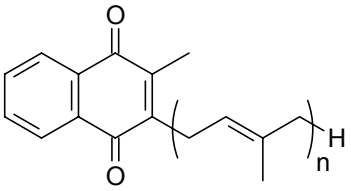
Isophytol



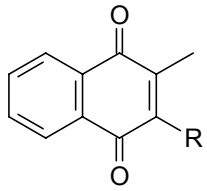
Ubichinon-5n, Coenzym Q_n



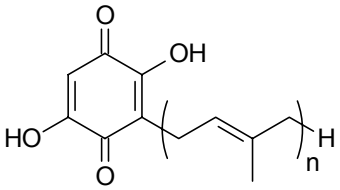
Plastochinon-n



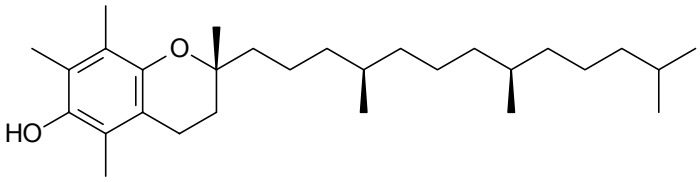
Menachinon-n, Vitamin $K_{2(5n)}$



R = Phytyl: Phyllochinon, Vitamin K_1
R = H: Menadion, Vitamin K_3



Bovichinon-n



(*R*,*R*,*R*)-α-Tocopherol, Vitamin E

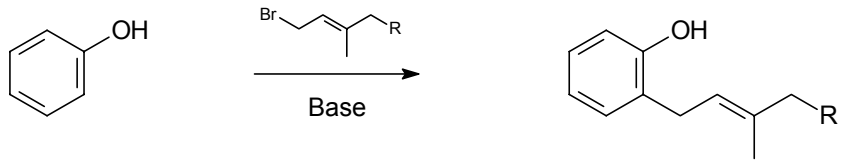
Abbildung 2. Gängige Trivialnamen wichtiger (Poly)prenylalkohole sowie von Chinonen mit isoprenoiden Seitenketten. Für IUPAC-Empfehlungen vgl. Lit.[14] (Prenole) bzw. Lit.[15] (Chinone). Ubichinone, Plastochinone, K-Vitamine, Bovichinone und Tocopherole werden unter dem Begriff „Biochinone“ zusammengefaßt.[16]

2.1 Retrosynthetische Spaltung der allylischen Bindung

2.1.1 Die Allyleinheit als Elektrophil

2.1.1.1 Alkylierung von Phenolaten nach Claisen

Im Jahre 1925 erkannte Ludwig Claisen[17] bei Untersuchungen zur Umsetzung von Phenolaten mit Allylbromid, daß die dabei erhaltenen *C*-Alkylierungsprodukte hierbei nicht über die Claisen-Umlagerung von Allylarylethern entstehen, sondern daß neben der *O*-Alkylierung auch direkte Alkylierung am *ortho*-ständigen *C*-Atom stattfindet, und daß das Verhältnis von *O*-Alkylierungsprodukt zu *C*-Alkylierungsprodukt in erster Linie von der Art des verwendeten Lösungsmittels beeinflußt wird. Während in protischen Lösungsmitteln wie Alkoholen oder Aceton nahezu ausschließlich *O*-Alkylierung eintritt, wird in aprotischen Lösungsmitteln wie Benzol oder Toluol die Kernalkylierung zur Hauptreaktion. Bezüglich des Prenylbromides berichtet Claisen über eine im Vergleich zu Allylbromid stärkere Neigung zur *C*-Alkylierung.



Schema 3. Einführung von (Poly)prenylresten in Phenolate durch Claisen-Alkylierung.

Die Arbeitsgruppe um Doisy[18] setzte die Claisensche *C*-Alkylierungsmethode bei einer der ersten Vitamin K_1-Synthesen im Jahre 1939 ein.[1] Dabei wurde das Produkt nach Umsetzung von 2-Methyl-1,4-naphthohydrochinon (Menadiol) mit Phytylbromid und Natrium in einem Benzol-Ethanol-Gemisch und Luftoxidation in schlechter Ausbeute erhalten.[24]

Bei der Synthese der Vitamine K_1 und K_2 und deren Analoga lassen sich bessere Ausbeuten von 30 bis 50 % erzielen, wenn ein Überschuß an Menadiol mit Phytyl-, Isophytyl- oder Polyprenylbromid und Alkalilauge in einem wäßrig-organischen Zweiphasensystem in Gegenwart eines Phasentransferkatalysators umgesetzt wird.[25] Ebenso erhöht sich bei der

[1] Synthetisches Vitamin K_1 wurde erstmals und unabhängig voneinander von Almquist,[19,20] Doisy,[18] Fieser[21] und Isler[22] im Jahr 1939 hergestellt. Einen Überblick über Vitamin K-Synthesen gibt Rüttimann.[23]

Synthese von Menachinon-2 (Vitamin $K_{2(10)}$) die Ausbeute von 20 auf 45 %, wenn 2-Methyl-1,4-naphthohydrochinon-1-methylether anstelle des freien Hydrochinons alkyliert wird.[13]

Während bei Umsetzungen von 4-Methoxyphenol mit je einem Äquivalent Prenyl-,[26] Geranyl- oder Farnesylbromid[27] und Natrium sehr gute Ausbeuten von 75 bis 85 % erzielt werden, liefert die analoge Reaktion von 4-Hydroxybenzoesäureethylester mit Prenylbromid lediglich 27 % Produkt.[28] Bei der Umsetzung von 4-Hydroxybenzoesäuremethylester mit Geranylbromid werden Ausbeuten von nur 7[29] bis 37 % erreicht.[30]

Phenol und 2-Methoxyphenol (Guajakol) wurden mit Natriumhydrid und Phytylbromid, Nonaprenylbromid (Solanesylbromid, vgl. Abbildung 2) oder Decaprenylbromid in Benzol zu den entsprechenden *ortho*-alkylierten Produkten umgesetzt, wobei stets auch die *O*-Alkylierungsprodukte erhalten wurden.[31]

In ein Stilbenderivat, ein Intermediat bei der Synthese von Schweinfurthin C, konnte der Geranylrest unter Claisen-Bedingungen bestenfalls in 14 % Ausbeute eingeführt werden. Auch hier wurde zusätzlich der unerwünschte Geranylether isoliert.[32]

Die Synthese von Bovichinonen gelingt in moderaten Ausbeuten durch Umsetzung von 2,5-Dihydroxybenzo-1,4-chinon mit Prenylbromiden in Gegenwart von Base.[33,34]

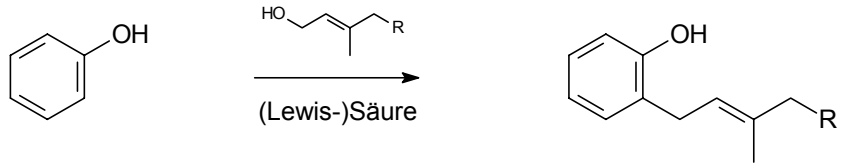
Wie die Berichte zeigen, führt die Claisen-Alkylierung von Phenolen mit (Poly)prenylbromiden oftmals zu Produktgemischen. Als Exempel hierfür mögen die Prenylierung von 2-Hydroxy-4-methoxybenzaldehyd[35] oder die Geranylierung eines Phloroglucinderivates[36] dienen. Einen Vergleich der Effekte verschiedenener Lösungsmittel und Basen bei der Umsetzung von Modellphenolen mit Prenylbromid führten Ritchie und Taylor[37] durch.

2.1.1.2 Alkylierungen vom Friedel-Crafts-Typ

Durch Kondensation von Phytol mit 2-Methyl-1,4-naphthohydrochinon (Menadiol) gelang Louis F. Fieser[21,38] die Synthese von Vitamin K_1.[1,2] Die Identität des Syntheseproduktes mit natürlichem Phyllochinon wird bestätigt.[40] Etwas später werden bewährte Reaktionsbedingungen mitgeteilt: ein moderater Überschuß von Menadiol wird in Dioxan mit Phytol in Gegenwart von wasserfreier Oxalsäure oder 85-proz. Phosphorsäure unter Erhitzen zur Reaktion gebracht. Nach Oxidation mit Silberoxid werden dann 24 bis 29 % Vitamin K erhalten.[41]

[2] Kurz zuvor war Karrer[39] die erste Synthese von α-Tocopherol durch Alkylierung von Trimethylhydrochinon mit Phytylbromid i. Ggw. v. $ZnCl_2$ gelungen. Die Cyclisierung zum Chromanring findet bereits unter den Reaktionsbedingungen statt.

Die Kondensation erfolgt auch ohne Katalysator durch bloßes Erhitzen der beiden Komponenten in Dioxan oder ohne Lösungsmittel.[42],[3] Neben der Alkylierung an C-3 erfolgt in etwa demselben Ausmaß auch Alkylierung der 2-Position, welche bereits die Methylgruppe trägt.[42] Die C-2-Alkylierung wird verhindert, wenn Menadiol vor der Kupplung in das 1-*O*-Monoacetylderivat überführt wird.[44]



Schema 4. Sauer katalysierte Einführung von (Poly)prenylresten in Phenole durch Friedel-Crafts-Alkylierung.

In den Jahren 1958 und 1959 wurden die ersten Ubichinonsynthesen durchgeführt. Isler kondensierte jeweils Phytol,[45] Solanesol[4] und Decaprenol[47] in Gegenwart von Zink(II)-chlorid mit 2,3-Dimethoxy-5-methylhydrochinon bzw. Solanesol mit 2,3-Dimethylhydrochinon.[48] Durch Kondensation des tertiären Allylalkohols *all-trans*-Farnesylnerolidol (vgl. Abbildung 2) mit 2,3-Dimethoxy-5-methylhydrochinon unter denselben Bedingungen wurde Coenzym Q_6 erhalten.[49] Folkers[50] setzte 2,3-Dimethoxy-5-methylhydrochinon mit verschiedenen Terpenalkoholen und „various condensing agents“ um und erhielt nach Oxidation die entsprechenden Ubichinone. Kurze Zeit später beschrieb er die Alkylierung verschiedener Hydrochinone mit Solanesol unter Bortrifluoridetherat-Katalyse.[51] Bortrifluoridetherat war zuvor von Isler[52] und Lindlar[53] als vorteilhaftes Kondensationsmittel in der Vitamin K-Synthese verwendet worden.

Mitte der 1960er Jahre wurde mittels ^{1}H-NMR-Spektroskopie festgestellt, daß das nach Bortrifluorid-katalysierten Kondensationen von Menadiol und (*E*)-Phytol erhaltene Vitamin K_1 7.5 bis 10 % unerwünschtes (2'*Z*)-Isomer enthält.[54] Setzt man (*Z*)-Phytol ein, beträgt der Anteil des unerwünschten (*E*)-Isomeren 35 %; mit dem tertiären Alkohol Isophytol (Abbildung 2) erhält man ein Produkt der Zusammensetzung 70 % (*E*) und 30 % (*Z*). Bezüglich der Konfiguration der Doppelbindung des Phytylrestes einheitliche Präparate können erhalten werden, wenn anstelle von Menadiol 1-*O*-Benzoylmenadiol mit *trans*- bzw. *cis*-

[3] Auch 2,4-Dihydroxybenzaldehyd und Geranylgeraniol kondensieren ohne Katalysator in siedendem Decalin mit 19 % Ausbeute.[43]

[4] Bis 1959 wurde der C_{45}-Alkohol Solanesol (Abbildung 2) irrtümlicherweise für einen C_{50}-Körper gehalten.[46]

Phytol zur Reaktion gebracht wird, da die kristallinen 1-*O*-Benzoyl-phyllohydrochinone leicht gereinigt werden können.[54]

Zusätzlich zu den bereits genannten Kondensationsmitteln wurden beispielsweise auch aromatische *N*-Sulfinylamine,[55],[5] 4-Toluolsulfonsäure,[56] Ameisensäure[53,57], wäßrige Oxalsäure[58] und Kaliumhydrogensulfat[59] verwendet, doch wird in neuerer Zeit meist mit Bortrifluoridetherat gearbeitet. Den Einfluß einiger (Lewis-)Säuren vergleichen Ritchie und Taylor.[37] Teilweise wird das Phenol, teilweise die Allylalkoholkomponente im Überschuß eingesetzt. Die Ausbeuten sind i.d.R. mäßig bis schlecht. So wurde Hydrochinon in Gegenwart von Bortrifluoridetherat mit Geraniol in 24 % Ausbeute[60] und mit *all-trans*-Farnesylgeranyllinalool (vgl. Abbildung 2) in 48 % Ausbeute[61] kondensiert. Die Umsetzung von 4-Hydroxybenzoesäuremethylester mit Phytol lieferte nach Esterverseifung 9 % Produkt.[31] Bei der BF_3-katalysierten Prenylierung von 2,4-Dihydroxybenzaldehyd mit 3-Hydroxy-3-methyl-1-buten entsteht bei 20 bis 30 % Gesamtumsatz ein Gemisch aus drei Produkten.[62] Für weitere Beispiele Bortrifluorid-katalysierter Alkylierungen s. Lit.[63-66]

Für die allgemein schlechten Ausbeuten ist u.a. die Instabilität der Polyprenylalkohole unter den sauren Bedingungen verantwortlich. So zersetzt sich beispielsweise Geraniol nach zweistündigem Erhitzen in 1-proz. wäßriger Oxalsäurelösung vollständig in 27 zum Großteil identifizierte Verbindungen.[67]

Nur teilweise können die Ausbeuten durch Variationen gesteigert werden. So liefert die Umsetzung von Isodecaprenol mit 2,3-Dimethoxy-5-methylhydrochinon unter Bortrifluorid-Katalyse nach Oxidation Coenzym Q_{10} in 51 % Ausbeute und > 90 % (*E*)-Anteil, wenn in einem Zweiphasensystem aus Nitromethan und Hexan gearbeitet wird.[68]

Anstelle freier Allylalkohole wurden Acetate[22,69] oder mit gutem Erfolg Methylether[70] eingesetzt. Bei Verwendung von Geranyldiisopropylphosphat wird über Ausbeuten um 50 % sowie ausschließliche α-Substitution und Erhalt der (*E*)-Konfiguration berichtet.[71]

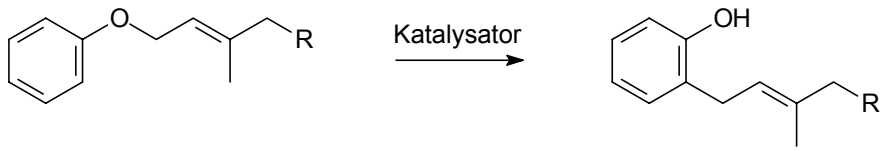
Bei der Synthese einfacher Vitamin K-[72,73] und Ubichinon-[74]Modelle aus den entsprechenden Hydrochinonen und großen Überschüssen von Allylbromiden konnten mit β-Cyclodextrin als Katalysator Ausbeuteverbesserungen erzielt werden.

Phenole mit elektronenziehenden Gruppen wurden in Gegenwart von Aluminiumoxid und/oder Bariumoxid in mäßigen bis mittleren Ausbeuten mit einfachem Prenylhalogenid

[5] Dabei wird der Allylalkohol ROH in situ in Form eines Arylamidoschwefligsäureesters $ArNH–SO_2R$ aktiviert.

alkyliert.[75] Gute Ausbeuten liefert die Reaktion von Allylhalogeniden mit Kaliumphenolaten unter Zink(II)-chlorid-Katalyse.[76]

(2'*E*)-Polyprenylarylether lagern in Gegenwart von Bortrifluorid bei –15°C in mittleren bis guten Ausbeuten regioselektiv und ohne Isomerisierung [1,3]-sigmatrop in die *ortho*-*C*-polyprenylierten Phenole um (Schema 5). Das Verfahren eignet sich auch für Ubichinonsynthesen.[77] Dieser Reaktionstypus kann als intramolekulare[6] Variante der Friedel-Crafts-Alkylierung aufgefaßt werden. Im Vergleich zur intermolekularen Friedel-Crafts-Alkylierung verläuft die Umlagerungsvariante unter milderen Reaktionsbedingungen und mit höherer (*E*)-Stereoselektivität.[79] Die Umlagerung wird auch durch Montmorillonit[80,81] und Florisil®[78] (ein Magnesiumsilicat) katalysiert.



Schema 5. *ortho*-(Poly)prenylierte Phenole durch [1,3]-Umlagerung von (Poly)prenylarylethern.

2.1.1.3 Kupplung von Aryllithiumverbindungen bzw. Arylcupraten mit Allylhalogeniden

Die Präsenz der γ-Methylgruppe in den (Poly)prenylhalogeniden vermindert bei diesem Reaktionstypus die Tendenz zur γ-Substitution.[82] Die Kupplung von Aryllithiumverbindungen mit Multiprenylhalogeniden wird selten ohne katalytischen oder stöchiometrischen Zusatz eines Kupfersalzes durchgeführt. Im Rahmen vergleichender Untersuchungen zur Menachinonsynthese wurde bei der unkatalysierten Umsetzung des geschützten Aryllithiumorganyls mit Geranylbromid eine wesentlich höhere Ausbeute erhalten als mit dem Chlorid. Noch besser verlief die Reaktion mit dem Lithiumdiarylcuprat.[13] Die besten Ergebnisse wurden mit der Aryl-Grignard-Verbindung erzielt (vgl. 2.1.1.4).

Die Reaktion einer Aryllithiumverbindung mit drei Äquivalenten Geranylbromid ergab das Kupplungsprodukt in 54 % Ausbeute. Von einer ähnlichen Reaktion wird gleichzeitig berichtet, daß die Geranylierung dann glatt verlief, wenn die Aryllithiumverbindung zuvor mit

[6] Durch Kreuzungsexperimente mit deuterierten Reaktanden wurde am Beispiel der Florisil®-katalysierten Reaktion gezeigt, daß die Umlagerung intramolekular verläuft.[78]

einem Äquivalent Kupfer(I)-cyanid versetzt wurde. Dabei wurde die Allylkomponente äquimolar eingesetzt.[32]

Auch bei der Kupplung von Arylcupraten des Ubichinon- und Menachinon-Substitutionsmusters, welche aus der jeweiligen Aryllithiumverbindung und 1.4 Äquivalenten Kupfer(I)-bromid hergestellt wurden, wurden mit Geranylbromid ohne nennenswerten Überschuß des Allylbromides gute Ausbeuten erzielt.[83] Bezüglich des Ubichinonsystems berichten andere Autoren über ähnlich gute Ergebnisse, wenn die Cuprat-Spezies mit 1.4 Äquivalenten Kupfer(I)-cyanid erzeugt wurde – Kupplungsversuche sowohl mit der Aryllithiumverbindung ohne Kupfersalzzusatz als auch mit dem Lithiumdiarylcuprat (aus der Aryllithiumverbindung und 0.5 Äquivalenten Kupfer(I)-iodid) waren unbefriedigend verlaufen.[84]

Durch Brom-Lithium-Austausch, Zusatz von 1.5 Äquivalenten Kupfer(I)-iodid und anschließende Alkylierung mit Polyprenylbromiden konnten polyprenylierte Hydrochinone in mäßigen Ausbeuten von 33 % erhalten werden.[85]

Gemischte Gilman-Cuprate (R = Aryl, R' = 3-Methyl-3-methoxy-1-butinyl[86]) wurden in guten Ausbeuten mit Geranylbromid oder -chlorid gekuppelt.[87] Die Kupplung einer Aryllithiumverbindung mit einem Polyprenylbromid verlief in Gegenwart des bei Grignard-Reaktionen häufig benutzten[88,89] Katalysators Lithiumtetrachlorocuprat(II).[90]

2.1.1.4 Kupplung von Aryl-Grignard-Verbindungen bzw. Arylcupraten mit Allylderivaten

Die Alkylierung der aus 2-Brom-1,4-dimethoxy-3-methylnaphthalin erhaltenen Grignard-Verbindung mit Geranylbromid und Solanesylbromid liefert in hervorragenden Ausbeuten Vitamin K-Vorstufen. Mit den Elektrophilen Geranylchlorid und Nerylbromid werden etwas geringere Ausbeuten erzielt, wobei an der 2',3'-Doppelbindung des *cis*-Derivates zu einem kleinen Teil Isomerisierung eintritt. Eine Umwandlung des Naphthylmagnesiumbromides in ein Cuprat bringt in der Reaktion mit Geranylbromid keine Vorteile.[13]

Ebenso wie Aryllithiumverbindungen werden Arylmagnesiumhalogenide mit Allylderivaten meist in Gegenwart von katalytischen oder stöchiometrischen Mengen an Kupfersalzen umgesetzt. So wurde zwischen einer Aryl-Grignard-Verbindung vom Substitutionsmuster der Ubichinone und dem Allylchlorid (*E*)-4-Chlor-2-methyl-1-phenylsulfonyl-2-buten erst dann eine Reaktion beobachtet, wenn Kupfer(I)-bromid zugesetzt wurde. Die Ausbeute korrelierte etwa linear mit der zugesetzten Menge des Kupferhalogenids, in Gegenwart eines Äquiva-

lentes des Kupfersalzes wurden die besten Ergebnisse erzielt.[91] Um zu Ubichinonen zu gelangen, wird die C_5-Seitenkette des so erhaltenen Bausteins verlängert.[92]

Das Produkt der Reaktion von Phenylmagnesiumbromid mit Geranylchlorid in Gegenwart von katalytischen Mengen Lithiumtrichlorocuprat(I) weist 18 % γ-Substitutionsanteil auf. Untersuchungen zeigen, daß die Regioselektivität bei Kupplungen von Aryl-Grignard-Reagenzien mit Allylchloriden von vielen Faktoren wie Zutropfgeschwindigkeit, Temperatur, Menge und Art des Katalysators abhängen kann.[93] Einen allgemeinen Überblick bezüglich der Regioselektivität bei Umsetzungen von magnesiumorganischen Verbindungen mit Allylderivaten geben Figadère und Franck.[94]

Anstelle von Halogeniden wurden am Allylderivat ebenso andere Abgangsgruppen erfolgreich verwendet. So wurden (*Z*)-trisubstituierte Allylacetate meist mit Retention der Konfiguration unter Li_2CuCl_4-Katalyse mit Aryl- und Alkylmagnesiumverbindungen gekuppelt. Auch hier wird über eine Abhängigkeit der Regioselektivität von der Abgangsgruppe, der Art des Kupferkatalysators, dessen zugesetzter Menge, der Reaktionstemperatur und dem Lösungsmittel berichtet.[95]

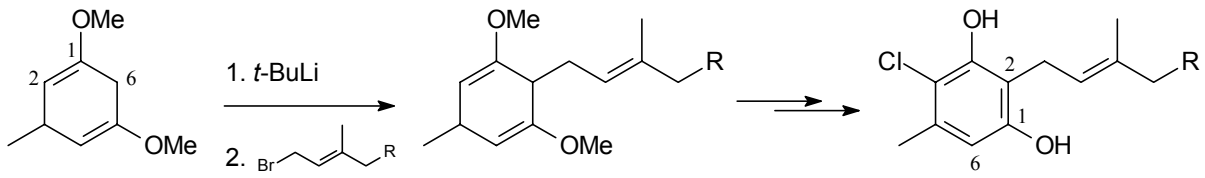
Während die Reaktion von Phenylmagnesiumbromid sowohl mit Geranyl- als auch mit Neryldiphenylphosphat zu *E*-*Z*-Gemischen führt,[96] wird mit den entsprechenden Diethylphosphaten bei der (*E*)-Konfiguration vollständige, im anderen Falle nahezu vollständige Retention der Doppelbindungsgeometrie beobachtet.[97] Aryl-Grignard-Verbindungen des Vitamin K- und Ubichinon-Typs wurden mit verschiedenen Prenyldiethylphosphaten in hohen Ausbeuten, mit vollständiger α-Regioselektivität und isomerisierungsfrei gekuppelt. Ein Katalysator wurde dabei nicht eingesetzt.[98]

In Gegenwart von Kupfer(I)-iodid ist bei 50°C die Reaktion der stabilen Polyprenyltetrahydropyranylether (THP-Ether) mit großen Überschüssen von Aryl-Grignard-Verbindungen möglich. Zum Teil entstehen dabei die γ-Substitutionsprodukte in signifikanten Mengen. Mit längeren Reaktionszeiten und/oder schlechteren Ausbeuten können auch Polyprenylethoxyethylether, Polyprenylmethyl- und -phenylether eingesetzt werden.[99,100]

Die Umsetzung der Grignard-Verbindung eines hochsubstituierten Aromaten mit Isoprenepoxid unter Kupfer(I)-chlorid-Katalyse lieferte selektiv den *trans*-Allylalkohol in guter Ausbeute, welcher nach Bromierung, Kettenverlängerung und Oxidation in Coenzym Q_{10} überführt wurde.[101]

2.1.1.5 Alkylierung von 1,4-Cyclohexadienen

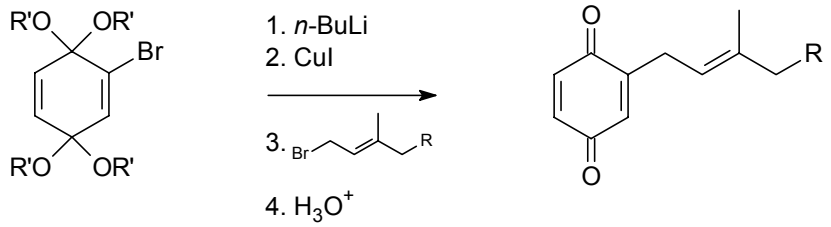
Da die Anfang der 1980er Jahre bekannten Methoden zur Einführung von Polyprenylresten in Phenole nicht den gewünschten Erfolg brachten, ging Mori[102-105] zur Synthese von aromatischen prenylierten Naturstoffen mit bestimmten Substitutionsmustern einen anderen Weg. Dabei wird 1,5-Dimethoxy-3-methyl-1,4-cyclohexadien mit verschiedenen (Poly)prenyl- oder ähnlichen Allylhalogeniden in Gegenwart von *tert*-Butyllithium als Base an C-6 alkyliert und nachfolgend unter Spaltung der Methylether und Einführung eines Chlorsubstituenten aromatisiert (Schema 6). Man erhält so 4-Chlor-5-methyl-2-polyprenylbenzol-1,3-diole mit der Option, eine Aldehydfunktion in die noch freie 6-Stellung einzuführen. Die Ausbeuten sind uneinheitlich. Das Verfahren wurde bis jetzt noch nicht auf andere Substitutionsmuster angewandt.



Schema 6. Polyprenylierung von Dimethoxy-3-methyl-1,4-cyclohexadien.

2.1.1.6 Kupplung der Cuprate von Chinon-Bisketalen mit Allylhalogeniden

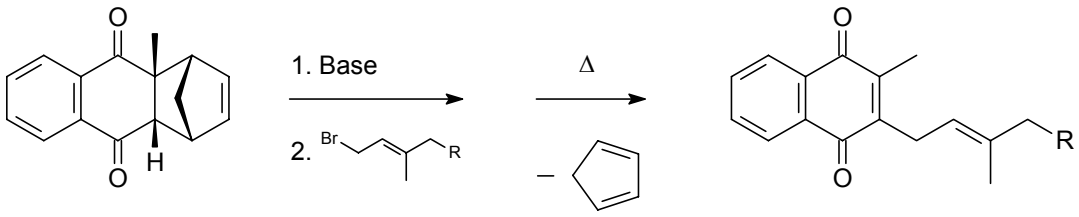
Zwischen lithiierten Chinon-Bisketalen und Allylbromiden tritt keine oder nahezu keine Reaktion ein. Die entsprechenden Cuprate vom Typ R_2CuLi dagegen kuppeln in hohen Ausbeuten mit Prenyl-, Geranyl- und Phytylbromid; c*is*-Isomere wurden in den Kupplungsprodukten nicht beobachtet (Schema 7). Während mit Prenyl- und Geranylbromid jeweils nur ein Organosubstituent des Cuprates reagiert, werden in der Umsetzung mit Phytylbromid beide organischen Reste genutzt.[106]



Schema 7. Polyprenylierung von lithiierten Chinon-Bisketalen.

2.1.1.7 Alkylierung der Enolate von Chinon-Cyclopentadienaddukten

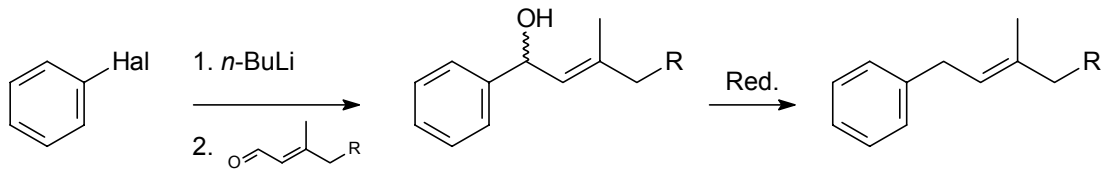
Das Diels-Alder-Addukt aus 2-Methyl-1,4-naphthochinon (Menadion) und Cyclopentadien kann nach Deprotonierung zum Enolat mit Phytylbromid oder langkettigen Polyprenylbromiden in hohen Ausbeuten regioselektiv und bezüglich der 2',3'-Doppelbindung isomerisierungsfrei alkyliert werden. Nach einer Retro-Diels-Alder-Reaktion, welche bereits bei 70 bis 120°C abläuft, erhält man wiederum in hohen Ausbeuten die entsprechenden K-Vitamine (Schema 8).[23] Nach diesem Prinzip wurden auch Ubichinone[107,108] und Kronenether-substituierte Ubichinone[109] hergestellt.



Schema 8. Cyclopentadien als Hilfsreagenz bei der Vitamin K-Synthese.

2.1.1.8 1,2-Addition von Aryllithiumorganylen an α,β-ungesättigte Aldehyde

Die 1,2-Addition von Aryllithiumverbindungen an die α,β-ungesättigten Aldehyde Geranial, Neral und *all-trans*-Geranylgeranial liefert die entsprechenden α-Alkenylbenzylalkohole. Nach Silylierung werden diese Alkohole einer modifizierten Birch-Reduktion unterworfen, so daß prenylierte Aryl-[110] oder Naphthylderivate[111] (Menachinon-Vorstufen) erhalten werden (Schema 9). Sowohl die Addition als auch die Reduktion verlaufen mit mittleren bis guten Ausbeuten und unter nahezu vollständiger Retention der Konfiguration sowohl der (*E*)- als auch der (*Z*)-2',3'-Doppelbindung.



Schema 9. Addition von Aryllithiumverbindungen an α,β-ungesättigte Aldehyde.

2.1.2 Die Allyleinheit als Nucleophil

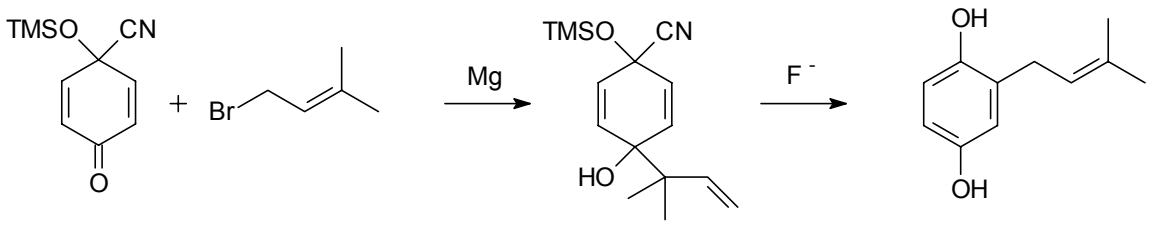
2.1.2.1 Kupplung von Allyl-Grignard-Verbindungen mit Arylhalogeniden

γ-Alkylsubstituierte Allyl-Grignard-Verbindungen liegen hauptsächlich in dieser Form und nicht als delokalisierte Allylanionspezies vor. Selbst bei tiefen Temperaturen findet eine schnelle *E*-*Z*-Umwandlung statt. Bei geringem Raumanspruch des Alkylsubstituenten ist dabei das (*Z*)-Isomer begünstigt.[112] Der Konfigurationsverlust bei der Umwandlung von Geranyl- und Nerylchlorid in die entsprechenden Polyprenyl-Grignard-Verbindungen wurde in Abhängigkeit von der Temperatur genauer untersucht.[113] Demnach wird die *E*-*Z*-Isomerisierungsreaktion der Polyprenylmagnesiumchloride erst bei –95°C „eingefroren" und eine nahezu vollständige Retention der Konfiguration der allylischen Doppelbindung erreicht.[7]

Durch kupferkatalysierte Umsetzung von Geranylmagnesiumbromid mit 2-Brom-1,4-dimethoxybenzol wurde in guter Ausbeute das Geranylhydrochinonderivat erhalten. Angaben über dessen Konfigurationsreinheit fehlen.[114]

2.1.2.2 Kupplung von Allyl-Grignard-Verbindungen mit maskierten Chinonen

Bei Umsetzung der silylierten Cyanhydrine von Benzo- und Naphthochinonen („maskierte Chinone") mit Prenylbromid in Gegenwart von Rieke-Magnesium erfolgt eine S_N2'-Addition der Allyl-Grignard-Verbindung an die freie Carbonylgruppe. Im Zuge der Entschützung mit Fluorid findet eine [3,3]-sigmatrope Umlagerung zu prenylierten Hydrochinonen statt (Schema 10). Die erforderlichen maskierten Chinone können durch Reaktion mit Trimethylsilylcyanid regioselektiv erhalten werden.[115] Die Methode wurde lediglich zur Einführung des einfachen Prenylrestes angewandt.



Schema 10. Einführung des Prenylrestes in maskierte Chinone.

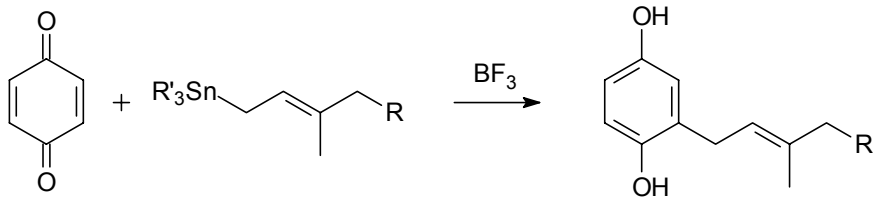
[7] Die *E*-*Z*-Isomerisierung von Polyprenyllithium- und -natriumverbindungen wird bereits bei etwa –70°C bzw. –40°C „eingefroren", die Kaliumorganyle sind bei 0°C in hohem Maße konfigurationsstabil. *Di*substituierte Allylmagnesiumverbindungen isomerisieren auch bei –100°C rasch.[113]

2.1.2.3 Kupplung von π-Allylnickelhalogenkomplexen mit Arylhalogeniden

Auf der Suche nach besseren Kupplungsverfahren übertrug Sato Anfang der 1970er Jahre ein von Corey und Semmelhack[116] entwickeltes Reaktionssystem auf Vitamin K-[117,118] und Ubichinon-[119,120]Synthesen. Dabei werden aus den entsprechenden *trans*-Allylbromiden durch Reaktion mit Nickeltetracarbonyl π-Allylnickel(I)-bromid-Komplexe hergestellt, welche, eingesetzt in moderatem Überschuß, in mittleren bis guten Ausbeuten mit Aryliodiden oder -bromiden kuppeln. Die Stereoselektivität der Reaktion bezüglich der 2',3'-Doppelbindung erwies sich als lösungsmittelabhängig, doch konnte bestenfalls ein *trans*:*cis*-Verhältnis von 80:20 erreicht werden.[8] π-Allylnickelbromidkomplexe wurden auch direkt mit Chinonen umgesetzt, um z.B. Plastochinon-1 oder Coenzym Q_1 in mäßigen Ausbeuten zu erhalten.[122,123]

2.1.2.4 Reduktive Allylierung von Chinonen mit Trialkylallylstannanen

Mit der reduktiven Alkylierung von Benzo-1,4-chinonen durch Trimethyl- oder Tri-*n*-butylprenylstannane entwickelten Maruyama und Naruta[124] eine Methode zur Herstellung von Ubichinonen und ähnlichen Verbindungen in mittleren bis sehr guten Ausbeuten (Schema 11). Die Kupplung findet unter Bortrifluoridetherat-Katalyse bei tiefen Temperaturen statt, wobei die Zinnorganyle in meist geringem Überschuß bezüglich der Chinonkomponente eingesetzt werden. Man erhält auf diese Weise prenylierte Hydrochinone[125] bzw. nach Oxidation die entsprechenden Ubichinone.[126-130] Die Alkylierung von Trimethylbenzochinon zur Phytylverbindung gelingt ohne Chroman-Cyclisierung zum α-Tocopherol.[126] K-Vitamine erhält man in mäßigen bis mittleren Ausbeuten; hierbei tritt z.T. auch Alkylierung an C-2 des Menadions ein.[126,131]



Schema 11. Reduktive Alkylierung von Chinonen mit (Poly)prenyltrialkylstannanen.

[8] In einem weiteren Bericht über die Einführung des Phytylrestes in ein Arylbromid über den Nickelkomplex werden bezüglich der Konfiguration der 2'-Doppelbindung keine Angaben gemacht.[121]

Die (2*E*)-Doppelbindungsgeometrie der Prenylzinnverbindungen bleibt vollständig erhalten. Bei der Kupplung von stereochemisch uneinheitlichen Prenylderivaten zeigen die Produkte einen im Vergleich zum Ausgangsmaterial erhöhten 2',3'-*trans*-Anteil, entsprechend tritt bei *cis*-Derivaten teilweiser Konfigurationsverlust ein.[128,131] Eine γ-Substitution wird nicht beobachtet, kann aber bei Umsetzung disubstituierter Olefine anstelle von Prenylverbindungen auftreten.[132,133]

Bezüglich des Mechanismus handelt es sich wahrscheinlich um eine 1,2-Addition an die Carbonylgruppe mit nachfolgender intramolekularer[134] Umlagerung.[132]

Bei der Umsetzung von 1,2-Naphthochinonen mit Trialkylallylzinnverbindungen wird an C-4 alkyliert, während 9,10-Phenanthrenchinone das 1,2-Additionsprodukt liefern.[133]

Die reduktive Alkylierung von Chinonen mit Prenylindiumverbindungen bedarf keiner Lewis-Säure-Katalyse, zeigt jedoch nahezu keine Stereoselektivität und führt z.T. zu unerwünschten Regioisomeren sowie Mehrfachalkylierungen.[135]

2.1.3 Palladium(0)-katalysierte Kreuzkupplungen

2.1.3.1 Stille-Kupplung von Trialkylarylstannanen mit Allylderivaten

Anfang der 1980er Jahre wurde Vitamin K_1 durch Kreuzkupplung der entsprechenden Aryltrimethylzinnverbindung mit Phytylbromid unter Zink(II)-chlorid-Katalyse hergestellt.[136] Die palladiumkatalysierte Kupplung von einfachem Allylbromid mit verschiedenen Aryltrimethylstannanen war kurz zuvor mit sehr guten Ausbeuten durchgeführt worden.[137] Die Umsetzung von Nerylchlorid[138] und Geranylchlorid[139] mit Tri-*n*-butylphenylstannan in Gegenwart von $Pd(dba)_2$ und PPh_3 verläuft in hohen Ausbeuten und unter Retention der jeweiligen Olefingeometrie. Allylacetate kuppeln mit Arylstannanen unter $Pd(dba)_2$-Katalyse nur in Abwesenheit von Triphenylphosphan: Geranyl-, Neryl- und Farnesylacetat wurden so mit Arylzinnverbindungen unter Retention der Doppelbindungskonfiguration umgesetzt.[140] Bei einer analogen Reaktion mit einem acetylierten (2*E*)-Farnesolderivat wird allerdings über merkliche Isomerisierung der Doppelbindungsgeometrie berichtet.[141,142]
Auch Prenylethylcarbonate, -trichlorethylcarbonate (TROC) und -trifluoracetate gehen die palladiumkatalysierte Reaktion mit Arylstannanen ein.[143]

Isoprenmonoepoxid kuppelt mit Trialkylphenyl- und Trialkylnaphthylstannan in Gegenwart von Pd(0) regioselektiv unter 1,4-Addition, wobei bezüglich der 2',3'-Doppelbindung ein *E*-*Z*-Isomerengemisch entsteht.[144]

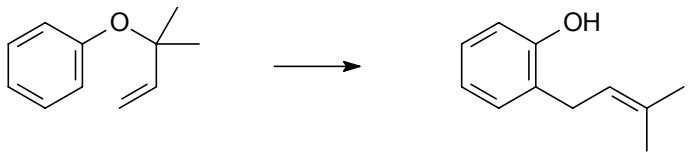
Um direkt zu substituierten Chinonen zu gelangen, können unter Stille-Bedingungen anstelle von Arylzinnverbindungen auch Stannylbenzo-1,4-chinone mit Prenylhalogeniden umgesetzt werden.[145]

2.1.3.2 Stille-Kupplung von Trialkylallylstannanen mit Arylhalogeniden

Auch die umgekehrte Version der Stille-Reaktion, die Umsetzung von Allylzinnverbindungen mit Arylhalogeniden unter $Pd(PPh_3)_4$-Katalyse, wurde bereits früh durchgeführt.[146] Die Kreuzkupplung von Prenyltributylstannanen mit Arylbromiden[65,147-149] oder Aryliodiden[150] liefert die Produkte in mittleren bis guten Ausbeuten.

2.1.4 Claisen-Umlagerung von 1,1-Dimethylallylarylethern

Im Jahre 1912 beschrieb Claisen[151] zum ersten Mal die thermische Umlagerung von Allylarylethern zu *ortho*-Allylphenolen. Es wird über hohe Ausbeuten berichtet. Einige Jahre später wurde die dabei auftretende Wanderung der Doppelbindung erkannt.[152] Erst 1970 führte Murray[153] die Claisen-Umlagerung mit (1,1-Dimethylallyl)arylethern durch, um *ortho*-prenylierte Phenole zu erhalten (Schema 12). Die erforderlichen (1,1-Dimethylallyl)-arylether werden durch partielle Reduktion von (1,1-Dimethylpropargyl)arylethern gewonnen. Die folgende Umlagerung findet etwa bei Temperaturen ab 130°C statt und wird ohne Lösungsmittel[154] oder in hochsiedenden Lösungsmitteln wie z.B. *N*,*N*-Dialkylanilinen[155,156] durchgeführt. In Gegenwart von Bortrifluoridetherat als Katalysator erfolgt die Umlagerung bereits bei –60°C.[157] Die Umlagerung verläuft oftmals mit brauchbarer Regioselektivität.[9]



Schema 12. Claisen-Umlagerung von (1,1-Dimethylallyl)arylethern zu *ortho*-Prenylphenolen.

[9] Bei bestimmten Substitutionsmustern kann trotz freier *ortho*-Position eine Wanderung der Dimethylallyl-einheit ausschließlich in die *para*-Position eintreten.[158]

2.1.5 Enzymatische Prenylierung

Vielfach katalysieren Prenyltransferasen, bei welchen es sich überwiegend um membrangebundene Enzyme handelt, die Prenylierung in der *ortho*-Stellung von Phenolen. So bewirkt beispielsweise der Enzymextrakt aus Zellkulturen von *Lithospermum erythrorhizon* in Gegenwart von $MgCl_2$ und Geranylpyrophosphat eine C-3-Geranylierung von 4-Hydroxy[*carboxy*-^{14}C]benzoesäure.[159] Lange Zeit war mit derartigen Befunden keine synthetische Anwendung verbunden. Wessjohann[6,160,161] führte Alkylierungen mit Prenylpyrophosphaten in der *meta*-Position von Benzoesäuren,[10] die einen Elektronen- und Wasserstoffbrückendonor (OH, NH_2) in *para*-Position sowie ein Wasserstoffatom an C-2 tragen müssen, erstmalig im synthetischen Mikromaßstab aus. Die Prenyltransferase wird aus einem rekombinanten überproduzierenden *E. coli*-Stamm gewonnen, als Cofaktor ist lediglich Magnesiumchlorid erforderlich. Die Ausbeuten liegen bei bis zu 80 %, eine zweifache Prenylierung wird nicht beobachtet. Da die Reaktion im wäßrigen Medium stattfindet, ist die Enzymaktivität mit Geranylpyrophosphat größer als mit längerkettigen lipophileren Prenylderivaten.

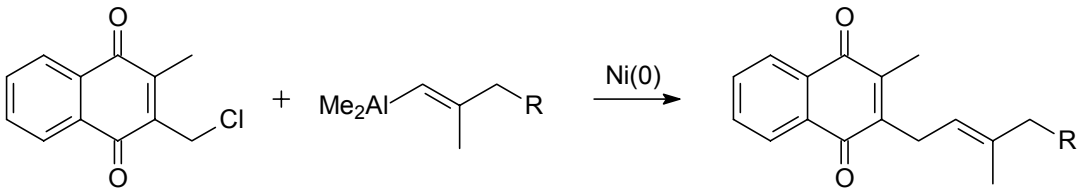
2.2 Retrosynthetische Spaltung der vinylischen Bindung

Weitaus seltener als die retrosynthetische Spaltung der allylischen Bindung wird die Spaltung der vinylischen 1',2'-Bindung vorgenommen. So kann etwa Benzylbromid mit einem Vinylstannan unter Palladium(0)-Katalyse gekuppelt werden.[162] Zur Synthese von Vitamin K_1 wurde eine (*E*)-Alkenylkupferverbindung mit 2-Brommethyl-3-methyl-1,4-naphthochinon isomerisierungsfrei in mittleren Ausbeuten umgesetzt. Auch mit der (*Z*)-Alkenylkupferverbindung gelang der Kupplungsschritt ohne Konfigurationsverlust.[23]

Auf einem Verfahren von Negishi[163] gründet die von Lipshutz entwickelte Strategie zur Kupplung von Vinylalanen mit Benzylhalogeniden. Die Prenylbausteine werden zunächst als terminale Alkine aufgebaut, die nach Carboaluminierung erhaltenen (*E*)-Dimethylvinylalane werden dann mit Benzylbromiden oder -chloriden umgesetzt. Nickel(0)-Katalysatoren zeigen dabei wesentlich höhere Aktivität als Palladium(0)-Verbindungen.[164] Da die Ausbeuten bei der abschließenden Oxidation der Kupplungsprodukte zu Ubichinon- und verwandten Systemen stets unbefriedigend ausfielen, wurde der Oxidationsschritt vorweggenommen: chlor-

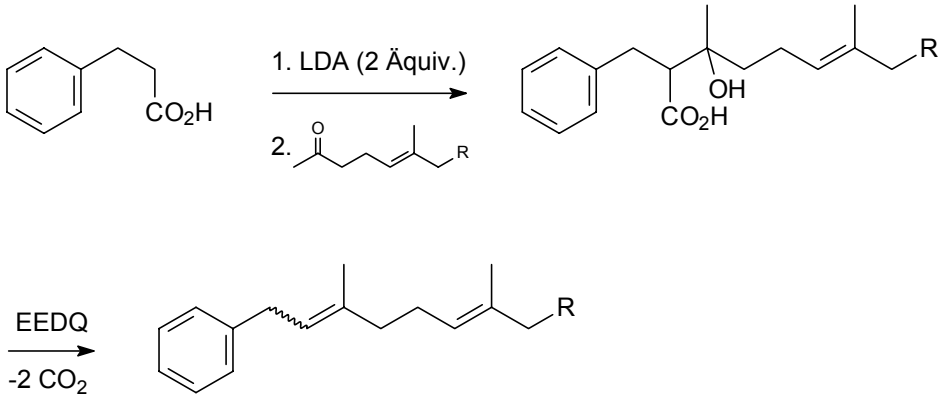
[10] Die Carboxylgruppe ist für die verwendete Transferase unerläßlich und kann auch nicht durch andere Gruppen ersetzt werden.[6]

methylierte Benzo- und Naphtho-1,4-chinone erwiesen sich im Vergleich zu Benzylhalogeniden überdies als bessere Kupplungspartner (Schema 13). Die Ausbeuten bezüglich der Chinonkomponente liegen im Bereich von 70 bis 90 %, der Seitenkettenbaustein wird in moderatem Überschuß eingesetzt.[165,166] Erst vor kurzem lieferte auch Negishi[167] einen Beitrag über die nickelkatalysierte Kupplung von 2-Chlormethyl-benzo- und -naphthochinonen mit Vinylalanen, wobei der Schwerpunkt auf der Herstellung der Polyisoprenkomponenten liegt.



Schema 13. Umsetzung von chlormethylierten Chinonen mit Vinylalanen nach Lipshutz.

2.3 Retrosynthetische Spaltung der 2',3'-Bindung

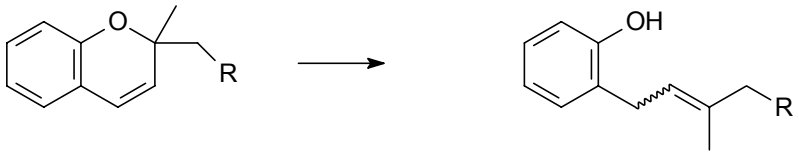


Schema 14. Prinzip der Grifolinsynthese nach Ohta.

Bei der Synthese des Antibiotikums Grifolin führt Ohta[168] den Farnesylrest durch Umsetzung des Enolates der entsprechenden 3-Phenylpropionsäure mit Geranylaceton ein (Schema 14). Über eine Olefinierungsreaktion wird die 2',3'-Doppelbindung erhalten. Das *trans*:*cis*-Verhältnis von 3:1 erfordert eine Reinigung durch Kristallisation.

2.4 Öffnung von Chromenen

Chromene können beispielsweise durch Reaktion von Phenolaten mit α,β-ungesättigten Aldehyden oder Ketonen[169] oder durch Reaktion von Aryloxymagnesiumbromid mit α,β-ungesättigten Acetalen[170] erhalten werden. Whiting[171,172] entwickelte eine Prozedur zur Öffnung von Chromenen über Phenylthiochromane zu den korrespondierenden *ortho*-Prenylphenolen. Verbindungen, welche eine längere als die einfache Prenylseitenkette tragen, werden allerdings in Form des 1:1-*E*/*Z*-Isomerengemisches erhalten (Schema 15).

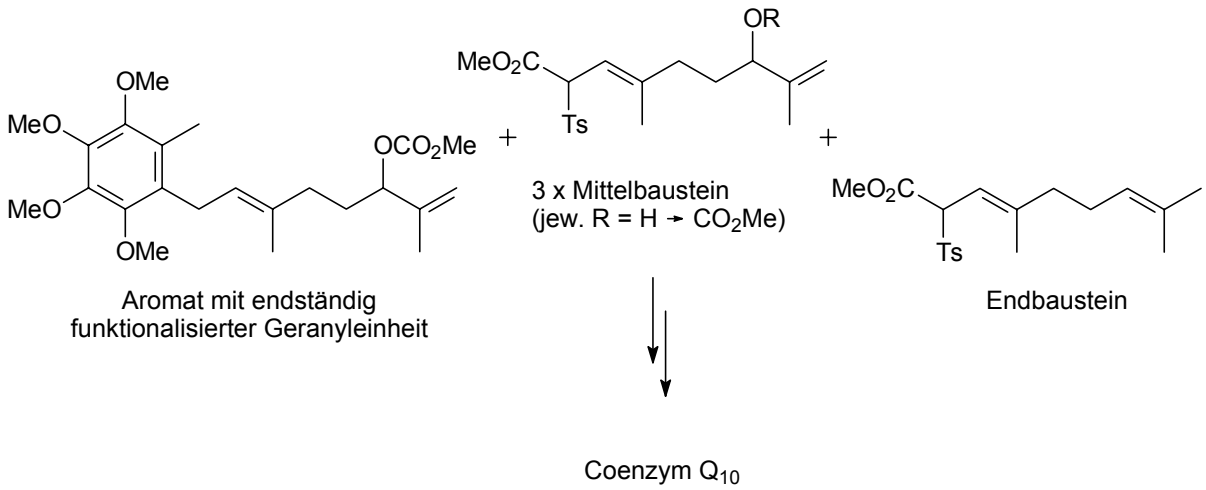


Schema 15. Öffnung von Chromenen zu *ortho*-prenylierten Phenolen.

2.5 Schrittweise Seitenkettenverlängerung

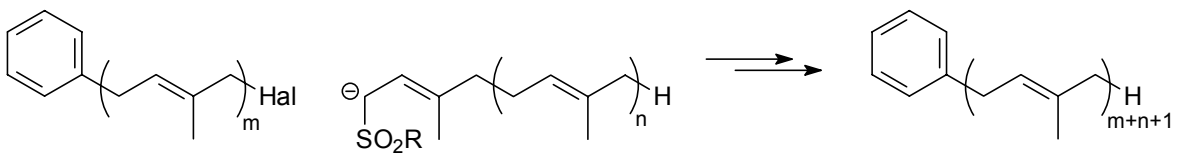
Polyisoprenketten können auch nach Kupplung an ein Aren stereoselektiv und regioselektiv verlängert werden. Dieses Vorgehen bietet den Vorteil, daß längere Ketten nicht als kostbarer Gesamtbaustein eingeführt werden müssen. Nach dem Verfahren von Keinan und Eren[173,174] wird beispielsweise die C_{50}-Polyprenylkette des Coenzyms Q_{10} iterativ aus fünf Geranyleinheiten aufgebaut (Schema 16). Die erste Geranyleinheit wird in die entsprechende Aryllithiumverbindung eingeführt. Nach kettenendständiger Funktionalisierung der ersten Einheit erfolgt die Verlängerung durch sukzessive Einführung dreier identischer C_{10}-Mitteleinheiten und eines Endbausteines. Abschließend werden Hilfsgruppen in der C_{50}-Seitenkette entfernt und zum Benzo-1,4-chinon oxidiert. Sämtliche Doppelbindungen entstehen selektiv in (*E*)-Konfiguration. Die End- und Mittelbausteine sind aus Geraniol in zwei bzw. vier Stufen zugänglich.

Ausgehend von der geranylierten Arenvorstufe wurde Coenzym Q_{10} durch zweimalige Verlängerung der Allylphosphate der jeweils terminalen Prenyleinheit mit Geranylgeranylmagnesiumchlorid hergestellt. Die Methode ist im Vergleich zum oben geschilderten Verfahren wegen der unbefriedigenden Stereoselektivität (vgl. hierzu auch 2.1.2.1) wenig effektiv, darüberhinaus werden sehr hohe Überschüsse der Geranylgeranyl-Grignard-Verbindung benötigt.[175]



Schema 16. Iterativer Aufbau der C_{50}-Seitenkette des Coenzyms Q_{10} nach Keinan und Eren.

Biellmann[176,177] entwickelte eine Methode zur Verknüpfung von Prenyleinheiten. Dabei wird ein (Poly)prenylphenylthioether in α-Stellung zum Schwefelatom deprotoniert und anschließend mit einem (Poly)prenylbromid umgesetzt, um nach reduktiver Entfernung der Thioethergruppe Verbindungen vom Squalen-Typ zu erhalten. Werden als Elektrophile anstelle von Prenylbromiden geeignete 2-Methylallylhalogenide (terminal funktionalisierte Prenylverbindungen) eingesetzt, so lassen sich beide Partner zu Polyprenylverbindungen kuppeln.[178] Dieses modifizierte Biellmann-Verfahren wird auch zur Verlängerung der Seitenketten von prenylierten Arenen, oftmals im Zuge von Ubichinonsynthesen, verwendet (Schema 17).[101,179-182] Anstelle der Thioether werden meist Sulfonylverbindungen eingesetzt. Seltener wird die umgekehrte Variante, die Kupplung des Anions eines 2-Methylallyltosylates mit Prenylbromiden, ausgeführt.[92,183] Die Geometrie der Doppelbindungen wird durch die Reaktanden bereits vorgegeben und im Falle der (*E*)-Konfiguration beider Reaktionspartner konserviert,[179] auch (*Z*)-2-Methylallylhalogenide können unter Konfigurationserhalt umgesetzt werden.[184]

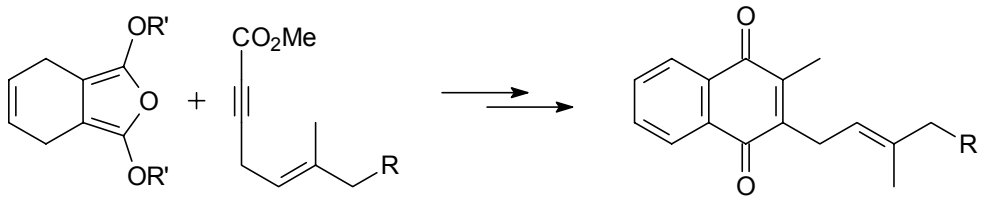


Schema 17. Verlängerung von isoprenoiden Seitenketten nach dem Biellmann-Verfahren.

2.6 Retrosynthetischer Schnitt durch den Ring

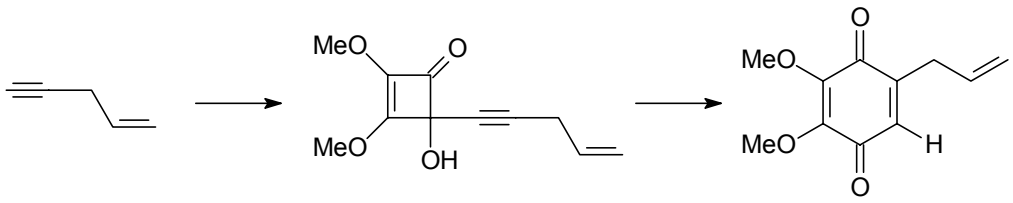
Zur Synthese prenylierter Arene bzw. Chinone werden auch Konzepte herangezogen, bei welchen die retrosynthetische Schnittstelle durch den die Seitenkette tragenden Sechsring verläuft. So können Vitamine vom K-[185,186] und E-[187]Typ nach Dötz durch Umsetzung von Fischer-Chrom-Carben-Komplexen mit isoprenoiden Eninen erhalten werden. Der Alkineinbau verläuft jedoch mit schlechter Regioselektivität.

Die Diels-Alder-Reaktion eines geschützten dihydroxylierten Dihydroisobenzofurans mit einem von Phytol abgeleiteten Propargylmethylester liefert nach Entschützung, Reduktion der Esterfunktion zur Methylgruppe und Oxidation zum Chinonsystem Vitamin K_1 (Schema 18).[23]



Schema 18. Prinzip der Synthese von Vitamin K_1 über eine Diels-Alder-Reaktion.

Durch die vermutlich über Keten- und Diradikalintermediate verlaufende thermische Umlagerung von 4-Alkinyl-2,3-dimethoxy-4-hydroxycyclobutenonen ist das Substitutionsmuster von Demethylubichinonen grundsätzlich zugänglich (Schema 19).[188]



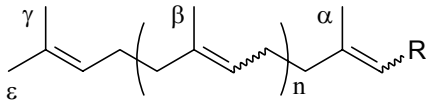
Schema 19. Umlagerung von 4-Alkinyl-2,3-dimethoxy-4-hydroxycyclobutenonen zum Demethylubichinonsystem.

2.7 Exkurs: Analyse von Doppelbindungskonfigurationen in Polyisoprenketten mittels NMR-Spektroskopie

Die bei Bestimmung der Geometrie von Doppelbindungen in Polyisoprenketten mittels NMR-Spektroskopie wichtigen Gesetzmäßigkeiten werden im folgenden kurz zusammengefaßt.

2.7.1 ^{1}H-NMR-Spektroskopie

Die ^{1}H-NMR-Spektroskopie wurde erstmals im Jahre 1965 zu Untersuchungen der Doppelbindungsgeometrie bei Phyllochinonen und Menachinonen herangezogen.[54] Die chemischen Verschiebungen der Protonen der Methylgruppen in jeder Isopreneinheit werden von der Doppelbindungskonfiguration der betreffenden Einheit beeinflußt. Im ^{1}H-NMR-Sprektrum treten diese Protonen α, β, γ, ε (Tabelle 1) als durch ^4J-Kopplungen verbreiterte Singuletts in Erscheinung. Die Protonen der Methylgruppe einer (*Z*)-Isopreneinheit erfahren – bedingt durch die vinylischen Wasserstoffatome – gegenüber denen einer (*E*)-Einheit einen Tieffeldshift von $\Delta\delta$ = 0.07-0.09.[189] In $CDCl_3$ betragen die jeweiligen chemischen Verschiebungen für β-Protonen um δ 1.57-1.62 für (*E*)-Einheiten und um δ 1.66-1.69 für (*Z*)-Einheiten. Untersuchungen am Beispiel der Ubichinone zeigen, daß die chemische Verschiebung der Methylgruppenprotonen der dem Chinonring benachbarten ersten Isopreneinheit zusätzlich vom Chinonsystem beeinflußt wird, und daß zwischen allen weiteren Isopreneinheiten und dem Chinonring keine Wechselwirkung mehr besteht.[190] Beispielsweise im Farnesylsäureethylester (vgl. Tabelle 1: R = CO_2Et, n = 1) ist der Einfluß des Substituenten R besonders stark: die chemische Verschiebung der Protonen der α-Methylgruppe beträgt δ 2.16. Die chemischen Verschiebungen der Protonen der beiden terminalen Methylgruppen γ und ε unterscheiden sich nicht von denen im Mittelteil einer Kette, und die Protonen der zu dem vinylischen Wasserstoffatom *cis*-ständigen endständigen Methylgruppe ε erfahren ebenso den erwähnten Tieffeldshift.



Methylgruppe	δ/ppm
α	1.57-2.2 (abhängig von R und Konfiguration)
β	(*E*)-Einheit: 1.57-1.62; (*Z*)-Einheit: 1.66-1.69
γ	1.57-1.62
ε	1.66-1.69

Tabelle 1. ^{1}H-NMR-Verschiebungen der Protonen von Methylgruppen in Polyisoprenketten ($CDCl_3$, Standard: $CHCl_3$ = 7.26).[11]

2.7.2 ^{13}C-NMR-Spektroskopie

Beim Vergleich der jeweils vier möglichen Isomere von Farnesol (R = CH_2OH), Farnesylbromid (R = CH_2Br) und Farnesylsäureethylester (R = CO_2Et) stellt sich heraus, daß jede Isopreneinheit zwei Kohlenstoffatome besitzt, deren chemische Verschiebungen relativ stark von der Geometrie der Doppelbindungen abhängen: das Kohlenstoffatom der Methylgruppe und das Kohlenstoffatom der jeweils dem quartären C-Atom benachbarten Methylengruppe (Tabellen 2 und 3). Zugleich sind die chemischen Verschiebungen aller anderen C-Atome nahezu nicht von der Geometrie der Doppelbindungen abhängig (Tabellen 4 und 5).[191]

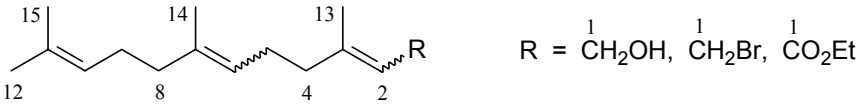


Abbildung 3. Atomnumerierung in allen möglichen Isomeren von Farnesol, Farnesylbromid und Farnesylsäureethylester.

C-Atom	δ_C in (*E*)-Einheiten	δ_C in (*Z*)-Einheiten
4	39.6-41.5	31.55-33.9
8	39.8-40.1	31.0-32.2
14	16.0-16.25	23.4-26.0

Tabelle 2. ^{13}C-NMR-Signale in Farnesolderivaten, deren ^{13}C-NMR-Verschiebungen nahezu ausschließlich von der Doppelbindungsgeometrie abhängig sind.[12]

[11] Vgl. hierzu z.B. Lit.[189] sowie Daten aus dieser Arbeit.
[12] $CDCl_3$, TMS, 15 MHz, nach Lit.[191] Numerierung der Atome wie in Abbildung 3 gezeigt.

R	δ_C in (*E*)-Einheiten	δ_C in (*Z*)-Einheiten
CH_2OH, CH_2Br	15.9-16.3	23.0-23.6
CO_2Et	18.9-19.0	25.5-25.9

Tabelle 3. ^{13}C-NMR-Verschiebungen von C-13 in Farnesolderivaten. δ (C-13) ist sowohl von R als auch von der Doppelbindungsgeometrie abhängig.[12]

C-Atom	δ_C	C-Atom	δ_C	C-Atom	δ_C
5	25.35-27.1	9	26.3-27.1	12	23.1-25.9
6	123.3-125.3	10	124.0-124.9	15	17.3-17.9
7	135.4-136.4	11	130.9-131.9		

Tabelle 4. ^{13}C-NMR-Signale in Farnesolderivaten, deren Verschiebungen von R und von der Doppelbindungsgeometrie nahezu unabhängig sind.[12]

C-Atom	δ_C (R = CH_2OH)	δ_C (R = CH_2Br)	δ_C (R = CO_2Et)
1[13]	58.3-59.3	28.5-29.3	165.8-167.0
2	123.9-125.0	120.8-121.6	116.0-116.9
3	138.6-139.2	142.7-143.5	159.5-160.2

Tabelle 5. ^{13}C-NMR-Signale in Farnesolderivaten, deren Verschiebungen nahezu ausschließlich von R abhängig sind.[12]

Das ^{13}C-NMR-Spektrum einer Verbindung, die eine (*E*)-Isopreneinheit enthält, zeigt ein CH_3-Signal bei δ 16-19 und ein Signal der dem quartären Kohlenstoffatom benachbarten Methylengruppe bei δ 39-40; die korrespondierenden Signale im Spektrum einer Verbindung mit (*Z*)-Isopreneinheit erscheinen bei δ 23-26 und δ ≈ 32.[189,191] Die chemische Verschiebung der Methylgruppen kann im Falle mittlerer und großer Ringe zur Bestimmung der Doppelbindungsgeometrie auch in cyclischen Terpenoiden herangezogen werden.[193] Tanaka[192,194] führte detaillierte ^{13}C-NMR-Untersuchungen an Polyprenolen aus und charakterisierte die jeweils einem tetrasubstituierten Kohlenstoffatom benachbarten Methylengruppen anhand kleiner (Δδ = 0.1-0.3), aber systematisch auftretender Unterschiede in deren chemischen Verschiebungen zusätzlich nach der Konfiguration der jeweils direkt an diese Methylengruppe angrenzenden Isopreneinheit und der Stellung (Ende, Mitte oder Beginn) eines derartigen Paares in einer Kette. Ebenso ist die chemische Verschiebung des quartären Kohlenstoffatoms in der endständigen Isopreneinheit abhängig von der Geometrie der benachbarten, vorletzten Doppelbindung.[194] Mit diesem System gelingt die Bestimmung der Reihenfolge von (*E*)- und (*Z*)-Isopreneinheiten beispielsweise von Ficaprenol-11[195] oder von Schweineleber-Dolichol.[196]

[13] Genauere Messungen an Polyprenolen zeigen, daß die Abhängigkeit der chemischen Verschiebung von C-1 von der Konfiguration der C-2-Doppelbindung gering, aber systematisch ist. Beispiel R = CH_2OH: δ(C-1) = 59.00-59.04 für (2*Z*)-Farnesole, δ(C-1) = 59.41-59.49 für (2*E*)-Farnesole ($CDCl_3$, TMS, 50 MHz) (nach Lit.[192]).

3 Synthesen polyprenylierter Arene

3.1 Wahl der Position der Isotopenmarkierung

Mit Ausnahme der Isotopenmarkierung des Carboxyl-Kohlenstoffatoms der Benzoesäurederivate, welche wegen der im Laufe der zu untersuchenden Biosynthesewege auftretenden Decarboxylierung nicht in Betracht kommt, ist grundsätzlich die Markierung jedes Kohlenstoffatoms der potentiellen Biosynthesezwischenstufen denkbar. Eine synthetisch aufwendige Einführung der Isotopenmarkierung in den aromatischen Ring der zu verfütternden prenylierten Verbindungen ist aber nicht unbedingt erforderlich – die Markierung kann ebenso in eine geeignete Position des Diterpensubstituenten eingeführt werden. Diese Überlegung erscheint auch unter ökonomischen Aspekten sinnvoll, da der einmal hergestellte ^{13}C-markierte Geranylgeranylbaustein dann zur Synthese aller Zielverbindungen Verwendung finden kann.

Um falschpositive Aussagen zu vermeiden, soll die Isotopenmarkierung so eingeführt werden, daß sich die betreffenden ^{13}C-NMR-Signalverschiebungen in verfütterter Biosynthesezwischenstufe und erwartetem Stoffwechselprodukt nach Möglichkeit unterscheiden. Diese Bedingung wird am besten von den Atomen C-1', C-2' und C-3' einer Polyprenylseitenkette erfüllt. Eine Markierung von C-1 des Geranylgeraniols (entspricht C-1' der Geranylgeranylseitenkette) ausgehend von relativ preisgünstigem Natrium[1-^{13}C]acetat ist nach literaturbekannten Verfahren synthetisch ohne größeren Aufwand durchführbar. Aus Kostengründen wurde lediglich eine kleine Menge [1,2-$^{13}C_2$]Geranylgeraniol hergestellt. Die 1,2-Doppelmarkierung hat, bedingt durch die im NMR-Spektrum auftretende charakteristische C–C-Kopplung, den Vorteil der niedrigeren Nachweisgrenze einer Isotopenanreicherung im Metaboliten. Grundsätzlich wurde bei allen Syntheseansätzen angestrebt, die Zahl der erforderlichen Synthesestufen mit isotopenmarkierten Bausteinen zu minimieren und möglichst hohe Ausbeuten bezüglich der markierten Komponenten zu erreichen. Vorversuche zu Prenylierungen wurden stets unter Verwendung des billigen Geraniols durchgeführt.

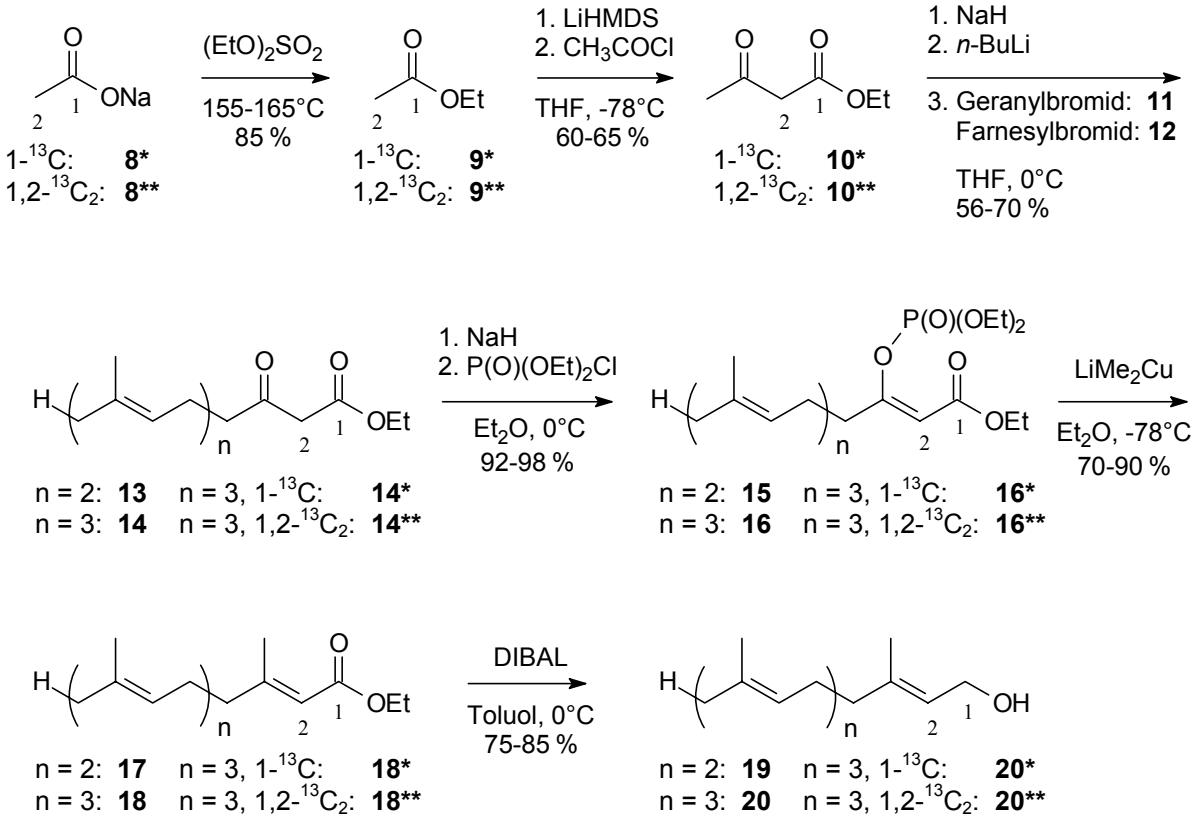
3.2 Herstellung von (*E*,*E*,*E*)-[1-^{13}C]- und (*E*,*E*,*E*)-[1,2-$^{13}C_2$]Geranylgeraniol (20*, 20**)

Zur Herstellung von unmarkiertem (*E*,*E*,*E*)-Geranylgeraniol (**20**) existieren mehrere verschiedene Ansätze. Die erste Synthese wurde von Ruzicka[197] durch Anlagerung von Acetylen an Farnesylaceton durchgeführt. Moderner wird die C_2-Einheit über eine Wittig-Reaktion eingebracht.[198] Zwei Geranyleinheiten lassen sich durch Biellmann-Kupplung[178,199] oder unter Einsatz bariumorganischer Chemie[200,201] zusammenfügen. Beliebige Stereoisomere des Geranylgeraniols und anderer Polyprenylalkohole stellt Negishi[167] in reiner Form durch wiederholte Kreuzkupplung von Homopropargylzinkhalogeniden mit Alkenyliodidderivaten her. Farnesol kann in Form des terminalen π-Allylpalladiumkomplexes von Farnesylsäuremethylester um eine Prenyleinheit verlängert werden.[202] Ebenso kann die C_5-Einheit in Form von Isoprenepoxid in ein von Farnesol abgeleitetes Sulfonylderivat eingeführt werden.[203]

Für die Umwandlung des nach Verlängerung von (*E*,*E*)-Farnesol mit Acetessigester erhaltenen β-Ketoesters **14** (Schema 20) in Geranylgeraniol wurden zwei Methoden entwickelt: Übertragung einer Methylgruppe auf das Alkenylphosphat **16** durch ein Cuprat[204] und Einführung der Methylgruppe in das entsprechende Alkenyltriflat durch Suzuki-Kupplung.[205] Wegen der guten Zugänglichkeit ^{13}C-markierten Acetessigesters (s.u.) kommen beide Verfahren für die Synthese isotopenmarkierten Geranylgeraniols in Betracht. Während das bei letzterem Verfahren benötigte Alkenyltriflat aus dem β-Ketoester **14** in 58 % Ausbeute erhalten wird, zeichnet sich – bei sonst äquivalenten Ausbeuten – die erstere, von Schmalz[204] entwickelte Methode durch einen nahezu quantitativen Umsatz bei der Herstellung des Alkenylphosphats **16** aus und wurde deshalb hier bevorzugt.

Schmalz[204] wandte sein Verfahren bereits zur Herstellung von isotopenmarkiertem Geranylgeraniol an. Demnach kann (*E*,*E*,*E*)-[1,2,3,4-$^{13}C_4$]Geranylgeraniol in vier Stufen aus [1,2,3,4-$^{13}C_4$]Acetessigsäureethylester synthetisiert werden. Die Synthesesequenz wurde mit [1-^{13}C]Acetessigsäureethylester (**10***) und [1,2-$^{13}C_2$]Acetessigsäureethylester (**10****) durchgeführt, um entsprechend zu [1-^{13}C]- (**20***) bzw. [1,2-$^{13}C_2$]Geranylgeraniol (**20****) zu gelangen (Schema 20). Durch Reaktion des Dianions des Acetessigesters mit Farnesylbromid erhält man den β-Ketoester **14**, welcher selektiv in das (*Z*)-Alkenylphosphat **16** überführt werden kann. Umsetzung mit Lithiumdimethylcuprat ergibt den (*E*,*E*,*E*)-Geranylgeranylsäureethyl-

ester (**18**) unter Retention der Doppelbindungsgeometrie,[14] welcher mit DIBAL zum Allylalkohol **20** reduziert wird.



Schema 20. Synthese von (*E*,*E*)-Farnesol (**19**), (*E*,*E*,*E*)-Geranylgeraniol (**20**), (*E*,*E*,*E*)-[1-^{13}C]-Geranylgeraniol (**20***) und (*E*,*E*,*E*)-[1,2-$^{13}C_2$]Geranylgeraniol (**20****).

Die wohl billigste Ressource zur Synthese von isotopenmarkiertem Acetessigester stellt ^{13}C-angereichertes Natriumacetat (**8*** bzw. **8****) dar. Dieses wird mit Diethylsulfat zu Essigsäureethylester (**9***, **9****) *O*-ethyliert.[206],[15] Aus dem Esterenolat und Acetylchlorid wird dann Acetessigsäureethylester (**10***, **10****) erhalten.[207]

Nichtmarkiertes Geranylgeraniol (**20**) wurde ebenfalls nach dem Verfahren von Schmalz synthetisiert. Aufgrund des hohen Preises des zur Herstellung des Farnesylbromides erforderlichen (*E*,*E*)-Farnesols (**19**) wurde die Schmalzsche Methode auch zu dessen Synthese angewandt. In diesem Falle ist bei der Verlängerung des Acetessigesters anstelle von Farnesylbromid Geranylbromid einzusetzen.

[14] Die Farnesylsäureethylester **17** bzw. Geranylgeranylsäureethylester **18** eigener Herstellung enthielten stets noch einen geringen Anteil (ca. 5 %) des (2*Z*)-Isomeren. Dieses kann aber auf der Stufe der Allylalkohole **19** bzw. **20** mittels Chromatographie an Kieselgel vollständig abgetrennt werden.

[15] Für eine Übersicht der hierbei gebräuchlichen Ethylierungsmethoden s. Kap. 4.3.

3.3 Anmerkungen zur Bromierung von Polyprenylalkoholen

Das klassische und immer noch häufig angewandte Verfahren zur Überführung von (Poly)-prenylalkoholen in die entsprechenden Bromide besteht in der Umsetzung mit Phosphortribromid mit oder ohne Pyridinzusatz. Die Reaktion verläuft allgemein zuverlässig, mit sehr guten Ausbeuten und unter weitgehender Retention der Doppelbindungsgeometrie. Teilweise wird aber in der Literatur von der Bildung nicht definierter Nebenprodukte berichtet.[208] Während eine Reinigung von Geranylbromid durch Vakuumdestillation ohne weiteres möglich ist, kann eine solche mit den höheren Homologen wegen thermischer Instabilität nicht mehr durchgeführt werden. Ebenso führt Säulenchromatographie an Kieselgel zur Zersetzung der Verbindungen. Farnesylbromid und höhere Homologe werden deshalb stets im rohen Zustand weiter umgesetzt.

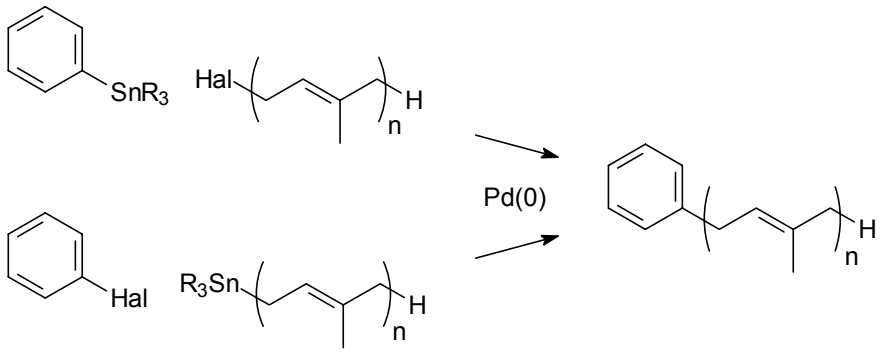
Verglichen damit verläuft die völlig neutrale Bromierung nach Appel, d.h. Umsetzung mit dem System Tetrabrommethan / Triphenylphosphan,[16] nach eigenen Erfahrungen wesentlich sauberer. Diese Reaktion ist auch mit Polyprenylalkoholen seit langem literaturbekannt.[209] Als unangenehm erweist sich dabei lediglich die Abtrennung des Triphenylphosphanoxids, die erst durch mehrtägige Hexanfällung weitgehend gelingt. Nicht umgesetztes Tetrabrommethan kann an der Ölpumpe entfernt werden. Es sollten nur geringe Überschüsse beider Reagenzien eingesetzt werden. Versuche, das Tetrabrommethan durch das leichter flüchtige Bromtrichlormethan zu ersetzen, führten zu Produktgemischen.

3.4 Synthesen prenylierter Verbindungen über die Stille-Reaktion

Als eine vielversprechende Methode erschien die Anwendung der Palladium(0)-katalysierten Kreuzkupplung einer Aryltrialkylzinnverbindung mit Allylhalogeniden bzw. eines Arylhalogenids mit einer Allyltrialkylzinnverbindung (Schema 21). Deshalb wurde zunächst angestrebt, die Syntheseziele **1**-**7** auf diesem Wege zu erschließen. Um die Zahl der Reaktionsschritte für die ^{13}C-isotopenmarkierte Komponente, die Terpeneinheit, möglichst gering zu halten, wurde die Umsetzung von Allylhalogeniden mit Arylstannanen gegenüber dem umge-

[16] Die Bromierungsreaktion verläuft nach eigenen Beobachtungen deutlich schneller als die analoge Chlorierung mit CCl_4 / PPh_3.

kehrten Ansatz bevorzugt. Wegen ihrer im Vergleich zu den Tri-*n*-butylderivaten höheren Toxizität[17] unterblieben grundsätzlich Versuche mit Trimethylorganostannanen.



Schema 21. Sowohl die Umsetzung von Arylstannanen mit Polyprenylhalogeniden als auch der umgekehrte Ansatz führen zu polyprenylierten Arenen (vgl. 2.1.3).

3.4.1 Herstellung von Aryltributylzinnverbindungen

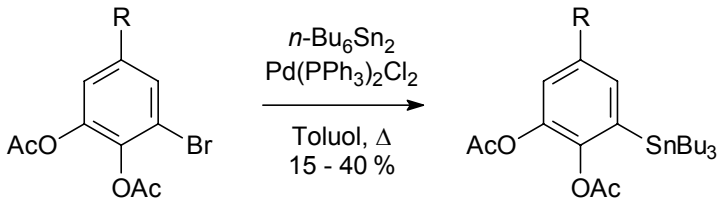
Ein großer Vorteil der Stille-Kupplung und anderer verwandter Kreuzkupplungen besteht in der breiten Schutzgruppentoleranz. Zur Synthese der nötigen Ausgangsverbindungen, der Organostannane, dagegen sind oftmals drastische Bedingungen erforderlich,[211] welche das Spektrum der verwendbaren Schutzgruppen stark einschränken. Eine Möglicheit zur milden Einführung des Trialkylzinnsubstituenten in Arene bietet die Palladium(0)-katalysierte Umsetzung von Hexaalkyldistannanen mit Arylbromiden oder -iodiden. Bei diesem Verfahren werden beispielsweise auch Acetatschutzgruppen toleriert. Über mittlere bis gute Ausbeuten wird berichtet, wenn zwei Äquivalente des Distannans in Gegenwart von $Pd(PPh_3)_4$ oder $Pd(PPh_3)_2Br_2$ bei Temperaturen von 105 bis 115°C eingesetzt werden.[212] Organozinnverbindungen sind im allgemeinen luft- und feuchtigkeitsstabil und können beispielsweise durch Destillation oder Chromatographie gereinigt werden.[139,211]

Zunächst wurden Syntheseversuche am System der 3,4-Dihydroxy-5-polyprenylbenzoesäuren und der 6-Polyprenylbenzol-1,2,4-triole unternommen.

Zur Synthese von 3,4-Diacetoxy-5-brombenzoesäuremethylester (**21**) wurde 3,4-Dihydroxybenzoesäure in Methanol bromiert, anschließend unter Standardbedingungen verestert und acetyliert (79 % über alle Stufen).

[17] Innerhalb der Verbindungsklasse R_nSnX_{4-n} (X: anorganischer Rest) ist die Toxizität für n = 3 am ausgeprägtesten. Unter diesen zeigen Trimethyl- und Triethylverbindungen ggüb. Säugetieren die höchste Toxizität, welche dann mit steigender Kettenlänge abnimmt. Trioctylzinnverbindungen sind bereits nahezu untoxisch.[210]

Zur Herstellung von 1,2,4-Triacetoxy-6-brombenzol (**23**)[18] wurde Vanillin in Eisessig bromiert[213] und das erhaltene Bromvanillin anschließend einer Dakin-Oxidation unterworfen. Die modernere Variante mit Natriumpercarbonat unter Einwirkung von Ultraschall,[214] wobei im vorliegenden Falle auf letzteren verzichtet werden kann, liefert etwas bessere Ausbeuten und ist bequemer durchzuführen als die klassische Methode mit Wasserstoffperoxid in Gegenwart von Kaliumhydroxid.[215] Nach Entschützung mit Bortribromid[216] wurde acetyliert.[217]



R = CO_2CH_3: **21**
R = OAc: **23**

R = CO_2CH_3: **22**
R = OAc: **24**

Schema 22. Palladiumkatalysierte Umsetzung von Hexabutyldistannan mit den Arylbromiden **21** und **23**.

Die Arylbromide **21** und **23** wurden mit einem bis zwei Äquivalenten Hexa-*n*-butyldistannan in Gegenwart der Katalysatoren $Pd(PPh_3)_4$, $Pd(dba)_2$ bzw. $Pd(PPh_3)_2Cl_2$ in Toluol für 12 bis 60 h auf 90 bis 115°C erhitzt (Schema 22). Die schwankenden Ausbeuten lagen mit 15 bis 40 % in einem unerfreulich niedrigen Bereich. Zur Beschleunigung des Reaktionsablaufs wird der Zusatz von substöchiometrischen Mengen Tetraethylammoniumchlorid empfohlen,[218] doch konnten auch auf diese Weise keine bedeutenden Verbesserungen erzielt werden, ebensowenig bei Zusatz von Tetrabutylammoniumiodid. Überdies erwies sich die Abtrennung von überschüssigem Hexabutyldistannan als schwierig. Während eine zufriedenstellende Trennung durch Säulenchromatographie an Kieselgel trotz des großen Polaritätsunterschiedes zwischen Distannan und Produkt nicht gelang, konnte eine akzeptable Reinigung mittels präparativer Radial-Schichtchromatographie an Kieselgel mit Laufmittelfraktionen steigender Polarität erzielt werden.

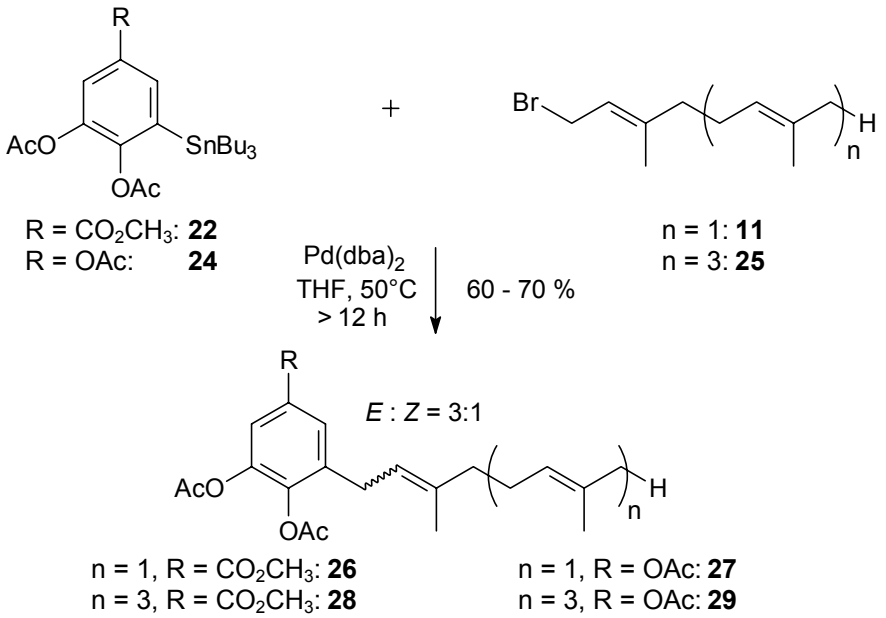
Bei größerer sterischer Abschirmung des Halogenatoms verläuft die Stannylierung mit dem beschriebenen Verfahren selbst unter Einsatz von Aryliodiden noch schlechter. Durch Iodie-

[18] Diese Bezeichnung wurde wegen der besseren Anschaulichkeit gewählt und ist nicht korrekt. Die richtige Bezeichnung für **21** nach IUPAC lautet 2,4-Bis(acetyloxy)-6-bromphenylacetat.

rung von 2,3,6-Trimethoxyphenyllithium,[219] Entschützung[19] und Acetylierung wurde 1,2,4-Triacetoxy-3-iodbenzol[20] erhalten. Aus diesem Iodaren konnte mit der beschriebenen Methode nahezu kein Arylstannan gewonnen werden.

3.4.2 Kupplung von Aryltri-*n*-butylstannanen mit Polyprenylbromiden

Die Kupplung der Aryltri-*n*-butylstannane **22** und **24** mit Geranyl- (**11**) und Geranylgeranylbromid (**25**) gelingt in guten Ausbeuten unter milden Bedingungen. Bei stöchiometrischem Einsatz der Reaktanden werden in Tetrahydrofuran bei 50°C in Gegenwart von $Pd(dba)_2$ ohne Zusatz von Triphenylphosphan Ausbeuten von 60 bis über 70 % erreicht. Allerdings werden Isomerengemische bezüglich der 2',3'-Doppelbindung der Seitenkette erhalten (Schema 23). Das durch NMR-Spektroskopie ermittelte *trans*:*cis*-Verhältnis liegt für alle Verbindungen **26**-**29** bei etwa 3:1.



Schema 23. Stille-Kupplung der Arylstannane **22** und **24** mit Geranyl- (n = 1) und Geranylgeranylbromid (n = 3).

Über eine *E*-*Z*-Isomerisierung während der Kupplungsreaktion wird in der Mehrzahl der diesbezüglichen Arbeiten nicht berichtet (vgl. 2.1.3). Im Unterschied dazu beobachtet Mori[141,142] bei der Kupplung eines (2*E*)-Farnesylacetates mit einem Aryltrimethylstannan einen Verlust an (*E*)-Konfiguration in ähnlicher Größenordnung wie der oben beschriebenen. Echavar-

[19] Versuche mit BBr_3[216]oder Pyridiniumhydrochlorid[220] führten nicht zum Erfolg. Die Entschützung mit frisch hergestelltem Aluminiumiodid[221,222] und anschließende Acetylierung des Rohproduktes verliefen dagegen mit 55 % Ausbeute über beide Schritte.

[20] Die richtige Bezeichnung lautet 2,4-Bis(acetyloxy)-3-iodphenylacetat.

ren[143] bezweifelt grundsätzlich Berichte über die Retention der Doppelbindungsgeometrie bei Reaktionen, die über η^3-Allylpalladiumkomplexe verlaufen.

Ein weiteres Problem stellt die Kontamination der Reaktionsprodukte mit Resten von Organozinnverbindungen dar. Durch Schütteln einer Lösung des Rohproduktes mit wäßriger Kaliumfluoridlösung kann zwar der größte Teil des Tri-*n*-butylzinnbromides als sowohl in Wasser als auch in organischen Solventien schwerlösliches Fluorid ausgefällt werden,[223] doch lassen sich Reste von Zinnverbindungen auch durch anschließende Säulenchromatographie oder durch präparative Radial-Schichtchromatographie nicht völlig entfernen. Insbesondere bereits aus den Synthesen der Arylstannane mitgeschleppte zinnorganische Verunreinigungen erwiesen sich als ungenügend abtrennbar. Die Probleme bei der Abtrennung der toxischen[210] Verunreinigungen werden von Fouquet[224] als „the main drawback of the organotin-based methodology“ bezeichnet.

Fouquet entwickelte eine Variante des Stille-Verfahrens, bei welcher Monoorganozinnverbindungen als Kupplungspartner eingesetzt werden. Die Zinnverunreinigungen in den Produkten sind dann mit 100 bis 200 ppm mindestens 50-fach geringer konzentriert als bei der konventionellen Kupplungsmethode mit Tetraorganostannanen und überdies hauptsächlich anorganischer Natur.[225] Bei der Kupplung der entsprechenden Allyl- und Prenylzinnderivate mit Arylhalogeniden findet aber ausschließlich γ-Substitution statt,[226] so daß das Verfahren zur Einführung von Polyprenylresten in Arene ungeeignet ist.

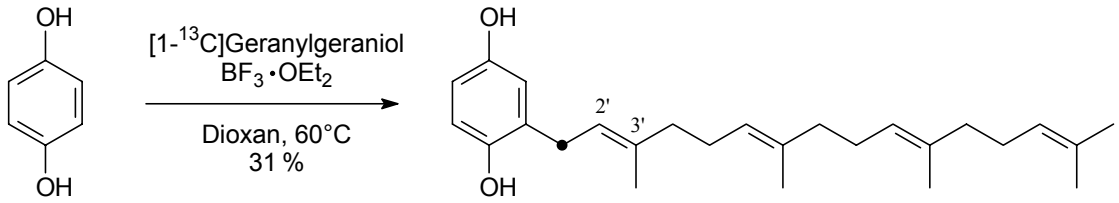
Die vollständige Entschützung der 3,4-Diacetoxy-5-polyprenylbenzoesäuremethylester **26** und **28** gelingt in sehr guten Ausbeuten mit Lithiumhydroxid im refluxierenden Methanol-Wasser-Gemisch. Die Acetatschutzgruppen der 1,2,4-Triacetoxy-6-polyprenylbenzole[18] **27** und **29** werden nach einer von Steglich und Zechlin[227] entwickelten Methode nucleophil mit Hydrazinhydrat in Methanol in wenigen Minuten sauber abgespalten. Dabei werden nahezu quantitative Ausbeuten erzielt.

Aufgrund der Erfahrungen mit Zinn-Kontaminationen wurden weitere Versuche auf dem Gebiet der Stille-Kreuzkupplung unterlassen. Es mußten andere Verfahren für die Synthese der polyprenylierten Phenole und Benzoesäuren gefunden werden.

3.5 Synthesen polyprenylierter Phenole

Nachdem eine allgemeine Herstellung der erforderlichen polyprenylierten Arene über die Stille-Reaktion aus den genannten Gründen nicht in Frage kam, wurde zunächst auf klassische Methoden der Herstellung polyprenylierter Arene zurückgegriffen. Mit derartigen Verfahren konnten die polyprenylierten Phenole **5**-**7** in zufriedenstellender Weise hergestellt werden.

3.5.1 [1-^{13}C]Geranylgeranylhydrochinon (5*) durch Friedel-Crafts-Alkylierung



5*

Schema 24. Friedel-Crafts-Alkylierung von Hydrochinon mit (*E*,*E*,*E*)-[1-^{13}C]Geranylgeraniol.

Die Friedel-Crafts-Alkylierung von Hydrochinon unter Bortrifluorid-Katalyse[10,60] verläuft mit Geranylgeraniol (**20**) in einer Ausbeute von 31 % bezüglich des Allylalkohols (Schema 24). Hydrochinon wird im Überschuß eingesetzt. Das (2'*Z*)-Isomere zu **5** entsteht nur in völlig untergeordnetem Maße. Nachdem keinerlei Schutzgruppenchemie erforderlich ist und bequemerweise der Allylalkohol direkt eingesetzt wird, erschien eine, wenn auch erfolgversprechende, Ausbeutenverbesserung durch Umstieg auf metallorganische Verfahren nicht notwendig.

Nach Beendigung dieser Arbeiten erschien ein Bericht über die Herstellung von 2-Polyprenyl-6-methylhydrochinonen.[85] Dazu wurde das entsprechende geschützte Arylbromid nach Halogen-Lithium-Austausch mit Kupfer(I)-iodid in ein Cuprat überführt und anschließend alkyliert. Die Ausbeuten bezüglich der Terpenkomponente sind dabei allerdings noch geringer als die durch Friedel-Crafts-Alkylierung erhaltenen Ausbeuten.

3.5.2 Polyprenylierte Phenole über Arylmetallverbindungen

Zur Einführung der Terpeneinheiten in trihydroxylierte Arene wurden Arylmetallverbindungen mit Polyprenylbromiden umgesetzt.

3.5.2.1 Wahl der Schutzgruppen

Bezüglich der Basenstabilität werden an die Schutzgruppen der Hydroxyfunktionen hohe Ansprüche gestellt. Versuche der Spaltung von Arylmethylethern führen meist zu Nebenreaktionen in der isoprenoiden Seitenkette,[3] weshalb Methylether nicht zur Anwendung kommen sollen. Basenstabile Silylschutzgruppen wurden als zu sperrig erachtet, um ungestörte Substitutionsvorgänge in der *ortho*-Stellung zu ermöglichen.

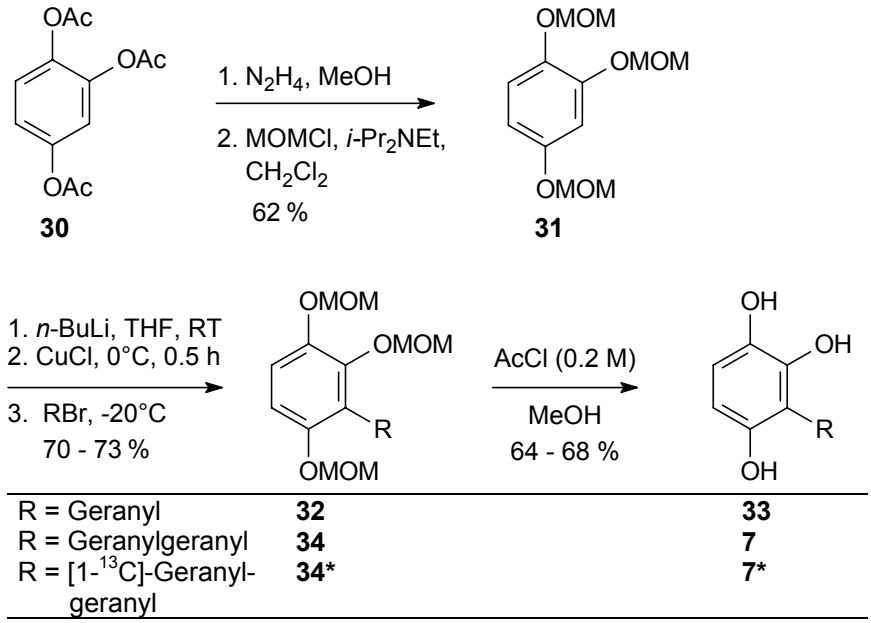
Nicht zuletzt wegen der starken *ortho*-Lenkungswirkung auf Alkyllithiumverbindungen,[228,229] welche bei den beschriebenen Synthesen verschiedentlich ausgenutzt wird, fiel die Wahl auf Methoxymethylether (MOM). Die saure Hydrolyse dieser Acetale kann auch in Gegenwart *ortho*-ständiger Polyprenylketten ohne unerwünschte Nebenreaktionen durchgeführt werden.[32,36,230-232] In den eigenen Arbeiten hat sich die Acetalspaltung mit einer alkoholischen Chlorwasserstofflösung sehr bewährt. Zur bequemen Steuerung der Säurekonzentration wird HCl zweckmäßig durch Alkoholyse von Acetylchlorid erzeugt. Die Acetylierung von Methanol unter Freisetzung von Chlorwasserstoff erfolgt rasch.[21]

Das Schützen auch von trihydroxylierten Arenen gelingt in guten Ausbeuten standardmäßig mit Chlormethoxymethan (MOMCl) in Gegenwart von Hünig-Base.[235] Mit dem alternativen Konzept der säurekatalysierten Umacetalisierung von Dimethoxymethan[236] ließen sich vor allem beim Schützen mehrwertiger Phenole keine befriedigenden Ausbeuten erzielen. Besonders bequem und billig ist die Herstellung von Chlormethoxymethan aus Acetylchlorid und Dimethoxymethan.[237] Dabei sind keinerlei Abtrennungs- oder Reinigungsschritte erforderlich, einziges Nebenprodukt ist der i.d.R. nicht störende Essigsäuremethylester. Verwendet man statt Acetylchlorid *n*-Hexansäurechlorid, so kann das gebildete Chlormethoxymethan von dem schwererflüchtigen Hexansäuremethylester abdestilliert werden.[238] Mit dem erstge-

[21] Die Geschwindigkeitskonstante für die Solvolyse von Acetylchlorid in Methanol beträgt $k = 0.108\ s^{-1}$.[233] Nach $c = c_o\, e^{-kt}$ haben nach 43 s bereits 99 % des Säurechlorides abreagiert. Arylmethoxymethylether wurden bereits auf diese Weise gespalten.[234]

nannten Verfahren wurden aber stets zufriedenstellende Ergebnisse erzielt, so daß auf eine Destillation des toxischen Chlormethoxymethans verzichtet werden konnte.

3.5.2.2 3-Polyprenylbenzol-1,2,4-triole (7, 7*, 33)



R = Geranyl	**32**	**33**
R = Geranylgeranyl	**34**	**7**
R = [1-^{13}C]-Geranyl-geranyl	**34***	**7***

Schema 25. Kurze Synthese von 3-Geranylbenzol-1,2,4-triol (**33**), 3-(*E*,*E*,*E*)-Geranylgeranylbenzol-1,2,4-triol (**7**) und 3-(*E*,*E*,*E*)-[1'-^{13}C]Geranylgeranylbenzol-1,2,4-triol (**7***).

Für den Zugang zu diesem Substitutionsmuster wird von der *ortho*-dirigierenden und aktivierenden Wirkung der Methoxymethylethergruppe bei der Lithiierung von Aromaten Gebrauch gemacht. Wegen des relativ hohen Preises für Benzol-1,2,4-triol wird dessen Herstellung in größerer Menge aus dem billigeren Thiele-Winter-Reaktionsprodukt 1,2,4-Triacetoxybenzol (**30**) empfohlen. Die nahezu quantitative Abspaltung der Acetylgruppen gelingt, wie bereits an anderer Stelle erwähnt (vgl. 3.4.2), schnell und sauber nach Steglich und Zechlin[227] mit Hydrazinhydrat. Die Methoxymethyl-Schutzgruppen werden standardmäßig mit Chlormethoxymethan in Gegenwart von Hünig-Base eingeführt.

Wie die Auswertung von ^{1}H-NMR-Spektren der Produkte mit [D_4]Methanol gequenchter Lithiierungsansätze zeigt, führt die Deprotonierung von 1,2,4-Tris(methoxymethoxy)benzol (**31**) mit 1.2 Äquivalenten *n*-Butyllithium bei Raumtemperatur in 30 Minuten zu 95 % Lithiierung. Das Verhältnis von C-3- zu C-6-Deprotonierung beträgt 83:17. Der Anteil an C-5-Deprotonierung ist relativ gering und kann vernachlässigt werden. Zusatz von zwei Äquivalenten TMEDA bleibt ohne Auswirkung.

Das aus der Lithiierung von **31** mit 1.1 Äquivalenten *n*-Butyllithium in Diethylether und anschließender Umsetzung mit Iod erhaltene Isomerengemisch aus 3- und 6-Iod-1,2,4-tris-(methoxymethoxy)benzol im Verhältnis 75:25 ist durch Chromatographie an Kieselgel nicht trennbar. Das 5-Iod-Isomere wird nicht gefunden. Nur bei kleinen Ansatzgrößen im 0.25 mmol-Bereich wurde durch Wechsel des Lösungsmittels auf Tetrahydrofuran eine selektive 3-Iodierung erzielt. Die Ausbeute beträgt dabei etwa 65 %, der Rest ist nicht umgesetztes Edukt. Bei zunehmender Ansatzgröße entstand ebenso das 6-Iod-Isomere.

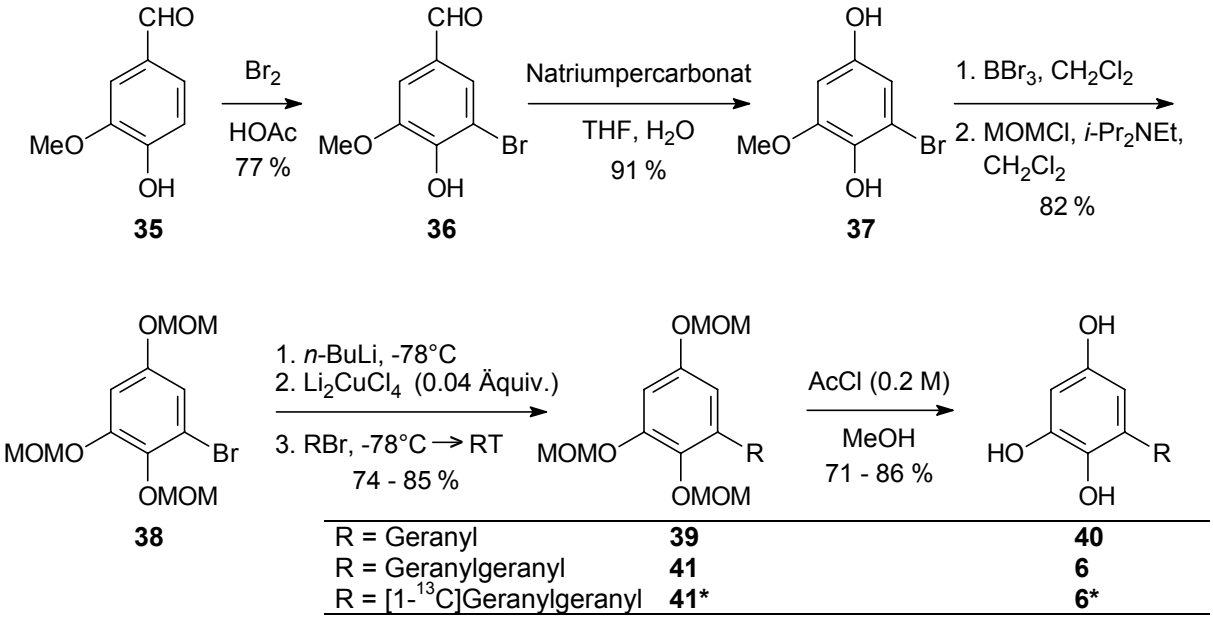
Läßt man **31** 30 Minuten mit *n*-Butyllithium bei Raumtemperatur in Tetrahydrofuran reagieren und alkyliert die Aryllithiumverbindung unter Zusatz von 1 mol-% Li_2CuCl_3,[22] so entstehen 55 % des gewünschten Produktes und zusätzlich 12 % des 6-Geranylisomers. Der zwar geringe Unterschied im Laufverhalten erlaubt grundsätzlich die Abtrennung des 6-Geranyl-1,2,4-tris(methoxymethoxy)benzols (**39**) von der gewünschten 3-Geranylverbindung **32** durch Chromatographie an Kieselgel.

Trotz dieser Schwierigkeiten bezüglich der Regioselektivität der Deprotonierung bzw. Alkylierung des Aromaten konnte ein Verfahren gefunden werden, bei welchem die Regioselektivitätsprobleme nicht auftreten. Wandelt man die Aryllithiumverbindung bei 0°C durch Zusatz eines Äquivalentes Kupfer(I)-chlorid in ein Cuprat um und alkyliert mit Geranylbromid oder Geranylgeranylbromid im geringen Unterschuß, so erhält man selektiv das entsprechende 3-Polyprenyl-1,2,4-tris(methoxymethoxy)benzol **32** bzw. **34** in Ausbeuten von etwa 70 % (Schema 25). Eine nennenswerte Bildung regioisomerer Produkte oder von (2'*Z*)-Isomeren wird nicht beobachtet.

Die Entschützung gelingt bereits mit geringen Konzentrationen von Chlorwasserstoff in Methanol (vgl. 3.5.2.1) innerhalb weniger Stunden mit guten Ausbeuten. Dabei tritt keine Cyclisierung zum Chroman auf.

[22] Näheres zu diesem Katalysator in Kap. 3.6.3.

3.5.2.3 6-Polyprenylbenzol-1,2,4-triole (6, 6*, 40)



R = Geranyl	**39**	**40**
R = Geranylgeranyl	**41**	**6**
R = [1-^{13}C]Geranylgeranyl	**41***	**6***

Schema 26. Synthese von 6-Geranylbenzol-1,2,4-triol (**40**), 6-(*E*,*E*,*E*)-Geranylgeranylbenzol-1,2,4-triol (**6**) und 6-(*E*,*E*,*E*)-[1-^{13}C]Geranylgeranylbenzol-1,2,4-triol (**6***). Als Katalysator kann auch Lithiumtrichlorocuprat verwendet werden.

Um selektiv an der C-6-Position von Benzol-1,2,4-triol zu metallieren, ist die Einführung eines Halogenatoms erforderlich. Wie bereits in Abschnitt 3.4.1 beschrieben wird Vanillin in Eisessig selektiv zu 5-Bromvanillin bromiert.[213] Die freie *para*-Hydroxygruppe ermöglicht eine saubere Dakin-Reaktion. Die Dakin-Reaktion scheiterte dagegen mit 5-Iodvanillin: sowohl mit H_2O_2/KOH[215] als auch mit Natriumpercarbonat / Ultraschall[214] wurde lediglich Ausgangsmaterial isoliert. **37** wird nach Spaltung des Arylmethylethers[216] unter Standardbedingungen mit Chlormethoxymethan geschützt. Nach Brom-Lithium-Austausch bei –78°C und Zusatz von 4 mol-% Lithiumtrichlorocuprat(I) oder Lithiumtetrachlorocuprat(II)[22] wird mit dem entsprechenden (Poly)prenylbromid alkyliert. Als einziges Nebenprodukt wird 1,2,4-Tris(methoxymethoxy)benzol gefunden. S_N2'-Substitutionsprodukte sind nicht nachweisbar. Die 2'-*cis*-Isomeren der Produkte werden nur in einem vernachlässigbar kleinen Anteil (< 5 %) gebildet. Bezüglich der Isomerenreinheit der Produkte und der Ausbeuten kann zwischen den Katalysatoren Li_2CuCl_3 und Li_2CuCl_4 kein Unterschied festgestellt werden.

3.6 Synthese polyprenylierter Benzoesäuren durch Kupplung funktionalisierter Arylmagnesiumhalogenide mit Polyprenylhalogeniden

3.6.1 Vorüberlegungen

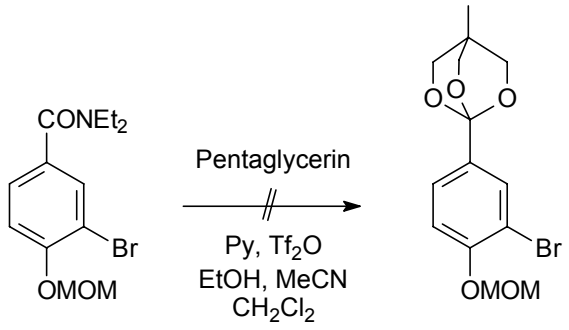
Ist man an einer minimalen Zahl an nötigen Reaktionsschritten mit bereits prenylierten (isotopenmarkierten) Verbindungen interessiert, so ergeben sich besonders für die zu synthetisierenden Benzoesäurederivate Schwierigkeiten. Ein häufig angewandtes Verfahren zum Schutz der Carboxylfunktion gegen metallorganische Reagenzien ist die Umwandlung der korrespondierenden Aldehyde in cyclische Acetale. Die zur Acetalspaltung erforderlichen Bedingungen spalten weitere im Molekül vorhandene (Lewis-)säurelabile Schutzgruppen wie Methoxymethylether ebenfalls ab, so daß die nachfolgende Oxidation zweifach hydroxylierter Benzaldehydderivate zu den jeweiligen Benzoesäurederivaten Probleme bereiten könnte.

Zur Protektion gegen metallorganische Reagenzien kann die Carboxylfunktion auf dieser Oxidationsstufe in Form von Orthoestern oder 1,3-Oxazolinen geschützt werden. Im Unterschied zu letzteren werden Orthoester unter überaus milden Bedingungen sauer hydrolysiert. Die Herstellung von Orthoestern erfolgt allerdings i.d.R. unter Bedingungen, welche eine vorherige Einführung weiterer (Lewis-)säurelabiler Schutzgruppen nicht erlauben.[239,240],[23] Dies ist mit der Herstellung der Arylhalogenide verschiedener Substitutionsmuster teilweise schwierig zu vereinbaren bzw. führt zu wenig eleganten Synthesewegen. Die Umsetzung des Amides **42** mit 1,1,1-Tris(hydroxymethyl)ethan („Pentaglycerin“) in Gegenwart von Trifluormethansulfonsäureanhydrid und eines Überschusses an Pyridin nach Charette[242] führte zwar wie erwartet nicht zur Spaltung des Methoxymethylethers, aber es konnte anstelle des erwarteten cyclischen Orthoesters **43** lediglich Ausgangsmaterial isoliert werden (Schema 27).

Der hohe kovalente Charakter der Kohlenstoff-Zink-Bindung und die damit verbundene niedrige Reaktivität von Organozinkreagenzien ermöglichen die Herstellung beispielsweise Carboxylatester-funktionalisierter zinkorganischer Verbindungen, welche bei Raumtemperatur gehandhabt werden können. Unter Katalyse von Ni(0) oder Pd(0) verlaufen Allylierungen von Diorganozink- und Organozinkhalogenverbindungen bevorzugt unter S_N2-Substitution, während in Gegenwart von Kupfer(I)-salzen hauptsächlich γ-Alkylierung eintritt.[243] Die palladiumkatalysierte Umsetzung von Phenylzinkchlorid mit Prenylchlorid liefert z.B. 57 %

[23] Der Braunsche Orthoester ist stabil gegen lithiumorganische Reagenzien und kann aus Carbonsäuren unter Vermeidung saurer Bedingungen eingeführt werden. Diese Schutzgruppe ist aber für α-verzweigte Carbonsäuren ungeeignet.[241]

S_N2-Produkt neben 7 % S_N2'-Produkt.[244] Nach der erfolgreichen Anwendung der in Kap. 3.6.3 geschilderten Methodik auf die Synthese der Benzoesäurederivate wurden alle in diesem Abschnitt erwähnten Ansätze nicht weiter verfolgt.



42 **43**

Schema 27. Versuch zur Herstellung von Orthoestern unter Bedingungen, die einen Erhalt der Acetalschutzgruppe erlauben.

3.6.2 Magnesiumorganische Verbindungen mit sensiblen funktionellen Gruppen

Für lange Zeit wurden magnesiumorganische Verbindungen als weitgehend inkompatibel mit empfindlichen funktionellen Gruppen erachtet. Die Arbeiten Knochels auf diesem Gebiet bewirken eine Neubewertung der Grignard-Chemie. Werden Aryliodide mit stöchiometrischen Mengen Isopropylmagnesiumbromid, Diisopropylmagnesium oder Dicyclopentylmagnesium behandelt, so findet ein Iod-Magnesium-Austausch unter Bildung des entsprechenden Arylmagnesiumhalogenides statt. Diese Austauschreaktion erfolgt bei Anwesenheit elektronenziehender Substituenten am Aromaten auch im Temperaturbereich von –20 bis –40°C. Unter diesen Bedingungen sind Grignard-Verbindungen gegenüber vielen funktionellen Gruppen wie Amid-, Nitril-, Halogenid- oder Esterfunktionen unreaktiv. Somit ist die Herstellung entsprechend substituierter Aryl-Grignard-Verbindungen möglich.[245] Das Prinzip wurde auf Heterocyclen ausgedehnt.[246,247] Teilweise können anstelle der (Hetero-)Aryliodide auch -bromide[248] oder sogar -chloride[247] eingesetzt werden. Die Anwesenheit von elektronenziehenden (besonders Ester- und Cyano-[249]) oder chelatisierenden[248] Substituenten am (Hetero-)Arylhalogenid beschleunigt in jedem Falle die Geschwindigkeit der Austauschreaktion erheblich. Alkenyliodide oder -bromide gehen den Halogen-Magnesium-Austausch wesentlich langsamer ein als die aromatischen Vertreter. Bei Metallierungen von Alkenyl-

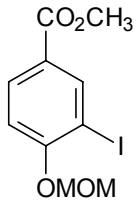
halogeniden üben dirigierende Sauerstoff-funktionalisierte Gruppen[250] oder elektronenziehende α-Substituenten[251] einen stark beschleunigenden Effekt aus.

Knochel[249] zeigt für Allylierungen die Notwendigkeit der Katalyse mit $CuCN \cdot 2\,LiCl$ auf. Als allylische Elektrophile wurden bei Anwendung der Halogen-Magnesium-Austauschreaktion bei tiefen Temperaturen bisher ausschließlich Allylbromid[245] oder 2-substituierte Allylbromide wie 2-(Brommethyl)acrylsäureethylester[248] eingesetzt. Deren S_N2- und S_N2'-Substitutionsprodukte sind allerdings identisch und die Voraussetzung für *E*-*Z*-Isomerie ist nicht gegeben.

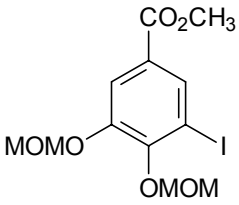
3.6.3 Verfahren zur effektiven Einführung von Polyprenylsubstituenten in Hydroxybenzoesäurederivate

Das geschilderte Prinzip ließ Untersuchungen zur Verwendung von Magnesium-metallierten Benzoesäuremethylesterderivaten als Nucleophile bei der Umsetzung mit isotopenmarkierten Polyprenylhalogeniden interessant erscheinen: nach einer erfolgreichen Kupplung sind neben der Abspaltung der Schutzgruppen keine weiteren Schritte mehr erforderlich.

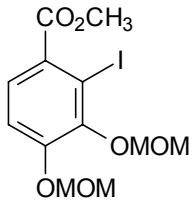
3.6.3.1 Iod-Magnesium-Austausch



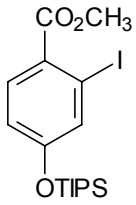
44



45



46



47

Der Iod-Magnesium-Austausch ist bei allen untersuchten Aryliodiden **44**-**47** nach 30 Minuten Reaktionszeit bei –20°C abgeschlossen. Protoniert man mit Methanol, so werden die dehalogenisierten Arene in nahezu quantitativer Ausbeute isoliert. Ein Angriff von Isopropylmagnesiumbromid auf die Methylesterfunktion findet nicht statt. Bei den Substitutionsmustern **44**-**46** wird die Iod-Magnesium-Austauschreaktion über die Chelatisierung durch die Methoxymethylgruppe unterstützt. Beim System **47** reicht offenbar alleine der Elektronenzug der Carboxylatestergruppe für einen schnellen Austausch aus.

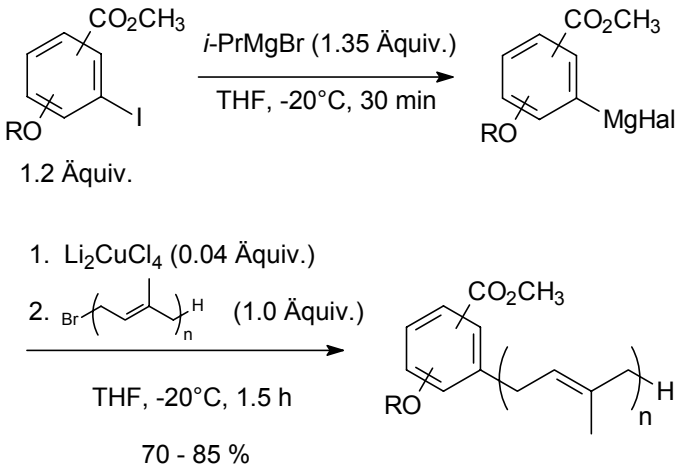
3.6.3.2 Katalysator und Kupplungsreaktion

Ohne Katalysatorzusatz findet bei –20°C in 1.5 h nahezu keine Umsetzung der Arylmagnesiumhalogenide mit Geranylbromid statt.

Als Katalysator wird bei Umsetzungen von Elektrophilen mit Grignard-Reagenzien oftmals Dilithiumtetrachlorocuprat(II) verwendet.[88,89] Der Komplex ist in Tetrahydrofuran löslich und wird durch einfaches Mischen von Kupfer(II)-chlorid mit Lithiumchlorid hergestellt.[252] Die katalytisch aktive Spezies ist mit großer Sicherheit eine Kupfer(I)-Verbindung.[253] Das Kupfer(II)-Komplexsalz wird von der Organomagnesiumverbindung in situ reduziert. Diese Reduktion kann bei intramolekularer Stabilisierung der Grignard-Verbindung durch chelatisierende Substituenten wie die Methoxymethylgruppe erschwert werden, so daß erhebliche Ausbeuteeinbußen eintreten.[254] Diese Schwierigkeiten lassen sich durch den Einsatz des Kupfer(I)-Salzes Dilithiumtrichlorocuprat(I)[255] umgehen,[254] so daß die eigenen Versuche zur Einführung des Polyprenylrestes zunächst mit Li_2CuCl_3 als Katalysator durchgeführt wurden. Die Experimente verliefen erfolgreich.

Zahlreiche Vergleichsexperimente zeigten später aber weder in der katalytischen Wirkung noch im *E*-*Z*-Verhältnis der 2'-3'-Doppelbindung oder im Verhältnis α : γ-Substitutionsprodukt einen signifikanten Unterschied zwischen Li_2CuCl_3 und Li_2CuCl_4. Während sich die Lösung des Kupfer(I)-Salzes auch unter Schutzgasatmosphäre bereits nach wenigen Stunden verfärbt, kann die auch als Fertigprodukt käufliche Lösung des Kupfer(II)-Salzes lange Zeit aufbewahrt werden und ist somit bequemer in der Handhabung.

Mit der Kupfer(I)-katalysierten Kupplung von Polyprenylbromiden mit Arylmagnesiumhalogeniden, welche einen Carboxylestersubstituenten tragen, wurde ein neuer und direkter Zugang zu polyprenylierten Benzoesäurederivaten erschlossen (Schema 28). Aryliodid und Polyprenylbromid können stöchiometrisch eingesetzt werden, doch wird empfohlen, die Arylkomponente im moderaten Überschuß zu dosieren, um die Ausbeute bezüglich der Terpeneinheit zu maximieren. Die im Kupplungsschritt erzielten Ausbeuten liegen im Bereich von 70 % bis teilweise über 85 %. Bei Einführung des Geranylgeranylrestes werden verglichen mit der des kürzeren Geranylrestes nur geringfügig schlechtere Ausbeuten erhalten. In Kap. 3.6.4 wird detailliert auf die Synthesen der polyprenylierten Hydroxybenzoesäuren eingegangen.



Schema 28. Effektive Herstellung polyprenylierter Benzoesäurederivate.

Bäckvall[93] berichtet bei der Umsetzung von Geranylchlorid mit Phenylmagnesiumbromid in Gegenwart des Katalysators Dilithiumtrichlorocuprat(I) bei 0°C über ein größeres Verhältnis von α : γ-Substitutionsprodukt (82:18) als bei der Umsetzung mit *n*-Butylmagnesiumbromid (45:55). Eine vollständig regioselektive α- oder γ-Substitution gelang aber nicht. Zudem trat eine Abhängigkeit der Regioselektivität von Faktoren wie Zutropfgeschwindigkeit, Temperatur und Menge des Katalysators auf (vgl. 2.1.1.4). Derartige Schwierigkeiten wurden bei den hier beschriebenen Umsetzungen nicht beobachtet. Eine S_N2'-Substitution (γ-Substitution) trat in keinem Falle ein. Eine *E*-*Z*-Isomerisierung der (2'*E*)-Doppelbindung im Polyprenylrest findet bei den untersuchten Substitutionsmustern nur sehr untergeordnet (< 5 %) statt.

3.6.3.3 Einfluß der Katalysatormenge

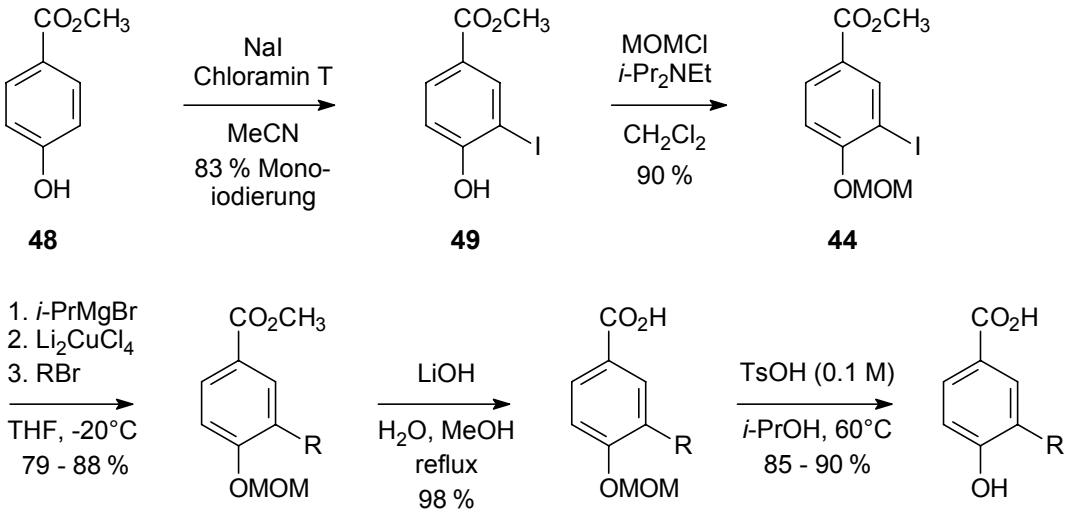
Die Reaktion von Alkyl-Grignard-Reagenzien mit Alkylhalogeniden wird bereits durch sehr geringe Mengen (0.3 mol-%) von Li_2CuCl_4 katalysiert,[252] ein Katalysatorzusatz von mehr als 2 mol-% wirkt sich nach Literaturberichten oftmals nachteilig aus.[254] Bei der hier beschriebenen Kupplungsreaktion hat die Menge des eingesetzten Katalysators keinen feststellbaren Einfluß. Versuche hierzu wurden im Bereich von 1 bis 10 mol-% Katalysatoranteil durchgeführt. Bei der Verwendung größerer Mengen des Kupfer(II)-Komplexes ist zu beachten, daß die Reduktion zum Kupfer(I)-Salz unter Verbrauch von Grignard-Verbindung erfolgt.[93]

3.6.3.4 Andere Elektrophile

Polyprenylacetate[24] und -tetrahydropyranylether[256] sind aus den Allylalkoholen in nahezu quantitativer Ausbeute zugänglich. Im Unterschied zu Polyprenylbromiden können die genannten Derivate problemlos durch Säulenchromatographie über Kieselgel gereinigt und unbegrenzt aufbewahrt werden. Eine Umsetzung der bei tiefer Temperatur durch Iod-Magnesium-Austausch hergestellten Aryl-Grignard-Verbindungen mit Geranylacetat oder Geranyltetrahydropyranylether (vgl. 2.1.1.4) führte zu nahezu keiner Reaktion. Mit Geranylchlorid als Elektrophil wurden im Vergleich zu Geranylbromid (**11**) etwas schlechtere Ausbeuten erhalten. Als Elektrophile wurden deshalb grundsätzlich Polyprenylbromide eingesetzt.

3.6.4 Synthesen polyprenylierter Hydroxybenzoesäurederivate

3.6.4.1 4-Hydroxy-3-polyprenylbenzoesäuren (1, 1*, 52)



R = Geranyl	**50**	**51**	**52**
R = Geranylgeranyl	**53**	**54**	**1**
R = [1-^{13}C]Geranyl-geranyl	**53***	**54***	**1***

Schema 29. Synthese von 4-Hydroxy-3-polyprenylbenzoesäuren.

4-Hydroxybenzoesäuremethylester (**48**) wird mit Natriumiodid / Chloramin T in *ortho*-Stellung zur Hydroxygruppe iodiert[257] und anschließend durch Umsetzung mit Chlormethoxy-

[24] Die Acetylierung erfolgte unter Standardbedingungen.[217] Ausbeute für Geranylacetat: 95 %.

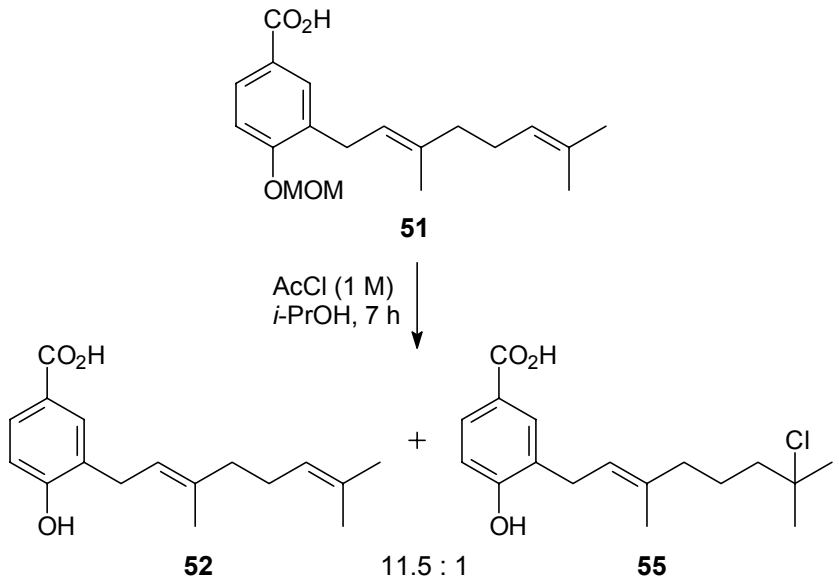
methan und Hünig-Base geschützt (Schema 29). Das Monoiodierungsprodukt **49** bildet zwar bei weitem den Hauptanteil, doch findet eine selektive Monoiodierung nicht reproduzierbar statt. Die Abtrennung des doppelt iodierten Produktes gelingt sowohl auf der geschützten als auch auf der ungeschützten Stufe chromatographisch an Kieselgel, dagegen ist eine Abtrennung des nicht umgesetzten Hydroxybenzoesäureesters **48** auf keiner der beiden Stufen möglich. Deshalb wird der Anteil des letzteren durch NMR-Spektroskopie bestimmt und als Ballast durch die Kupplungsreaktion mitgeschleppt.

Nach der Kupplungsreaktion wird zunächst der Methylester verseift. Das Produkt fällt nahezu quantitativ und in hoher Reinheit an, so daß sich ein Reinigungsschritt erübrigt. Obwohl hier nur *eine* Acetalschutzgruppe abgespalten werden muß, erfordert die saure Entschützung von **51** im Vergleich zu allen anderen in dieser Arbeit untersuchten Substitutionsmustern die schärfsten Bedingungen. Mit einer 1 M Lösung von Chlorwasserstoff in Isopropanol ist die Acetalspaltung bei Raumtemperatur nach etwa 7 h abgeschlossen. Dabei tritt aber bereits in nennenswerten Anteilen (etwa 8 %) Addition von Chlorwasserstoff an die endständige Doppelbindung der Geranylseitenkette ein (Schema 30). Die Bildung dieses Nebenproduktes **55** kann im ^{13}C-NMR-Spektrum gut anhand des Signales für die beiden endständigen Methylgruppen erkannt werden. Eine *E*-*Z*-Isomerisierung oder Cyclisierung zum Chromansystem wurden nicht beobachtet. Die HCl-Addition an Doppelbindungen isoprenoider Verbindungen ist bekannt und kann auch präparativ genutzt werden.[258,259] Der Zusatz von 20 Äquivalenten 2-Methyl-2-buten beeinflußt diese Nebenreaktion in keiner Weise. Deshalb wurde eine andere (Lewis-)Säure zur Spaltung der Acetalschutzgruppe benötigt.

Die Spaltung von Methoxymethylethern mit Trimethylsilylbromid in Methylenchlorid[260] verläuft bei **51** auch mit hohen Überschüssen an TMSBr sehr langsam und ist deswegen unbrauchbar.

Obwohl 4-Toluolsulfonsäure als guter Katalysator für die Cyclisierung *ortho*-(poly)prenylierter Phenole zu Chromanen wirkt,[9,10,261-263] kann die Acetalschutzgruppe mit einer äquimolaren Menge dieses Reagenzes bei 60°C in Isopropanol innerhalb weniger Stunden problemlos abgespalten werden. Eine Cyclisierung zum Chroman wird dabei nicht beobachtet. Substöchiometrische Mengen an 4-Toluolsulfonsäure[168] führen ebenso wie der alternative Einsatz von PPTS zu unnötig langen Reaktionszeiten.

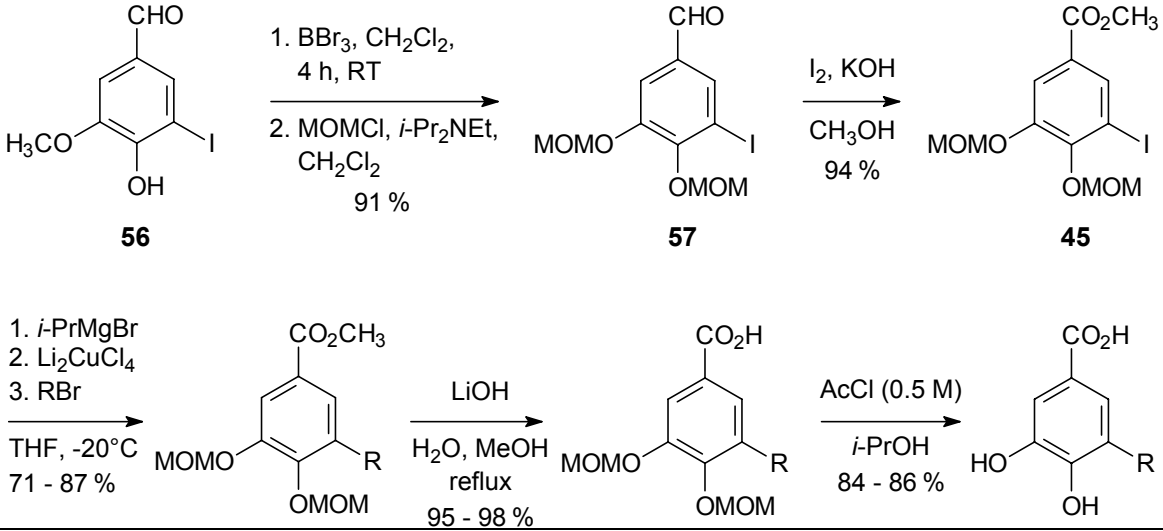
Wegen der lipophilen Seitenketten ist eine Reinigung der Produkte durch Säulenchromatographie an Kieselgel ohne größere Substanzverluste möglich.



Schema 30. Signifikante Addition von Chlorwasserstoff bei Einwirkung auf **51** in relativ hoher Konzentration.

Gegenüber dem bisher als Zugang zu diesem Substitutionsmuster der 4-Hydroxy-3-polyprenylbenzoesäuren hauptsächlich angewandten Claisen-Ansatz (vgl. 2.1.1.1) ermöglicht das hier beschriebene Verfahren wesentlich bessere Ausbeuten. Die Einführung (isotopenmarkierter) Polyprenylseitenketten gelingt nun effizienter.

3.6.4.2 3,4-Dihydroxy-5-polyprenylbenzoesäuren (2, 2*, 60)



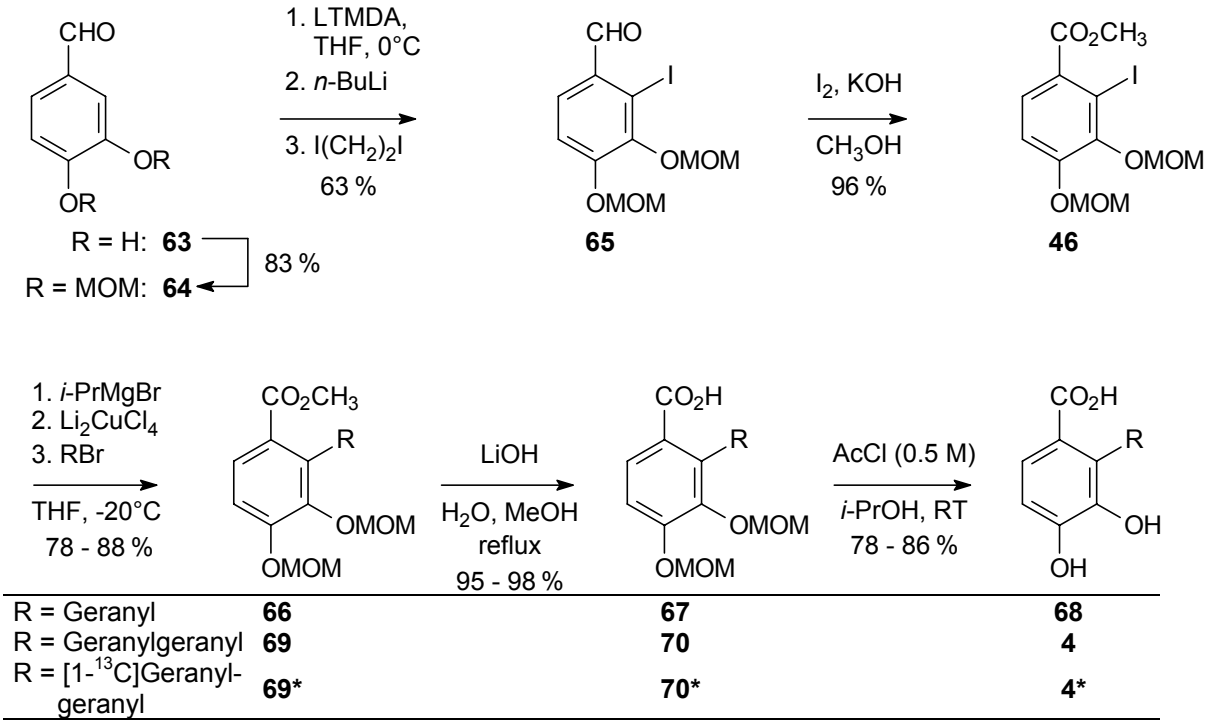
R = Geranyl	**58**	**59**	**60**
R = Geranylgeranyl	**61**	**62**	**2**
R = [1-^{13}C]Geranyl-geranyl	**61***	**62***	**2***

Schema 31. Synthese von 3,4-Dihydroxy-5-polyprenylbenzoesäuren.

5-Iodvanillin (**56**) ist käuflich, kann aber auch aus Vanillin hergestellt werden.[257] Nach Etherspaltung mit Bortribromid wird mit Chlormethoxymethan geschützt. Die Aldehydfunktion wird nach dem Verfahren von Yamada[264] mit alkalischer Iodlösung oxidiert. Die Reaktion wird in Methanol durchgeführt, so daß direkt der Methylester **45** erhalten wird (Schema 31). Die Oxidation ist bereits nach wenigen Minuten beendet. Die Yamada-Methode liefert allgemein hohe Ausbeuten und stellt eine nichttoxische und einfach durchzuführende Alternative zur Corey-Oxidation[265] mit Braunstein und Cyanid dar.

Nach der Kupplung mit der Polyprenyleinheit werden die Acetale sauer gespalten. Der Chlorwasserstoff wird durch Solvolyse von Acetylchlorid in Isopropanol generiert. Bei Verwendung von Methanol als Lösungsmittel wurde in geringem Umfang eine Methylesterbildung beobachtet. Die Solvolyse des Säurechlorides erfolgt auch in Isopropanol rasch.[25] Verglichen mit der Entschützung der 4-(Methoxymethoxy)-3-polyprenylbenzoesäuren (vgl. 3.6.4.1) genügen hier bereits geringere Chlorwasserstoffkonzentrationen. Eine signifikante Addition von Chlorwasserstoff an Doppelbindungen der Seitenkette findet deshalb nicht statt.

3.6.4.3 3,4-Dihydroxy-2-polyprenylbenzoesäuren (4, 4*, 68)



R = Geranyl	**66**	**67**	**68**
R = Geranylgeranyl	**69**	**70**	**4**
R = [1-^{13}C]Geranylgeranyl	**69***	**70***	**4***

Schema 32. Synthese von 3,4-Dihydroxy-2-polyprenylbenzoesäuren.

[25] Eine 1 M Lösung von Acetylchlorid in Isopropanol zeigt nach wenigen Minuten Reaktionszeit im ^{1}H-NMR-Spektrum vollständige Umsetzung zu Essigsäureisopropylester.

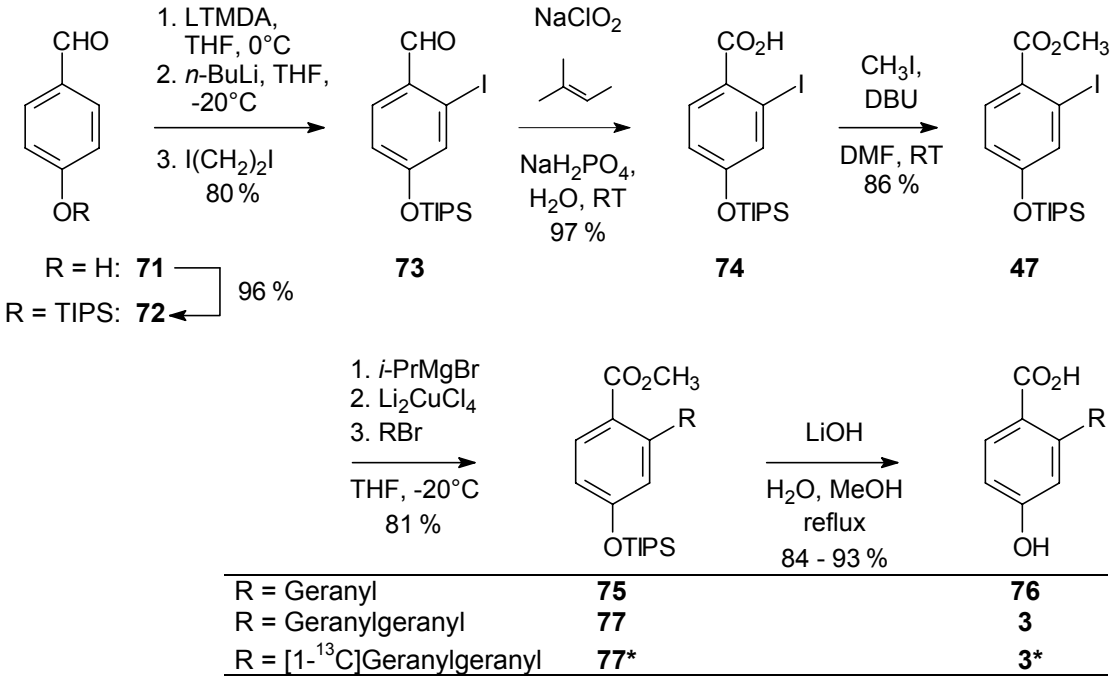
Zur selektiven Metallierung an C-2 des 3,4-Bis(methoxymethoxy)benzaldehyds (**65**) wird in Verbindung mit einem von Comins[266,267] entwickelten Verfahren zur *ortho*-Lithiierung von Benzaldehyden die stark *ortho*-dirigierende Wirkung der Acetalschutzgruppe[228,229] ausgenutzt. Dabei wird der aromatische Aldehyd mit dem Lithiumsalz des *N*,*N*,*N*'-Trimethylethylendiamins (LTMDA) zum α-Aminoalkoxid umgesetzt. Der Aminosubstituent ermöglicht einerseits als TMEDA-ähnliche Aktivierungsgruppe die *ortho*-Lithiierung mit überschüssigem *n*-Butyllithium bereits bei –20°C und wirkt andererseits als eine in situ generierte Schutzgruppe der Aldehydfunktion. Bedingt durch die zusätzliche dirigierende Wirkung des Methoxymethoxysubstituenten tritt fast ausschließlich Lithiierung an C-2 ein. Die Metallierungszeit kann wegen der Begünstigung der Metallierung durch doppelte Chelatisierung mit 3 h relativ kurz gewählt werden. Als Elektrophil zur Einführung des Iodsubstituenten bewährte sich 1,2-Diiodethan besser als elementares Iod. Bereits bei nur schwach saurer Aufarbeitung mit Ammoniumchloridlösung wird die Aldehydfunktion wieder freigesetzt. Durch Oxidation mit alkalischer Iodlösung (vgl. 3.6.4.2) wird direkt der Methylester **46** erhalten (Schema 32). Im Vergleich zur Oxidation des Aldehyds **57** ist hier eine deutlich längere Reaktionszeit (2 h) und ein größerer Reagenzienüberschuß erforderlich. Das bei der Iodierung in sehr geringer Menge entstandene 6-Iodderivat kann auf dieser Stufe durch Chromatographie abgetrennt werden.

Trotz der sterisch gehinderten Situation verläuft die Kupplung mit Polyprenyleinheiten in guten Ausbeuten. Auch die der Esterverseifung angeschlossene Acetalspaltung erfolgt problemlos nach bewährtem Muster.

3.6.4.4 4-Hydroxy-2-polyprenylbenzoesäuren (3, 3*, 76)

Zur selektiven Metallierung wird die bewährte Methode nach Comins angewandt (vgl. 3.6.4.3). Um die Metallierung in *ortho*-Position zur Aldehydfunktion nicht durch eine weitere dirigierende Gruppe wie einen Methoxymethoxysubstituenten zu stören, wird die Hydroxygruppe durch Silylierung räumlich abgeschirmt.[268] Bei der Chromatographie des TBDMS-Ethers an Kieselgel tritt eine geringfügige Spaltung ein, weswegen der hydrolysestabilere TIPS-Ether als Schutzgruppe gewählt wurde. Versuche, die Aldehydfunktion nach Yamada oder Corey zu oxidieren (vgl. 3.6.4.2), scheiterten. Deshalb wurde zunächst mit Natriumchlorit zur Benzoesäure **74** oxidiert. Bei dieser milden Oxidationsmethode sind verschiedene HOCl-Abfänger gebräuchlich.[269-271] In Gegenwart des neutralen Abfängers 2-Methyl-2-

buten[272,273] gelingt die Oxidation von **73** glatt. Die Carboxylfunktion wird anschließend unter milden Bedingungen methyliert[274] (Schema 33).



R = Geranyl	**75**	**76**
R = Geranylgeranyl	**77**	**3**
R = [1-^{13}C]Geranylgeranyl	**77***	**3***

Schema 33. Synthese von 4-Hydroxy-2-polyprenylbenzoesäuren.

Nach der Umsetzung der bei tiefer Temperatur erzeugten Grignard-Verbindung mit Polyprenylbromiden werden beide Schutzgruppen basisch gespalten.

Für das Substitutionsmuster der 4-Hydroxy-2-polyprenylbenzoesäuren sind in der Literatur bisher mit Ausnahme der einfachen Allylverbindung (R = C_3H_5) keine Herstellungswege beschrieben. Auch in der Natur ist diese Verbindungsklasse bisher unbekannt.

3.7 Prenylierte Benzoesäurederivate in der Natur

(Poly)prenylierte Benzoesäurederivate kommen häufig in der Natur vor. Oftmals zeigen sie biologische Wirkung, vielfach wurden aber noch keine Synthesen durchgeführt. Im folgenden werden einige Beispiele für prenylierte Benzoesäuren aufgeführt. Das in der vorliegenden Arbeit entwickelte Prinzip könnte vorteilhaft zur Herstellung von Vertretern dieser Naturstoffgruppe herangezogen werden.

2- und 4-Polyprenylbenzoesäuren sind in der Natur nur selten anzutreffen. Erwähnenswert ist das Auftreten von 2-Geranylgeranyl-3,4-dihydroxybenzoesäure (**4**) in der Pfefferart *Piper saltuum*.[275] Die überwiegende Zahl der bekannten Verbindungen trägt die Polyprenylkette in *meta*-Stellung zur Carboxylgruppe.

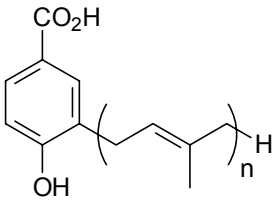
So dient beispielsweise 3-Geranyl-4-hydroxybenzoesäure (**52**) als Intermediat der Biosynthese von Shikonin in Murasaki (*Lithospermum erythrorhizon*) und wurde aus dessen Zellkulturen isoliert.[276] Das Farnesylderivat **78** wird von *Piper auritum*[277] produziert, das Geranylgeranylderivat **1** ist ein Inhaltsstoff von *Piper saltuum*.[275]

Teilweise nimmt die Natur in der Terpenkette Veränderungen durch Oxidation von Methylgruppen, bis-Hydroxylierung einzelner Doppelbindungen oder Cyclisierung zum Chroman vor. In den japanischen Basidiomyceten *Boletus asiaticus* und *B. paluster* wird etwa jeweils eine der kettenendständigen Methylgruppen der 3-Geranylgeranyl-4-hydroxybenzoesäure zur Carboxylfunktion oxidiert (**79**, **80**).[278] Die *trans*-Methylgruppe des Prenylrestes liegt in dem cytotoxischen Benzaldehyd Montadial (**81**), einem Inhaltsstoff des Bergporlings *Bondarzewia montana*, zum Aldehyd oxidiert vor.[279],[26] An der endständigen bzw. mittleren Doppelbindung der Seitenkette bis-hydroxylierte 3-Farnesyl-4-hydroxybenzoesäuren, die Kuhistanole A (**82**) und B (**83**),[27] wurden neben weiteren Derivaten in *Ferula kuhistanica* gefunden, einer in der usbekischen Volksmedizin benutzten Heilpflanze.[281]

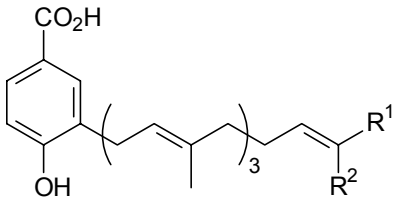
Zu der aus einer amerikanischen Varietät des Grünen Kammerporlings *Albatrellus cristatus* isolierten Grifolsäure (**84**)[282] gibt es eine Reihe von Homologen: Cannabigerovarinsäure (**85**)[283] und Cannabigerolsäure (**86**)[284],[28] aus dem indischen Hanf *Cannabis sativa* sowie **87** bzw. **88** aus *Helichrysum umbraculigerum*[286] unterscheiden sich lediglich im C-6-Substitu-

[26] Eine Synthese für Montadial (**81**) wurde inzwischen von Ermel[280] entwickelt.
[27] Kuhistanol A (**82**): 10'-Racemat, Kuhistanol B (**83**): k.A. zur Stereochemie.
[28] **86** existiert als Cannabinerolsäure auch in der 2'*Z*-Form.[285]

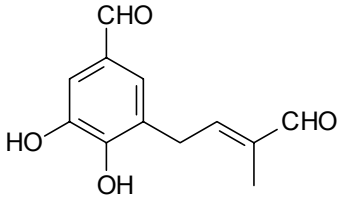
enten. Der 4-Methylether der Verbindung **88** wurde als Amorfrutin B aus *Amorpha fruticosa* isoliert.[287]



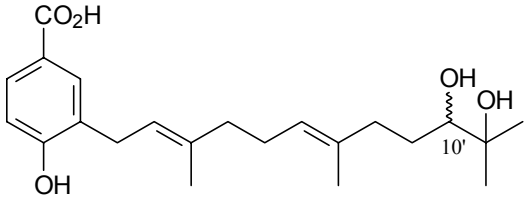
n = 2: **52**
n = 3: **78**
n = 4: **1**



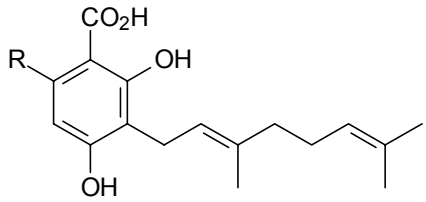
R^1 = CO_2H, R_2 = CH_3: Asiaticusin A (**79**)
R^1 = CH_3, R_2 = CO_2H: Asiaticusin B (**80**)



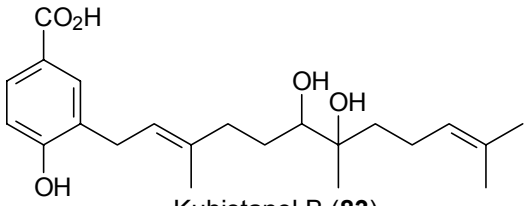
Montadial (**81**)



Kuhistanol A (**82**)



R = Me: Grifolsäure (**84**)
R = n-Pr: Cannabigerovarinsre. (**85**)
R = n-Pent: Cannabigerolsäure (**86**)
R = CH=CHPh: **87**
R = $(CH_2)_2$Ph: **88**



Kuhistanol B (**83**)

4 Effektive Synthese von 4-Hydroxy[1-^{13}C]benzoesäure (92*)[288]

4.1 Bedeutung von ring-C-isotopenmarkierter 4-Hydroxybenzoesäure

4-Hydroxybenzoesäure (**92**) spielt im sekundären Stoffwechsel eine wichtige Rolle.[289] Verfütterungsexperimente mit Hydroxybenzoesäure in isotopenmarkierter Form werden deshalb häufig durchgeführt. Am leichtesten gelingt die ^{13}C- oder ^{14}C-Isotopenmarkierung des Kohlenstoffatoms der Carboxylgruppe. Dabei wird eine Arylmagnesiumverbindung mit isotopenmarkiertem Kohlendioxid umgesetzt.[290] Oftmals tritt jedoch beim Metabolismus der 4-Hydroxybenzoesäure Verlust der Carboxylgruppe durch Decarboxylierung ein, so daß die synthetisch aufwendigere Einführung einer Isotopenmarkierung in den aromatischen Ring erforderlich ist. So wird **92** etwa im Laufe der Biosynthese des Arbutins in Hydrochinon umgewandelt.[291] Geranylhydrochinon, eine Vorstufe des Shikonins, entsteht durch Geranylierung der 4-Hydroxybenzoesäure (**92**) und anschließende Decarboxylierung.[29] Auch bei der Biosynthese des Pentabrompseudilins in *Altermonas luteoviolaceus* wird **92** decarboxyliert.[292]

Die Position der Isotopenmarkierung im Ring der 4-Hydroxybenzoesäure (**92**) ist in aller Regel von untergeordneter Bedeutung. 1,2-$^{13}C_2$-Doppelmarkierungen erhöhen grundsätzlich die Nachweisempfindlichkeit für den Einbau einer Biosynthesezwischenstufe in einen Metaboliten.

Im Rahmen der eigenen Arbeiten wurde ring-^{13}C-markierte 4-Hydroxybenzoesäure für Verfütterungsexperimente an Pilzfruchtkörpern benötigt.

4.2 Literaturbekannte Synthesen von ring-C-isotopenmarkierten 4-Hydroxybenzoesäuren

Im Jahre 1907 beschrieb Grignard[293] die Umsetzung von Essigsäureethylester mit *n*-Pentan-1,5-bis(magnesiumbromid) zu 1-Methylcyclohexanol. Setzt man Ethyl[1-^{13}C]acetat bzw. Ethyl[1-^{14}C]acetat ein, so wird 1-Methyl[1-$^{13/14}$C]cyclohexanol erhalten. Durch Eliminierung von Wasser und anschließende katalytische Dehydrogenierung bei sehr hoher Temperatur (400 bis 450°C) ist [1-^{13}C]Toluol zugänglich. Nach Oxidation des Toluols zu Benzoesäure wird in mäßiger Ausbeute zur [1-^{13}C]Salicylsäure *ortho*-hydroxyliert. Durch Behandlung mit

Kaliumhydroxid bei 240°C lagert sich die Carboxylgruppe um, so daß man 4-Hydroxy-[3-^{13}C]benzoesäure erhält.[294]

4-Nitrophenol läßt sich in einem Reaktionsschritt durch Umsetzung von Aceton mit Nitromalondialdehyd in Gegenwart von Base gewinnen. Da hierbei sämtliche Kohlenstoffatome des Acetons in den aromatischen Ring eingebaut werden, läßt sich jede Art von *C*-isotopenmarkiertem Aceton einsetzen. Nach Schützen der Hydroxygruppe und Reduktion zum Anilin erhält man nach Sandmeyer 4-Methoxybenzonitril und daraus durch Umsetzung mit Chlorwasserstoff in Methanol 4-Methoxybenzoesäuremethylester.[295-297]

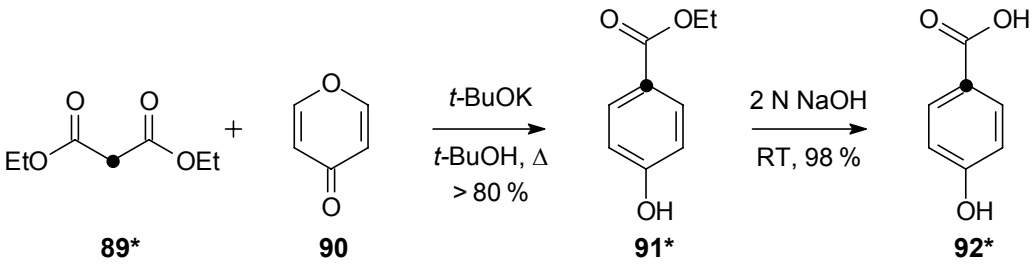
Derselbe Schlüsselschritt wurde zur Synthese von ring-^{13}C-markiertem Phenol benutzt, welches aus markiertem 4-Aminophenol durch Diazotierung und Reduktion gewonnen wird.[298] Floss[292] setzt das auf diesem Wege erhaltene Kalium[2,6-$^{13}C_2$]phenolat nach Kolbe-Schmitt um, wobei die 4-Hydroxy[3,5-$^{13}C_2$]benzoesäure im Vergleich zur [1,3-$^{13}C_2$]Salicylsäure allerdings nur in untergeordneten Mengen entsteht.

Der aromatische Ring kann auch durch eine Diels-Alder-Reaktion aus Trimethylsilyl-[2,3-$^{13}C_2$]propiolsäuremethylester, zugänglich aus [$^{13}C_2$]Acetylen, und dem Danishefsky-Dien[299] (1-Methoxy-3-trimethylsiloxy-1,3-butadien) aufgebaut werden.[297]

Ein von Leistner[300] entwickeltes mikrobiologisches Verfahren führt auch zu isotopenmarkierter 4-Hydroxybenzoesäure: nach Transformation einer Mutante von *Klebsiella pneumoniae* produziert der Stamm 4-Hydroxybenzoesäure anstelle von Chorisminsäure. Setzt man dem Medium [1-^{13}C]Glucose zu, so läßt sich 4-Hydroxy[2,6-$^{13}C_2$]benzoesäure isolieren. Allerdings erweist sich diese Methode bei näherer Betrachtung als relativ unwirtschaftlich: Leistner verwendet für 100 ml Nährmedium ein Gemisch aus 1.75 g unmarkierter Glucose und 0.05 g [1-^{13}C]Glucose und gibt für die Isolierung der 4-Hydroxybenzoesäure aus dem Medium eine Ausbeute von 120 mg/l an. Die so gewonnene 4-Hydroxybenzoesäure zeigt an C-2 und C-6 eine ^{13}C-Einbaurate von 1.55 %. Will man in den Bereich von zur Verwendung in Verfütterungsexperimenten brauchbaren Isotopenanreicherungen kommen, so muß der Anteil an [1-^{13}C]Glucose im Nährmedium wesentlich erhöht bzw. ausschließlich isotopenmarkierte Glucose eingesetzt werden.

4.3 Synthese von 4-Hydroxy[1-^{13}C]benzoesäure (92*) aus [2-^{13}C]Malonsäurediethylester und γ-Pyron

Die Anregung zur Synthese von 4-Hydroxybenzoesäureethylester (**91**) aus Malonsäurediethylester (**89**) und γ-Pyron (4*H*-Pyran-4-on, **90**) in Gegenwart von Base geht auf einen Hinweis Woodwards[301] zurück. Lang-Fugmann[3] untersuchte die Reaktion in verschiedenen Kombinationen von Basen und Lösungsmitteln, doch waren die Ausbeuten meist gering. Als das mit Abstand am besten geeignete System erwies sich die Kombination Kalium-*tert*-butylat / *tert*-Butylalkohol. Erwartungsgemäß wird bei der Umsetzung von [2-^{13}C]Malonsäurediethylester (**89***) die Isotopenmarkierung an C-1 des Aromaten eingebaut, so daß mit diesem Verfahren ein sehr eleganter Zugang zum ring-^{13}C-markierten Produkt **91*** gefunden wurde. Nach der Vorschrift von Lang-Fugmann wird Malonsäurediethylester mit 1.5 Äquivalenten γ-Pyron unter Zusatz von Kalium-*tert*-butylat im Lösungsmittel *tert*-Butylalkohol refluxiert, anschließend angesäuert und zur Decarboxylierung nochmals refluxiert.[302] Die Esterverseifung gelingt problemlos in nahezu quantitativer Ausbeute mit wäßriger Natronlauge bei Raumtemperatur.



89* **90** **91*** **92***

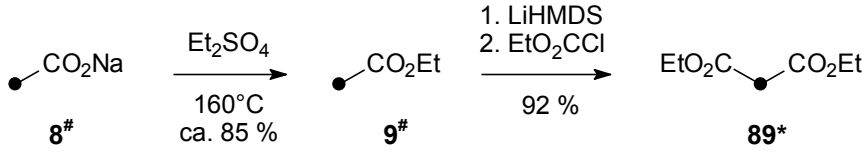
Schema 34. Kurze und effektive Synthese von 4-Hydroxy[1-^{13}C]benzoesäure aus [2-^{13}C]-Malonsäurediethylester und γ-Pyron.

In eigenen Arbeiten stellte sich heraus, daß ein erneutes Erhitzen nach Ansäuern unnötig ist, da sich das aromatische System bereits im basischen Reaktionsmedium bildet. In Anbetracht des relativ hohen Preises von γ-Pyron[29] (**90**) erschien es wünschenswert, dessen einzusetzende Menge zu reduzieren. Sobald auf den Überschuß an γ-Pyron verzichtet wird, sinken allerdings die Ausbeuten. Dies läßt sich nicht durch einen Überschuß an Base kompensieren, vielmehr sinken die Ausbeuten nochmals, wenn ein größerer Überschuß an Kalium-*tert*-butylat einge-

[29] γ-Pyron (**90**) kann durch kupferkatalysierte Decarboxylierung der billigeren Chelidonsäure (γ-Pyron-2,6-dicarbonsäure) in refluxierendem Tetralin in Gegenwart von 2,2'-Bipyridyl mit guter Ausbeute erhalten werden.[303]

setzt wird. Ein Zutropfen des Pyrons (**90**) zu einem Gemisch aus Malonsäurediethylester (**89**) und Base bringt keine Verbesserung. Entscheidend war die Beobachtung, daß die Reaktion in guten Ausbeuten (≥ 80 %) und ohne wesentlichen Überschuß an γ-Pyron (1.05 Äquivalente) durchgeführt werden kann, wenn die Base in substöchiometrischer Menge (0.2 Äquivalente) eingesetzt wird.

Den als Ausgangsmaterial erforderlichen [2-^{13}C]Malonsäurediethylester (**89***) erhält man nach dem Protokoll von Leete[304] durch Umsetzung des mit Lithium-bis(trimethylsilyl)amid (LiHMDS)[30] erzeugten Esterenolates von Ethyl[2-^{13}C]acetat (**8**$^{\#}$) mit Chlorameisensäureethylester (Schema 35). Wegen der Acidität des Produktes werden zwei Äquivalente Base eingesetzt. Eigene Versuche zeigen, daß [2-^{13}C]Malonsäurediethylester (**89***) nach sorgfältiger Destillation bereits bei Ansatzgrößen um 10 mmol in 92 % Ausbeute erhalten werden kann. Das Produkt muß dabei von dem Hydrolyseprodukt Trimethylsilylalkohol bzw. dessen kondensierter Form Hexamethyldisiloxan abgetrennt werden.

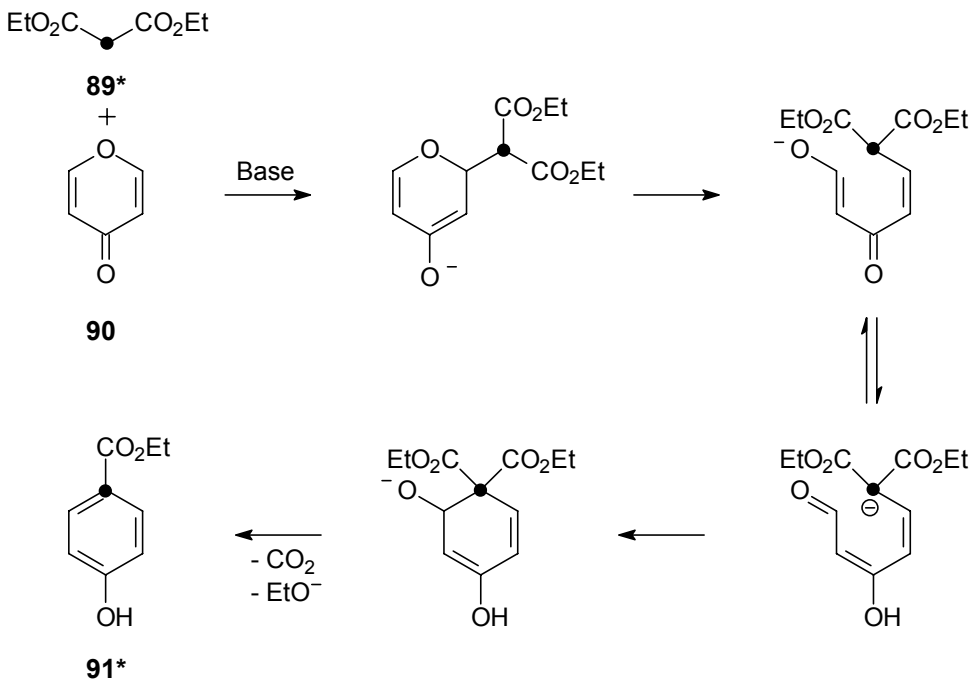


Schema 35. Synthese von [2-^{13}C]Malonsäurediethylester aus Natrium[2-^{13}C]acetat.

Zur Herstellung von isotopenmarkiertem Essigsäureethylester (**9**) aus relativ preisgünstigem C-isotopenmarkiertem Natriumacetat (**8**) existieren mehrere literaturbekannte Methoden. Nach Graebe[206],[31] wird das Salz bei etwa 160°C mit Diethylsulfat alkyliert, wobei der gebildete Essigsäureethylester abdestilliert. Die Ausbeuten liegen nach eigenen Erfahrungen bei Ansatzgrößen ab 13 mmol (1 g Natriumacetat) um 85 % (Schema 35). Eine Ausbeute von 93 % wird mit Triethylphosphat als Alkylierungsmittel bei Temperaturen von 170 bis 220°C erzielt.[305,306] In nahezu quantitativer Ausbeute kann mit Ethylbromid alkyliert werden. Wegen der leichteren destillativen Reinigung des Produktes wird dabei das hochsiedende toxische HMPT gegenüber DMF als Lösungsmittel bevorzugt.[307] Durch Herstellung von Acetylchlorid aus Acetat und dessen anschließende Umsetzung mit Ethanol ist Essigsäureethylester in zwei Stufen mit 77.5 % Gesamtausbeute zugänglich.[308]

[30] Mit Lithiumdiisopropylamid (LDA) oder Lithium-2,2,6,6-tetramethylpiperidid als Base werden schlechtere Ausbeuten erhalten.[304]

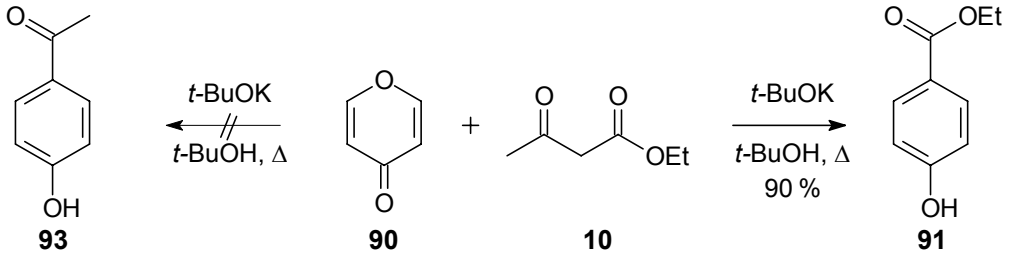
[31] Graebe benutzt Dimethylsulfat zur Alkylierung.



Schema 36. Möglicher Mechanismus der Bildung von 4-Hydroxy[1-^{13}C]benzoesäureethylester aus γ-Pyron und [2-^{13}C]Malonsäurediethylester in Gegenwart von Base.

Ein möglicher Mechanismus der Bildung von 4-Hydroxybenzoesäure ist in Schema 36 dargestellt. Woodward[301] nimmt an, daß im ersten Schritt eine Michael-Addition stattfindet, gefolgt von einer Ringöffnung und Recyclisierung zum Kohlenstoffcyclus. Die Aromatisierung erfolgt unter Eliminierung einer der Ethoxycarbonylgruppen und der Hydroxygruppe.

4.4 Synthese von 4-Hydroxybenzoesäure (92*) aus Acetessigsäureethylester und γ-Pyron



Schema 37. Bei der Umsetzung von Acetessigester mit γ-Pyron entsteht 4-Hydroxybenzoesäureethylester.

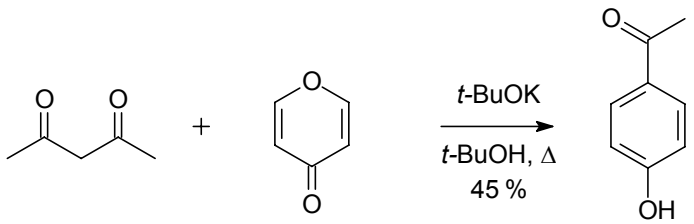
Bei der Reaktion von Acetessigsäureethylester (**1**) mit γ-Pyron (**90**, 1.1 Äquivalente) war zunächst die Bildung von 4-Hydroxyacetophenon (**93**) infolge Eliminierung der Ethoxycar-

bonylgruppe erwartet worden. Stattdessen wird in hohen Ausbeuten (90 %) ausschließlich 4-Hydroxybenzoesäureethylester (**91**) gebildet (Schema 37). Bei dieser Reaktion führt ein substöchiometrischer Baseneinsatz zu einer Verschlechterung der Ausbeute. Trotz ihrer etwas geringeren Ausbeute ist die Synthese von 4-Hydroxy[1-^{13}C]benzoesäureethylester (**91***) aus γ-Pyron (**90**) und [2-^{13}C]Malonsäurediethylester (**89***) zu bevorzugen, da **89*** in besserer Ausbeute aus Ethyl[2-^{13}C]acetat zugänglich ist als [2-^{13}C]Acetessigsäureethylester (**1***). Letzterer wird nach Leete[207] bei der Umsetzung des Esterenolats von Ethyl[2-^{13}C]acetat mit Acetylchlorid erhalten. In eigenen Versuchen konnten bei Durchführung im 10 mmol-Maßstab keine höheren Ausbeuten als 70 % nach Destillation des Acetessigesters (**1**) erreicht werden (vgl. auch 3.2).

4.5 Weitere Umsetzungen von γ-Pyron

4.5.1 Umsetzung mit Acetylaceton

4-Hydroxyacetophenon (**93**) kann man in etwa 45 % Ausbeute erhalten, indem man γ-Pyron (**90**, 1.1 Äquivalente) in Gegenwart von Kalium-*tert*-butylat (1.0 Äquivalente) mit Acetylaceton (**94**) umsetzt (Schema 38). Substöchiometrische Basenzugabe sowie Überschüsse an Base führen zur Verschlechterung der Ausbeute. Etwa dieselbe Ausbeute von 49 % läßt sich erzielen, wenn man die Umsetzung im Lösungsmittel Tetrahydrofuran mit der Base DBU (1.1 Äquivalente) durchführt. Versuche, γ-Pyron mit 1,1,1-Trifluorpentan-2,4-dion und Base umzusetzen, scheiterten: es findet keine Reaktion statt.

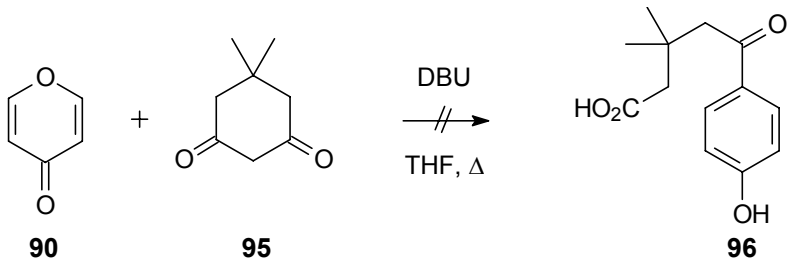


94 **90** **93**

Schema 38. Bildung von 4-Hydroxyacetophenon aus Acetylaceton und γ-Pyron.

4.5.2 Umsetzung mit Dimedon

Der Gedanke, die bei der Aromatisierung zu eliminierenden Gruppen durch Umsetzung des γ-Pyrons (**90**) mit einem cyclischen Derivat des Acetylacetons (**94**) intramolekular zu fixieren, liegt nahe. Bei der Umsetzung des γ-Pyrons (**90**) mit Dimedon (**95**) in Gegenwart von Base war die Bildung von **96** erwartet worden (Schema 39). Tatsächlich wird bei der Umsetzung von **90** und **95** mit DBU als Base im Lösungsmittel Tetrahydrofuran eine intensiv rote Verbindung isoliert, deren Fleck auf dem Dünnschichtchromatogramm sich bei Behandlung mit Ammoniakdampf orange verfärbt. Eine nähere Betrachtung dieses Reaktionsproduktes erschien interessant. Daneben wurde noch ein zweites, farbloses Reaktionsprodukt gefunden, welches nicht genauer untersucht wurde.



90 **95** **96**

Schema 39. Bei der Reaktion von γ-Pyron (**90**) mit Dimedon (**95**) war die Bildung von **96** erwartet worden.

Dem EI-Massenspektrum wird eine Molekülmasse von *m/z* = 358 entnommen. Dieses Ergebnis läßt bereits erkennen, daß Dimedon und γ-Pyron im stöchiometrischen Verhältnis 2:1 reagiert haben. Die Ausbeute des Farbstoffes bezüglich Dimedon beträgt 43 %.

Im Olefinbereich des ^{1}H-NMR-Spektrums ($CDCl_3$) der zunächst unbekannten Verbindung fallen zwei Dublettpaare auf (Abbildung 4). Die Kopplungskonstanten betragen $^3J_{HH}$ = 9.6 Hz und $^3J_{HH}$ = 13.3 Hz. Trotz sorgfältiger HPLC-Reinigung erkennt man stets zwei zusätzliche Dubletts (δ_H 7.59 und 8.11, J = 14.2 Hz), deren Integralwert sich zu dem der Hauptsignale 1:5 verhält. Ferner läßt sich ein weiteres überlagertes Dublettpaar im Bereich δ_H 7.15-7.30 vermuten.

Wenn das ^{1}H-NMR-Spektrum in Deuterobenzol anstelle von Deuterochloroform aufgenommen wird, liegen die Signale im Olefinbereich weiter auseinander (Abbildung 5). Die Übersichtlichkeit wird dadurch verbessert. Offensichtlich liegt auch in C_6D_6 ein Gemisch zweier Verbindungen im Verhältnis von ca. 5:1 vor. Die chemischen Verschiebungen der beiden

Dublettpaare der Hauptverbindung sind Tabelle 6 zu entnehmen. Die Kopplungskonstanten der beiden Dublettpaare aus der Nebenverbindung betragen J_{HH} = 10.0 Hz und J_{HH} = 13.8 Hz.

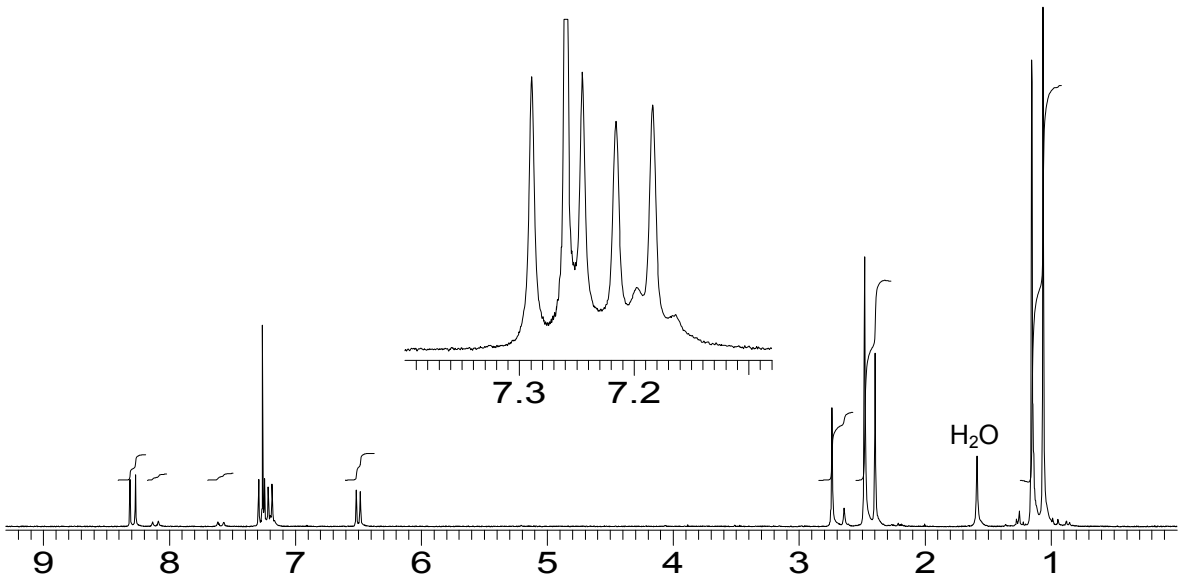


Abbildung 4. ^{1}H-NMR-Spektrum des Reaktionsproduktes **97** in $CDCl_3$ (300 MHz).

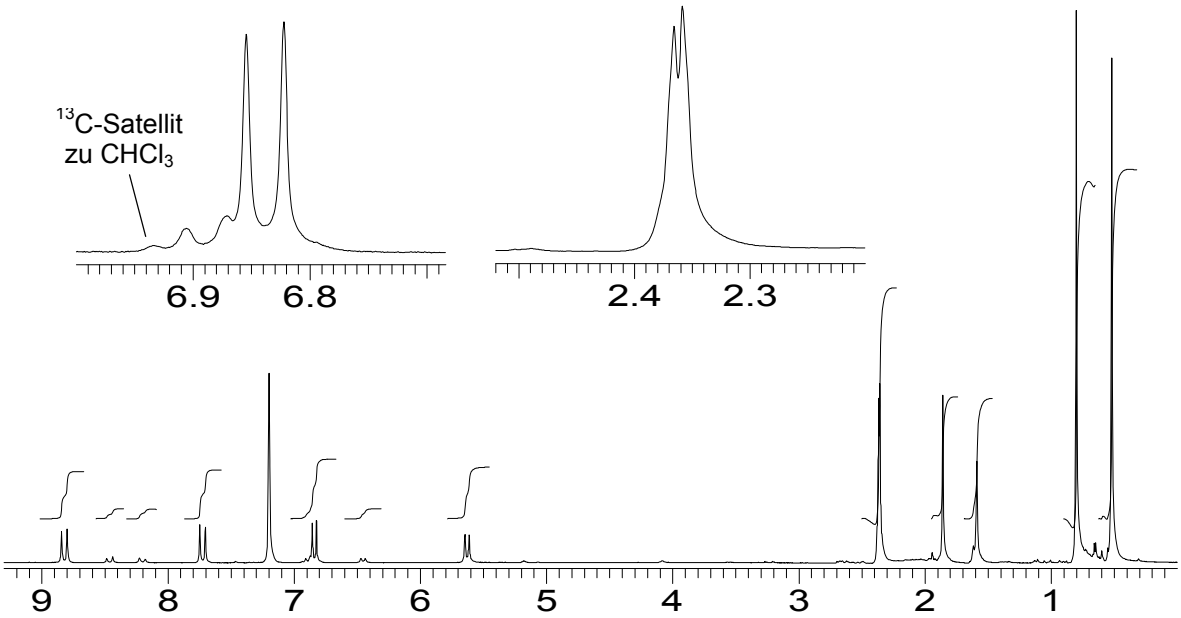
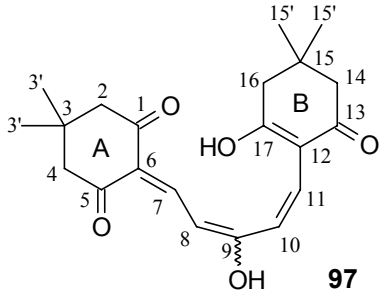


Abbildung 5. ^{1}H-NMR-Spektrum des Reaktionsproduktes **97** in C_6D_6 (300 MHz).



97

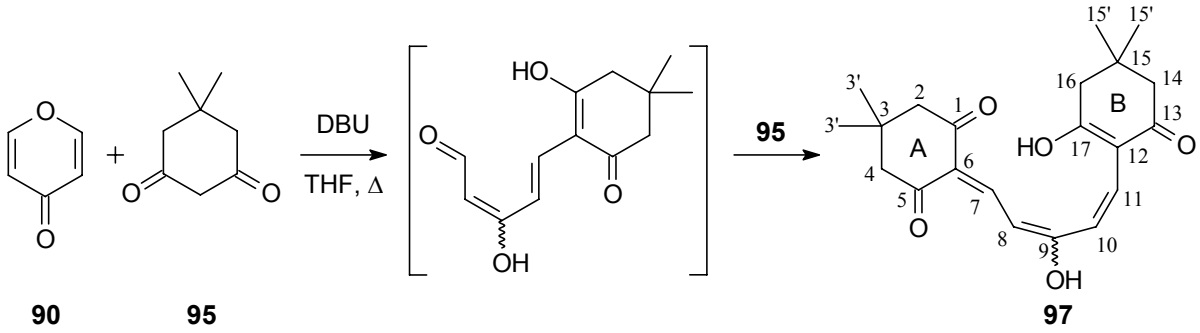
C-Atom	δ_C	H-Atom	δ_H	Mult.	J_{HH}/Hz
C-1, C-5	196.85, 198.27	–	–	–	–
C-2, C-4	52.31, 53.99	2-H, 4-H	2.36, 2.37	s, s	–
C-3	29.92	–	–	–	–
C-3'	28.30	3'-H	0.80	s	–
C-6	124.68	–	–	–	–
C-7	142.08	7-H	8.82	d	13.3
C-8	105.10	8-H	7.73	d	13.3
C-9	164.30	–	–	–	–
C-10	120.54	10-H	5.63	d	9.6
C-11	128.50	11-H	6.84	d	9.6
C-12	114.66	–	–	–	–
C-13	191.96	–	–	–	–
C-14	50.04	14-H	1.86	s	–
C-15	31.28	–	–	–	–
C-15'	27.66	15'-H	0.52	s	–
C-16	40.17	16-H	1.59	s	–
C-17	170.88	–	–	–	–

Tabelle 6. NMR-Daten der Verbindung **97** (C_6D_6, 300 MHz, Signalzuordnungen durch HMBC- und HMQC-Messungen).

Im Aliphatenbereich des in C_6D_6 aufgenommenen Spektrums erkennt man lediglich sechs Singuletts. Ein ähnliches Bild zeigt das in $CDCl_3$ gemessene Spektrum, wobei eines der Singuletts offensichtlich in zwei Signale im Integralverhältnis von 1:5 aufgespalten wird.

Das ^{13}C-NMR-Spektrum ($CDCl_3$ oder C_6D_6) zeigt 21 Signale. Man erkennt drei Signale im Tieffeld-Carbonylbereich, zwei Signale im Hochfeld-Carbonylbereich, Signale zweier quartärer olefinischer Kohlenstoffatome sowie vier olefinische CH-Signale. Im Aliphatenbereich des ^{13}C-NMR-Spektrums treten die Signale von vier Methylengruppen auf. Daneben erkennt

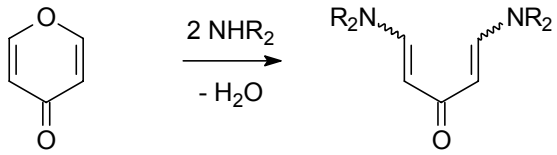
man die Signale zweier quartärer Kohlenstoffatome sowie zwei Singulettsignale für jeweils zwei Methylgruppen (Tabelle 6).



90 **95** **97**

Schema 40. Bei der Reaktion von γ-Pyron (**90**) mit Dimedon (**95**) wird **97** gebildet.

Für das ungewöhnliche Reaktionsprodukt wird die Struktur **97** vorgeschlagen. Demnach erfolgt nach Michael-Addition des Dimedon-Enolates an γ-Pyron (**90**) mit anschließender Ringöffnung eine Knoevenagel-Kondensation mit einem weiteren Dimedonmolekül anstelle einer Recyclisierung zum Kohlenstoffcyclus (Schema 40). Die nucleophile Ringöffnung von γ-Pyron beispielsweise mit Alkalien,[309] primären[310] oder sekundären[311,312] Aminen ist bekannt (Schema 41).



Schema 41. Nucleophile Ringöffnung von γ-Pyron (**90**) mit primären oder sekundären Aminen.

Das konjugierte push-pull-substituierte Doppelbindungssystem erklärt die Farbigkeit der Verbindung **97** (Polymethin-Farbstoff). Durch HMBC- und HMQC-Messungen können die NMR-Signale zugeordnet werden (Abbildung 6, Tabelle 6). Die Kopplungskonstante für die Protonen 10-H und 11-H beträgt $^{3}J_{HH}$ = 9.6 Hz. Der Doppelbindung C-10–C-11 kommt somit die *cis*-Konfiguration zu. Die Konfiguration der Doppelbindung C-8–C-9 kann nicht bestimmt werden.

Durch Rotation um Einfachbindungen und Keto-Enol-Tautomerie stehen verschiedene Formen von **97** im Gleichgewicht. Über diese Prozesse findet eine Äquilibrierung der Konfiguration der Doppelbindungen C-8–C-9 und C-10–C-11 statt. Im NOESY-Spektrum treten

Kreuzsignale zwischen 3'-H und 15'-H, 14-H und 2-H / 4-H[32] sowie 16-H und 2-H / 4-H auf. Es ist somit anzunehmen, daß **97** in einer Konformation vorliegt, in welcher die beiden Ringe A und B übereinanderliegen bzw. räumlich benachbart sind. Bei der im ^{1}H-NMR-Spektrum erkennbaren Nebenform könnte es sich um ein Tautomer oder Konformer von **97** handeln. In Hochtemperaturspektren ($CDCl_3$) tritt bis 60°C keine signifikante Änderung des Verhältnisses zwischen Haupt- und Nebenform ein.

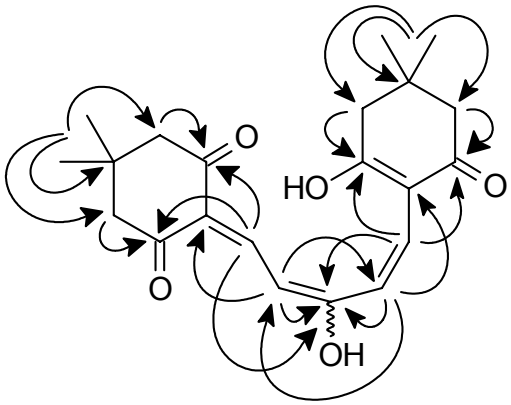


Abbildung 6. Auswahl der über HMBC-Messung ermittelten Fernkopplungen im Reaktionsprodukt **97**.

Es muß eine sorgfältige Betrachtung der die Ringe A und B der Verbindung **97** betreffenden NMR-Signale vorgenommen werden. Um die Situation besser analysieren zu können, folgt zunächst ein kurzer Exkurs über NMR-Studien an Dimedon (**95**) selbst.

Die Protonen- und Kohlenstoff-NMR-Spektren von Dimedon (**95**) wurden bereits mehrfach in der Literatur diskutiert.[313-315] Die Geschwindigkeit der gegenseitigen Umwandlung von Keto- und Enolform ist im Verhältnis zur NMR-Zeitskala langsam. Deshalb liegen die Signale der Keto- und der Enolform des Dimedons (**95**) in dessen ^{1}H- und ^{13}C-NMR-Spektren nebeneinander vor (Abbildung 7). Das Verhältnis zwischen Keto- und Enolform hängt stark von Temperatur, Konzentration und Lösungsmittel ab und kann durch Integration bestimmt werden.

Im ^{1}H-NMR-Spektrum der Ketoform des Dimedons (**95**) erkennt man lediglich drei Singuletts.[313,315]

Im ^{1}H-NMR-Spektrum der Enolform von **95** erscheint für die vier Methylenprotonen und für die sechs Methylprotonen jeweils nur ein Singulett (Abbildung 7). Für die Methylgruppen, für

[32] Wegen des geringen Unterschiedes in der ^{1}H-NMR-chemischen Verschiebung ist eine Differenzierung von 2-H und 4-H in den 2D-NMR-Spektren nicht möglich.

die Methylengruppen und für die sp^2-Kohlenstoffatome beobachtet man jeweils nur ein gemitteltes ^{13}C-NMR-Signal. Die Koinzidenz dieser Signale wird durch eine schnelle Ringinversion[33] *und* einen schnellen Protonentransfer, d.h. eine rasche Umwandlung der beiden Enolformen untereinander,[34] erklärt (Schema 42).[313]

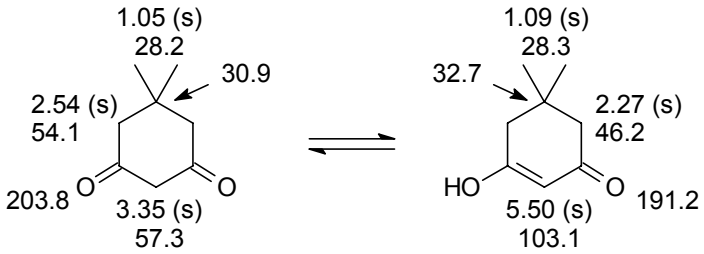
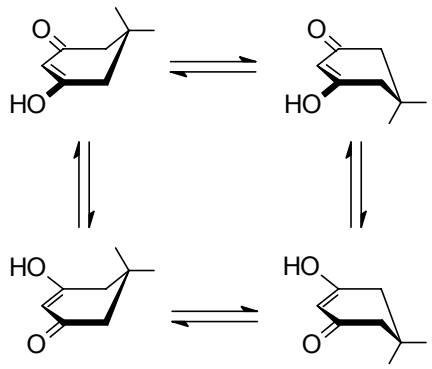


Abbildung 7. ^{1}H- und ^{13}C-NMR-Signale für Dimedon (**95**) in $CDCl_3$ nach Osborne.[315] Die Signale von Keto- und Enolform werden in den NMR-Spektren nebeneinander beobachtet.



Schema 42. Sowohl die Ringinversion des Dimedons (**95**) als auch die Umwandlung der Enolformen ineinander verlaufen bei Raumtemperatur im Sinne der NMR-Zeitskala schnell.

Eine mit **97** verwandte Verbindung ist nicht bekannt. Für einige Strukturelemente sind aber in der Literatur NMR-Vergleichsdaten verfügbar (Abbildung 8).

a) Strukturelement C

Im ^{1}H-NMR-Spektrum erscheinen die vier Methylenprotonen als ein einziges Singulettsignal bei ca. δ_H 2.5 ($CDCl_3$).[316-319] Wegen der hohen Rotationsbarriere der C–C-Doppelbindung ist hier aber von einer zufälligen Isochronie zweier Singuletts auszugehen. Im ^{13}C-NMR-Spektrum des Retinyliden-Dimedons (**98**) erscheinen die Kohlenstoffatome der Methylengruppen

[33] Bei langsamer Ringinversion würde man im ^{1}H-NMR-Spektrum die Signale der axialen und äquatorialen Methylenprotonen getrennt und mit den entsprechenden Kopplungsmustern beobachten. Bei –50°C ist die Koaleszenztemperatur noch nicht erreicht.[313]

[34] Die Umwandlung der Enolformen ineinander ist im Dimedon-enol-methylether blockiert. Im ^{1}H-NMR-Spektrum dieser Verbindung erscheinen die Signale der Methylenprotonen als zwei getrennte Singuletts zu je 2 H.[313]

und die Signale der Carbonylgruppen jeweils getrennt.[316] Für die beiden Methylgruppen wird in ^{1}H- und ^{13}C-NMR-Spektren immer nur *ein* Signal beobachtet. Die schnelle Ringinversion ist somit im Strukturelement C nicht behindert.

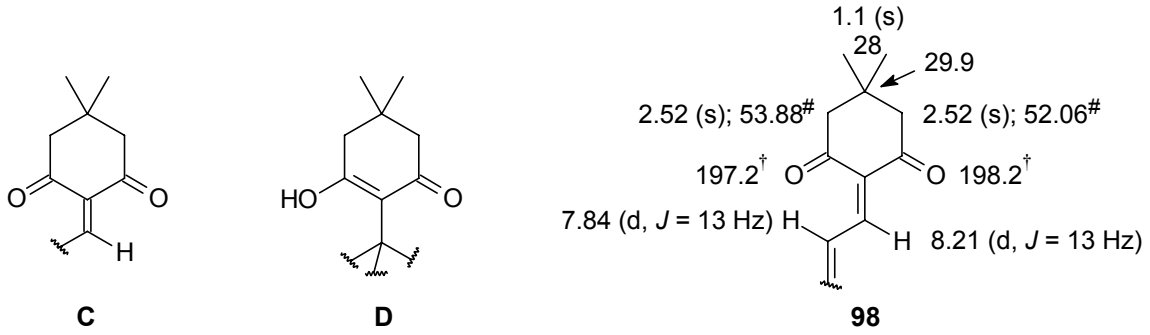


Abbildung 8. Strukturelemente C und D, die den Ringen A und B der Verbindung **97** entsprechen und Ausschnitt aus der Struktur von Retinyliden-Dimedon (**98**) mit ^{1}H- und ^{13}C-NMR-Verschiebungen ($CDCl_3$. #, †: Zuordnungen austauschbar. Daten nach Acton[316]).

b) Strukturelement D

Die ^{1}H-NMR-Signale der Methylenprotonen erscheinen als zwei getrennte Singuletts. Im ^{13}C-NMR-Spektrum beobachtet man jeweils zwei getrennte Signale für die Kohlenstoffatome der Methylengruppen und der Carbonylgruppen.[320] Somit verläuft die Umwandlung der beiden möglichen Enolformen ineinander – im Unterschied zu Dimedon – langsam. Es findet offensichtlich eine schnelle Rotation des Ringes statt.

Eine schnelle Ringinversion erfolgt auch in beiden Ringen A und B der Verbindung **97**. Dadurch wird erklärt, daß im ^{1}H-NMR-Spektrum von **97** keine getrennten Signale für axiale und äquatoriale Methylenprotonen und damit auch keine Kopplungen der betreffenden Protonen untereinander zu beobachten sind. Weiterhin wird erklärt, daß für beide Methylgruppen der Ringe A und B jeweils nur *ein* NMR-Signal zu beobachten ist.

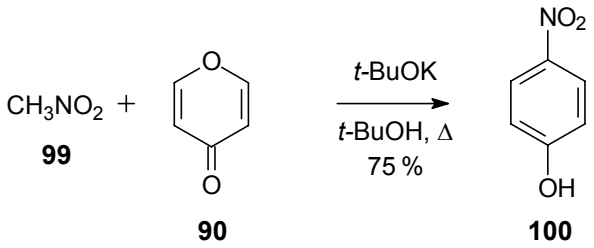
Die ^{13}C-NMR-Verschiebungen für die Atome des Ringes A in Verbindung **97** stimmen sehr gut mit den Literaturwerten für das Strukturelement C überein (Tabelle 6, Abbildung 8).

Die Signale für C-14 / C-16 und C-13 / C-17 des Ringes B sind wie erwartet getrennt zu beobachten (Tabelle 6). Ein Vergleich der chemischen Verschiebungen mit Literaturwerten[320] ist wegen der starken Abhängigkeit der Verschiebungen vom Substituenten nicht möglich.

Nach allen Erkenntnissen kann Struktur **97** für das unerwartete Reaktionsprodukt von γ-Pyron (**90**) mit Dimedon (**95**) als gesichert gelten.

4.5.3 Umsetzung mit Nitromethan

Bereits Lang-Fugmann[3] hatte γ-Pyron (**90**) im bewährten System Kalium-*tert*-butylat / *tert*-Butylalkohol erfolgreich mit Nitromethan (**99**) umgesetzt. Dabei wird in 75 % Ausbeute 4-Nitrophenol (**100**) erhalten (Schema 43). Bei der Reaktion mit Nitroethan war zunächst die Eliminierung der Nitrogruppe in Form eines Nitrates unter Bildung von *para*-Kresol erwartet worden, die Reaktion liefert aber ein untrennbares Produktgemisch.



Schema 43. Bildung von 4-Nitrophenol aus Nitromethan und γ-Pyron.

4.6 Diskussion

Die Umsetzung von [2-^{13}C]Malonsäurediethylester (**89***) mit γ-Pyron (**90**) im System Kalium-*tert*-butylat / *tert*-Butylalkohol stellt wegen des zuverlässigen Reaktionsverlaufes auch bei kleinen Ansatzgrößen (0.5 mmol), der einfachen Reaktionsdurchführung und der guten Zugänglichkeit der Vorstufe [2-^{13}C]Malonsäurediethylester einen konkurrenzlos günstigen Weg zu 4-Hydroxy[1-^{13}C]benzoesäure (**92***) dar. Diese selbst ist wiederum ein wichtiges Ausgangsmaterial für weitere Synthesen ringmarkierter Arene. So erhält man beispielsweise aus 4-Hydroxy[1-^{13}C]benzoesäureethylester (**91***) in 5 Stufen mit 42 % Gesamtausbeute DL-[*ring*-1-^{13}C]Tyrosin oder in 3 Stufen mit 77 % Gesamtausbeute 3,4-Dihydroxy[1-^{13}C]benzoesäure. Aus letzterer ist über 5 Stufen [4-^{13}C]Benzol-1,2,4-triol zugänglich.[302]

Die Umsetzungen des γ-Pyrons (**90**) mit Acetylaceton (**94**) oder Nitromethan (**99**) bieten die Möglichkeit effizienter Zugänge zu ring-^{13}C-markiertem 4-Hydroxyacetophenon (**93**) bzw. 4-Nitrophenol (**100**). Weitere Untersuchungen zur Reaktion von γ-Pyron (**90**) mit Nucleophilen erscheinen sinnvoll. Die Reaktion bietet das Potential, neue Verbindungstypen wie **97** zu erschließen.

5 Cyclodextrine und Liposomen als Hilfsmittel bei der Applikation unpolarer Biosyntheseintermediate an Pilzfruchtkörper

Bei Verfütterungesexperimenten von Biosynthesevorläufern an junge Pilzfruchtkörper mit Hutdurchmessern von etwa 2 bis 4 cm lassen sich Flüssigkeitsmengen von höchstens 0.1 bis 0.3 ml mittels einer Spritze applizieren. Für größere Flüssigkeitsmengen innerhalb kurzer Zeit reicht das Aufnahmevermögen eines Fruchtkörpers meist nicht aus. Biosynthesevorläufer werden im allgemeinen in Mengen von ca. 5 bis 25 mg pro Fruchtkörper in gelöster Form verfüttert. Ist die betreffende Substanz nicht ausreichend wasserlöslich, so ist man auf die Verwendung organischer Lösungsmittel wie Dimethylsulfoxid, Aceton oder Diethylether angewiesen. Abhängig von Pilzart und Lösungsmittel treten dabei teilweise Schädigungen der Fruchtkörper auf. Ein mit der Wasserlöslichkeit verbundener weiterer Aspekt ist das u. U. schlechte Transportverhalten eines wasserunlöslichen Biosynthesevorläufers im Zellverband. Neben Verfütterungsexperimenten mit einfachen Benzoesäurederivaten wurden im Rahmen dieser Arbeit unter anderem Versuche mit in hohem Maße lipophilen Biosynthesezwischenstufen durchgeführt. Dabei wurde die Eignung von Cyclodextrinen und Liposomen als Hilfsstoffe zur Solubilisierung unpolarer Moleküle in wäßrigen Medien für Verfütterungszwecke untersucht.

5.1 Solubilisierung durch Komplexierung mit Cyclodextrinen

5.1.1 Cyclodextrine

Cyclische Oligosaccharide, die aus α(1→4)-verknüpften D-(+)-Glucopyranoseeinheiten aufgebaut sind, werden in Analogie zu den linearen Dextrinen als Cyclodextrine bezeichnet. Die äußere Form der Cyclodextrine ähnelt einem hohlen Kegelstumpf (Torus) (Abbildung 9). α-, β- und γ-Cyclodextrin mit sechs, sieben und acht Zuckereinheiten pro Molekül sind die bekanntesten Vertreter ihrer Klasse.

Die bekannteste Eigenschaft der Cyclodextrine besteht in ihrer Fähigkeit, Addukte mit einer Vielzahl von Substanzen zu bilden. Es kann sich dabei um Einschlußverbindungen, wobei das Cyclodextrin als Wirtkomponente fungiert und den Gast vollständig oder teilweise umschließt, oder um Anlagerungsverbindungen, wobei sich das Gastmolekül außerhalb der

Cavität befindet, handeln.[321] Häufig beträgt das Wirt : Gast-Verhältnis = 1:1, es werden aber auch andere Stöchiometrien beobachtet.[322] Treibende Kräfte für die Komplexbildung sind Coulomb-, Dipol-Dipol-, van-der-Waals- und hydrophobe[35] Wechselwirkungen sowie Wasserstoffbrückenbindungen zwischen Wirt und Gast.

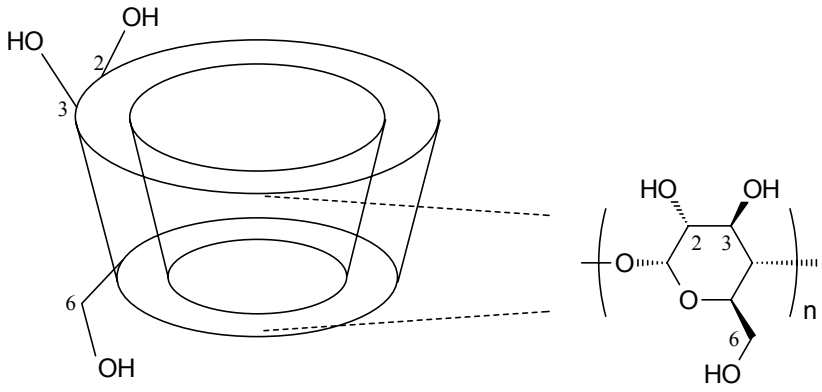


Abbildung 9. Gestalt der Cyclodextrine und Anordnung der Hydroxygruppen (schematisch, verändert nach Lit.[323]). Die primären Hydroxygruppen befinden sich an der engeren, die sekundären an der weiteren Seite des Torus. Die 2-OH-Gruppen sind nach innen, die 3-OH-Gruppen nach außen gerichtet.[321] Das Volumen der Cavität von β-Cyclodextrin (n = 7) beträgt 262 $Å^3$, das entspricht 157 ml/mol.[322]

Cyclodextrin-Gast-Komplexe können als stabile, kristalline Substanzen isoliert werden. Die Adduktbildung unterliegt stets einem Gleichgewicht, welches durch eine Gleichgewichtskonstante quantifizierbar ist. Das Gastmolekül kann somit z.B. durch Verdünnung oder kompetitive Verdrängung freigesetzt werden.[324]

Die Komplexbildung wird hauptsächlich von geometrischen Faktoren gesteuert. Die Wahl des geeigneten Cyclodextrins richtet sich also in erster Linie nach Größe und Form des einzuschließenden Gastmoleküls. In den meisten Fällen wird β-Cyclodextrin oder eines seiner Derivate benutzt. Ladung und Polarität des Gastes beeinflussen die Komplexbildung in untergeordnetem Maße.[325] Zur Herstellung eines Adduktes wird die Gastkomponente unter Rühren zu einer evtl. erwärmten wäßrigen Lösung des Cyclodextrins gegeben.

Aufgrund ihrer hydrophilen Außenflächen sind Cyclodextrine und deren Komplexe mehr oder weniger gut wasserlöslich. Die Wasserlöslichkeit eines Cyclodextrin-Gast-Komplexes kann größer sein als die Löslichkeit des freien Gastmoleküls. Allerdings ist die Wasserlöslichkeit insbesondere des β-Cyclodextrins mit 1.85 g / 100 ml (16.3 mM)[322] (Raumtemperatur)

[35] Die Komplexbildung findet i.d.R. in wäßrigen oder zumindest wasserhaltigen Systemen statt.

begrenzt, und so zeigen auch dessen Komplexe in vielen Fällen keine hohe Löslichkeit. Da an der Solubilisierung unpolarer Moleküle in wäßrigen Medien etwa im pharmazeutischen Sektor großes Interesse besteht, wurden Derivate der Cyclodextrine mit überaus guter Wasserlöslichkeit entwickelt.

Neben der Solubilisierung unpolarer Substanzen lassen sich durch die Komplexierung von Stoffen mit Cyclodextrinen oder geeigneten Derivaten viele andere Effekte erreichen, die bereits zu Anwendungen geführt haben. So können etwa photo- oder oxidationslabile Stoffe stabilisiert, Geruchs-, Geschmacks- oder Giftstoffe maskiert, flüchtige Stoffe zurückgehalten oder die Verfügbarkeit von Arzneistoffen für den Organismus gesteuert werden.[321,326-328] Cyclodextrine werden außerdem als Enzymmodelle[329,330] bzw. als Katalysatoren oder Hilfsstoffe für chemische Reaktionen[331] eingesetzt.

Cyclodextrine und einige ihrer Derivate wie beispielsweise 2-Hydroxypropyl-β-cyclodextrin zeigten in Studien über Toxizität, Mutagenität, Teratogenität und Carcinogenität keine auffälligen Gefahrenmomente.[321,323,332] Der Metabolismus von Cyclodextrinen ist mit dem von Stärke vergleichbar. Die glycosidischen Bindungen von Cyclodextrinen werden von einigen Amylasen gespalten, allerdings langsamer als die Bindungen linearer Zucker. Allgemein führt die Einführung von *O*-Substituenten zu einer Verlangsamung der enzymatischen Hydrolyse.[323,333]

5.1.2 Cyclodextrinderivate mit hoher Wasserlöslichkeit

Jedes Glucosemolekül eines Cyclodextrinringes besitzt zwei sekundäre Hydroxygruppen an C-2 und C-3 sowie eine primäre Hydroxygruppe an C-6, deren Protonen mehr oder weniger selektiv gegen andere Substituenten ausgetauscht werden können.[334] Derivate der Cyclodextrine wurden in überaus großer Zahl entwickelt.[335]

In Wasser gelöste unsubstituierte Cyclodextrine neigen zur durch Wasserstoffbrückenbindungen unterstützten Selbstaggregation (Kristallisation). Durch Substitution der Protonen der Hydroxygruppen kann dieser Zusammenlagerungseffekt vermindert werden.[336]

Die am besten wasserlöslichen Cyclodextrinderivate sind im allgemeinen keine Reinstoffe. Sie bestehen – bei definiertem Substituenten R (Abbildung 10) – aus einem vielfältigen Gemisch individueller Substitutionsprodukte, die sich bezüglich des Substitutionsgrades, der Kombination der Substitutionspositionen und, sofern der Rest R ein oder mehrere Asymmetriezentren enthält, der Stereochemie unterscheiden. Für keines der einzelnen Moleküle eines

solchen Gemisches wird die Löslichkeitsgrenze erreicht,[336] so daß es aufgrund des Multikomponentencharakters[323] zu verblüffend hohen Wasserlöslichkeiten kommen kann. Zur Charakterisierung derartiger Cyclodextrinderivate wird der durchschnittliche Substitutionsgrad pro Cyclus oder pro Glucoseeinheit angegeben. Die Wasserlöslichkeit definierter, reiner Substitutionsprodukte wie z.B. 2-*O*-[(*S*)-2-Hydroxypropyl]-β-cyclodextrin kann kleiner sein als die des unsubstituierten Cyclodextrins selbst.[323]

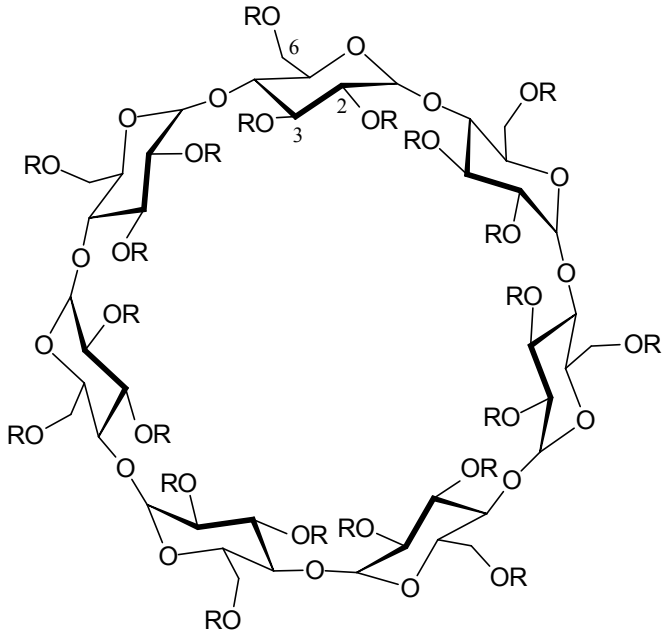


Abbildung 10. β-Cyclodextrin und zwei seiner Derivate.

Hervorragende Wasserlöslichkeiten werden beispielsweise von hydroxyalkylierten oder sulfoalkylierten Cyclodextrinen erreicht.[336] Derartige Derivate können selbst völlig hydrophobe Moleküle wie Paraffine oder Toluol in Wasser solubilisieren.[321] Setzt man β-Cyclodextrin bei 50 bis 60°C in Gegenwart von Natronlauge mit Propylenoxid um, so erhält man 2-Hydroxypropyl-β-cyclodextrin (Abbildung 10). Bei der Herstellung des 2-Hydroxypropyl-β-cyclodextrins wird der durchschnittliche Substitutionsgrad über das Verhältnis der Reakti-

onspartner gesteuert.[36] Die Kontrolle des Substitutionsgrades ist von Bedeutung, da eine zu hohe Substitution aufgrund sterischer Effekte die Komplexbildungsfähigkeit der Cyclodextrine beeinträchtigt.[323] Die relativen Reaktivitäten der C-2-, C-3- und C-6-Hydroxygruppen der Glucoseeinheiten des β-Cyclodextrins bezüglich der Hydroxypropylierung und die Wasserlöslichkeit der Produkte in Abhängigkeit vom Substitutionsgrad wurden untersucht.[339] Die Wasserlöslichkeit des 2-Hydroxypropyl-β-cyclodextrins mit einem durchschnittlichen Substitutionsgrad von 7 pro Cyclodextrinmolekül wird mit bis zu 200 % (w/v) angegeben.[340]

Setzt man β-Cyclodextrin bei 70°C in Gegenwart von Natronlauge mit 1,4-Butansulton um, so erhält man Sulfobutyl-β-cyclodextrin (Abbildung 10).[341] Auch hier wird der Substitutionsgrad über das Verhältnis der Reaktanden gesteuert. Bei einem durchschnittlichen Substitutionsgrad von sieben Resten pro Cyclus wird eine Wasserlöslichkeit von > 50 % (w/v) erreicht.[323]

Eine zweite Gruppe von sehr gut wasserlöslichen Cyclodextrinen bilden die „verzweigten“ (engl. „branched“) Cyclodextrine. Dabei handelt es sich um i.d.R. enzymatisch hergestellte Derivate, bei denen ein oder zwei 6-*O*-Atome pro Cyclodextrinmolekül ein α(1→6)-glycosidisch verknüpftes Mono- oder kurzes Oligosaccharid tragen. Im Unterschied zu den oben erwähnten auf chemischem Wege erzeugten Derivaten sind die verzweigten Cyclodextrine auch als Reinstoffe sehr gut wasserlöslich. Die Wasserlöslichkeit beispielsweise von 6-*O*-Glucosyl-β-cyclodextrin beträgt über 50 % (w/v).[323,335]

5.1.3 Solubilisierung von Hydroxybenzoesäuren und eigene Arbeiten mit Cyclodextrinen

Wie bereits erwähnt, werden Verfütterungsexperimente mit isotopenmarkierter 4-Hydroxybenzoesäure aufgrund ihrer Schlüsselfunktion im sekundären Stoffwechsel häufig durchgeführt. Im Rahmen der vorliegenden Arbeit war die Applikation von 4-Hydroxy-[1-^{13}C]benzoesäure (**92***), 4-Hydroxy-2-methylbenzoesäure (**125**) und 4,5-Dihydroxy-2-methylbenzoesäure (**127**) an Pilzfruchtkörper erforderlich.

Die Wasserlöslichkeit von 4-Hydroxybenzoesäure beträgt bei 25°C 42.7 mM (0.589 g / 100 ml).[342] Bei der Herstellung einer wäßrigen Lösung von 10 mg dieser Substanz, beispielsweise zum Zweck der Applikation an einen Pilzfruchtkörper, ergibt sich folglich ein Volumen

[36] Zur Herstellung von 2-Hydroxypropyl-β-cyclodextrin vom durchschnittlichen Substitutionsgrad 7 siehe Lit.[337] Eine davon geringfügig abweichende, detaillierte Vorschrift zur Herstellung dieses Derivates mit dem Substitutionsgrad 6.8 sowie den Substitutionsgraden 5.1 und 11.3 findet sich in in Lit.[338]

von 1.7 ml. Die Wasserlöslichkeit von Benzoesäure, 3-Hydroxybenzoesäure und 4-Hydroxybenzoesäure kann durch Komplexierung mit β-Cyclodextrin in geringem Maße erhöht werden.[343] Die Löslichkeit nimmt dabei linear proportional mit der Cyclodextrinkonzentration zu. Für 4-Hydroxybenzoesäure beispielsweise beträgt die Löslichkeits*zunahme* 9.40 mM (0.130 g / 100 ml) bei einer β-Cyclodextrinkonzentration von 9.00 mM (1.02 g / 100 ml),[37] was nahezu genau einer stöchiometrischen 1:1-Komplexierung entspricht. Komplexierung mit α-Cyclodextrin führt bei gleichen molaren Cyclodextrinkonzentrationen zu einer etwas kleineren Löslichkeitszunahme der Hydroxybenzoesäuren. Wegen der im Vergleich zu β-Cyclodextrin um eine Zehnerpotenz größeren Wasserlöslichkeit des α-Cyclodextrins (max. 14.5 g / 100 ml bzw. 149 mM)[322] können damit aber für die genannten Benzoesäuren höhere Solubilisierungen erreicht werden. So beträgt die Löslichkeitszunahme der 4-Hydroxybenzoesäure 29.3 mM (0.404 g / 100 ml) bei einer α-Cyclodextrinkonzentration von 36.0 mM (3.50 g / 100 ml).[37]

2-Hydroxybenzoesäure bildet intramolekulare Wasserstoffbrückenbindungen aus, so daß die Carboxyl- und Hydroxygruppen für eine Interaktion mit einem Cyclodextrin nicht mehr in dem gleichen Maß wie bei den Isomeren zur Verfügung stehen und Komplexierung bzw. Solubilisierung schwächer ausgeprägt sind.[343]

Offensichtlich ist β-Cyclodextrin grundsätzlich ein hervorragender Wirt für 4-Hydroxybenzoesäure, wobei die schlechte Wasserlöslichkeit dieses Saccharids die Möglichkeit der Solubilisierung stark einschränkt. Der Einsatz von Derivaten des β-Cyclodextrins erschien daher für eigene Arbeiten vielversprechend.

Aufgrund der sehr guten Löslichkeitseigenschaften von 2-Hydroxypropyl-β-cyclodextrin wurde dieses Derivat für erste Versuche zur Solubilisierung von 4-Hydroxybenzoesäure gewählt. Nach Literaturangaben wurde 2-Hydroxypropyl-β-cyclodextrin vom durchschnittlichen Substitutionsgrad 7 pro Cyclodextrin hergestellt.[36] Es stellte sich heraus, daß 4-Hydroxybenzoesäure stöchiometrisch 1:1 mit dem genannten Cyclodextrinderivat in hohem Maße in Wasser solubilisiert werden kann. Für die Solubilisierung von 4-Hydroxybenzoesäure ist somit etwa die 11-fache Gewichtsmenge an 2-Hydroxypropyl-β-cyclodextrin erforderlich.[38] Versetzt man ein Gemisch aus 10 mg Hydroxybenzoesäure und 0.11 g 2-Hydroxy-

[37] Die in Lit.[343] beschriebenen Löslichkeitsversuche wurden bis zu Konzentrationen von maximal 9.00 mM (β-Cyclodextrin) bzw. 36.0 mM (α-Cyclodextrin) durchgeführt.

[38] Die mittlere Molekülmasse von 2-Hydroxypropyl-β-cyclodextrin mit durchschnittlichem Substitutionsgrad 7 / Cyclus beträgt 1541 g/mol. 2-Hydroxypropyl-β-cyclodextrin enthält auch nach Gefriertrocknung noch etwa 5 bis 8 Gew.-% Wasser.[337] Ebenso binden α-, β- und γ-Cyclodextrin im kristallinen Zustand je nach Ringgröße 6 bis 13 Gew.-% Wasser.[321]

propyl-β-cyclodextrin mit ca. 0.11 ml Wasser, so wird nach einigen Minuten Rühren eine klare, viskose Lösung erhalten. Dies entspricht einer Konzentration von etwa 9 g 4-Hydroxybenzoesäure / 100 ml (ca. 650 mM).[39] Im gleichen Maße konnten 3,4-Dihydroxybenzoesäure, 4-Hydroxy-2-methylbenzoesäure (**125**) und 4,5-Dihydroxy-2-methylbenzoesäure (**127**) erfolgreich in Wasser solubilisiert werden.

5.1.4 Verfütterung Cyclodextrin-komplexierter 4-Hydroxy[1-^{13}C]benzoesäure (92*) an den Rostroten Lärchenröhrling *Suillus tridentinus* (Bres.) Sing.

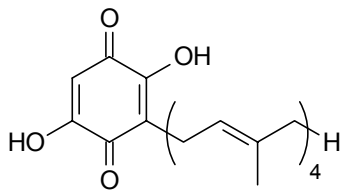
Die Eignung Cyclodextrin-komplexierter Benzoesäurederivate für Verfütterungsexperimente an Pilzen wurde in einem Vorversuch überprüft. Es ist bekannt, daß 4-Hydroxy[1-^{13}C]benzoesäure (**92***) in Tridentochinon (**102**), den Hauptfarbstoff des Rostroten Lärchenröhrlings *Suillus tridentinus* (Bres.) Sing., inkorporiert wird (vgl. 6.3). Eine Verfütterung von **92*** an *S. tridentinus* kann somit als Test herangezogen werden. Bisher wurde diese Verbindung als Lösung in Aceton oder Dimethylsulfoxid appliziert.

Eine Lösung von 10 mg 4-Hydroxy[1-^{13}C]benzoesäure (**92***) und 0.11 g 2-Hydroxypropyl-β-cyclodextrin in 0.10 ml Wasser wurde an einen Fruchtkörper des Rostroten Lärchenröhrlings verfüttert. Nach vier Tagen Wachstum wurde der Pilz geerntet. Der Fruchtkörper, dessen Durchmesser von 4 auf 7 cm zugenommen hatte, war völlig normal gewachsen und zeigte keinerlei Nekrosen oder sonstige Auffälligkeiten. Es konnten 23.3 mg Tridentochinon (**102**) isoliert werden. Die Einbaurate in C-1 des Tridentochinons betrug 4.3 % und lag damit geringfügig über dem normalen Bereich.

Das Experiment demonstriert, daß bei Verfütterungsexperimenten mit einfachen Derivaten der 4-Hydroxybenzoesäure vollständig auf den Einsatz organischer Lösungsmittel verzichtet werden kann.

[39] Die Volumenzunahme durch das gelöste Cyclodextrinderivat wurde nicht bestimmt und bei dieser Angabe vernachlässigt.

5.1.5 Solubilisierung von Bovichinon-4 (101)



Bovichinon-4 (**101**)

Bovichinon-4 (**101**), eine lipophile Verbindung mit Geranylgeranylseitenkette, ist in Wasser nahezu unlöslich und kann mit 2-Hydroxypropyl-β-cyclodextrin in geringem Maße in Lösung gebracht werden. 5 mg Bovichinon-4 wurden mit 200 mg 2-Hydroxypropyl-β-cyclodextrin in ca. 0.15 ml Wasser nach längerem Rühren in Form einer zähflüssigen roten Lösung solubilisiert. Eine durch das Cyclodextrinderivat möglicherweise katalysierte Dimerisierung zu Bovilacton-4,4 (**136**) (vgl. 7.6.1.2) wurde auch nach mehrstündigem Rühren nicht beobachtet.

Die so erzielte Solubilisierung des Bovichinons-4 (**101**) im wäßrigen Medium erwies sich für die erfolgreiche Durchführung von Verfütterungsexperimenten als ausreichend (vgl. 7.5.5). Zur Komplexierung polyprenylierter Arene und Chinone mit 2-Hydroxypropyl-β-cyclodextrin sind aber übermäßige Wirt-Gast-Verhältnisse erforderlich, so daß nicht von einer Ideallösung gesprochen werden kann. Für diese Verbindungsklasse wurde deshalb die Technik der Inkorporation in Liposomen angewandt.

5.2 Solubilisierung durch Inkorporation in Liposomen

5.2.1 Liposomen

Liposomen sind Vesikel mit vollständig eingeschlossenem wäßrigem Volumen, deren Membran aus einer Lipiddoppelschicht besteht. Derartige Doppelschichten bilden auch das Grundgerüst biologischer Membranen und werden von Lipiden, die zwei Kohlenwasserstoffketten pro Molekül tragen, spontan geformt, wenn diese in Wasser dispergiert werden. Im Unterschied dazu neigen Lipidmoleküle mit nur einer Kohlenwasserstoffkette bei Dispersion in Wasser zur Micellenbildung.[344] Unter anderem wegen ihrer niedrigen Kosten werden Lecithine oft als Hauptkomponente in Liposomenpräparationen verwendet.

Cholesterol bildet selbst keine Doppelschicht-Strukturen, kann aber in sehr hohen Konzentrationen in Phospholipidmembranen eingebaut werden – das Stoffmengenverhältnis von Cholesterol zu Phospholipid kann bis zu 2:1 betragen.[345] Cholesterol senkt durch Interaktion seines

rigiden Steroidgerüstes mit den Bewegungen der Lipidketten die Membranfluidität und verbreitert außerdem den Temperaturbereich des Ordnungs-Unordnungs-Überganges.[344]

Zur Ausbildung und Aufrechterhaltung einer Membranstruktur sind außer Phospholipiden und Sterolen keine weiteren Komponenten erforderlich, doch kann in Doppelschichtmembranen ein großes Spektrum lipophiler Komponenten ohne spezielle chemische Strukturmerkmale zusätzlich inkorporiert werden. Aufgrund dieser Eigenschaft können Liposomen als Transportvehikel für lipophile und amphiphile Substanzen in einer wäßrigen Umgebung dienen. Unter normalen Umständen werden etwa 1 bis 10 Gew.-% Fremdsubstanz toleriert. Bestimmte Stoffe, die mit Membrankomponenten wechselwirken wie etwa Fettsäuren oder α-Tocopherol können höher angereichert werden. Andererseits sind gewisse Verbindungen wie einige Polyen-Antibiotika in der Lage, bereits in geringen Konzentrationen die Membranstruktur zu zerstören.

Mit Hilfe von Liposomen können auch wasserlösliche Verbindungen transportiert werden. Diese werden in das wäßrige innere Volumen der Vesikel eingeschlossen.

Der Durchmesser von Liposomen kann von etwa 25 nm bis zu mehreren µm betragen. Die Vesikel können sowohl aus einer einzigen Doppelschichtmembran als auch aus mehreren konzentrischen Doppelschichten bestehen. Liposomen werden nach Größe und Aufbau klassifiziert:[345,346]

a) Multilamellare Vesikel (multilamellar vesicles, MLV): Typischerweise eine sehr inhomogene Population von Liposomen des Durchmessers 100 nm bis > 1 µm, wobei jede Vesikel aus etwa fünf oder mehr konzentrischen Lamellen besteht (Abbildung 11). Vesikel mit nur wenigen Lamellen werden als oligo- oder paucilamellare Vesikel bezeichnet. Das eingeschlossene wäßrige Volumen beträgt etwa 1 bis 4 l/mol Lipid. MLV bilden die thermodynamisch stabilste Zustandsform des Systems Phospholipid/Wasser.
b) Kleine unilamellare Vesikel (small unilamellar vesicles, SUV): Relativ homogene Population von Vesikeln am unteren Größenlimit, d.h. im Durchmesser von etwa 25 nm. SUV zeichnen sich durch ein geringes wäßriges Einschlußvolumen von 0.2 bis 1.5 l/mol Lipid aus.
c) Große unilamellare Vesikel (large unilamellar vesicles, LUV): Durchmesser um 1 µm. Charakteristisch für LUV ist deren großes Einschlußvolumen von 8 bis 20 l/mol Lipid.

Durch etablierte Herstellungs- oder Umwandlungsverfahren lassen sich die verschiedenen Liposomentypen gezielt erzeugen.

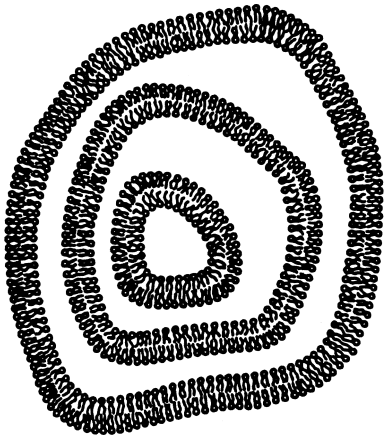


Abbildung 11. Vereinfachte Darstellung einer multilamellaren Vesikel (MLV) (reproduziert aus Lit.[347]).

5.2.2 Grundsätze des Designs von Liposomen

Phospholipide mit einem großen Anteil ungesättigter Fettsäurereste führen zu fluiden Membranen. Derartig aufgebaute Liposomen, deren Sterolgehalt zudem gering ist oder die kein Sterol enthalten, neigen zu einer schnellen Freisetzung des Inhaltes. Im Unterschied dazu halten sterolreiche Liposomen, die hauptsächlich aus gesättigten Lipiden konstruiert sind, ihren Inhalt länger zurück.[348] Die Phasenübergangstemperatur der Membran kann durch geeignete Wahl der Lipidzusammensetzung einer gewünschten Freisetzungstemperatur angepaßt werden.

Zur Stabilisierung von Liposomen gegen Oxidation der Lipide können Antioxidantien zugesetzt werden. Am gebräuchlichsten ist hierfür α-Tocopherol.[345]

5.2.3 Herstellung von Liposomen mit inkorporierten Verbindungen

Das einfachste Konzept zur Liposomenpräparation ist die mechanische Dispersion geeigneter Lipide in einem wäßrigen Medium. Im folgenden wird mit der Filmmethode[345,349] ein für den Labormaßstab geeignetes, leicht durchzuführendes Verfahren umrissen, welches zu einer sehr inhomogenen (Durchmesser etwa 0.4 bis 3.5 μm) Population von multilamellaren Vesikeln (MLV, Abbildung 11) führt.

Aus einer organischen Lösung der Lipide zusammen mit lipophilen zu inkorporierenden Substanzen wird am Rotationsverdampfer in einem geeigneten Kolben ein dünner, an der Glas-

wand haftender Film erzeugt. Der Film wird anschließend in dem gewünschten wäßrigen Medium unter Bildung von Liposomen suspendiert. Der Zusatz von Glaskügelchen kann besonders bei dicken Lipidfilmen hilfreich sein. In das Innere der Liposomen einzuschließende wasserlösliche Substanzen werden vor der Herstellung der Suspension in der wäßrigen Phase gelöst. Da nur ein kleiner Teil dieser Phase von den Liposomen umschlossen wird, ist die Einschlußrate naturgemäß gering. Für der organischen Lösung zugesetzte lipidlösliche Substanzen kann dagegen eine nahezu quantitative Einschlußrate erzielt werden. Die Temperatur muß während der Liposomenherstellung die Phasenübergangstemperatur T_m der Membranlipide überschreiten.[346] In der Regel ist darauf lediglich bei Verwendung von Phospholipiden mit in hohem Maße gesättigten Fettsäureresten zu achten, deren Phasenübergangstemperatur über Raumtemperatur liegt. Typische Konzentrationen von Liposomensuspensionen liegen in der Größenordnung von 1 % (w/v) Lipid in Wasser. Höhere Konzentrationen (z.T. bis zu 30 % (w/v))[345] sind aber grundsätzlich realisierbar.

Um die Größe der so gebildeten Liposomen zu reduzieren, kann die Suspension mit Ultraschall (etwa 20 kHz[346]) behandelt werden. Eine mildere Methode zur Homogenisierung von Liposomenpräparationen bietet die nach einem ihrer Erfinder benannte „French Press“, mittels derer die Suspension unter hohem Druck (1,5 bis 3 kbar) durch ein Ventil gepreßt wird.[345,349] Das eleganteste Verfahren zur Homogenisierung ist die Membranextrusion, wobei die Suspension unter mäßigem Druck (< 7 bar) eine Polycarbonatmembran definierter Porengröße passiert, welche die Obergrenze des Liposomendurchmessers definiert.[345,349] Die Reinigung der Liposomen von nicht eingeschlossenem Material kann auf der Basis der Größenausschlußchromatographie oder mittels Dialyse erfolgen.

Es ist nicht möglich, Liposomen durch Exposition an hohe Temperaturen zu sterilisieren. Kleinere Liposomen können durch Membranfiltration von Keimen befreit werden. Größere Liposomen müssen unter sterilen Bedingungen hergestellt werden. Dazu werden die organische Lipidlösung und die wäßrige Phase getrennt durch geeignete Membranfilter filtriert und anschließend steril weiterverarbeitet.[345] Auch eine Sterilisation mit γ-Strahlung in nicht zu hoher Dosis ist möglich.[346]

5.2.4 Wechselwirkungen zwischen Liposomen und Zellen

Die Freisetzung von in Liposomen eingeschlossenen Verbindungen in eine Zelle kann nach verschiedenen Mechanismen erfolgen. Die beiden wichtigsten Prinzipien sind hierbei Fusion,

d.h. Verschmelzen der liposomalen Lipidschicht mit der Zellmembran, und Endocytose, d.h. Aufnahme der Liposomenvesikel in das Innere der Zelle durch Membraneinstülpung und anschließende Zerstörung der Lipiddoppelschicht durch lysosomale Phospholipasen.[345,346,349]

5.2.5 Eigene Arbeiten mit Liposomen

Wie bei den Cyclodextrinen muß ein hoher Gewichtsanteil an Hilfssubstanz eingesetzt werden. Liposomen lassen sich in der wäßrigen Phase nicht in dem Maße anreichern wie beispielsweise der Komplex von 2-Hydroxypropyl-β-cyclodextrin mit 4-Hydroxybenzoesäure (vgl. 5.1.3). Setzt man Biosynthesevorläufer bei der Verfütterung von Liposomensuspensionen an Pilze in Mengen von 10 mg pro Fruchtkörper ein, so ergeben sich zwangsläufig Volumina, die nicht mittels einer Spritze an einen Fruchtkörper appliziert werden können. Das Aufnahmevermögen eines Fruchtkörpers reicht hierfür nicht aus. Um die erforderliche Flüssigkeitsmenge auf 1 ml zu begrenzen, wurden die Biosynthesevorläufer mit 1:10 (w/w) im Verhältnis zum Gesamtlipid relativ hoch konzentriert und die Lipide mit 1:10 (w/v) wiederum in relativ hoher Konzentration in wäßriger Glucoselösung suspendiert.

Zur Applikation wird in einen Fruchtkörper senkrecht von oben ein etwa 2 mm weites Loch bis tief in den Stiel gebohrt und anschließend eine am Konus gekappte Pasteur-Glaspipette aufgesetzt, in welche dann die Liposomensuspension eingefüllt wird (Abbildung 12). Die Fruchtkörper nehmen die Suspension innerhalb etwa eines Tages auf. Verkürzt man die Pipette nicht, sondern steckt sie tief in das vorgebohrte Loch ein, so wird die Absorption der Suspension aufgrund der geringeren zur Verfügung stehenden Oberfläche erheblich behindert.

Im Rahmen der eigenen Arbeiten wurden die Verbindungen **1*-7*** in Liposomen eingeschlossen und an Pilzfruchtkörper appliziert. Die Verfütterungsexperimente und ihre Ergebnisse sind in den Kapiteln 6 und 7 beschrieben. Die Liposomen wurden nach der Filmmethode präpariert. Als Phospholipid diente Ei-Phosphatidylcholin, als Antioxidans wurde DL-α-Tocopherol zugesetzt. Als wäßrige Phase diente in allen Fällen 5 % (w/v) Glucoselösung, in welcher die Lipidmischung suspendiert wurde. Die so erhaltenen multilamellaren Liposomen wurden zum Teil nicht nachbehandelt, sondern direkt an Pilzfruchtkörper verfüttert. Zum Teil (jeweils angegeben) wurden die multilamellaren Liposomen durch Extrusion auf eine durchschnittliche Größe von 400 nm gebracht. In diesen Fällen wurde die Größenverteilung anschließend mittels Photonenkorrelationsspektroskopie überprüft.

Abbildung 12. Verfütterung einer Liposomensuspension an einen Fruchtkörper des Rostroten Lärchenröhrlings *Suillus tridentinus*.

Sämtliche auf diese Weise gefütterten Fruchtkörper von *Suillus tridentinus* und *S. bovinus*, selbst sehr junge Exemplare mit Hutdurchmessern um 2 cm, zeigten völlig ungestörtes Wachstum und keinerlei Auffälligkeiten oder Nekrosen.

6 Zur Biosynthese des Tridentochinons (102) im Rostroten Lärchenröhrling *Suillus tridentinus* (Bres.) Sing.

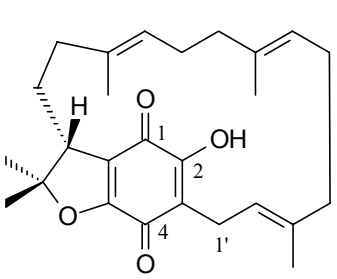
6.1 Verbreitung und Habitus des Pilzes[350,351]

Nicht sonderlich häufig erscheint *Suillus tridentinus* von Juli bis Oktober als Lärchenbegleiter auf kalkhaltigen Böden. Der ockerbräunliche bis orangerötliche Hut mißt bis zu 10 cm im Durchmesser, das zitronengelbe Fleisch verfärbt sich im Schnitt rötlich bis bräunlich. Die Mündungen der Röhren sind bei jungen Exemplaren kräftig orange, bei älteren Pilzen bräunlich gefärbt.

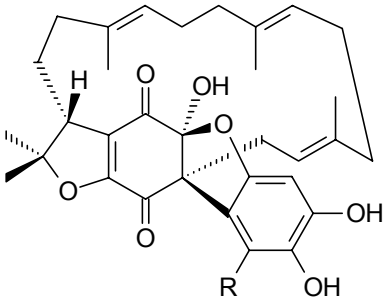
Abbildung 13. Fruchtkörper des Rostroten Lärchenröhrlings *Suillus tridentinus* (Bres.) Sing.[352]

6.2 Bisher bekannte Inhaltsstoffe

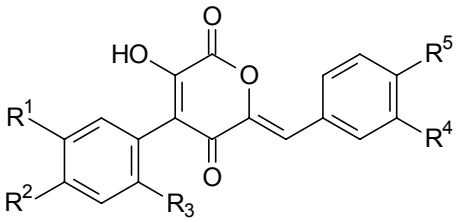
Tridentochinon (**102**), der Hauptfarbstoff des Rostroten Lärchenröhrlings, wurde erstmals von Besl[353] isoliert. Die endgültige Strukturaufklärung gelang Pasupathy,[354,355] die absolute Konfiguration wurde von Beyer[4] durch Kristallisation des Camphansäurederivates zu (*R*) bestimmt. Tridentochinon kann mit einem geranylgeranylierten Baustein unter Ausbildung des komplexen Farbstoffes Tridentorubin (**103**) kondensieren.[5,356]



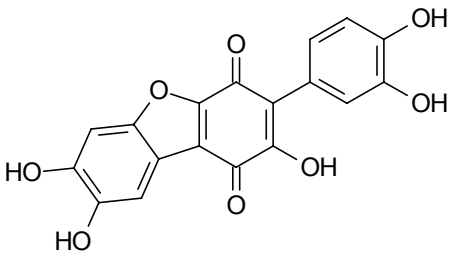
Tridentochinon (**102**)



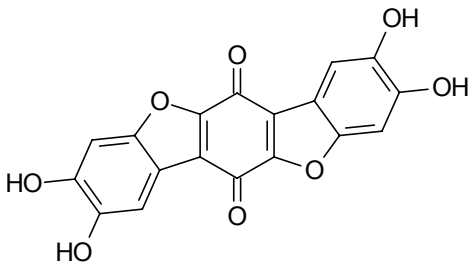
Tridentorubin (**103**) (R = Geranylgeranyl)



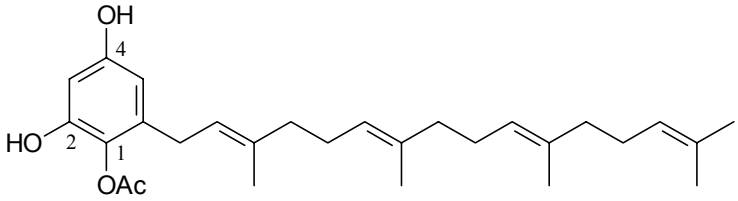
R_1	R_2	R_3	R_4	R_5	
H	OH	H	H	OH	Grevillin A (**104**)
H	OH	H	OH	OH	Grevillin B (**105**)
OH	OH	H	OH	OH	Grevillin C (**106**)
OH	H	OH	OH	OH	Grevillin D (**107**)



Cyclovariegatin (**108**)



Thelephorsäure (**109**)



Bolegrevilol (**110**)

S. tridentinus enthält die für Pilze der Gattung *Suillus* charakteristischen Grevilline A (**104**), B (**105**) und C (**106**),[357] nicht aber Grevillin D (**107**).[40] Das Terphenylchinon Cyclovariegatin (**108**)[359] und die daraus durch oxidative Cyclisierung hervorgehende Thelephorsäure (**109**)[34] können nachgewiesen werden, während der Rostrote Lärchenröhrling keine Pulvinsäurederivate produziert.[358],[41]

Wie beispielsweise *S. granulatus*[361] und *S. grevillei*[362] enthält auch *S. tridentinus*[4] Bolegrevilol (**110**).

[40] Grevillin D (**107**) entsteht biosynthetisch aus Grevillin B (**105**) über eine Umlagerung.[34] Pilzen, die zu dieser Umlagerung fähig sind, schreibt man einen höheren evolutionären Entwicklungsstand zu.[358]

[41] *S. tridentinus* produziert Pulvinsäurederivate in Mycelkultur.[360]

Mittels GC/MS-Untersuchungen des mit Diazomethan behandelten Pilz-Rohextraktes zeigte Beyer[4] das Vorkommen von 4-Hydroxy- (**92**) und 3,4-Dihydroxybenzoesäure (**112**).

6.2.1 Isolierung und Reinigung von Tridentochinon (102)

Nach Extraktion der Fruchtkörper mit Essigsäureethylester wird eine erste Vorreinigung durch Chromatographie an acetyliertem Polyamid erzielt. Dabei wird Tridentochinon (**102**) zusammen mit weiteren lipophilen Stoffen von Bolegrevilol (**110**) und von polaren Verbindungen abgetrennt. Tridentochinon wird anschließend mittels High-Speed Countercurrent-Chromatographie ausgesprochen effizient von den lipophilen Begleitern befreit. Die Reinigung des Bolegrevilols gelingt über Größenausschlußchromatographie an Sephadex LH-20 und nachfolgende HPL-Chromatographie.

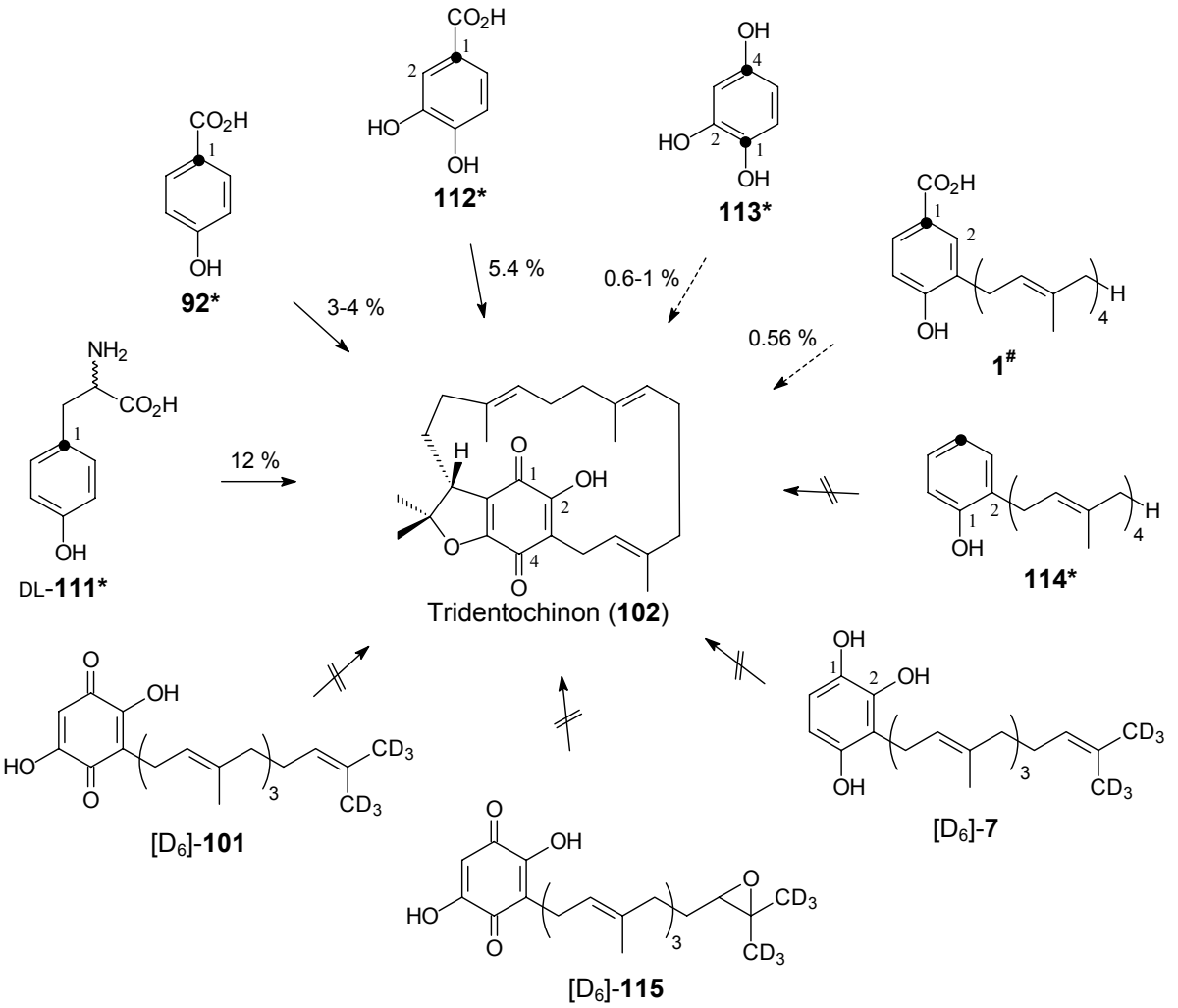
6.3 Bisher durchgeführte Verfütterungsexperimente

Die Studien haben die Aufklärung der Biosynthese des Tridentochinons (**102**) zum Ziel. Im folgenden werden die Ergebnisse bisher durchgeführter Verfütterungsexperimente zusammengefaßt (vgl. Schema 44).

Während Verfütterungen von DL-[*ring*-1-^{13}C]Tyrosin (DL-**111***) an Fruchtkörper wahrscheinlich aufgrund von Löslichkeitsproblemen negativ verliefen, ergab die Verfütterung an Submerskulturen in Verbindung mit einer langen Inkubationszeit eine Einbaurate in Tridentochinon (**102**) in Höhe von 12 %. Angereichert war dabei C-1 des Tridentochinons.[5]

4-Hydroxy[1-^{13}C]benzoesäure (**92***) wird von Fruchtkörpern[5],[42] und Submerskulturen[4] des Rostroten Lärchenröhrlings mit Einbauraten zwischen 3 und 4 % zuverlässig in Tridentochinon (**102**) inkorporiert. Angereichert wird C-1 des Tridentochinons. Das nach der Verfütterung von **92*** isolierte Bolegrevilol (**110**) zeigt eine Isotopenanreicherung an C-4, die Einbaurate beträgt 5.6 %.[5]

[42] Lang-Fugmann[3] hatte 4-Hydroxy[1-^{13}C]benzoesäure auch in Form des besser wasserlöslichen Ammonium- oder Lysinsalzes appliziert. Zur Verfütterung von 4-Hydroxy[1-^{13}C]benzoesäure als wasserlöslicher Cyclodextrinkomplex vgl. Kap. 5.1.4.



Schema 44. Von Lang-Fugmann,[3] Beyer[4] und Mühlbauer[5] bisher an *Suillus tridentinus* durchgeführte Verfütterungsexperimente. Bei positiv verlaufenden Experimenten ist die Einbaurate angegeben. Bei gestrichelten Pfeilen befindet sich die Einbaurate nahe an der unteren Nachweisgrenze.

Einen Einbau in Tridentochinon (**102**) in Höhe von 5.4 % beobachtet man bei der Verfütterung von 3,4-Dihydroxy[1-^{13}C]benzoesäure (**112***) an Fruchtkörper des Rostroten Lärchenröhrlings.[5] Das Kulturexperiment verläuft ebenfalls positiv.[4] Angereichert wird C-1 des Tridentochinons.

Eine Einbaurate von 0.6 bis 1 % in **102** wird bei Applikation von [1,4-$^{13}C_2$]Benzol-1,2,4-triol (**113***) erhalten, wobei eine Anreicherung von C-1 und C-4 des isolierten Tridentochinons (**102**) erhalten wird.[43]

[43] Dabei ist zu beachten, daß aufgrund der Synthesestrategie C-1 und C-4 des Benzol-1,2,4-triols (**113***) gleichverteilt zu je 50 % ^{13}C-angereichert waren.[3]

Die Verfütterung von in Aceton bzw. Dimethylsulfoxid gelöster 3-Geranylgeranyl-4-hydroxy-[1-^{13}C]benzoesäure (**1**$^{\#}$) in Mengen von 50 mg / Fruchtkörper ergab eine Einbaurate von 0.56 %.[3]

Verfütterungsexperimente mit 2-Geranylgeranyl[4-^{13}C]phenol (**114***), gelöst in DMSO, in Konzentrationen um 100 mg pro Fruchtkörper verliefen negativ.[4]

Der mittels ^{2}H-NMR-Spektroskopie detektierte positive Einbau des kettenendständig hexadeuterierten 3-Geranylgeranyl-benzol-1,2,4-triols ([D_6]-**7**), eines Suillin-Äquivalentes, in Tridentochinon (**102**) konnte massenspektrometrisch nicht bestätigt werden und bleibt deshalb mit Unsicherheit behaftet. Dasselbe Bild, nur mit niedrigerer ^{2}H-Einbaurate, bot sich bei Verfütterung von Hexadeuterobovichinon-4 ([D_6]-**101**) und dessen 14',15'-Oxid [D_6]-**115**.[3],44,45

6.4 Kurze Diskussion der bisherigen Ergebnisse und Planung der eigenen Verfütterungsexperimente

Aus der Inkorporation der Schlüsselverbindung 4-Hydroxy[1-^{13}C]benzoesäure (**92***) in Tridentochinon (**102**) leitet sich ab, daß der Benzochinonring des Tridentochinons (**102**) über den Shikimisäureweg und nicht über den Polyketid-Weg entsteht. Das Ergebnis der Tyrosinverfütterung (DL-**111***) zeigt, daß 4-Hydroxybenzoesäure (**92**) in *S. tridentinus* aus Chorisminsäure über L-Tyrosin (L-**111**) gebildet wird.[46]

Nach Verfütterungen von DL-[*ring*-1-^{13}C]Tyrosin (DL-**111***), 4-Hydroxy[1-^{13}C]benzoesäure (**92***) und 3,4-Dihydroxy[1-^{13}C]benzoesäure (**112***) findet man stets ausschließlich C-1 des Tridentochinons (**102**) isotopenangereichert. Daraus können zwei Schlüsse gezogen werden:

Zum einen wird Geranylgeranylpyrophosphat in *meta*-Stellung zur Carboxylgruppe der 3,4-Dihydroxy- und/oder 4-Hydroxybenzoesäure eingeführt (Schema 45).

Zum anderen kann die zunächst naheliegende Hypothese von Bovichinon-4 (**101**) als Zwischenstufe[47] in der Biosynthese des Tridentochinons (**102**) verworfen werden. Infolge der

---

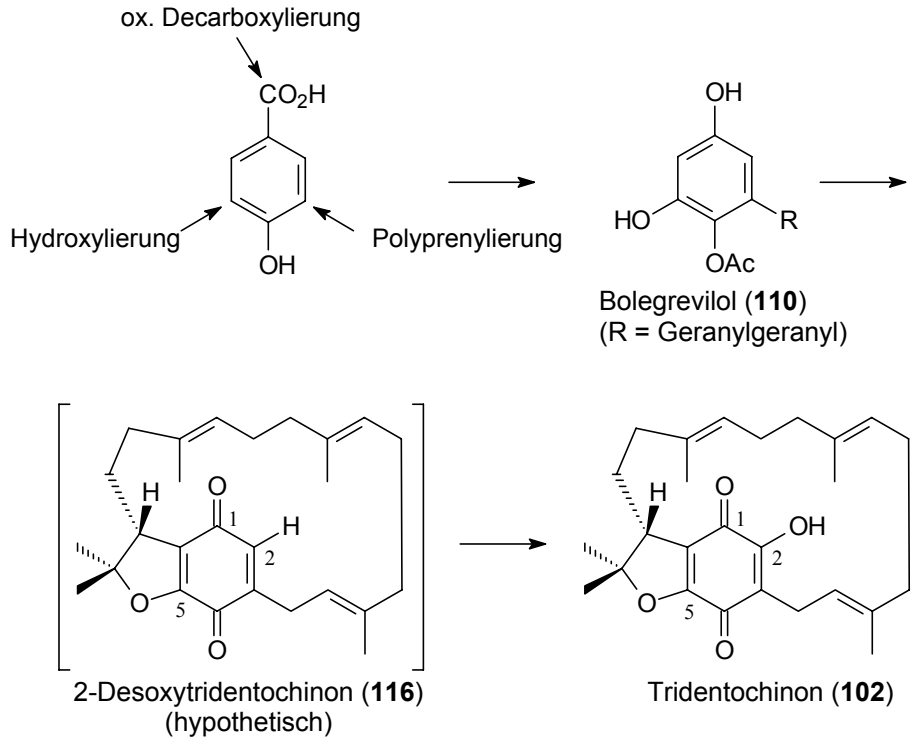
[44] Bovichinon-4 (**101**) ist der Hauptfarbstoff des Kuhröhrlings *S. bovinus* (vgl. 7.2).

[45] Eine quantitative Abschätzung der Einbaurate bei den ^{2}H-Experimenten war nicht möglich. Es wurden aber Aussagen über die relativen Einbauraten der verfütterten hexadeuterierten Verbindungen untereinander getroffen.[3]

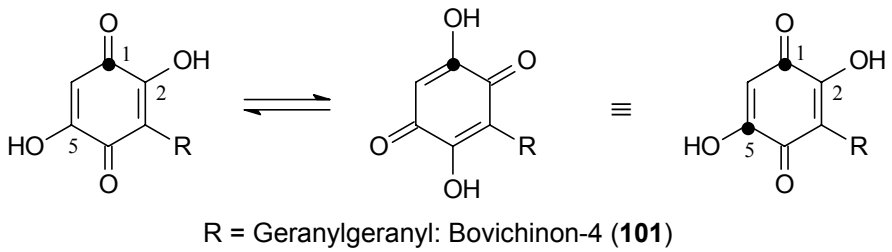
[46] Chorisminsäure kann enzymatisch auch direkt in 4-Hydroxybenzoesäure konvertiert werden. Diese Umwandlung findet teilweise in Mikroorganismen statt.[363]

[47] Vor der erstmaligen Verfütterung ringmarkierter Benzoesäuren an *S. tridentinus* wurde angenommen, daß die Cyclisierung über die intramolekulare nucleophile Öffnung des terminalen Epoxides (**115**) von Bovichinon-4 (**101**) erfolgt. Anschließende Bildung des Dihydrofuranringes würde dann direkt zum Tridentochinon (**102**) führen.[3,33,364]

Dihydroxybenzochinon-Tautomerie (Schema 46) wäre in diesem Falle nach Verfütterung von **92***, **112*** und DL-**111*** eine Gleichverteilung der Isotopenmarkierung auf C-1 und C-5 im Tridentochinon (**102**) zu erwarten. Grundsätzlich ist wegen des Ausbleibens dieser Gleichverteilung jede C_2-symmetrische Biosynthesevorstufe des Tridentochinons (**102**) auszuschließen. Die Einführung der 2-Hydroxygruppe des Tridentochinons darf somit erst *nach* der Makrocyclisierung zu einem Ansachinon stattfinden. Bereits seit langem[3] wird deshalb 2-Desoxytridentochinon (**116**) als unmittelbare Vorstufe des Tridentochinons postuliert (Schema 45). Versuche, **116** im Pilz nachzuweisen oder durch Desoxygenierung von Tridentochinon (**102**) synthetisch herzustellen, waren bisher gescheitert.



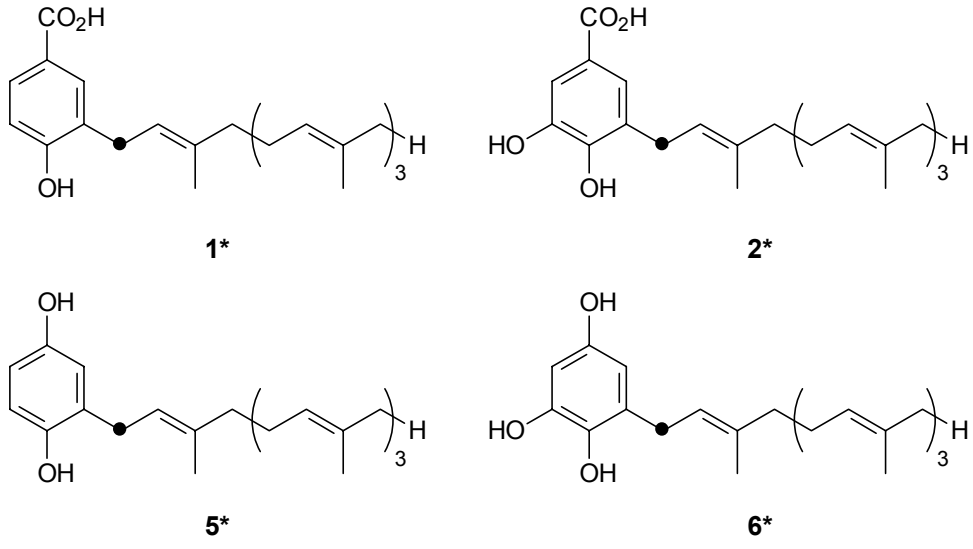
Schema 45. Postulierte Biosynthese des Tridentochinons (**102**) in *S. tridentinus*.



Schema 46. Tautomeriebedingte 1:1-Verteilung einer Isotopenmarkierung in Dihydroxybenzochinonen wie z.B. Bovichinon-4.

3,4-Dihydroxybenzoesäure (**112**) wird tendenziell mit einer höheren Rate inkorporiert als das monohydroxylierte Derivat **92**. Daraus läßt sich die Hypothese aufstellen, daß die Prenylierung auf der Dihydroxystufe nicht etwa einen Nebenweg der Biosynthese darstellt, sondern daß möglicherweise hauptsächlich oder ausschließlich Prenylierung der Dihydroxybenzoesäure stattfindet. An einer Bestätigung dieser Annahme besteht Interesse, da in der Natur die Prenylierung der 4-Hydroxybenzoesäure, teilweise mit nachfolgender Hydroxylierung wie bei der Biosynthese der Ubichinone,[365-367] weitaus stärker verbreitet ist als die Prenylierung von 3,4-dihydroxylierten Benzoesäuren. Über letztere gibt es nur wenige Berichte. So können etwa im Zuge der Ubichinon-Biosynthese in Rattenherz und -leber neben der 4-Hydroxybenzoesäure auch 3,4-Dihydroxybenzoesäure und Vanillinsäure polyprenyliert werden. Die Prenylierung von 4-Hydroxybenzoesäure läuft hierbei aber gegenüber der Prenylierung der 3,4-dihydroxylierten Derivate bevorzugt ab.[368]

Für die Einführung der C-1-Hydroxygruppe im Laufe der Biosynthese des Tridentochinons (**102**) wird die oxidative Decarboxylierung eines geeigneten Benzoesäurederivates postuliert (Schema 45). Eine ganz ähnliche Beobachtung wird beim Großen Gelbfuß *Gomphidius glutinosus* gemacht: dessen Inhaltsstoff Benzol-1,2,4-triol (**113**)[369] entsteht biosynthetisch aus 3,4-Dihydroxybenzoesäure (**112**).[5]



Faßt man die geschilderten Überlegungen zusammen, so sind im Laufe der Biosynthese des Tridentochinons (**102**) maximal vier geranylgeranylierte Zwischenstufen denkbar. Es handelt sich dabei um 3-(*E*,*E*,*E*)-Geranylgeranyl-4-hydroxybenzoesäure (**1**) und 3-(*E*,*E*,*E*)-Geranylgeranyl-4,5-dihydroxybenzoesäure (**2**) sowie deren oxidative Decarboxylierungsprodukte (*E*,*E*,*E*)-Geranylgeranylhydrochinon (**5**) und 6-(*E*,*E*,*E*)-Geranylgeranylbenzol-1,2,4-triol (**6**).

Um Aussagen darüber treffen zu können, auf welcher Stufe der Biosynthese der Geranylgeranylrest eingeführt wird, wurden diese potentiellen Intermediate im Rahmen der vorliegenden Arbeit in ^{13}C-isotopenmarkierter Form synthetisiert und an Fruchtkörper von *S. tridentinus* verfüttert. Über die Synthesearbeiten wurde bereits in Kap. 3 ausführlich berichtet. Aus den Ergebnissen der Experimente sollten Informationen über die im Pilz tatsächlich polyprenylierte Spezies gewonnen werden.

6.5 Verfütterung prenylierter Verbindungen in Form von etherischen Lösungen

Nach gängiger Praxis werden wasserunlösliche Verbindungen in einem organischen Lösungsmittel gelöst appliziert. Diethylether wurde zur Verfütterung der geranylgeranylierten Arene als geeignetes Lösungsmittel betrachtet. Dieses Lösungsmittel verdampft nach der Applikation rasch. In Blindversuchen wurde in mehrere Exemplare des Rostroten Lärchenröhrlings lediglich Diethylether eingespritzt. Diese zeigten nach einigen Tagen keinerlei Auffälligkeiten und waren normal gewachsen.

6.5.1 3-(*E*,*E*,*E*)-[1'-^{13}C]Geranylgeranyl-4,5-dihydroxybenzoesäure (2*)

Eine Lösung von 3-(*E*,*E*,*E*)-[1'-^{13}C]Geranylgeranyl-4,5-dihydroxybenzoesäure (**2***) in Diethylether wurde an neun Fruchtkörper des Rostroten Lärchenröhrlings verfüttert. Pro Fruchtkörper wurden dabei 20 bis 40 mg Substanz eingesetzt. Die Pilze wurden nach vier Tagen in sehr gutem Zustand geerntet. Die Durchmesser der Hüte hatten von anfänglich 3 bis 5 cm auf 4.5 bis 9 cm zugenommen. Eine signifikante Isotopenanreicherung des aus den gefütterten Exemplaren isolierten Tridentochinons (**102**) war nicht feststellbar.

6.5.2 6-(*E*,*E*,*E*)-[1'-^{13}C]Geranylgeranylbenzol-1,2,4-triol (6*)

An zwei Fruchtkörper des *Suillus tridentinus* wurde eine Lösung von jeweils 20 mg 6-(*E*,*E*,*E*)-[1'-^{13}C]Geranylgeranylbenzol-1,2,4-triol (**6***) in Diethylether verfüttert. Die Pilze wurden nach sieben Tagen Wachstumszeit geerntet. Darüberhinaus wurde eine Lösung der dreifach acetylierten Verbindung (**9***) in Diethylether an drei Fruchtkörper des Lärchenröhr-

lings verfüttert. Die Ernte erfolgte nach vier Tagen. Ein Einbau des prenylierten Aromaten war in beiden Fällen nicht nachweisbar.

6.6 Verfütterung prenylierter Verbindungen in Form von Liposomensuspensionen

Die Verfütterung der prenylierten Arene im organischen Lösungsmittel hatte nicht zum Einbau in den Sekundärmetaboliten geführt. Möglicherweise sind Probleme beim Transport dieser unpolaren Verbindungen in Zusammenang mit der äußerst geringen Löslichkeit im wäßrigen Milieu die Ursache. Aus diesem Grunde sollten die geranylgeranylierten potentiellen Biosynthesezwischenstufen in Form von in Wasser solubilisierbaren Cyclodextrinkomplexen oder Liposomen verfüttert werden. Durch diese Techniken wurden verbesserte Transporteigenschaften der Verbindungen im Zellverband erhofft. Die dazu erforderlichen Überlegungen und Arbeiten sind gesondert in Kap. 5 beschrieben. Im folgenden werden die Verfütterungen und deren Ergebnisse geschildert.

6.6.1 3-(*E*,*E*,*E*)-[1'-^{13}C]Geranylgeranyl-4-hydroxybenzoesäure (1*)

Jeweils 10 mg 3-(*E*,*E*,*E*)-[1'-^{13}C]Geranylgeranyl-4-hydroxybenzoesäure (**1***) wurden als wäßrige Liposomensuspension an drei Fruchtkörper des Rostroten Lärchenröhrlings verfüttert. Nach einer Wachstumszeit von fünf Tagen hatten die Durchmesser der Pilzhüte von 2, 4.3 und 7.5 cm auf 4.5, 6 und 10 cm zugenommen. Die Pilze enthielten insgesamt 54 mg Tridentochinon. Eine Isotopenanreicherung war nicht nachweisbar, somit konnte die in einem früheren Experiment erzielte Einbaurate von 0.56 % (vgl. 6.3) nicht reproduziert werden.

6.6.2 (*E*,*E*,*E*)-[1'-^{13}C]Geranylgeranylhydrochinon (5*)

Jeweils 10 mg (*E*,*E*,*E*)-[1'-^{13}C]Geranylgeranylhydrochinon (**5***) wurden in Form einer wäßrigen Liposomensuspension an zwei junge Exemplare des Rostroten Lärchenröhrlings verfüttert. Innerhalb von sieben Tagen hatten die Hutdurchmesser von 2.5 und 3 cm auf 8 und 9.5 cm zugenommen. Die beiden Fruchtkörper enthielten 125 mg Tridentochinon ohne nachweisbare Isotopenanreicherung.

6.6.3 3-(*E*,*E*,*E*)-[1'-^{13}C]Geranylgeranyl-4,5-dihydroxybenzoesäure (2*)

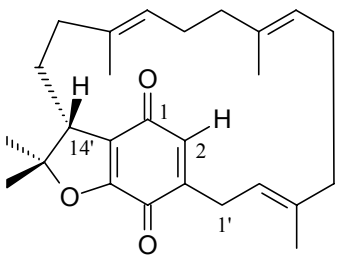
Eine wäßrige Liposomensuspension mit jeweils 10 mg 3-(*E*,*E*,*E*)-[1'-^{13}C]Geranylgeranyl-4,5-dihydroxybenzoesäure (**2***) wurde an drei Exemplare von *S. tridentinus* verfüttert. Nach vier Tagen waren die Hüte von 2.5 bis 6.5 auf 7 bis 9.5 cm im Durchmesser gewachsen. Der Gesamtgehalt an Tridentochinon betrug 100 mg. Das Experiment wurde mit drei Fruchtkörpern wiederholt. Bei keiner der Verfütterungen war eine Isotopenanreicherung nachweisbar.

6.6.4 6-(*E*,*E*,*E*)-[1'-^{13}C]Geranylgeranylbenzol-1,2,4-triol (6*)

Je 10 mg 6-(*E*,*E*,*E*)-[1'-^{13}C]Geranylgeranylbenzol-1,2,4-triol (**6***) wurden als wäßrige Liposomensuspension an zwei Fruchtkörper verfüttert. Die Durchmesser der Pilzhüte hatten von 5.5 auf 9 und 9.5 cm zugenommen. In beiden Pilzen waren zusammen 56 mg Tridentochinon ohne signifikante Isotopenanreicherung enthalten.

6.7 Isolierung des neuen Naturstoffes 2-Desoxytridentochinon (116) aus Pilzfruchtkörpern

Mit dem erstmaligen Nachweis und der Reinisolierung des seit langem postulierten 2-Desoxytridentochinons (**116**) (vgl. 6.4) aus Fruchtkörpern von *Suillus tridentinus* werden die geschilderten Überlegungen hinsichtlich der Abfolge von Cyclisierung zum Ansachinonsystem **116** und anschließender Einführung der 2-OH-Gruppe zum Tridentochinon (**102**) bestätigt.



2-Desoxytridentochinon (**116**)

Die erstmalige Isolierung des 2-Desoxytridentochinons gelang aus einer Charge von drei Pilzen, welche mit 1,2,4-Triacetoxy-6-[1'-^{13}C]geranylgeranylbenzol (**9***) gefüttert worden waren (vgl. 6.5.2). Bei der HSCC-Chromatographie im Zuge der Reinigung des Tridentochinons fielen einige geringfügig gelbe Fraktionen auf. Die betreffenden Fraktionen waren noch vor Tridentochinon (**102**) eluiert worden, enthielten also Verbindungen mit einer kleineren Polarität als **102**. Die Fraktionen wurden zusammengefaßt und vom Lösungsmittel befreit. Auf dem Dünnschichtchromatogramm zeigte sich nur *ein* gelber Fleck, der sich unter dem Einfluß von Ammoniakdämpfen nicht

verfärbte. Im Unterschied dazu verfärben sich Hydroxychinonsysteme wie Tridentochinon (**102**) oder Bovichinon-4 (**101**) bei Einwirkung von Ammoniakdämpfen infolge Deprotonierung blau bis violett.

Das ^{1}H-NMR-Spektrum des zunächst unbekannten gelben Farbstoffes (Abbildung 14) ähnelt stark dem des Tridentochinons und ließ deshalb sehr schnell Rückschlüsse auf die Natur der isolierten Verbindung zu. Man erkennt fünf Singuletts (δ_H 1.25, 1.35, 1.46, 1.55 und 1.64) entsprechend den Methylgruppenprotonen der cyclisierten Geranylgeranylkette, einen Multiplettbereich mit zwölf Methylenprotonen, das typische AB-System der dem Chinonring benachbarten Methyleneinheit 1'-$H_{A,B}$ mit δ_H 2.81 (dd, ^{2}J = 15 Hz, ^{3}J = 7.5 Hz, H_A) und δ_H 3.37 (dd, ^{2}J = 15 Hz, ^{3}J = 7.5 Hz, H_B) und das allylständige Proton 14'-H im Dihydrofuranring (δ_H 3.02, t, ^{3}J = 5.5 Hz). Die Signale der drei Protonen im Olefinbereich (δ_H 4.82, 4.96 und 5.13) sind durch Kopplung zu verbreiterten Tripletts aufgespalten. Zusätzlich ist ein Signal bei δ_H 6.34 zu sehen. Dieses Signal entspricht dem Ring-Wasserstoffatom 2-H des 2-Desoxytridentochinons, es zeigt wegen der Kopplung zu 1'-H_A und 1'-H_B eine etwas unsaubere kleine Pseudo-Quartettaufspaltung ($^{4}J_{HH} \approx 1.1$ Hz).

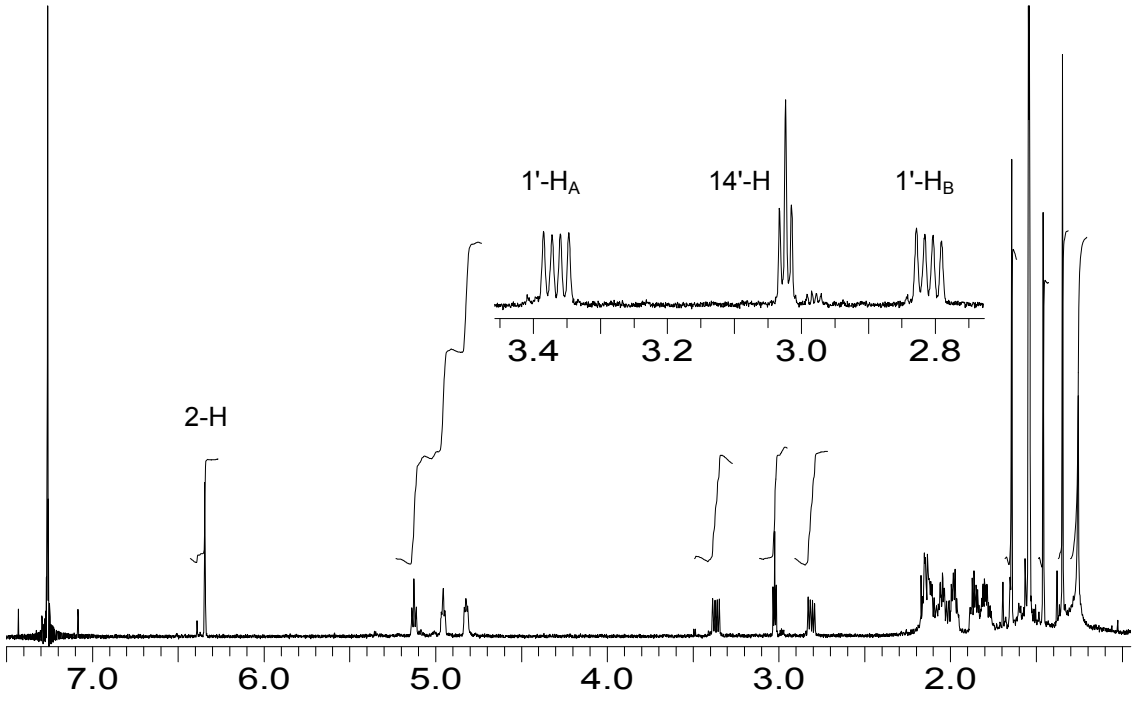


Abbildung 14. ^{1}H-NMR-Spektrum des 2-Desoxytridentochinons (**116**) ($CDCl_3$, 600 MHz). Das Signal δ 1.55 ist vom Wassersignal überlagert.

Trotz der geringen Menge von ca. 1.5 mg konnte ein ^{13}C-NMR-Spektrum (Abbildung 15) erhalten werden. Die Signale der Carbonyl-Kohlenstoffatome (δ_C 180.57, 185.57) sind gegen-

über denen des Tridenochinons (δ_C 179.60 (C-1), 180.39 (C-4)) erwartungsgemäß tieffeldverschoben. Das C-2 zuzuordnende Signal (δ_C 133.99) erfährt im Vergleich zu C-2 des Tridentochinons (δ_C 152.69) einen Hochfeldshift. Die Signale der Geranylgeranylbrücke zeigen verglichen mit Tridentochinon nur geringe Abweichungen. Eine ^{13}C-Isotopenanreicherung ist nicht feststellbar.

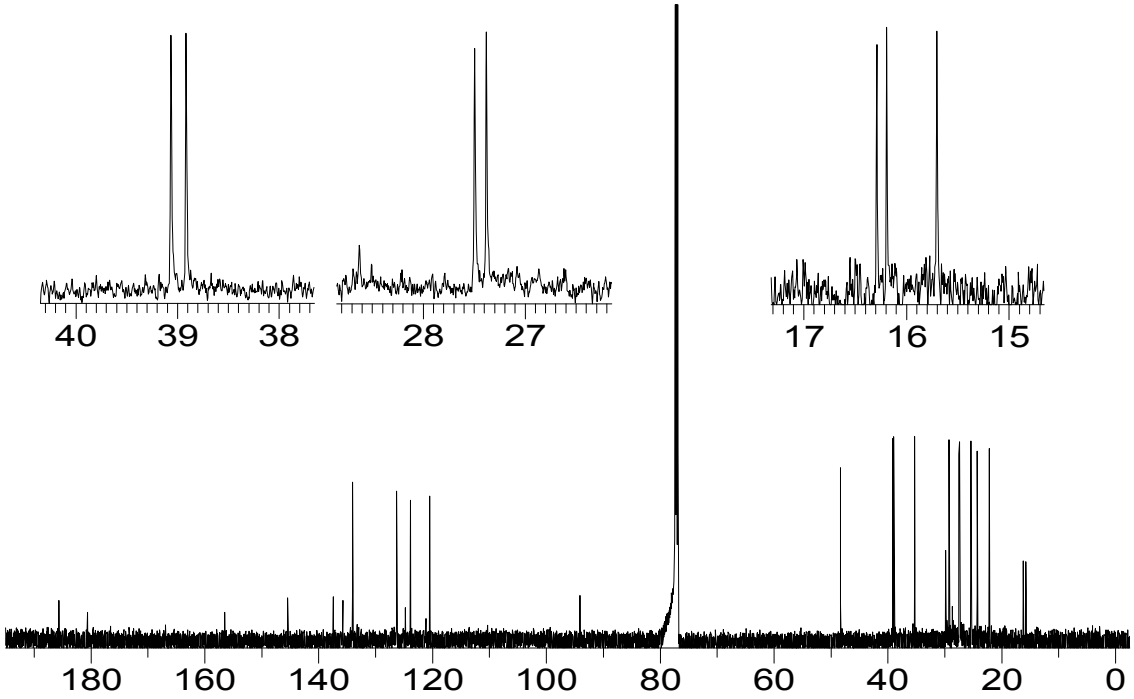


Abbildung 15. ^{13}C-NMR-Spektrum des 2-Desoxytridentochinons (**116**) ($CDCl_3$, 151 MHz, 34600 Pulse).

Den endgültigen Beweis für die Struktur liefert das EI-Massenspektrum. Wie bei Tridentochinon (**102**) stellt $[M]^+$ (*m/z* = 394) den Basispeak dar. Das Massenspektrum des Tridentochinons wurde von Steglich[370] bereits ausführlich diskutiert, was einen Datenvergleich erleichtert. Bruchstücke des Tridentochinons, deren Bestandteil der C-2-Substituent ist, finden sich mit einer um 16 Einheiten reduzierten Masse im Spektrum des 2-Desoxytridentochinons wieder (Tabelle 7). Die übrigen Bruchstücke bleiben naturgemäß unverändert (Tabelle 8).

Unabhängig davon wurde 2-Desoxytridentochinon ein zweites Mal ebenso im Maßstab von ca. 1 mg aus einer zweiten Pilzcharge (9 Fruchtkörper) isoliert. Nach der HSCC-Chromatographie war noch ein weiterer Reinigungsschritt durch Größenausschlußchromatographie an Sephadex LH-20 / Aceton erforderlich. Die Fruchtkörper waren mit 3-[1'-^{13}C]Geranylgeranyl-4,5-dihydroxybenzoesäure gefüttert worden (vgl. 6.5.1). Während die bei der oben be-

schriebenen Isolierung verwendeten Fruchtkörper bei kalter Witterung am Reisberg bei Lippertshofen gereift waren, lag nun der Standort weit entfernt bei Ehrwald in Tirol. Zudem herrschten während der Wachstumsperiode warme Temperaturen.

Zuordnung	**116** *m/z* (%)	**102** *m/z* (%)	Zuordnung	**116** *m/z* (%)	**102** *m/z* (%)
$[M+3]^+$	397 (21)	413 (11)	$[M–C_6H_9]^+$	313 (30)	329 (11)
$[M+2]^+$	396 (83)	412 (41)	$[M–C_9H_{15}]^+$	271 (17)	287 (7)
$[M+1]^+$	395 (31)	411 (27)	$[M–C_{11}H_{17}]^+$	245 (80)	261 (26)
$[M]^+$	394 (100)	410 (100)	$[M–C_6H_9–C_9H_{13}]^+$	192 (54)	208 (27)
$[M–CH_3]^+$	379 (30)	395 (12)	$[M–C_{15}H_{23}]^+$	191 (62)	207 (23)
$[M–CH_3–C_2H_4]^+$	351 (8)	367 (7)			

Tabelle 7. Gegenüberstellung von jeweils um 16 Masseneinheiten differierenden Bruchstück-Paaren aus den EI-Massenspektren (70 eV) des Tridentochinons (**102**) und des 2-Desoxytridentochinons (**116**). Zuordnungen für Tridentochinon nach Steglich.[370]

Zuordnung	*m/z*	% (**116**)	% (**102**)	Zuordnung	*m/z*	% (**116**)	% (**102**)
$[M–C_{15}H_{19}O_{3/4}]^+$	147	14	5	$[C_7H_9]^+$	93	21	6
$[M–C_{15}H_{17}O_{3/4}–C_2H_4]^+$	121	19	11	$[C_7H_7]^+$	91	27	7
$[C_9H_{11}]^+$	119	15	7	$[C_6H_9]^+$	81	36	14
$[C_8H_{11}]^+$	107	16	7	$[C_6H_7]^+$	79	24	9
$[C_8H_9]^+$	105	17	5	$[C_6H_5]^+$	77	19	5
$[C_7H_{11}]^+$	95	15	5				

Tabelle 8. Bruchstücke, die sowohl im EI-Massenspektrum des 2-Desoxytridentochinons (**116**) als auch des Tridentochinons (**102**) gefunden werden. Zuordnungen für Tridentochinon nach Steglich.[370]

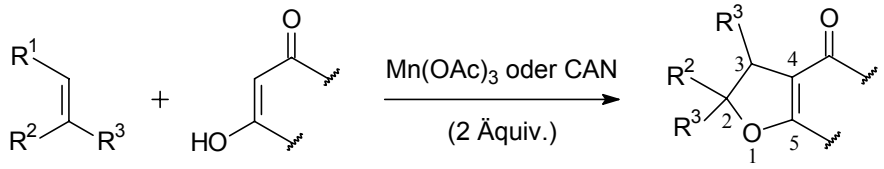
Ein weiterer Nachweis von 2-Desoxytridentochinon (**116**) gelang mittels GC/MS in zwei unabhängigen Chargen von Fruchtkörpern, die mit 4-Hydroxy- (**125**) bzw. 4,5-Dihydroxy-2-methylbenzoesäure (**127**) gefüttert worden waren (vgl. 6.9.4).

Obwohl 2-Desoxytridentochinon bisher – insgesamt vier Male unabhängig – ausschließlich in Fruchtkörpern nachgewiesen wurde, an welche zum Zweck von Biosyntheseuntersuchungen diverse Verbindungen appliziert worden waren, erscheint ein Zusammenhang mit den Applikationen nicht gegeben. Eine ^{13}C-Anreicherung im Desoxytridentochinon war nicht nach-

weisbar. Vielmehr wurden während dieser Arbeiten Aufarbeitungen gefütterter Fruchtkörper wesentlich häufiger durchgeführt als solche unbehandelter Pilze, so daß die Wahrscheinlichkeit, auf Desoxytridentochinon (**116**) zu stoßen, im ersteren Falle größer war.

6.8 Mutmaßlicher Ablauf der Makrocyclisierungsreaktion im Pilz

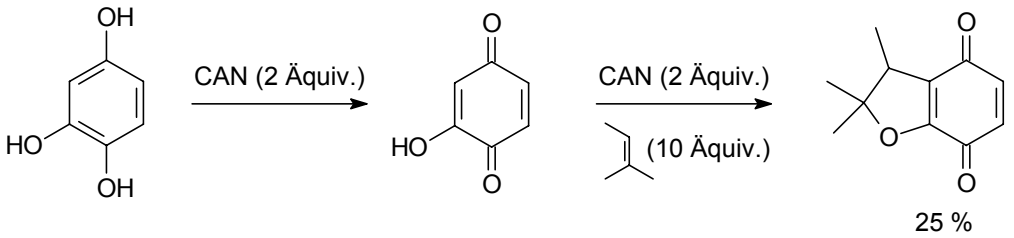
Bei der Umsetzung von Olefinen mit leicht enolisierbaren Ketonen wie 1,3-Diketonen oder β-Ketoestern in Gegenwart von Mangan(III)-acetat werden 2,3-Dihydrofurane erhalten.[371,372] Der Zusatz geringer Mengen Kupfer(II)-acetat kann sich dabei vorteilhaft auf die Ausbeute auswirken.[373]



Schema 47. Oxidative Bildung von 2,3-Dihydrofuranen aus 1,3-Dicarbonylverbindungen und Olefinen. Zur Veranschaulichung der Regioselektivität wurde für die Darstellung ein trisubstituiertes Olefin gewählt.

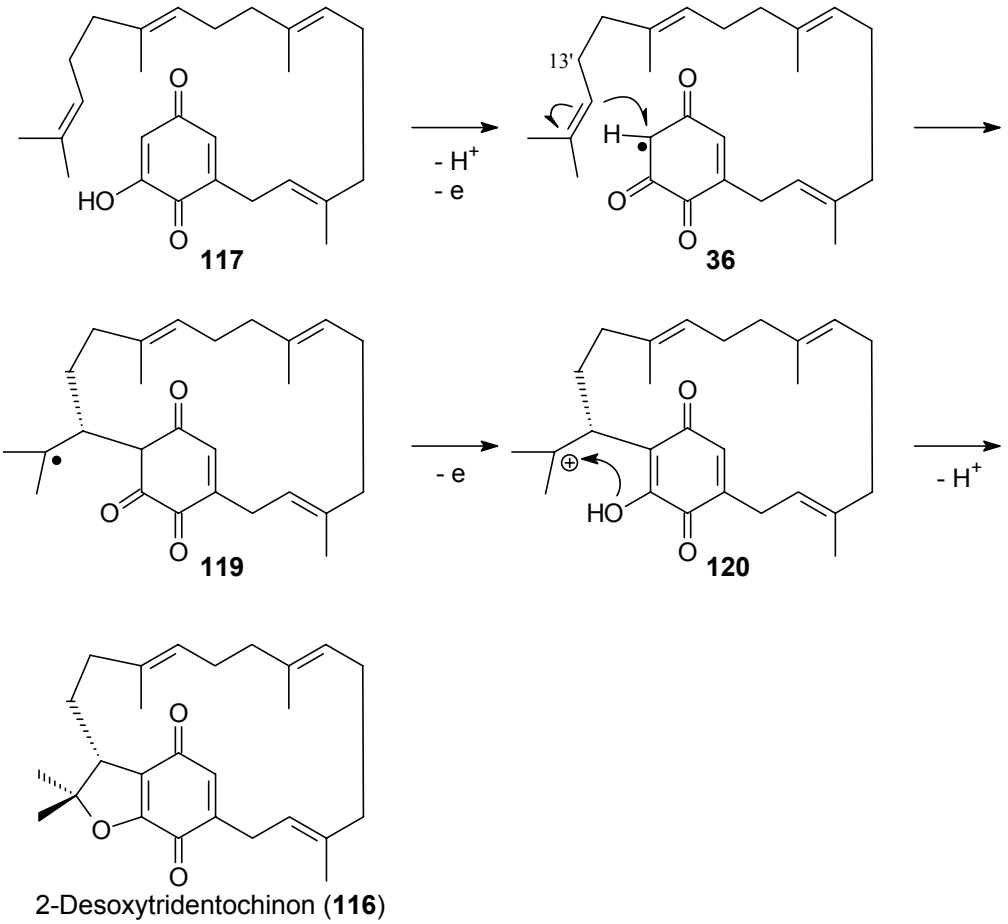
Anstelle der 1,3-Dicarbonylverbindungen können auch die naturgemäß nahezu vollständig enolisierten 2-Hydroxybenzo- und -naphtho-1,4-chinone eingesetzt werden, wobei als Oxidationsmittel neben Mangan(III)-acetat[374] auch Cer(IV)-ammoniumnitrat[375,376] verwendet wird. Verglichen mit Mangan(III)-acetat wird beim Einsatz von CAN über bessere Ergebnisse berichtet.[377] Auch auf enolisierbare heterocyclische 1,3-Dicarbonylverbindungen ist das Prinzip anwendbar.[378]

Radikalstabilisierende Substituenten am Olefin steuern dessen Orientierung stets so, daß diese an C-2 des 2,3-Dihydrofurans zu liegen kommen (Schema 47). Dies gilt sowohl für Styrolderivate[371] bzw. Olefine mit einer konjugierten Doppelbindung[379,380] als auch für einfache trialkyl- oder 1,1-dialkylsubstituierte Doppelbindungssysteme.[371,375] Besonders das in Schema 48 dargestelle Beispiel läßt eine derartige Dihydrofuranbildung auch für den Cyclisierungsschritt im Laufe der Tridentochinon-Biosynthese glaubhaft erscheinen.



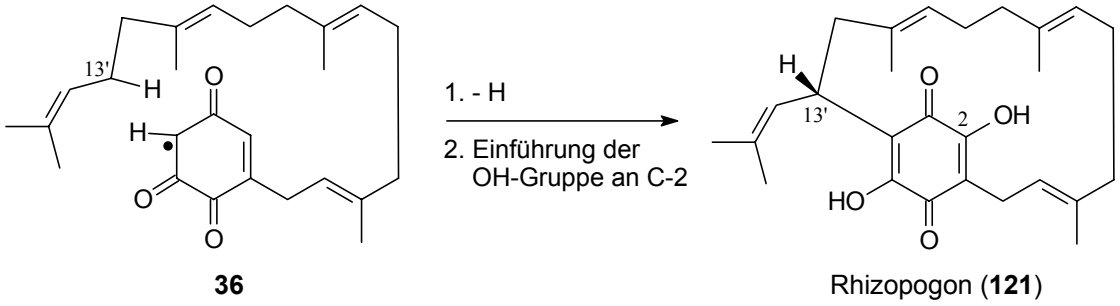
Schema 48. Aus Lit.[375] entnommene Beispielreaktion, welche als Modellsystem für die Cyclisierung zum 2-Desoxytridentochinon (**116**) in *S. tridentinus* betrachtet werden kann.

Über den Ablauf der Mn(III)- und Ce(IV)-vermittelten Dihydrofuranbildungen herrscht Einigkeit.[371,372,375,377,379] Als Hypothese ist dieser Mechanismus in Schema 49 für die Cyclisierung zum 2-Desoxytridentochinon formuliert. Der Abzug eines Elektrons aus dem 1,3-Dicarbonyl- bzw. Hydroxybenzochinonsystem **117** führt zu einem mesomeriestabilisierten Radikal **118**. In der Reaktion mit dem Olefin bildet sich das reaktive Radikal **119**, nach dessen Oxidation zum Carbokationintermediat **120** die Cyclisierung zum Dihydrofuran **116** erfolgen kann.



Schema 49. Postulierter Ablauf der Makrocyclisierung bei der Biosynthese des 2-Desoxytridentochinons (**116**) in *S. tridentinus*.

Der postulierte radikalische Verlauf der Cyclisierung zum Ansachinon könnte auch eine Erklärung für die Entstehung des Rhizopogons (**121**),[33,34,381,382] des Hauptfarbstoffes des seltenen Latschen-Wurzeltrüffels *Rhizopogon pumilionus* (Ade) Bat., liefern. Bei Rhizopogon (**121**) handelt es sich ebenfalls um ein Ansachinon, dessen Ringgröße im Vergleich zu der des 2-Desoxytridentochinons (**116**) bzw. des Tridentochinons (**102**) um ein Kohlenstoffatom verringert ist. Über die H-Abstraktion von 13'-H könnte sich der Makrocyclus des Rhizopogons bilden (Schema 50).



36 Rhizopogon (**121**)

Schema 50. Mögliche Biogenese des Rhizopogons durch H-Abstraktion.

Versuche, 2-Desoxytridentochinon (**116**) durch Umsetzung von 6-Geranylgeranylbenzol-1,2,4-triol (**6**) mit vier Äquivalenten CAN, Mangan(III)-acetat sowie der Kombination von Mangan(III)-acetat und Kupfer(II)-acetat zu erhalten, blieben erfolglos. Um intermolekulare Reaktionen zurückzudrängen, wurde **6** dabei in stark verdünnter Lösung (1 mM) eingesetzt.

Die beschriebene Bildung von Dihydrofuranen aus 2-Hydroxybenzo- bzw. -naphtho-1,4-chinonen und Olefinen kann auch photoinduziert erfolgen.[383,384] Wegen der Abwesenheit eines Oxidationsmittels entstehen dabei zunächst Hydrochinone, welche bei der Aufarbeitung von Luftsauerstoff oxidiert werden.

6.9 Verfütterung von 4-Hydroxy-2-methylbenzoesäure (125) und 4,5-Dihydroxy-2-methylbenzoesäure (127)

Da 2-Desoxytridentochinon (**116**) nur in sehr geringer Menge in Fruchtkörpern von *Suillus tridentinus* enthalten ist, sollte der Pilz künstlich zur Anreicherung einer zu **116** äquivalenten Stufe angeregt werden.

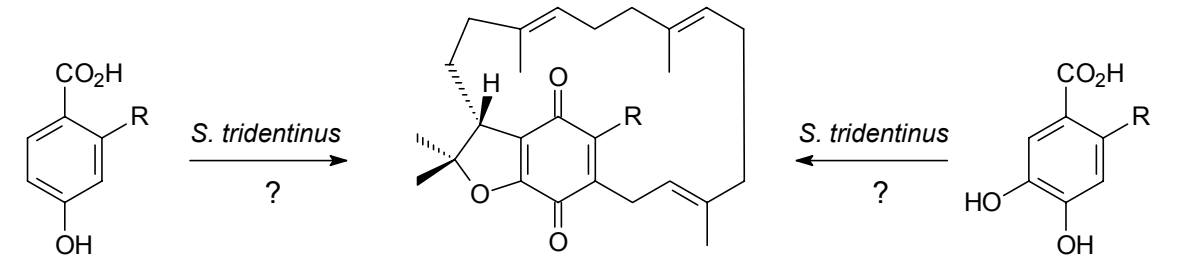
Aus zahlreichen Verfütterungsexperimenten ist bekannt, daß isotopenmarkierte 4-Hydroxybenzoesäure (**92**) und 3,4-Dihydroxybenzoesäure (**112**) zuverlässig von *S. tridentinu*s akzeptiert und mit Einbauraten von 3 bis 5 % in Tridentochinon inkorporiert werden (vgl. 5.1.4 und 6.3). Vor diesem Hintergrund bietet sich die Verfütterung von Hydroxybenzoesäuren an, welche einen zusätzlichen Substituenten tragen, der aufgrund seiner Anwesenheit die abschließende Einführung der Hydroxygruppe nach der Cyclisierung zum Ansachinonsystem blockiert. Erwartet wurde dann ein Ende der Biosynthese auf dieser Stufe und somit die Anreicherung einer größeren Menge eines Desoxytridentochinon-Analogons.

Zunächst erscheint die Verfütterung von 2-Fluor-4-hydroxybenzoesäure (**122**) und 2-Fluor-4,5-dihydroxybenzoesäure (**124**) denkbar. Wegen der großen Elektronegativität des Fluors sind C–F-Bindungen stark polarisiert. Dennoch werden Fluorverbindungen von Organismen oftmals gut metabolisiert, da die sterischen Anforderungen des Fluorsubstituenten etwa denen eines Wasserstoffatoms entsprechen.[2] Fluormarkierte Metabolite können empfindlich mittels GC/MS nachgewiesen werden.[385] Im vorliegenden Fall stellt sich die Situation für einen massenspektrometrischen Nachweis der hypothetischen Fluorverbindung **123** allerdings nicht ideal dar, da wegen der Substitution einer OH-Gruppe durch ein Fluoratom eine Massenverschiebung um lediglich zwei Einheiten gegenüber Tridentochinon (**102**) zu erwarten ist.

Für beide Verbindungen **122** und **124** gibt es literaturbekannte synthetische Zugänge.[48] Bei einem Verfütterungsexperiment mit 2-Fluor-4-hydroxybenzoesäure (**122**) an Fruchtkörper von *S. tridentinus* wurden keine Hinweise auf einen neuen Metaboliten mit Desoxytridentochinon-ähnlichen Eigenschaften gefunden. In dem bei einem Verfütterungsexperiment von 2-Fluor-4,5-dihydroxybenzoesäure (**124**) an Submerskulturen von *S. tridentinus* gewonnenen Extrakt konnte das Vorliegen von 2-Desoxy-2-fluortridentochinon (**123**) mittels GC/MS nicht zweifelsfrei gesichert werden. Bei beiden Experimenten ist zu berücksichtigen, daß es sich bei dem möglicherweise entstehenden 2-Desoxy-2-fluortridentochinon (**123**) um ein grundsätzlich hydrolyseempfindliches vinyloges Carbonsäurefluorid handelt.

Bevorzugt wurden daher 4-Hydroxy-2-methylbenzoesäure (**125**) und 4,5-Dihydroxy-2-methylbenzoesäure (**127**) hergestellt und an *S. tridentinus* verfüttert. Erwartet wurde die Anreicherung von 2-Desoxy-2-methyltridentochinon (**126**) im Pilz.

[48] Zur Herstellung von 2-Fluor-4-hydroxybenzoesäure (**122**) wird käufliches 2-Fluor-4-hydroxybenzonitril basisch hydrolysiert.[386] Zur Synthese von 2-Fluor-4,5-dihydroxybenzoesäure (**124**) wird der aus käuflichem 4-Fluorveratrol zugängliche 6-Fluorveratrumaldehyd[387] mit $KMnO_4$ oxidiert[388] und anschließend entschützt.[389]



R = F: **122**
R = CH_3: **125**

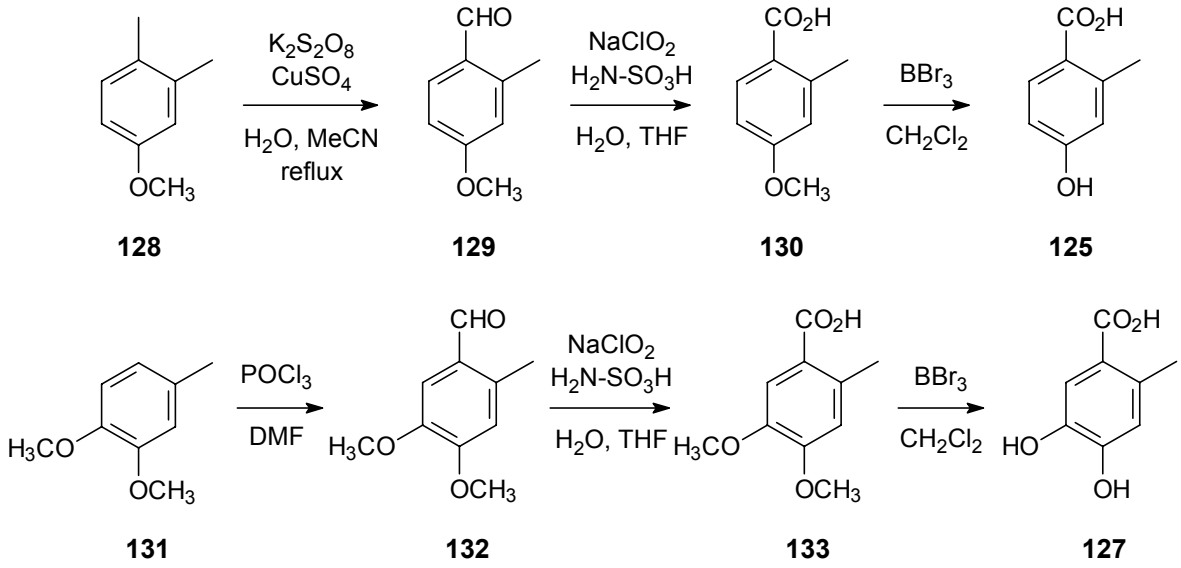
R = F: **123**
R = CH_3: **126**

R = F: **124**
R = CH_3: **127**

Schema 51. Idee zur künstlichen Anreicherung von 2-Desoxytridentochinon-Analoga in *S. tridentinus*

6.9.1 Synthese von 4-Hydroxy-2-methylbenzoesäure (125) und 4,5-Dihydroxy-2-methylbenzoesäure (127)

Die Herstellung von 4-Hydroxy-2-methylbenzoesäure (**125**) ist literaturbekannt. Vorteilhaft wird dabei die Möglichkeit der selektiven Oxidation einer *ortho*- oder *para*-ständigen Methylgruppe in Dimethylanisolen mit Kaliumperoxodisulfat unter Kupferkatalyse ausgenutzt.[390] Der so aus 3,4-Dimethylanisol (**128**) entstandene 4-Methoxy-2-methyl-benzaldehyd (**129**) wird mit Natriumchlorit in Gegenwart von Amidosulfonsäure oxidiert,[390] anschließend wird der Arylmethylether **130** unter Standardbedingungen[216] mit Bortribromid gespalten (Schema 52).



Schema 52. Herstellung von 4-Hydroxy-2-methylbenzoesäure (**125**) und 4,5-Dihydroxy-2-methylbenzoesäure (**127**) nach Literaturverfahren.

Zur Synthese von 4,5-Dihydroxy-2-methylbenzoesäure (**127**) geht man zweckmäßig von 3,4-Dimethoxytoluol (**131**) aus, welches unter Vilsmeier-Bedingungen regioselektiv an C-6 formyliert wird.[391] Anschließende Natriumchlorit-Oxidation[390] des Aldehyds **132** zur Benzoesäure **133** liefert nach deren Entschützung mit Bortribromid[216] das gewünschte Produkt (Schema 52).

6.9.2 Durchführung der Verfütterungsexperimente

Je 10 mg 4-Hydroxy-2-methylbenzoesäure (**125**) wurden im Komplex mit 2-Hydroxypropyl-β-cyclodextrin[49] als wäßrige Lösung an fünf Fruchtkörper verschiedenen Alters verfüttert. Die Ernte erfolgte nach fünf bis elf Tagen. Abgesehen von teilweisen Schäden infolge Schneckenfraß waren die Pilze normal gewachsen.

Ebenso wurden jeweils 10 mg 4,5-Dihydroxy-2-methylbenzoesäure (**127**) als Komplex mit 2-Hydroxypropyl-β-cyclodextrin an vier Fruchtkörper verfüttert, deren Hutdurchmesser während der Wachstumsphase von 2 bis 4 cm auf 4.5 bis 10.5 cm zugenommen hatten.

6.9.3 Isolierung und Strukturaufklärung des nichtnatürlichen Metaboliten 3-Geranylgeranyl-2-hydroxy-5-methylbenzo-1,4-chinon (135)

In beiden Fällen war bereits auf dem Dünnschichtchromatogramm des jeweils vorgereinigten Rohextraktes eine sonst nicht beobachtete, im Vergleich zu Tridentochinon weniger polare gelbe Substanz aufgefallen. Daß es sich dabei nicht um das erwartete 2-Desoxy-2-methyltridentochinon (**126**) handelte, konnte schnell aus der Blaufärbung des gelben Spots unter Einwirkung von gasförmigem Ammoniak geschlossen werden.

Die beiden Rohextrakte wurden getrennt der Aufarbeitung unterzogen. Mittels High-Speed Countercurrent-Chromatographie und anschließender Größenausschlußchromatographie an Sephadex LH-20 mit dem Eluenten Aceton konnte aus beiden Extrakten jeweils eine gelbe Substanz rein erhalten werden. Das Verhalten dieser beiden Verbindungen auf dem Dünnschichtchromatogramm war identisch und entsprach dem des in den Rohextrakten aufgefallenen gelben Farbstoffes. Aus den mit 4-Hydroxy-2-methylbenzoesäure (**125**) gefütterten Fruchtkörpern wurden ca. 0.5 mg, aus den mit 4,5-Dihydroxy-2-methylbenzoesäure (**127**)

[49] Die Benzoesäurederivate können durch Komplexierung mit bestimmten Cyclodextrinderivaten hervorragend in Wasser solubilisiert werden. Näheres hierzu und zur Verfütterung in dieser Form in Kap. 5.1.3.

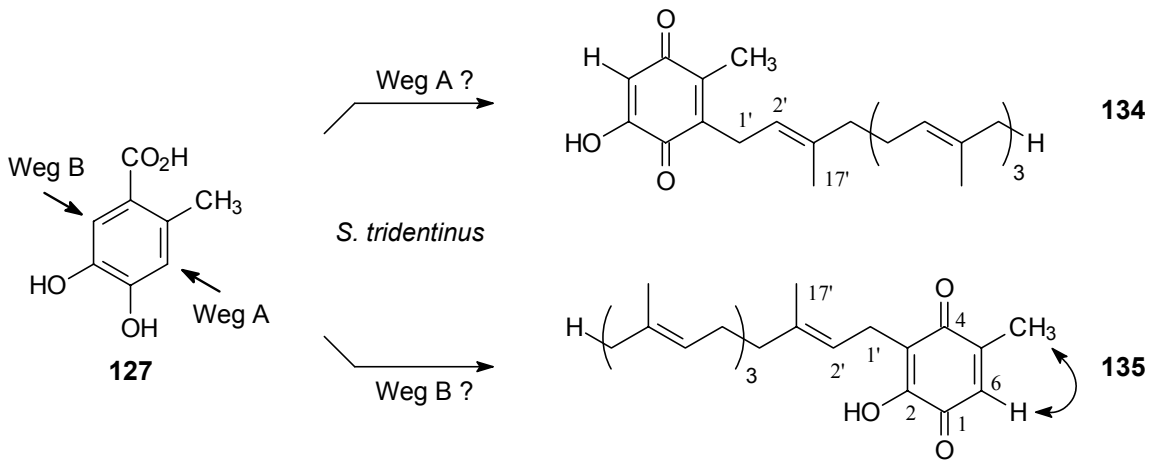
gefütterten Pilzen 2.0 mg einer zunächst unbekannten Verbindung isoliert. Bereits der DC-Vergleich hatte die Identität der beiden isolierten Substanzen nahegelegt. Die Identität wurde durch ^{1}H-NMR-Spektren und GC/MS-Messungen der Trimethylsilylderivate gesichert.

Das ^{1}H-NMR-Spektrum enthält die typischen Signale einer *all-trans*-Geranylgeranyleinheit (vgl. 2.7). Die Protonen 1'-H erkennt man als Dublett (^{3}J = 7.4 Hz) bei δ_H 3.16. Neben den Signalen der Vinylprotonen der Polyisoprenkette fallen bei tieferen Feld zwei Signale mit δ_H 6.55 und 6.85 (s) auf. Ersteres zeigt bei starker Spreizung eine Quartettstruktur ($J \approx$ 1.4 Hz, Abbildung 16), letzteres verschwindet auf Zusatz weniger Tropfen [D_4]Methanol. Das zugehörige Proton kann somit als acides Wasserstoffatom identifiziert werden.

Das ^{13}C-NMR-Spektrum bestätigt eine *all-trans*-Geranylgeranyleinheit im Molekül. Zusätzlich liegen Signale einer CH-Einheit (δ_C 128.47) und fünf quartärer Kohlenstoffatome (δ_C 120.66, 149.16, 150.68, 183.51 und 187.47), die beiden letzten im Hochfeld-Carbonylbereich, vor. Eine Methylgruppe im Allylbereich, bereits im ^{1}H-NMR-Spektrum zwischen den überlagerten Signalen der Methylengruppenprotonen erkennbar (δ_H 2.08), fällt im ^{13}C-NMR-Spektrum mit δ_C 16.66 zwischen den vier Signalen C-17' bis C-20' der Seitenkette auf.

Das EI-Massenspektrum zeigt einen Molekülpeak von *m/z* = 410 und die für lineare (Poly)-prenylderivate charakteristischen Peaks *m/z* = 81 $[C_6H_9]^+$ und *m/z* = 69 $[C_5H_9]^+$. Die GC/MS-Analyse nach Silylierung mit MSTFA liefert einen Molekülpeak von *m/z* = 482. Der Shift um + 72 Masseneinheiten entspricht genau einem durch den Trimethylsilylrest substituierten Wasserstoffatom.

Offensichtlich ist die Produktion der neuen Substanz durch den Pilz auf die verfütterten ringmethylierten Hydroxybenzoesäuren zurückzuführen. Alle Beobachtungen sprechen für eine mit Bovichinon-4 (**101**) eng verwandte Verbindung, in der eine der beiden Hydroxygruppen gegen eine Methylgruppe ausgetauscht ist. Geht man von dieser Hypothese aus, so kommen nur zwei Strukturvorschläge **134** und **135** in Frage: aufgrund der Identität der aus den beiden Verfütterungsexperimenten isolierten Metabolite muß die Verbindung sowohl aus 4-Hydroxy-2-methylbenzoesäure (**125**) als auch aus 4,5-Dihydroxy-2-methylbenzoesäure (**127**) zugänglich sein. Die größere Einschränkung stellt die geforderte Zugänglichkeit aus der Dihydroxybenzoesäure **127** dar. In letzterer gibt es nur zwei freie Prenylierungspositionen. Die Einführung der Geranylgeranylkette kann entweder auf dem Weg A oder auf dem Weg B erfolgen (Schema 53).



Schema 53. Zunächst gibt es zwei Strukturvorschläge **134** und **135** für die von *Suillus tridentinus* nach Verfütterung von **125** bzw. **127** produzierte Verbindung. Der Pfeil zeigt sowohl die im NOESY-Spektrum beobachtete Wechselwirkung als auch die im HH-COSY-Spektrum sichtbare Kopplung.

Vom biosynthetischen Standpunkt aus erscheint zunächst **134** als wahre Struktur wahrscheinlicher, da Hydroxybenzoesäuren von *S. tridentinus* in *meta*-Position prenyliert werden (vgl. 6.4).

Aufgrund der Ähnlichkeit der chemischen Verschiebungen der Ring-Kohlenstoffatome, welche die Hydroxygruppe und die Methylgruppe tragen (δ_C 149.16 und δ 150.68), kann zwischen beiden Strukturen **134** und **135** nicht mittels HMBC-Messungen unterschieden werden. Die Unterscheidung ist mit HH-COSY- und NOESY-Experimenten durchführbar.

Das HH-COSY-Spektrum zeigt eine Kopplung zwischen den Wasserstoffatomen δ_H 2.08 (Ring-CH_3) und 6.55 (Ring-H), wie sie nur in Verbindung **135** auftreten kann. Eine Kopplung zwischen δ_H 2.08 (Ring-CH_3) und 1'-H (δ_H 3.16), wie sie in Verbindung **134** zu beobachten sein sollte, wird nicht gefunden.

Das NOESY-Spektrum zeigt ein Kreuzsignal zwischen dem ringgebundenen Proton (6-H, δ_H 6.55) und den Protonen der ringgebundenen Methylgruppe (5-CH_3, δ_H 2.08). Eine Wechselwirkung zwischen den Protonen 1'-H in der Seitenkette (δ_H 3.16) und den Wasserstoffatomen der ringgebundenen Methylgruppe (5-CH_3, δ_H 2.08) wird dagegen nicht beobachtet.

Der Sachverhalt wird durch selektive ^{1}H-Einstrahlungsexperimente untermauert: während die angedeutete Quartettstruktur des ringgebundenen Protons 6-H bei Einstrahlung auf δ 2.08 (5-CH_3) nahezu völlig verschwindet (Abbildung 16), tritt bei Einstrahlung auf δ 3.16 (1'-H) keine Veränderung des Kopplungsmusters ein.

Somit ist gesichert, daß es sich bei **135** um den zutreffenden Strukturvorschlag für die von *S. tridentinus* nach Verfütterung von 4-Hydroxy-2-methylbenzoesäure (**125**) bzw. 4,5-Dihydroxy-2-methylbenzoesäure (**127**) produzierte Verbindung handelt.

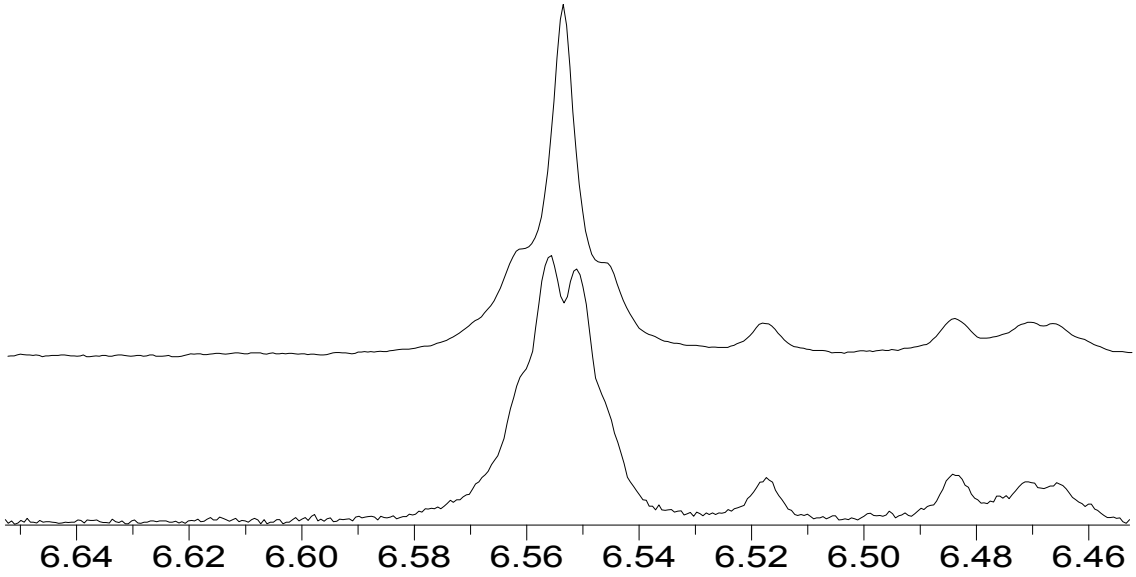


Abbildung 16. Ausschnitt aus dem ^{1}H-NMR-Spektrum von **135** mit dem Signal des Ringprotons 6-H. Untere Linie: ohne Einstrahlung. Obere Linie: Entkopplung von den Protonen der Ring-CH_3-Gruppe durch Einstrahlung auf δ 2.08 (Ring-CH_3) ($CDCl_3$, 300 MHz).

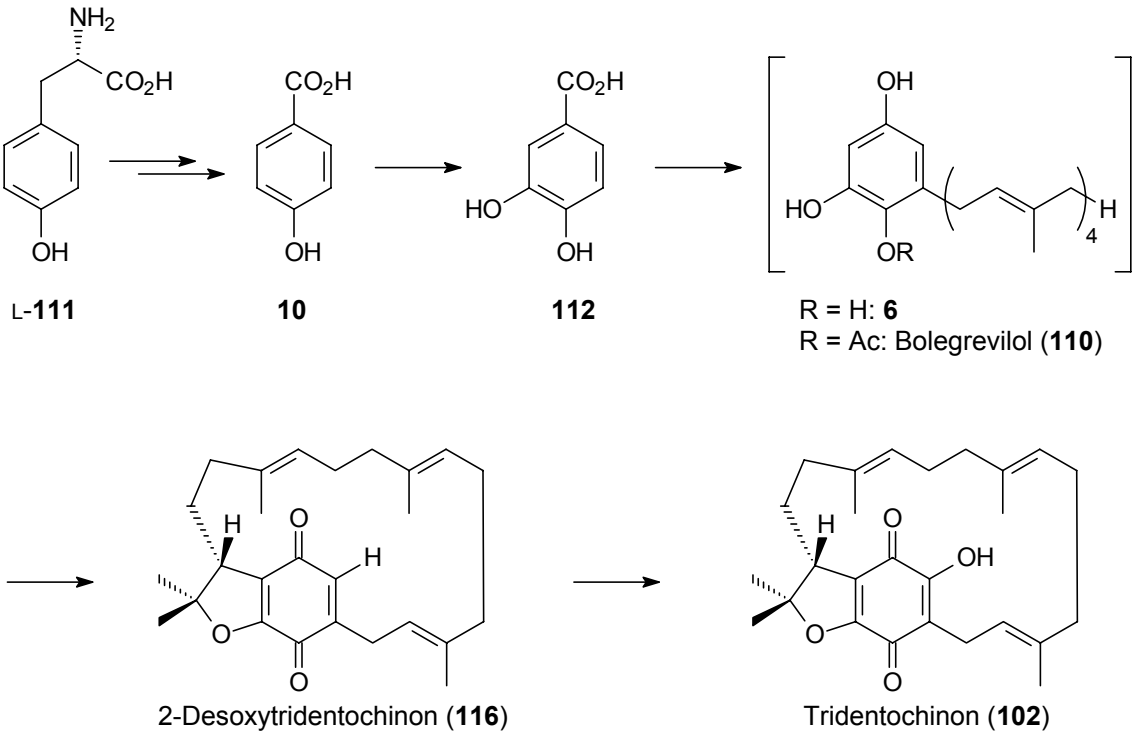
6.9.4 Nachweisversuche für 2-Desoxy-2-methyltridentochinon (126) mittels GC/MS

In den aus der HSCC-Chromatographie erhaltenen Fraktionen wurde ohne Erfolg auch mittels GC/MS nach 2-Desoxy-2-methyltridentochinon (**126**) gesucht. Aufgrund der zu erwartenden Analogie mit dem bereits bekannten Massenspektrum des 2-Desoxytridentochinons (**116**) wäre dessen Auffinden und eine eindeutige Identifizierung mit großer Sicherheit möglich gewesen.

Sowohl in den mit **125** als auch mit **127** gefütterten Pilzen wurde auf diese Weise Desoxytridentochinon (**116**) nachgewiesen (vgl. 6.7).

6.10 Zusammenfassung und Diskussion

Erstmals wurde 2-Desoxytridentochinon (**116**) als Inhaltsstoff des Rostroten Lärchenröhrlings *Suillus tridentinus* nachgewiesen. Es gelang die Isolierung und Reinigung einer für den Strukturbeweis ausreichenden Menge aus unabhängigen Chargen von Fruchtkörpern. Damit ist nun der letzte Schritt in der Biosynthese des Hauptfarbstoffes Tridentochinon (**102**) gesichert: zuerst erfolgt die Cyclisierung einer geranylgeranylierten Spezies zum Ansachinon 2-Desoxytridentochinon (**116**). Im Anschluß daran wird die 2-Hydroxygruppe eingeführt, um zum Tridentochinon (**102**) zu gelangen (Schema 54).

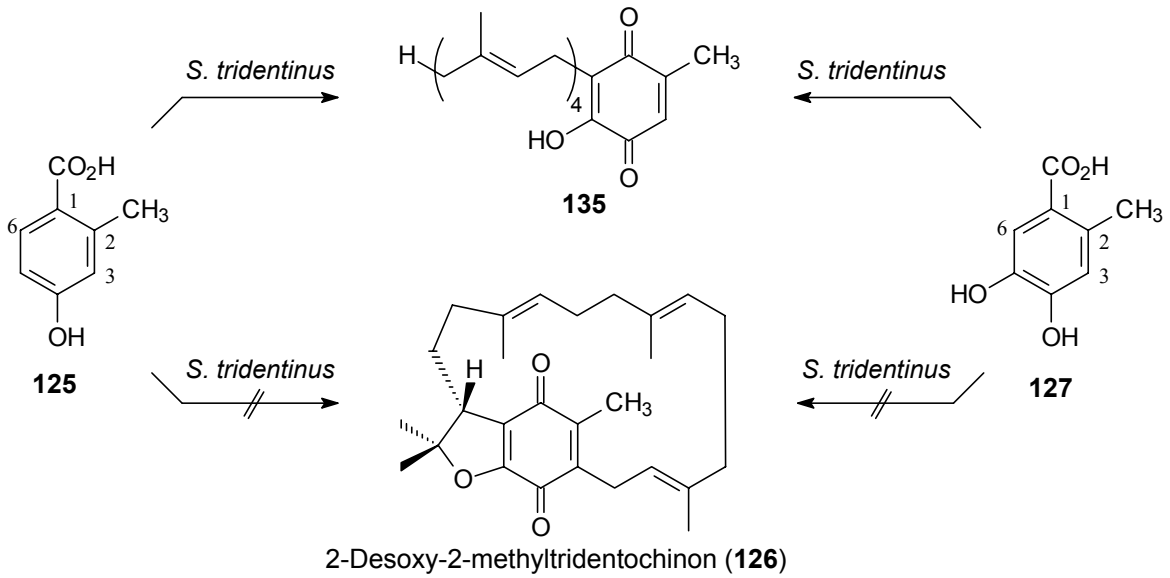


Schema 54. Aktueller Stand der Biosynthese des Tridentochinons in *Suillus tridentinus*.

4-Hydroxy-2-methylbenzoesäure (**125**) und 4,5-Dihydroxy-2-methylbenzoesäure (**127**) wurden an Fruchtkörper des Rostroten Lärchenröhrlings verfüttert. Dabei war deren Umwandlung in 2-Desoxy-2-methyltridentochinon (**126**) durch den Organismus erwartet worden. **126** konnte nicht isoliert und auch nicht mittels GC/MS nachgewiesen werden. Beide Hydroxy-2-methylbenzoesäuren **125** und **127** werden aber jeweils von *S. tridentinus* akzeptiert und zu dem nichtnatürlichen Metaboliten **135** verstoffwechselt (Schema 55). Die Bildung von **135** ist ungewöhnlich, da sie die Einführung der Geranylgeranyleinheit in *ortho*-Stellung zur Carboxylgruppe der applizierten Benzoesäurederivate **125** und **127** voraussetzt. Diese

Alkylierungsposition ist für *S. tridentinus* nicht charakteristisch: typischerweise werden Benzoesäurederivate vom Rostroten Lärchenröhrling in *meta*-Stellung zur Carboxylgruppe geranylgeranyliert (vgl. 6.4). Im Unterschied dazu werden die Hydroxybenzoesäuren **92** und **112** in den verwandten Röhrlingen *Suillus bovinus* (vgl. 7.4) und *S. variegatus*[5] in *ortho*-Stellung zur Carboxylgruppe polyprenyliert.

Offensichtlich wirkt die 2-Methylgruppe in **125** und **127** als Störfaktor, der die Alkylierung an Position C-3 verhindert. Es tritt ein alternativer Mechanismus in Gang. Obwohl C-6 der 4,5-Dihydroxy-2-methylbenzoesäure (**127**) ebenso wie C-3 keine freie Nachbarstellung besitzt, kann die Einführung der Terpeneinheit an C-6 problemlos erfolgen. Daß *S. tridentinus* zu einem solchen Schritt in der Lage ist, untermauert noch einmal die Verwandtschaft zu *S. bovinus* und *S. variegatus*.



Schema 55. Nach Verfütterung von **125** und **127** produziert *Suillus tridentinus* nicht wie ursprünglich erwartet 2-Desoxy-2-methyltridentochinon (**126**), sondern die mit Bovichinon-4 (**101**) verwandte Verbindung **135**.

Die Beobachtungen mit den Mono- und Dihydroxy-2-methylbenzoesäuren **125** und **127** entsprechen den Erfahrungen mit Mono- und Dihydroxybenzoesäuren **92** und **112**: das jeweilige Dihydroxyderivat wird vom Pilz tendenziell besser akzeptiert als das Monohydroxyderivat. Dies kann als weiterer Hinweis darauf gewertet werden, daß die Prenylierung in *S. tridentinus* grundsätzlich erst auf der Dihydroxystufe erfolgt (Schema 54). Die Alkylierung von Benzol-1,2,4-triol (**113**), dem oxidativen Decarboxylierungsprodukt der 3,4-Dihydroxybenzoesäure (**112**), ist als Biosynthese-Hauptweg unwahrscheinlich, da eine elektrophile Subsitution des

Benzoltriols an Position C-6 am wenigsten begünstigt ist. Der von Lang-Fugmann[3] erhaltene kleine Einbau des isotopenmarkierten Benzol-1,2,4-triols (**113***) in Tridentochinon (**102**) (Schema 44) ist deshalb mit großer Sicherheit einem Biosynthese-Nebenweg zuzuordnen. Gleichwohl steht ein Beweis dieser Hypothesen durch Einbauten polyprenylierter Verbindungen in Tridentochinon (**102**) weiterhin aus. Bis jetzt konnte bei keinem Verfütterungsexperiment mit isotopenmarkierten geranylgeranylierten Arenen oder Benzochinonen eine signifikante Inkorporation in den Hauptfarbstoff des Rostroten Lärchenröhrlings nachgewiesen werden. Mögliche Ursachen der Nichtakzeptanz polyprenylierter Biosynthesevorläufer werden in Kap. 8 kurz diskutiert.

7 Zur Biosynthese von Bovichinon-4 (101) und Bovilacton-4,4 (136) im Kuhröhrling *Suillus bovinus* (Linn. ex Fr.) O. Kuntze

7.1 Verbreitung und Habitus des Pilzes[350,351]

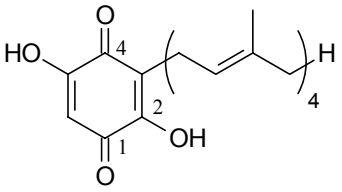
Den Kuhröhrling (Abbildung 17) findet man von Juli bis Oktober unter zweinadeligen Kiefernarten. *Suillus bovinus* wächst vorzugsweise büschelig. Der dunkelgelblich- bis orangebraunfarbene Hut mißt bis zu 10 cm im Durchmesser, die Oberfläche ist glatt und im feuchten Zustand schmierig. Die Mündungen der Röhren sind bei jungen Exemplaren gelbgrünlich, bei älteren braunoliv gefärbt. Die oft gebogenen, hutfarbenen Stiele zeigen an der Basis Rosafärbung. Der Kuhröhrling wird bereits im Alter von einigen Tagen gerne von Maden bewohnt.

Abbildung 17. Junge Fruchtkörper des Kuhröhrlings *Suillus bovinus* (Linn. ex Fr.) O. Kuntze.

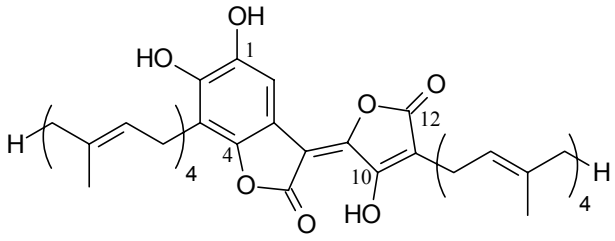
7.2 Bekannte Inhaltsstoffe

Hauptfarbstoff des Kuhröhrlings ist das orangefarbene Bovichinon-4 (Bovinon, **101**).[392] Eine 6,6'-dimerisierte Form des Bovichinons, das Dibovichinon-4,4 (**137**), wurde nachgewiesen, doch kann nicht völlig ausgeschlossen werden, daß es sich dabei um ein Aufarbeitungsartefakt handelt.[393] Ein 6,6'-methylenverbrücktes Dimer, das Amitenon (**138**),[394] entsteht

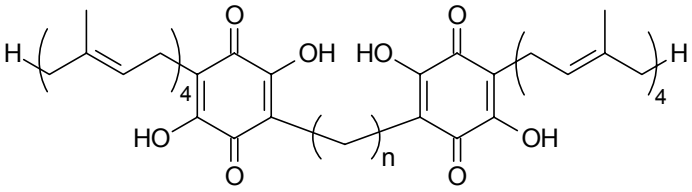
ebenso möglicherweise erst beim Trocknen der Pilze.[392] In geringen Mengen enthält *S. bovinus* Bovilacton-4,4 (**136**).[33] Der für Röhrlinge der Gattung *Suillus* charakteristische Inhaltsstoff Suillin (**139**)[43] wurde auch in *S. bovinus* nachgewiesen.[395]



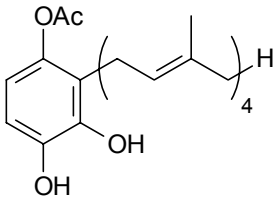
Bovichinon-4 (**101**)



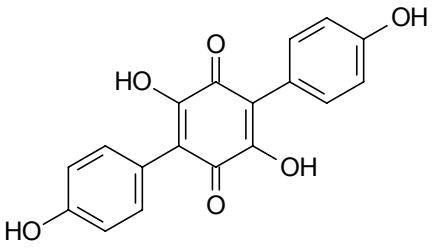
Bovilacton-4,4 (**136**)



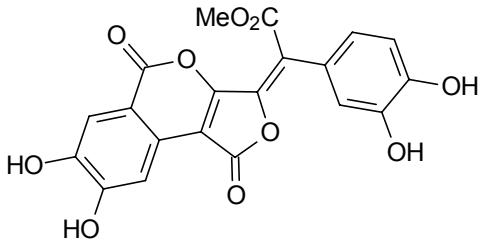
n = 0: Dibovichinon-4,4 (**137**)
n = 1: Amitenon (**138**)



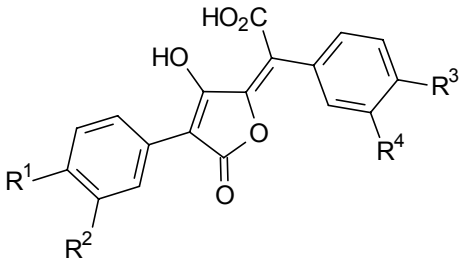
Suillin (**139**)



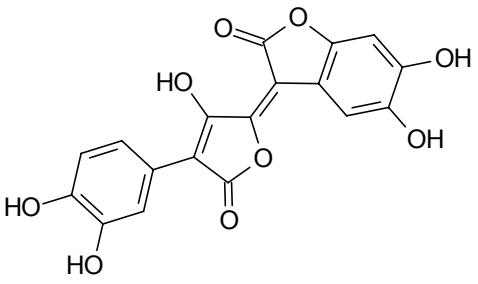
Atromentin (**140**)



Methylbovinat (**141**)



R^1	R^2	R^3	R^4	
OH	H	OH	H	Atromentinsäure (**142**)
OH	OH	OH	H	Xerocomsäure (**143**)
OH	OH	OH	OH	Variegatsäure (**144**)



Variegatorubin (**145**)

Weiterhin enthält der Kuhröhrling das Terphenylchinon Atromentin (**140**)[392] sowie die Pulvinsäurederivate Atromentinsäure (**142**),[359] Xerocomsäure (**143**),[359] Variegatsäure (**144**),[396] Variegatorubin (**145**)[397] und Methylbovinat (**141**).[359],[50]
Unter den flüchtigen Substanzen aus Fruchtkörpern von *S. bovinus* bildet der typische Pilzgeruchsstoff[16] 1-Octen-3-ol mit Abstand die Hauptkomponente. Daneben wurde beispielsweise das Auftreten von (*E*,*E*)-Farnesol nachgewiesen.[399]

7.2.1 Isolierung und Reinigung der Inhaltsstoffe Bovichinon-4 (101) und Bovilacton-4,4 (136)

Durch Chromatographie des mit Essigsäureethylester ausgezogenen Pilzmaterials an acetyliertem Polyamid kann bereits eine gute Vortrennung und jeweilige Vorreinigung von Bovichinon-4 (**101**) und Bovilacton-4,4 (**136**) erreicht werden. Das Bovichinon wird anschließend mittels High-Speed Countercurrent-Chromatographie (HSCCC) von lipophilen Verunreinigungen befreit und bereits in sehr reiner Form erhalten. Ebenso wird Bovilacton durch HSCCC relativ rein erhalten. Bovilacton und Bovichinon werden auch durch HSCCC vollständig getrennt.

7.2.2 Zuordnung von ^{1}H- und ^{13}C-NMR-Signalen im Bovilacton-4,4 (136)

Die Struktur des Bovilactons (**136**) wurde bereits 1981 von Jägers[33] bestimmt. Um die in den Verfütterungsexperimenten erhaltenen ^{13}C-Isotopeneinbauraten im Bovilacton-4,4 (**136**) lokalisieren zu können, ist eine möglichst genaue Kenntnis der ^{13}C-NMR-Signalzuordnungen für das Ringsystem erforderlich. Besonders wichtig ist die eindeutige Zuordnung der ^{13}C-NMR-Signale für die Kohlenstoffatome C-1', C-2', C-1" und C-2" (vgl. Abbildung 18), da Verfütterungsexperimente mit Biosynthesezwischenstufen durchgeführt wurden, welche eine ^{13}C-Isotopenmarkierung in der Geranylgeranylseitenkette tragen. Für die Auswertung dieser Experimente muß eine zweifelsfreie Aussage möglich sein, in welcher der beiden Seitenketten des Bovilactons (**136**) ein ^{13}C-Einbau vorliegt.

[50] Methylbovinat (**141**) ist eine spezielle Entwicklung unter den Pulvinsäurederivaten und wird ausschließlich in *S. bovinus* gefunden.[358] Unter anderem deshalb gibt es Diskussionen, ob die Einordnung des Kuhröhrlings in die Gattung *Suillus* angebracht ist. Besl[398] empfiehlt nach vergleichenden Restriktionsanalysen ribosomaler DNA-Abschnitte eine Weiterführung innerhalb von *Suillus*.

Wegen der geringen Zahl an Wasserstoffatomen, die am Kernsystem oder in dessen unmittelbarer Nähe gebunden sind, lassen sich Aussagen über Signalzuordnungen z.T. nur schwierig treffen. An bereits getroffenen Darstellungen[5] müssen Korrekturen angebracht werden.

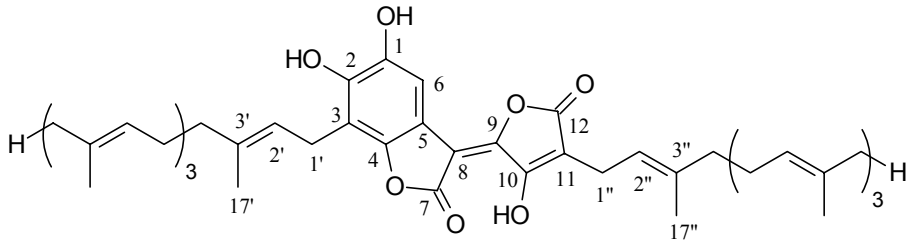


Abbildung 18. Numerierung der Atome im Bovilacton-4,4 (**136**).

C-Atom	δ_C	H-Atom	δ_H	Mult.	J_{HH}/Hz
C-1	141.54	–			
C-2	146.21	–			
C-3	112.50#	–			
C-4	147.23	–			
C-5	112.82#	–			
C-6	109.04	6-H	7.29	s	–
C-7	173.33	–			
C-8	107.17#	–			
C-9	150.76	–			
C-10	161.53	–			
C-11	107.70	–			
C-12	167.83	–			
C-1'	23.10	1'-H	3.45	d	7.4 Hz
C-1"	20.89	1"-H	3.08	d	7.1 Hz
C-2'	119.69	2'-H	5.30	„t“	6.6 Hz
C-2"	118.06	2"-H	5.25	„t“	6.7 Hz
C-3'	139.52	–			
C-3"	138.36	–			
C-17'	16.38	17'-H	1.81	s	–
C-17"	16.30	17"-H	1.74	s	–

Tabelle 9. Zuordnungen von NMR-Verschiebungen im Bovilacton-4,4 (**136**) ($CDCl_3$, ^1H: 600 MHz, ^{13}C: 151 MHz. #: austauschbare Zuordnungen). In Abhängigkeit von Säurespuren können geringfügige Abweichungen von den angegebenen ^{13}C-NMR-Verschiebungen auftreten. Zur Numerierung der Atome vgl. Abbildung 18.

Aufgrund der aus dem HMBC-Spektrum entnommenen Fernkopplungen zu den Carbonyl-Kohlenstoffatomen C-10 und C-12 (Abbildung 19, Abbildung 20) kann das Dublett δ_H 3.08 der Methyleneinheit 1"-H, also der Seitenkette des Butenolidringes, zugeordnet werden. Aus der HMQC-Messung läßt sich daraufhin das zugehörige ^{13}C-NMR-Signal für C-1" mit δ_C 20.89 ableiten (Abbildung 21). 1"-H zeigt im HMBC-Spektrum weitere Fernkopplungen unter anderem zu δ_C 118.06 und zu δ_C 138.36 (Abbildung 20), so daß diese beiden Signale den Atomen C-2" und C-3" zugeordnet werden können. Die Aussagen werden durch das HH-COSY-Kreuzsignal zwischen 2"-H (δ_H 5.25, ermittelt aus dem HMQC-Spektrum) und 1"-H bestätigt.

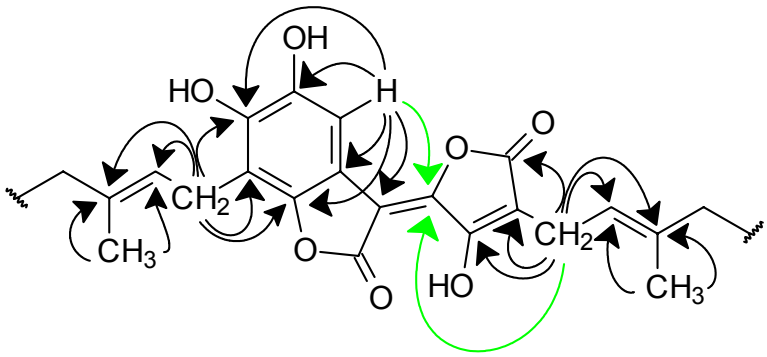


Abbildung 19. Über HMBC-Messung ermittelte Fernkopplungen im Kernsystem des Bovilactons (**136**). Die grau dargestellten Pfeile symbolisieren $^4J_{CH}$-Kopplungen, deren Kreuzsignale im HMBC-Spektrum wegen kleiner Kopplungskonstanten nur relativ geringe Intensitäten aufweisen.

Ähnliches gilt innerhalb der Seitenkette des aromatischen Ringes. Das Signal δ_H 3.45 wird wegen der Fernkopplungen zu zwei Kohlenstoffatomen des aromatischen Ringes (δ_C 146.21 und 147.23, Abbildung 20) den Protonen 1'-H zugeordnet. Aus dem HMQC-Spektrum ermittelt man nun das zugehörige ^{13}C-NMR-Signal mit δ_C 23.10 (Abbildung 21). Das HMBC-Spektrum zeigt weiterhin Wechselwirkungen zwischen 1'-H und δ_C 119.69 sowie 139.52, welche somit als Kohlenstoffatome C-2' und C-3' der Geranylgeranylkette identifiziert werden. Wiederum bestätigt das HH-COSY-Kreuzsignal zwischen 2'-H (δ_H 5.30) und 1'-H die getroffenen Zuordnungen.

Das HH-COSY-Spektrum ermöglicht eine Unterscheidung der Protonen 17'-H und 17"-H.[51] Es treten die Kopplungspaare 1'-H / 17'-H und 1"-H / 17"-H sowie 2'-H / 17'-H und 2"-H / 17"-H auf. Obwohl sich die ^{13}C-NMR-Verschiebungen von C-17' und C-17" nur wenig unter-

[51] Zur Sonderstellung von 17'-H und 17"-H im ^{1}H-NMR-Spektrum gegenüber den Protonen der weiteren Methylgruppen vgl. Kap. 2.7.

scheiden, ist im HMQC-Spektrum eine eindeutige Zuordnung der ^{13}C-NMR-Signale möglich.[52]

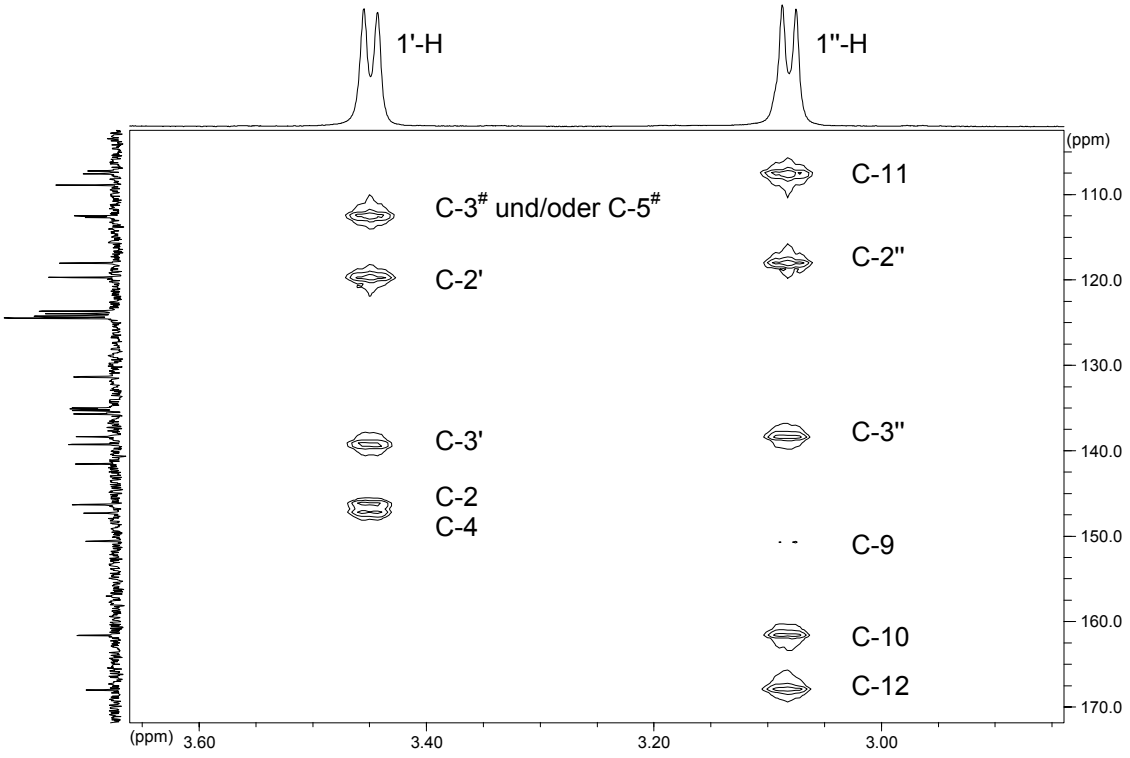


Abbildung 20. Ausschnitt aus dem HMBC-Spektrum des Bovilactons (**136**) ($CDCl_3$, 600/151 MHz).

Eine Unterscheidung der sauerstoffgebundenen sp^2-Kohlenstoffatome C-1, C-2, C-4 und C-9 ist zumindest teilweise möglich. Von 1'-H beobachtet man Fernkopplungen zu δ_C 146.21 und 147.23, von 6-H Kopplungen zu δ_C 141.54, 146.21 und 147.23. Für δ_C 150.76 wird ein schwaches HMBC-Kreuzsignal sowohl zu 6-H als auch zu 1''-H (Abbildung 20) gefunden. Weitere Informationen sind nicht verfügbar, da von 2'-H aus keine Kopplungen in das aromatische System hinein beobachtet werden. Mit großer Wahrscheinlichkeit sind die Signale δ_C 146.21 und 147.23 somit den Kohlenstoffatomen C-2 und C-4 zuzuordnen. Einfache Inkrementrechnungen[400] lassen die Zuordnungen δ_C 150.76 / C-9 und δ_C 141.54 / C-1 als wahrscheinlich gelten. Durch die erwähnten schwach sichtbaren Fernkopplungen wird diese Hypothese unterstützt. Erst durch die an C-4 erhaltene Isotopenanreicherung des nach Verfütterungsexperimenten mit 3,4-Dihydroxy[1-^{13}C]benzoesäure (**112***) isolierten Bovilactons

[52] Die Signale für 17' und 17'' liegen auf der H-Achse des HMQC-Spektrums so nahe zusammen, so daß ein Vergleich auf der C-Achse auch bei dem sehr geringen Unterschied der ^{13}C-NMR-Verschiebungen von nur $\Delta\delta$ 0.08 gut erfolgen kann.

(**136**) (vgl. 7.3) kann die chemische Verschiebung für C-4 eindeutig festgelegt werden: aufgrund der 1,2,4-Anordnung der drei Hydroxysubstituenten im aromatischen Ring des Bovilactons kann die Isotopenmarkierung innerhalb des Benzolringes nur an C-4 zu liegen kommen.

Das Signal δ_C 107.70 wird über die $^2J_{CH}$-Kopplung mit C-1" eindeutig C-11 zugeordnet. Während hierbei eine sichere Abgrenzung zum nahe benachbarten Signal δ_C 107.17 getroffen werden kann, ist eine Unterscheidung der Fernkopplungen von δ_C 112.50 und 112.82 wegen des zu geringen Signalabstandes nicht möglich. δ_C 107.17 tritt ausschließlich mit 6-H in Wechselwirkung. δ_C 112.50 und/oder 112.82 koppeln zu 6-H und 1'-H. Aus diesen Informationen kann keine sichere Zuordnung für die noch zu besetzenden Positionen C-3, C-5 und C-8 abgeleitet werden.

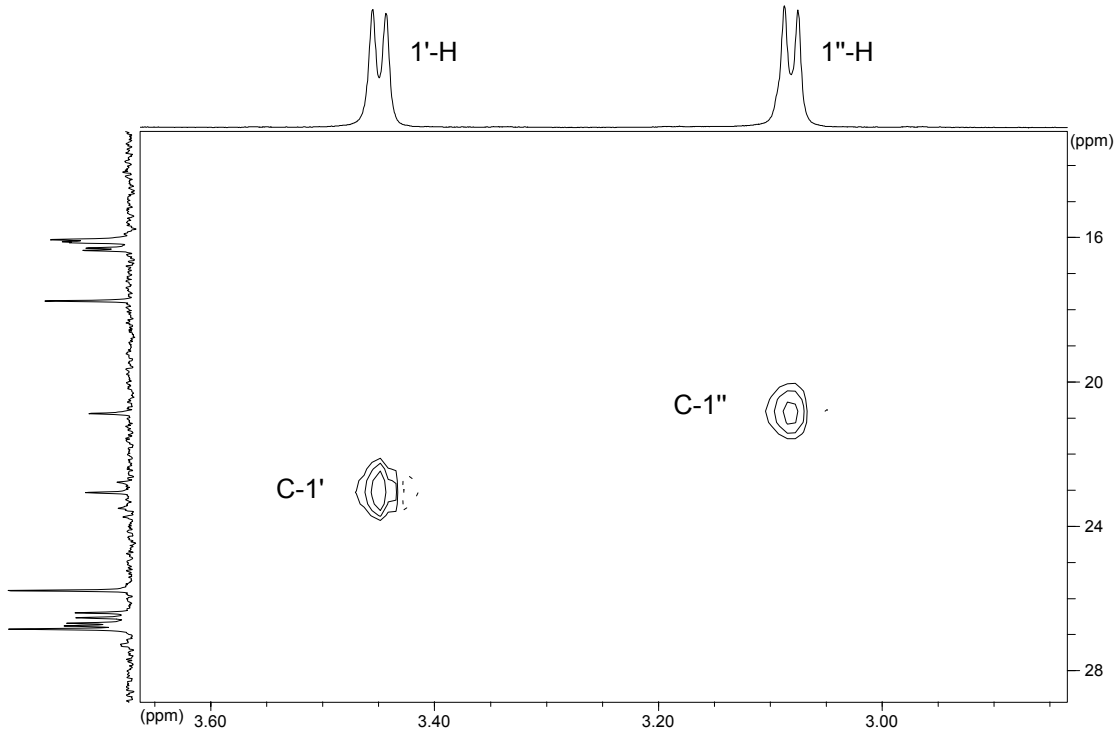


Abbildung 21. Ausschnitt aus dem HMQC-Spektrum des Bovilactons (**136**) ($CDCl_3$, 600/151 MHz).

7.3 Bisher durchgeführte Verfütterungsexperimente

Das Ziel der Studien ist die Aufklärung der Biosynthese von Bovichinon-4 (**101**) und Bovilacton-4,4 (**136**).

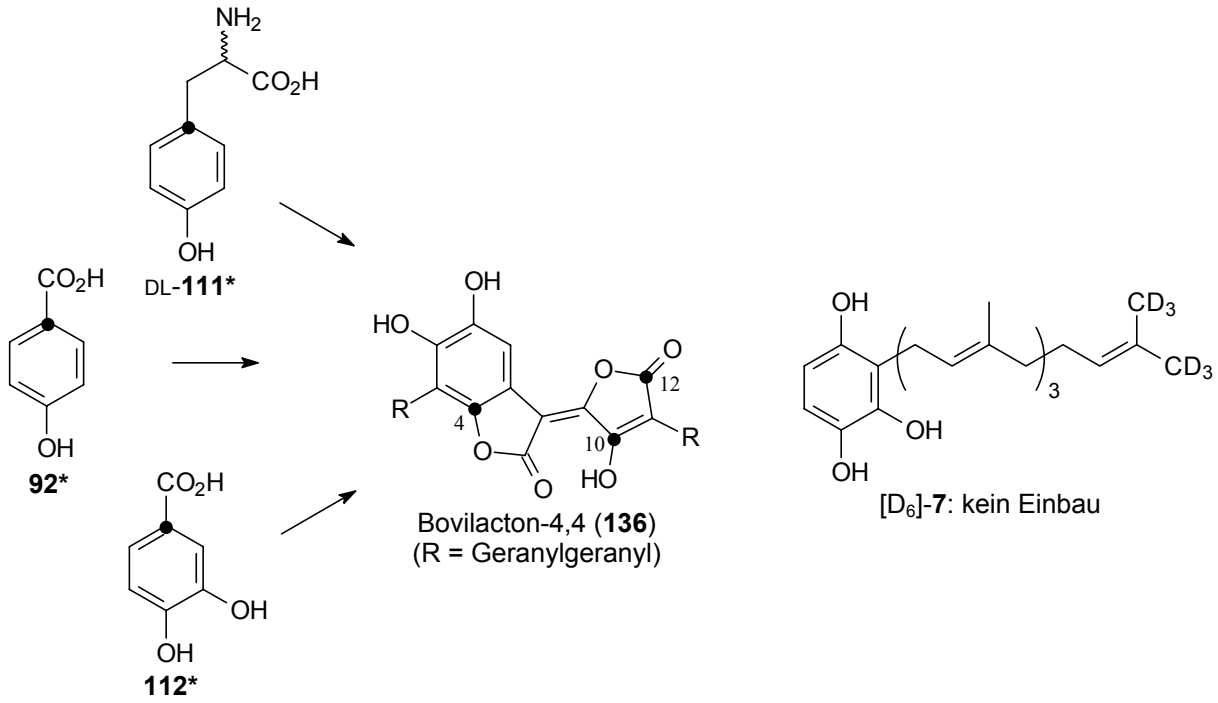
Bei Verfütterungsexperimenten mit 4-Hydroxy[1-^{13}C]benzoesäure (**92***) und 3,4-Dihydroxy-[1-^{13}C]benzoesäure (**112***) war ein ungewöhnliches Phänomen aufgefallen. Werden **92*** und **112*** in Mengen zwischen 15 und 30 mg pro Fruchtkörper appliziert, so wachsen die Pilze kaum noch und verfärben sich dunkelrot. Bovichinon-4 (**101**), der Hauptfarbstoff des Kuhröhrlings, kann nicht mehr detektiert werden.[4] Es wird nur noch Bovilacton-4,4 (**136**) isoliert, dessen Kohlenstoffatome C-4, C-10 und C-12 in außerordentlich stark ^{13}C-angereicherter Form vorliegen (Schema 56).[5,401]

Diese signifikante Veränderung in der Farbstoffzusammensetzung des Pilzes tritt nicht auf, wenn die Hydroxybenzoesäuren **92*** und **112*** in kleinen Mengen (etwa 5 mg / Fruchtkörper) appliziert werden.[5]

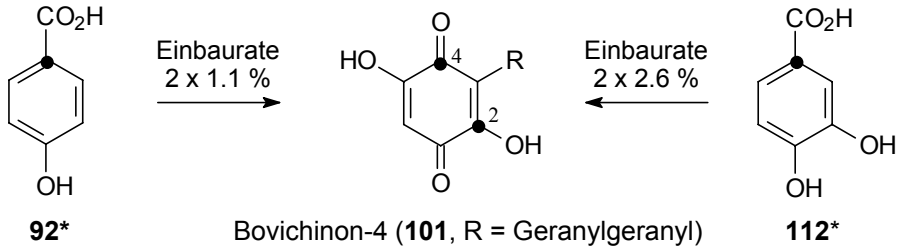
Nach Verfütterung solch geringer Dosen der 4-Hydroxy[1-^{13}C]benzoesäure (**92***) wird Bovichinon-4 (**101**) mit einer ^{13}C-Einbaurate von je 1.1 % an C-2 und C-4 erhalten (Schema 57).[5,401],[53] Das bei diesem Experiment isolierte Bovilacton-4,4 (**136**) zeigt das bereits bekannte Markierungsmuster: angereichert werden C-4, C-10 und C-12 (Schema 56). Die Einbaurate konnte wegen der zu geringen isolierten Substanzmenge nicht bestimmt werden. Die Verfütterung von **92*** an Submerskulturen von *S. bovinus* führte zu Einbauraten von 2 %, 1 % und 1 % an C-4, C-10 und C-12 des Bovilactons (**136**).[5]

Nach Verfütterung ebenso geringer Mengen von 3,4-Dihydroxy[1-^{13}C]benzoesäure (**112***) an Fruchtkörper des Kuhröhrlings beträgt der Einbau in beide Kohlenstoffatome C-2 und C-4 des Bovichinons (**15**) jeweils 2.6 %.[5,401] Auch Bovilacton-4,4 (**136**) zeigt Isotopenanreicherungen an C-4, C-10 und C-12. Die Einbauraten konnten – wie auch im Kulturexperiment – wegen der zu geringen isolierten Substanzmenge nicht exakt bestimmt werden.[5]

[53] Infolge des raschen Tautomeriegleichgewichtes erscheinen C-1, C-2, C-4 und C-5 des Bovichinons (**101**) im ^{13}C-NMR-Spektrum bei RT kaum sichtbar als breites gemitteltes Signal. Für eine Bestimmung von Position und Rate von Isotopenanreicherungen im Chinonring muß die Tautomerie z.B. durch Methylierung der Hydroxyfunktionen (Schema 60) unterbunden werden.



Schema 56. Bisher von Beyer[4] und Mühlbauer[5] mit *Suillus bovinus* durchgeführte Verfütterungsexperimente: Isotopenanreicherungen in Bovilacton-4,4 (**136**). Soweit Einbauraten bestimmt wurden, sind diese dem Text zu entnehmen.



Schema 57. Bisher von Beyer[4] und Mühlbauer[5] an *Suillus bovinus* durchgeführte Verfütterungsexperimente: Isotopenanreicherungen in Bovichinon-4 (**101**). Dargestellt sind die Einbauten in (**101**) bei Verfütterung *geringer* Mengen von **92*** und **112***.

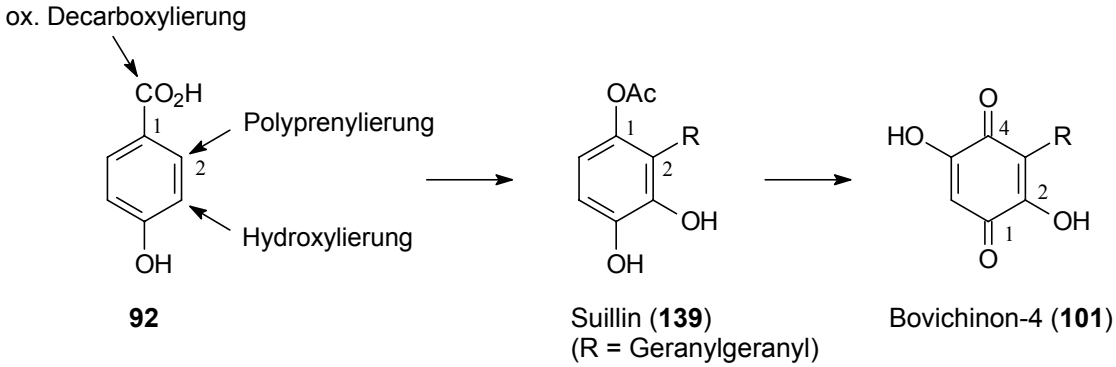
Die Verfütterung von DL-[*ring*-1-^{13}C]Tyrosin (DL-**111***) an Submerskulturen von *S. bovinus* führt zu Isotopenanreicherungen im Bovilacton-4,4 (**136**). Die Einbauraten betragen 9 %, 5 % und 5 % an den Kohlenstoffatomen C-4, C-10 und C-12.[5,401]

Eine Verfütterung von hexadeuteriertem 3-Geranylgeranylbenzol-1,2,4-triol ([D_6]-**7**) an Fruchtkörper des Kuhröhrlings hatte zu keiner meßbaren Deuteriumanreicherung im Bovilacton (**136**) geführt.[5]

Durch Verfütterungsexperimente mit D-[1-^{13}C]- und D-[2-^{13}C]Glucose wurde gezeigt, daß Isopentenylpyrophosphat in *S. bovinus* über den Acetat-Mevalonat-Weg und nicht über den Triosephosphat-Pyruvat-Weg gebildet wird.[5,401]

7.4 Kurze Diskussion der bisherigen Ergebnisse und Planung der eigenen Verfütterungsexperimente

Trotz der Verwandtschaft der Röhrlinge *Suillus tridentinus* und *S. bovinus* und ihrer meroterpenoiden Hauptfarbstoffe Tridentochinon (**102**) und Bovichinon-4 (**101**) ist der Prenylierungsschritt in deren Biosynthese unerwarteterweise verschiedener Natur. Während Benzoesäurederivate im Rostroten Lärchenröhrling *S. tridentinus* gewöhnlich in *meta*-Stellung zur Carboxylgruppe alkyliert werden (vgl. 6.4), wird im Kuhröhrling *S. bovinus* in *ortho*-Stellung alkyliert (Schema 58). Dies kann den nach Verfütterungen von DL-**111***, **92*** und **112*** erhaltenen Markierungsmustern des Bovichinons (**101**) und des Bovilactons (**136**) entnommen werden.[5] Ähnlich wie beim Rostroten Lärchenröhrling beobachtet man, daß die Einbauraten der 3,4-dihydroxylierten Benzoesäure **112** in die Sekundärstoffwechselprodukte **101** und **136** tendenziell größer sind als die der monohydroxylierten Form. Bezüglich Prenylierung und oxidativer Decarboxylierung gelten die bereits für *S. tridentinus* angestellten Überlegungen (vgl. 6.4).

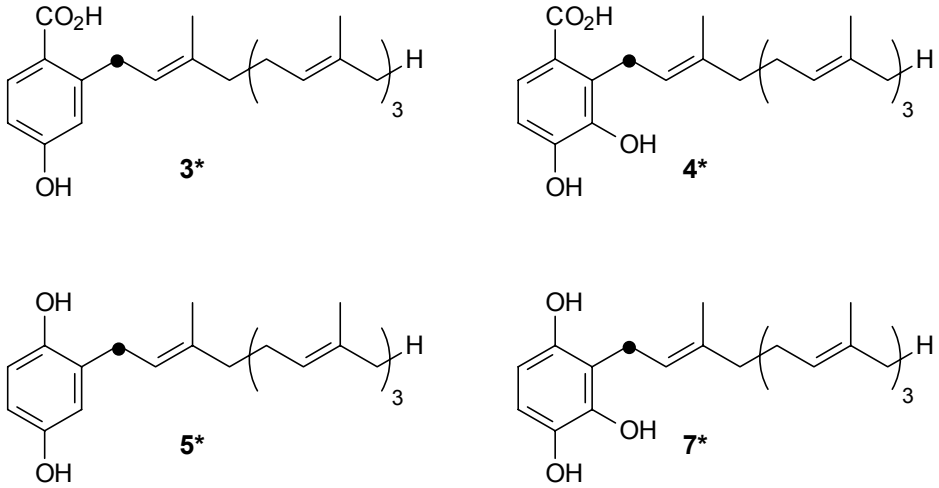


Schema 58. Postulierte Biosynthese des Bovichinons-4 in *Suillus bovinus*.

Für Bovilacton-4,4 (**136**) wurde bereits eine Biogenese aus Bovichinon-4 und einem zweiten geranylgeranylierten Aren, möglicherweise 3-Geranylgeranylbenzol-1,2,4-triol (**7**), postuliert.[5,401] Beweise durch Verfütterungsexperimente wurden hierfür noch nicht erbracht. Die bisherige Grundlage dieser Hypothese wird in Kap. 7.6 zusammen mit den neu erzielten Ergebnissen diskutiert.

Durch die Verfütterung von ^{13}C-isotopenmarkiertem Bovichinon-4 (**101**) sowie des geranylgeranylierten Benzoltriols **7*** wurden Fortschritte bei der Aufklärung der Biosynthese des Bovilactons (**136**) erwartet. Deuteriummarkiertes 3-Geranylgeranylbenzol-1,2,4-triol

([D_6]-**7**) war bereits ohne Erfolg appliziert worden (vgl. 7.3). Mit der in der vorliegenden Arbeit erstmals angewandten Liposomen-Verfütterungstechnik stand eine verbesserte Methodik zur Verfügung, welche eine erneute Verfütterung vielversprechend erscheinen ließ.



Um Aussagen über die vom Pilz auf enzymatischem Wege geranylgeranylierte Spezies treffen zu können, sollte im Rahmen dieser Arbeit zudem 2-(*E*,*E*,*E*)-[1'-^{13}C]Geranylgeranyl-3,4-dihydroxybenzoesäure (**4***) an Fruchtkörper des Kuhröhrlings verfüttert werden. Da nicht davon ausgegangen werden kann, daß ausschließlich auf der dihydroxylierten Stufe geranylgeranyliert wird (vgl. 6.4), wurde (*E*,*E*,*E*)-[1'-^{13}C]Geranylgeranylhydrochinon (**5***) verfüttert. Obwohl eine Polyprenylierung von 4-Hydroxybenzoesäure an C-2 als unwahrscheinlich gelten kann, wurde 2-(*E*,*E*,*E*)-[1'-^{13}C]Geranylgeranyl-4-hydroxybenzoesäure (**3***) ebenso an Fruchtkörper verfüttert.

7.5 Verfütterungsexperimente

Zum Zeitpunkt der ersten Verfütterungen geranylgeranylierter Arene an *Suillus bovinus* war bereits bekannt, daß bei Applikationen vergleichbarer Verbindungen an *S. tridentinus*, bei welchen die unpolaren Verbindungen in einem organischen Lösungsmittel gelöst waren, kein Einbau in den Sekundärmetaboliten erhalten wurde. Aus diesem Grunde wurden potentielle Biosynthesezwischenstufen an den Kuhröhrling von Beginn an in Form von wäßrigen Cyclodextrin- oder Liposomenpräparationen (s. Kap. 5) verfüttert.

7.5.1 Verfütterung von 2-(*E*,*E*,*E*)-[1'-^{13}C]Geranylgeranyl-4-hydroxybenzoesäure (3*)

An sechs junge Fruchtkörper von *Suillus bovinus* wurden jeweils 10 mg 2-(*E*,*E*,*E*)-[1'-^{13}C]-Geranylgeranyl-4-hydroxybenzoesäure (**3***) als wäßrige Liposomensuspension verfüttert. Die Liposomen waren zuvor durch Extrusion auf eine durchschnittliche Größe von 400 nm gebracht worden. Nach sieben Tagen Wachstumszeit erfolgte die Ernte der Pilze. Die Durchmesser der Hüte hatten dabei von 2 bis 3 cm auf 6 bis 10 cm zugenommen, sämtliche Pilze befanden sich in hervorragendem Zustand. Es wurden 5.4 mg Bovilacton-4,4 sowie Bovichinon-4 in der dem natürlichen Gehalt entsprechenden großen Menge[54] isoliert. Weder Bovilacton noch Bovichinon zeigten eine signifikante ^{13}C-Isotopenanreicherung.

7.5.2 Verfütterung von (*E*,*E*,*E*)-[1'-^{13}C]Geranylgeranylhydrochinon (5*)

An drei Fruchtkörper von *Suillus bovinus* wurden jeweils 10 mg (*E*,*E*,*E*)-[1'-^{13}C]Geranylgeranylhydrochinon (**5***) in Form einer wäßrigen Liposomensuspension verfüttert. Die Ernte erfolgte nach einer Wachstumszeit von sechs Tagen. Die Fruchtkörper zeigten wiederum leichte Schäden durch Madenfraß, befanden sich aber ansonsten in sehr gutem Zustand. Die Hutdurchmesser hatten von 2, 2.5 und 5 cm auf 3.3, 4 bzw. 6.5 cm zugenommen. Aus den Fruchtkörpern wurden 31 mg Bovichinon-4 sowie 0.84 mg Bovilacton-4,4 isoliert. Beide Verbindungen zeigten im ^{13}C-NMR-Spektrum keine nachweisbare ^{13}C-Isotopenanreicherung.

7.5.3 Verfütterung von 2-(*E*,*E*,*E*)-[1'-^{13}C]Geranylgeranyl-3,4-dihydroxybenzoesäure (4*)

2-(*E*,*E*,*E*)-[1'-^{13}C]Geranylgeranyl-3,4-dihydroxybenzoesäure (**4***) wurde an fünf junge Fruchtkörper von *Suillus bovinus* verfüttert. Pro Fruchtkörper wurden 10 mg Substanz in Form einer wäßrigen Liposomensuspension eingesetzt. Der Durchmesser der Liposomen war durch Extrusion auf 400 nm vereinheitlicht worden. Die Pilze waren innerhalb von sieben Tagen von 2 bis 3 cm auf 6 bis 10.5 cm im Hutdurchmesser gewachsen und befanden sich zum Zeitpunkt der Ernte in hervorragendem Zustand. Es konnten 5.2 mg Bovilacton-4,4

[54] Da die Aufreinigung eines Teils des Bovichinons für die Messungen völlig ausreichte, können über den Gesamtgehalt der Pilze keine genaueren Angaben gemacht werden.

gewonnen werden. Der Gehalt an Bovichinon war nicht auffällig verändert.[54] Beide Naturstoffe zeigten keinerlei signifikante ^{13}C-Isotopenanreicherung.

7.5.4 Verfütterung von 3-(*E*,*E*,*E*)-[1'-^{13}C]Geranylgeranylbenzol-1,2,4-triol (7*)

An vier Fruchtkörper von *S. bovinus* wurden je 10 mg 3-(*E*,*E*,*E*)-[1'-^{13}C]Geranylgeranylbenzol-1,2,4-triol (**7***) verfüttert. Die Substanz wurde in Form wäßrig suspendierter Liposomen eingesetzt. Ein Exemplar des Kuhröhrlings wurde fünf Tage später, die restlichen sechs Tage später geerntet. Die Fruchtkörper waren lediglich durch Madenfraß leicht geschädigt. Die Hutdurchmesser hatten von 3.0, 3.5, 4.5 und 5.7 cm auf 4.5, 6, 6 und 8 cm zugenommen.

Die Pilze enthielten 84 mg Bovichinon-4 (**101**). Das Bovichinon wies keine signifikante ^{13}C-Anreicherung auf.

Es konnten 2.9 mg Bovilacton-4,4 (**136**) isoliert werden. Die Geranylgeranylseitenkette des aromatischen Ringes des Bovilactons zeigt an C-1' eine starke Isotopenanreicherung, die bereits im ^{1}H-NMR-Spektrum in Erscheinung tritt: deutlich ist die $^{1}J_{CH}$-Kopplung für die Protonen der betreffenden Methylengruppe (δ 3.45) zu erkennen (Abbildung 22). Aus dem ^{1}H-NMR-Spektrum kann durch Integration eine Einbaurate von etwa 23 % bestimmt werden. Die aus dem quantitativ gemessenen ^{13}C-NMR-Spektrum bestimmte Einbaurate beträgt ca. 16 %. An C-1'' des Bovilactons ist keine Isotopenanreicherung festzustellen (Abbildung 23).

Wegen der großen Strukturähnlichkeit sind die ^{1}H- und ^{13}C-NMR-Verschiebungen δ (1'-H) bzw. δ (C-1') der verfütterten Vorstufe **7*** mit δ (1'-H) und δ (C-1') des Bovilactons (**136**) naturgemäß nahezu identisch. Eine Verfälschung des Einbauergebnisses durch Kontamination des Bovilactons mit dieser verfütterten Vorstufe oder mit einer anderen daraus evtl. durch Metabolismus entstandenen ^{13}C-angereicherten Verbindung ist aber aufgrund der Integralverhältnisse im ^{1}H-NMR-Spektrum (Abbildung 22) ausgeschlossen. Überdies bestätigen Massenspektrum und Dünnschichtchromatogramm die Reinheit des isolierten Bovilactons.

Es hat somit eine Inkorporation der verfütterten Verbindung **7*** ausschließlich in die aromatische Hälfte des Bovilactons (**136**) stattgefunden. Die Einbaurate beträgt etwa 16 bis 23 % (Schema 59).

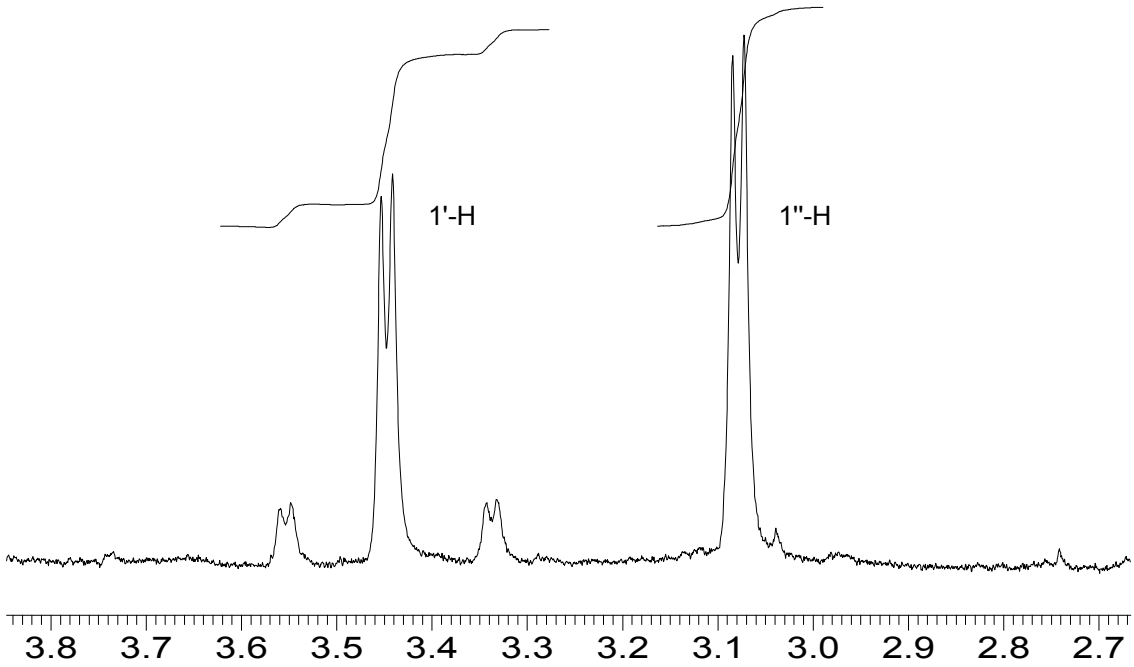


Abbildung 22. Ausschnitt aus dem ^{1}H-NMR-Spektrum des nach Verfütterung von 3-(*E*,*E*,*E*)-[1'-^{13}C]Geranylgeranylbenzol-1,2,4-triol (**7***) isolierten Bovilactons-4,4 (**136**). Die Kopplungskonstante der Kopplung zwischen dem ^{13}C-angereicherten C-1' und 1'-H beträgt $^{1}J_{CH}$ = 130 Hz ($CDCl_3$, 600 MHz).

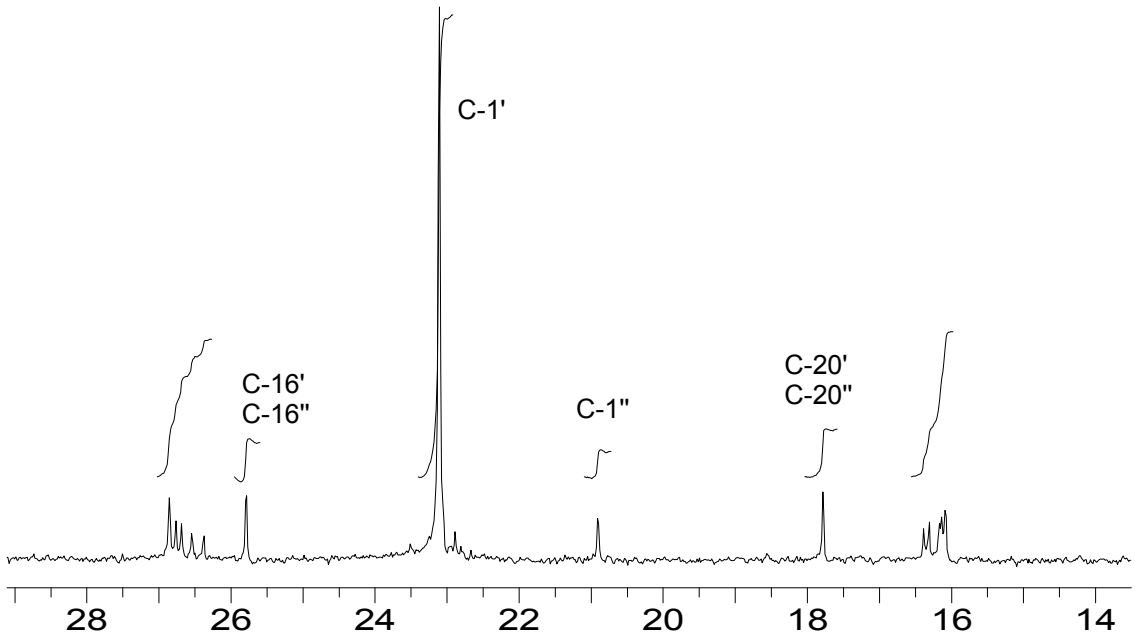
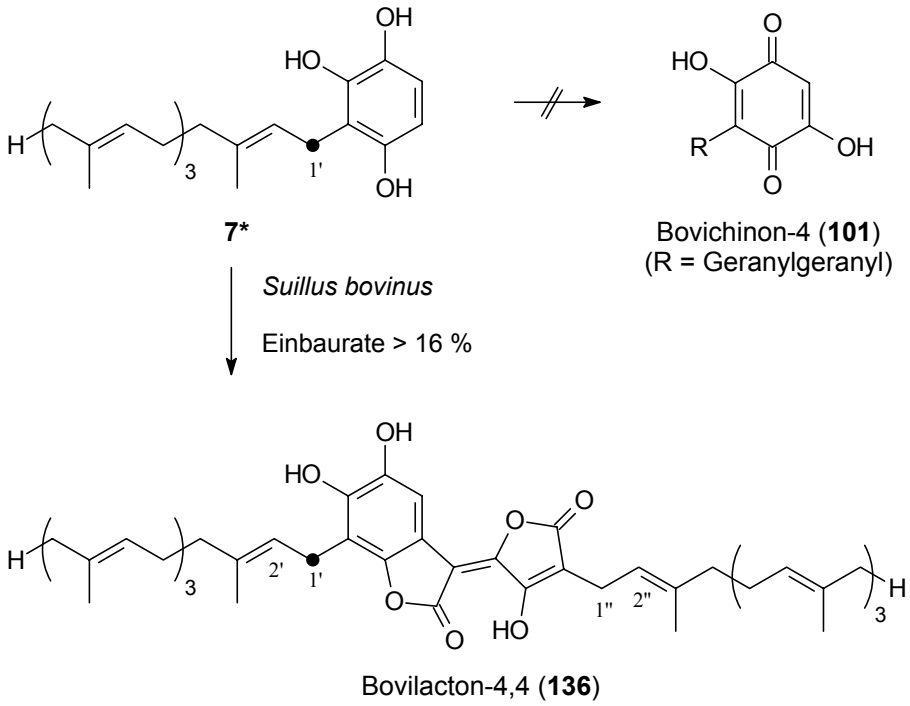


Abbildung 23. Ausschnitt aus dem quantitativen ^{13}C-NMR-Spektrum des nach Verfütterung von 3-(*E*,*E*,*E*)-[1'-^{13}C]Geranylgeranylbenzol-1,2,4-triol (**7***) isolierten Bovilactons-4,4 (**136**). Deutlich ist zu erkennen, daß ausschließlich C-1', nicht aber C-1'' in ^{13}C-angereicherter Form vorliegt.($CDCl_3$, 151 MHz).



Schema 59. 3-(*E*,*E*,*E*)-[1'-^{13}C]Geranylgeranyl-1,2,4-trihydroxybenzol (**7***) wird bei Verfütterung an *Suillus bovinus* ausschließlich in die aromatische Hälfte des Bovilactons (**136**) eingebaut.

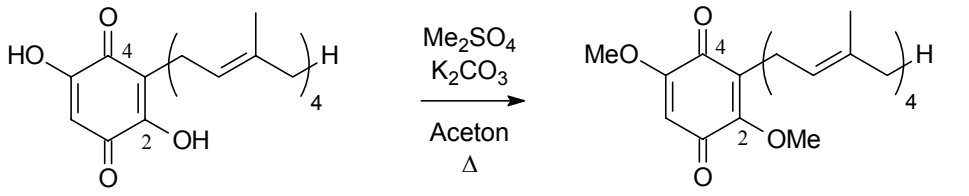
7.5.5 Verfütterung von [1',2'-$^{13}C_2$]Bovichinon-4 (101**)

An zwei Fruchtkörper von *S. bovinus* wurden je 5 mg [1',2'-$^{13}C_2$]Bovichinon-4 (**101****) und je 15 mg 4-Hydroxy[1-^{13}C]benzoesäure (**92***) verfüttert. Beide Substanzen wurden dabei in Form ihrer Komplexe mit 2-Hydroxypropyl-β-cyclodextrin in getrennten wäßrigen Lösungen appliziert. [1',2'-$^{13}C_2$]Bovichinon-4 (**101****) wurde nach Jägers[33,34] durch Umsetzung von [1',2'-$^{13}C_2$]Geranylgeranylbromid (**25****) mit 2,5-Dihydroxybenzo-1,4-chinon in Gegenwart von Triethylamin hergestellt.

Die Hydroxybenzoesäure **92*** wurde aus zwei Gründen zusätzlich parallel verfüttert. Zum einen wurde über das Phänomen der Stoffwechseländerung (vgl. 7.3) eine verstärkte Neubildung von Bovilacton (**136**) erwartet. Zum anderen wurde sie in isotopenmarkierter Form eingesetzt, um als Indikator für den Grad der de novo-Biosynthese von Bovilacton-4,4 (**136**) im Inkubationsszeitraum zu dienen. Letztere Funktion war für den zu berücksichtigenden Fall einer Nichtakzeptanz des isotopenmarkierten Bovichinons wichtig. Von 4-Hydroxybenzoesäure (**92**) ist aus früheren Experimenten bekannt, daß sie zuverlässig in Bovilacton-4,4 (**136**) inkorporiert wird. Zur Steigerung der Nachweisempfindlichkeit für die Isotopenanreicherung war eine 1,2-$^{13}C_2$-Doppelmarkierung des Bovichinons (**101**) gewählt worden.

Zum Zeitpunkt der Ernte nach sechs Tagen waren die Fruchtkörper von 3.7 bzw. 4.5 cm auf 6 cm im Durchmesser gewachsen, befanden sich in sehr gutem Zustand und zeigten keinerlei Verfärbung oder sonstige Auffälligkeiten.

Bei der Aufarbeitung der Fruchtkörper konnte 4-Hydroxybenzoesäure (**92***) im Rohextrakt nachgewiesen werden. Es wurden 32 mg Bovichinon-4 sowie 5.5 mg Bovilacton-4,4 isoliert.



Bovichinon-4 (**101**) Bovichinon-4-dimethylether (**146**)

Schema 60. Bis-*O*-Methylierung von Bovichinon-4.

Das Bovichinon (**101**) wurde zur Bestimmung der ^{13}C-Anreicherung im Ring bis-*O*-methyliert (Schema 60).[53] Die ^{13}C-Isotopenanreicherung im Bovichinondimethylether (**146**) an C-1' und C-2' beträgt je 1.9 %. Die Kohlenstoffatome C-2 und C-4 sind zu je 8.9 % mit dem ^{13}C-Isotop angereichert (Abbildung 24, Schema 61).

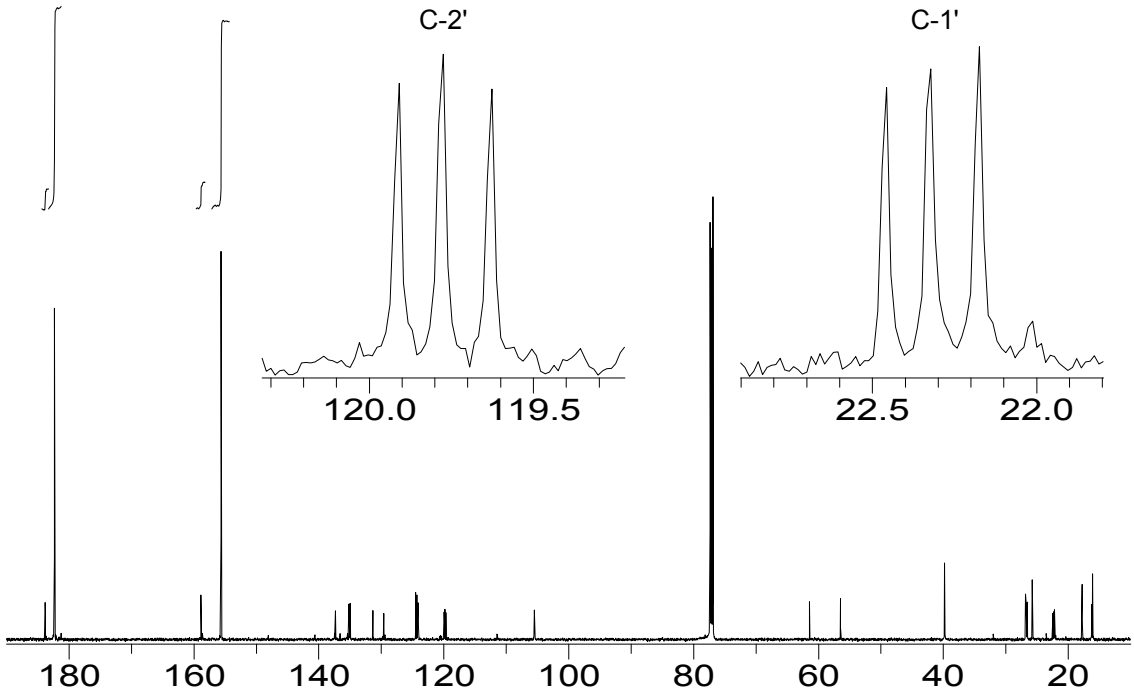


Abbildung 24. Quantitatives ^{13}C-NMR-Spektrum des nach gleichzeitiger Verfütterung von [1',2'-$^{13}C_2$]Bovichinon-4 (**101****) und 4-Hydroxy[1-^{13}C]benzoesäure (**92***) reisolierten Bovichinons (**101**) in Form des Dimethylethers **146**. Die Kopplungskonstante für die Kopplung zwischen C-1' und C-2' beträgt $^1J_{CC}$ = 43 Hz ($CDCl_3$, 151 MHz).

Die ^{13}C-Isotopenanreicherung im Ringsystem des Bovilactons (**136**) beträgt an C-4 etwa 24 % und an C-10 und C-12 gleichverteilt etwa 10 % (Abbildung 25, Schema 61). Von den beiden Seitenketten zeigt nur die Seitenkette des Butenolidringes eine Isotopenanreicherung. Die Atome C-1" und C-2" weisen gemäß dem ^{13}C-NMR-Spektrum jeweils eine Einbaurate von 3.3 % auf (Abbildung 26, Abbildung 27). Die Seitenkette des aromatischen Ringes zeigt keinerlei nachweisbare Isotopenanreicherung. Eine artifizielle Dimerisierung von ^{13}C-isotopenangereichertem Bovichinon-4 im Zuge der Aufarbeitung der Pilze[55] kann ausgeschlossen werden, da nur eine der beiden Seitenketten eine Isotopenanreicherung zeigt. Überdies ist der ^{13}C-Anreicherungsgrad im Bovilacton größer als der im isolierten Bovichinon.

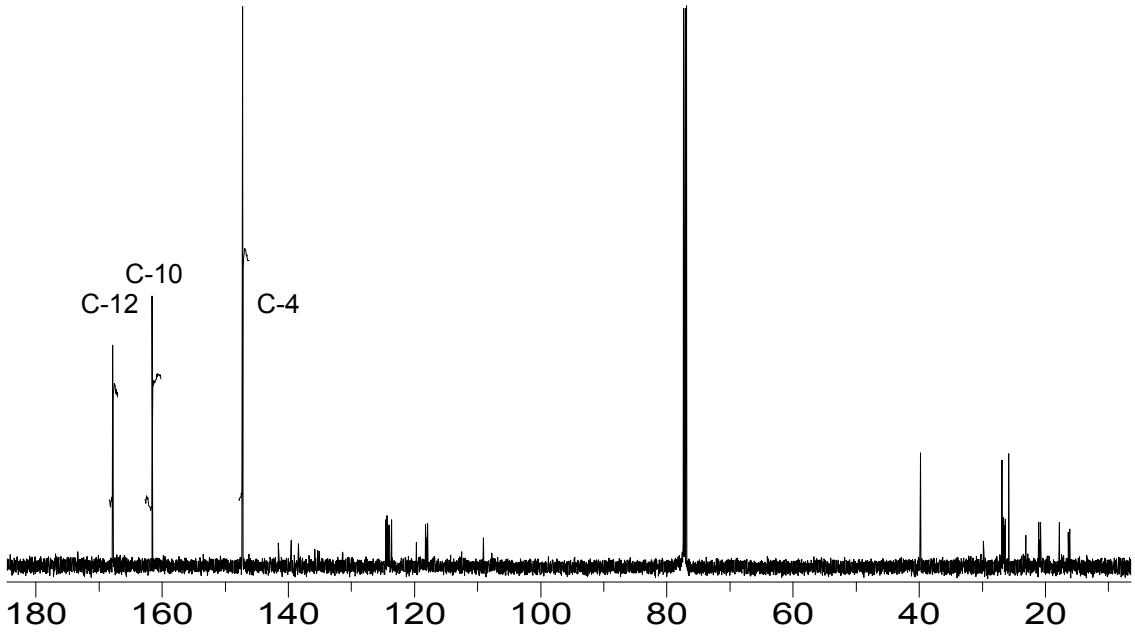


Abbildung 25. Quantitatives ^{13}C-NMR-Spektrum des nach gleichzeitiger Verfütterung von [1',2'-$^{13}C_2$]Bovichinon-4 (**101****) und 4-Hydroxy[1-^{13}C]benzoesäure (**92***) isolierten Bovilactons-4,4 (**136**) ($CDCl_3$, 151 MHz).

[55] Dihydroxybenzochinon und dessen Derivate dimerisieren in Gegenwart von acetyliertem Polyamid, welches auch bei der Aufreinigung der Naturstoffe aus *S. bovinus* als Chromatographiematerial Verwendung findet, zu 4-Ylidenbutenolidsystemen.[33] Diese Dimerisierung verläuft mit natürlichem *all-trans*-Bovichinon-4 selbst bei mehrtägigem Erhitzen sehr langsam.[402] Somit ist die Verwendung von acetyliertem Polyamid im Reinigungsprozeß vertretbar.

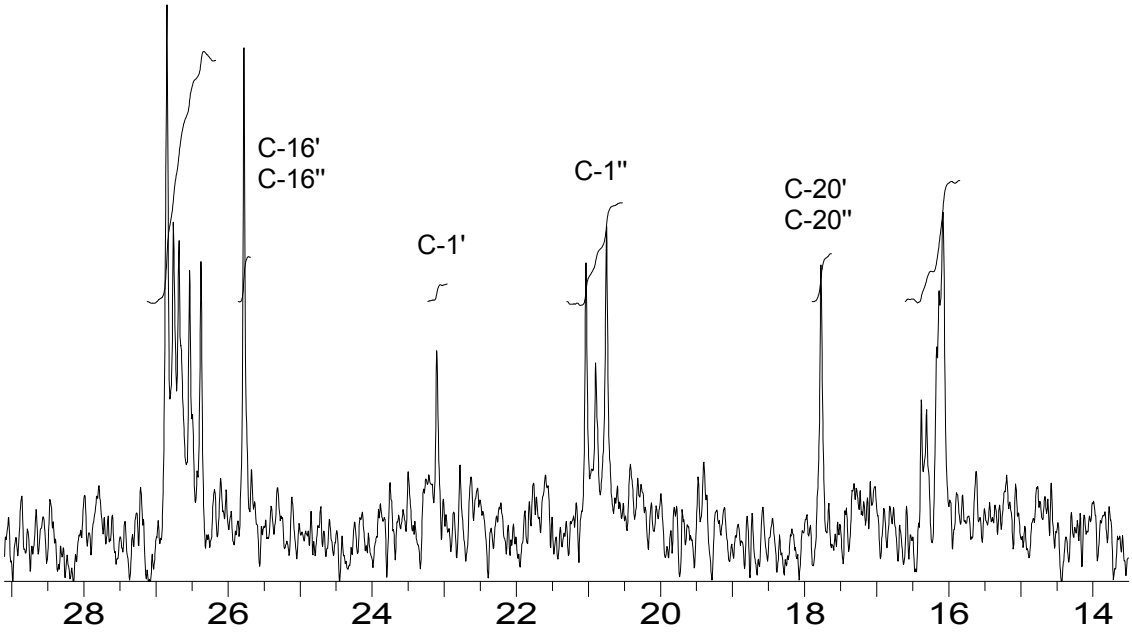


Abbildung 26. Ausschnitt aus dem in Abbildung 25 gezeigten ^{13}C-NMR-Spektrum. Die Kopplungskonstante für die Kopplung zwischen C-1" und C-2" beträgt $^{1}J_{CC}$ = 43 Hz. Nur C-1" liegt in isotopenangereicherter Form vor, nicht aber C-1'.

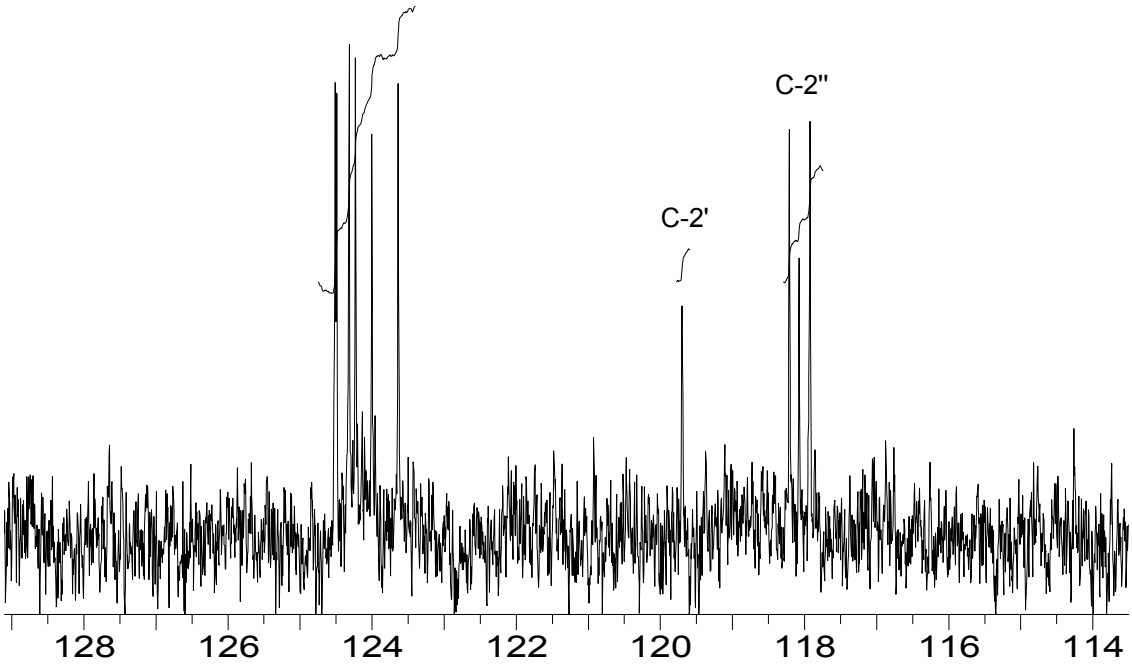
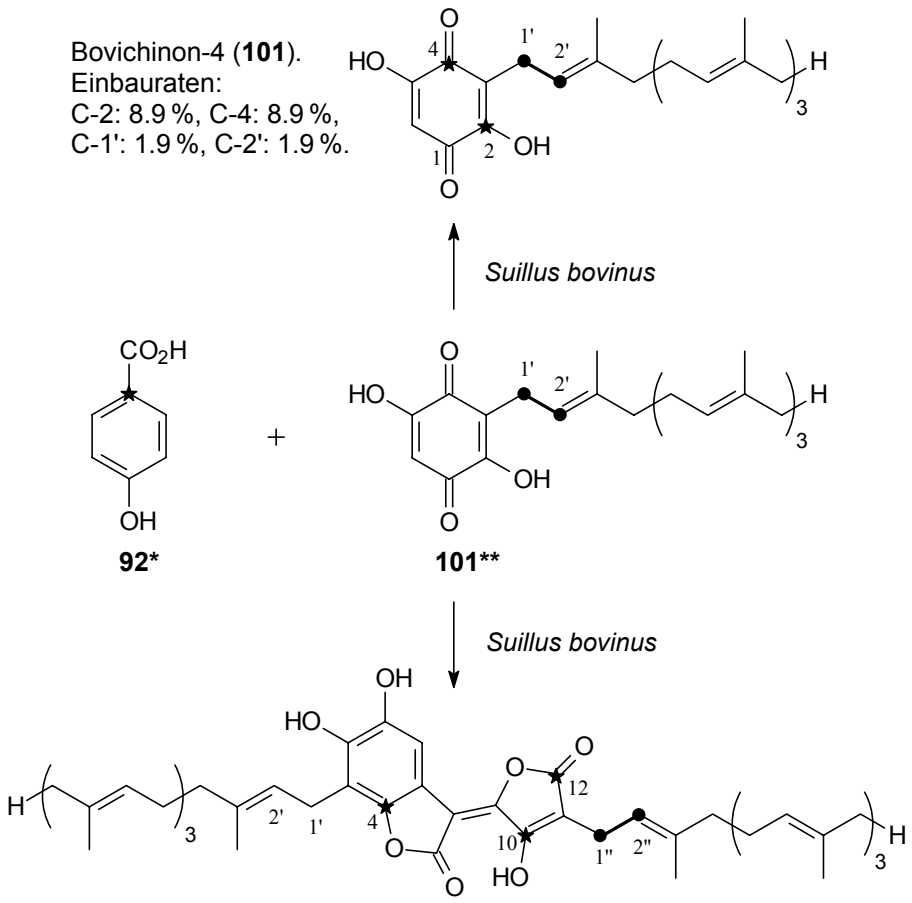


Abbildung 27. Ausschnitt aus dem in Abbildung 25 gezeigten ^{13}C-NMR-Spektrum. Nur C-2" liegt in isotopenangereicherter Form vor, nicht aber C-2'.



Schema 61. Markierungsmuster von Bovilacton-4,4 und Bovichinon-4 nach gleichzeitiger Verfütterung von 4-Hydroxy[1-^{13}C]benzoesäure (**92***) und [1',2'-$^{13}C_2$]Bovichinon-4 (**101****) an *Suillus bovinus*.

In einem zweiten Experiment wurden jeweils 10 mg [1'-^{13}C]Bovichinon-4 (**101***) (hergestellt aus [1'-^{13}C]Geranylgeranylbromid (**25***) und 2,5-Dihydroxybenzo-1,4-chinon) zusammen mit jeweils 15 mg nichtmarkierter 4-Hydroxybenzoesäure an vier Fruchtkörper des Kuhröhrlings verfüttert. Hierbei wurde auf Cyclodextrine und Liposomen verzichtet und Aceton als Lösungsmittel eingesetzt. Bovichinon-4 (**101**) war in normaler Menge als Hauptfarbstoff enthalten. Im isolierten Bovilacton-4,4 (**136**) war keine signifikante Isotopenanreicherung feststellbar.

7.6 Zusammenfassung und Diskussion

7.6.1 Zur Biosynthese des Bovilactons (136)

7.6.1.1 Ergebnisse der Verfütterungsexperimente

Zwei Beobachtungen belegen, daß die Butenolidhälfte des Bovilactons (**136**), d.h. die Kohlenstoffatome C-7 bis C-12 mit dem Geranylgeranylrest C-1" bis C-20", biosynthetisch aus Bovichinon (**101**) entsteht (Schema 62):

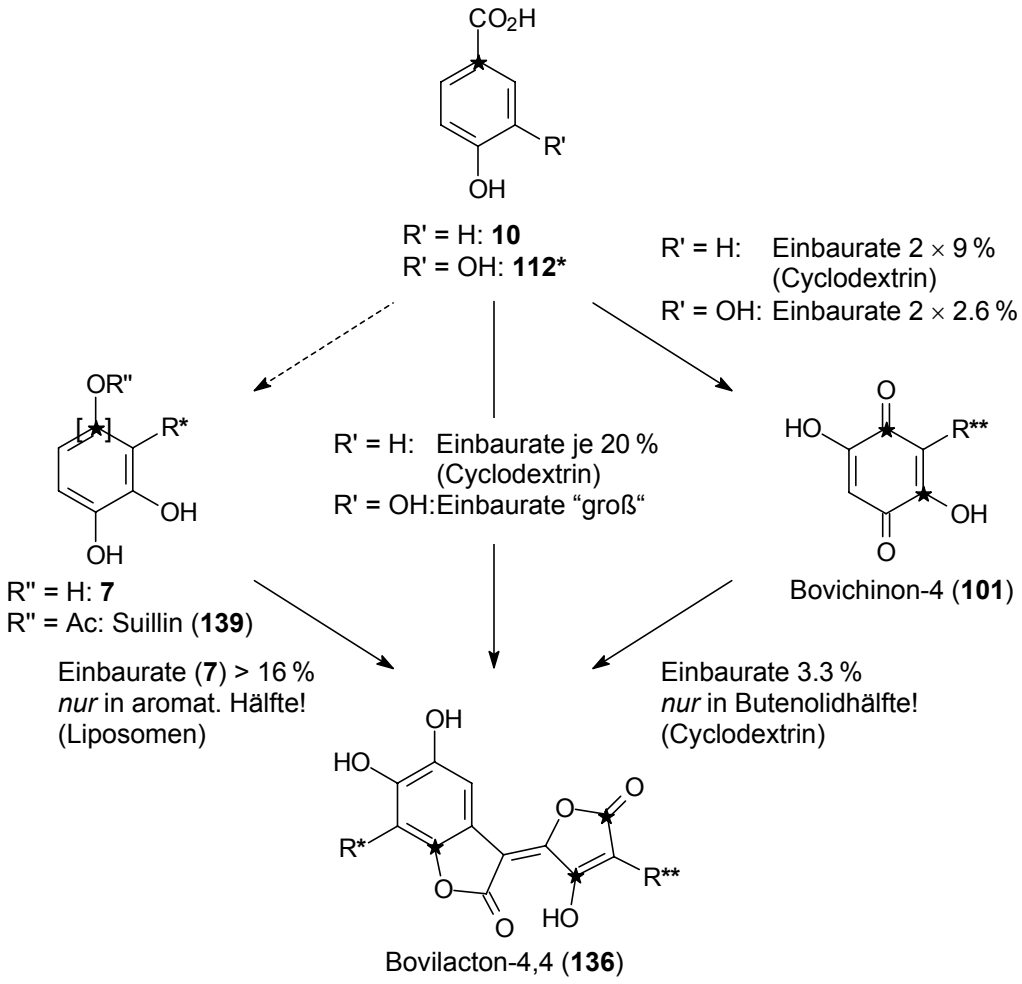
a) Bovichinon-4 (**101**) wird vom Pilz direkt als Vorläufer akzeptiert. Bovichinon wird dabei ausschließlich in die Butenolidhälfte des Bovilactons (**136**) eingebaut und nicht in die aromatische Hälfte (vgl. 7.5.5). Diese Aussage wurde durch neue und exakte Zuordnungen der NMR-Signale des Bovilactons (vgl. 7.2.2) abgesichert.
b) Mindestens eine biosynthetische Vorstufe des Butenolidringes muß C_2-Symmetrie besitzen, da, wie auch bereits von Mühlbauer beobachtet (vgl. 7.3), nach der Verfütterung von 4-Hydroxy[1-^{13}C]benzoesäure (**92***) und 3,4-Dihydroxy[1-^{13}C]benzoesäure (**112***) eine Gleichverteilung der Isotopenmarkierung auf C-10 und C-12 des Bovilactons gefunden wird. Diese Voraussetzung wird nur von einer C_2-symmetrischen, nicht aber zentrosymmetrischen[56] Vorstufe erfüllt. Wegen des raschen Tautomeriegleichgewichtes kann Bovichinon-4 (**101**) als quasi-C_2-symmetrisch gelten (vgl. hierzu Schema 46).

Die aromatische Hälfte des Bovilactons, d.h. C-1 bis C-6 mit der an C-3 gebundenen Seitenkette C-1' bis C-20', entsteht biosynthetisch nicht aus Bovichinon (**101**), sondern aus einer nicht-C_2-symmetrischen prenylierten Verbindung. Dies belegen drei unabhängige Beobachtungen (Schema 62):

a) Nach Verfütterung von 4-Hydroxy[1-^{13}C]benzoesäure (**92***) und 3,4-Dihydroxy[1-^{13}C]-benzoesäure (**112***) tritt im Aromatenring des Bovilactons *keine* Verteilung der Isotopenmarkierung auf (vgl. 7.3 und 7.5.5). Die fehlende Isotopenanreicherung an C-2 hatte die bisherige Grundlage der nun bewiesenen Biosynthesehypothese gebildet.
b) Verfüttertes Bovichinon-4 (**101**) wird ausschließlich in den Butenolidteil des Bovilactons (**136**) und nicht in die aromatische Hälfte eingebaut (vgl. 7.5.5).

[56] Bei Auftreten einer zentrosymmetrischen Vorstufe wie etwa Benzol-1,2,4,5-tetrol oder 2,5-Dihydroxybenzo-1,4-chinon wäre eine Verteilung der Isotopenmarkierung auf vier Kohlenstoffatome zu erwarten.

c) 3-(*E*,*E*,*E*)-[1'-^{13}C]Geranylgeranylbenzol-1,2,4-triol (**7***) wird vom Pilz sehr gut als Vorstufe der aromatischen Hälfte des Bovilactons (**136**) akzeptiert. Ein Einbau in die Butenolidhälfte findet nicht statt (vgl. 7.5.4).



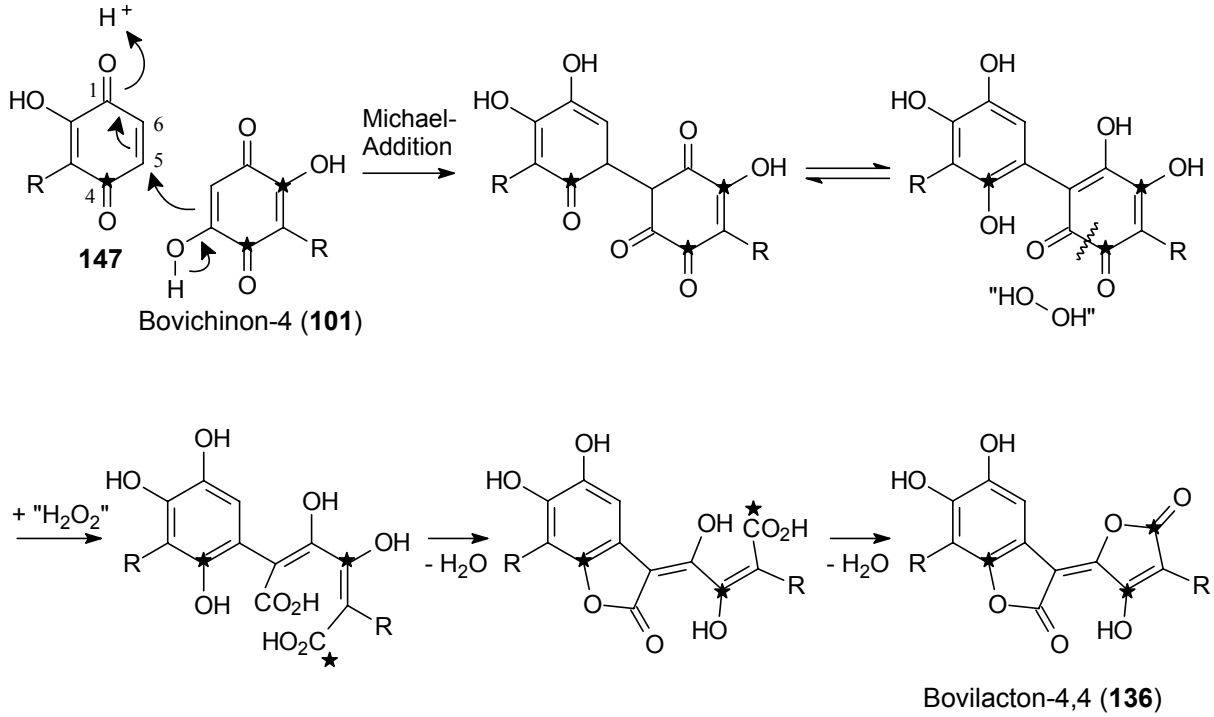
Schema 62. Zusammenfassung der Ergebnisse der Verfütterungsexperimente bezüglich der Biosynthese des Bovilactons (**136**) in *Suillus bovinus* (R = Geranylgeranyl). Mit R* und R** werden die beiden Geranylgeranylseitenketten von **136** differenziert. Gleichzeitig symbolisiert diese Bezeichnung die Isotopenmarkierung bei Verfütterung von **7*** und **101****. Wenn die verfütterten Zwischenstufen als Cyclodextrinkomplexe oder Liposomenpräparationen in Wasser solubilisiert wurden, ist dies angegeben.

Dieses Ergebnis ist interessant, da Bovilacton-4,4 (**136**) in vitro beim Erhitzen von Bovichinon-4 (**101**) in Gegenwart von acetyliertem Polyamid gebildet wird (vgl. 7.6.1.2). Obwohl diese scheinbar einfache Möglichkeit zum Aufbau von Bovilacton-4,4 (**136**) aus zwei identischen Bovichinonmolekülen besteht, wählt der Pilz einen anderen Weg und synthetisiert **136** ausschließlich durch Kupplung zweier unterschiedlicher Einheiten. Diese Aussage ist durch die neuen Arbeiten gesichert. Bei einer früheren Verfütterung von isotopenmarkiertem Bovi-

chinon-4 (**101**) war es u.a. aufgrund unzureichender Kenntnisse über die NMR-Signalzuordnungen des Bovilactons zu einer unrichtigen Biosynthesehypothese gekommen.[5]

Für die Bildung des Bovilactons wird der in Schema 63 formulierte Mechanismus einer Addition mit nachfolgender ringspaltender Umlagerung vorgeschlagen. Einleitender Schritt ist demnach eine Michael-Addition des Bovichinons (**101**) an das α,β-ungesättigte Carbonylsystem der Kohlenstoffatome C-1, C-6 und C-5 in **147**. Eine Addition des Bovichinons an das α,β-ungesättigte Carbonylsystem der Kohlenstoffatome C-4, C-5 und C-6 des Hydroxybenzochinons **147** findet nicht statt. Diese Regioselektivität wird durch die infolge der vinylogen Carbonsäureeigenschaft abgeschwächte Elektrophilie des Carbonyl-Kohlenstoffatoms C-4 von **147** erklärt. Die oxidative Ringspaltung läßt sich formal als Anlagerung von Wasserstoffperoxid darstellen. Über zwei Lactonisierungen gelangt man dann zum Bovilacton (**136**).

Mit der bei der Biosynthese des Bovilactons wichtigen Umlagerung von Hydroxybenzochinonen zu 4-Ylidenbutenoliden beschäftigt sich Abschnitt 7.6.1.2.

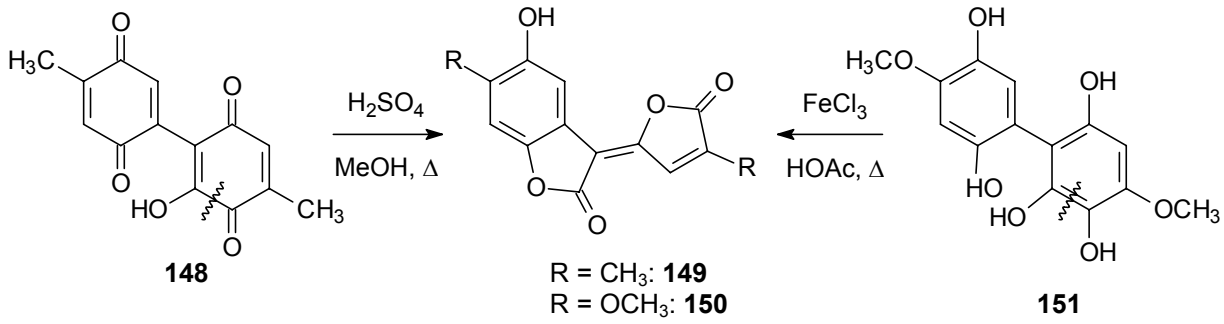


Schema 63. Vorschlag für den Mechanismus der Biosynthese von Bovilacton-4,4 (**136**) in *Suillus bovinus*. Bovichinon-4 (**101**) kuppelt mit der oxidierten Form **147** des 3-Geranylgeranylbenzol-1,2,4-triols (**7**), anschließend erfolgt eine oxidative Umlagerung vom Posternak-Typ zu Bovilacton-4,4. Mit einem Stern markiert sind die nach Verfütterung von 4-Hydroxy-[1-^{13}C]benzoesäure (**92***) ^{13}C-angereicherten Kohlenstoffatome. R = Geranylgeranyl.

7.6.1.2 Umlagerung von Hydroxybenzochinonen zu 4-Ylidenbutenoliden

Die Umlagerung von Hydroxybenzochinonen zu 4-Ylidenbutenoliden ist nicht nur bei der Biosynthese des Bovilactons (**136**) von Bedeutung. Dieser Reaktionstyp stellt vielmehr ein allgemeines Prinzip dar, was im folgenden anhand von Beispielen aus Labor und Natur verdeutlicht wird.[57]

Der Umlagerungstyp wurde zum ersten Mal 1956 von Posternak[404] beschrieben. Beim Erhitzen des Dichinons **148** in schwefelsaurem Methanol wurde das Umlagerungsprodukt **149** erhalten. Bei Oxidation von **151** mit Eisen(III)-chlorid isolierte Posternak anstelle eines zunächst erwarteten Dichinons das Umlagerungsprodukt **150** (Schema 64). Die Umlagerung von **148** zu **149** wurde von Rüth[405] nachvollzogen und die Struktur des Produktes mit modernen analytischen Methoden bestätigt.



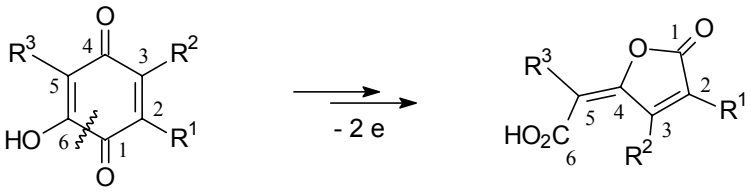
Schema 64. Erstmalige Beschreibung der Umlagerung von Hydroxychinonen zu 4-Ylidenbutenoliden durch Posternak.

Beschränkt man die Umlagerungsreaktion auf das wesentliche, so läßt sich die Umwandlung wie in Schema 65 dargestellt formulieren.

Pulvinsäure (**152**) wird in Flechten durch oxidative Ringöffnung und Umlagerung von Polyporsäure (**151**) gebildet.[406] Atromentinsäure (**142**), eine Dihydroxypulvinsäure und biosynthetische Quelle weiterer Pulvinsäurederivate,[58] entsteht in Pilzen durch oxidative Umlagerung des Dihydroxybenzochinons Atromentin (**140**) (Schema 65).[34]

Wie im Falle der Bovilactonbiosynthese kann der Posternak-Umlagerung von Hydroxychinonen eine Dimerisierung von Hydroxybenzochinonen vorgelagert sein.

[57] Eine Übersicht der allgemeinen synthetischen Zugänge zu 4-Alkylidenbutenoliden gibt Brückner.[403]
[58] Hydroxypulvinsäuren sind für die gelben und roten Farben der Fruchtkörper der meisten Boleten verantwortlich.[34]



Polyporsäure (**151**):
$R^1 = R^3 = Ph$
$R^2 = OH$

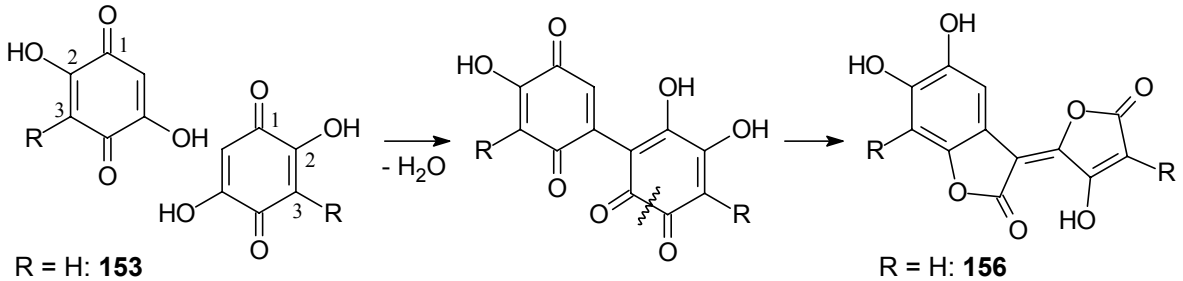
Atromentin (**140**):
$R^1 = R^3 = p\text{-HO-}C_6H_4$
$R^2 = OH$

Pulvinsäure (**152**):
$R^1 = R^3 = Ph$
$R^2 = OH$

Atromentinsäure (**142**):
$R^1 = R^3 = p\text{-HO-}C_6H_4$
$R^2 = OH$

Schema 65. Formale Darstellung der oxidativen Ringöffnung und Umlagerung von Hydroxychinonen in 4-Ylidenbutenolide (R^2 = OH: 4-Ylidentetronsäuren). Beispiele aus der Natur sind die Bildung von Pulvinsäure und von Atromentinsäure.

2,5-Dihydroxybenzo-1,4-chinon (**153**)[402] und dessen 3-alkylierte Derivate 2,5-Dihydroxy-3-methylbenzo-1,4-chinon (**154**),[407] Embelin (**155**)[407,408] und Bovichinon-4 (**101**)[402] gehen in vitro nach Kondensation zum jeweiligen Dimer Umlagerungen zu den entsprechenden 4-Alkylidentetronsäuresystemen **156**-**158** bzw. **136** ein (Schema 66). **153** und **101** werden dazu in Gegenwart von acetyliertem Polyamid, **154** und **155** in neutraler wäßriger Lösung erhitzt. Zu Beginn muß hier eine Kondensation zweier identischer Dihydroxychinonmoleküle unter Wasserabspaltung stattfinden. Die folgende Umlagerung der resultierenden Dibenzochinone entspricht vollständig der von Posternak beschriebenen. Die Elektronenbilanz des Prozesses ist ausgeglichen, es ist kein Oxidationsschritt erforderlich.



R = H: **153**
R = CH_3: **154**
R = $(CH_2)_{10}CH_3$: Embelin (**155**)
R = Geranylgeranyl: Bovichinon-4 (**101**)

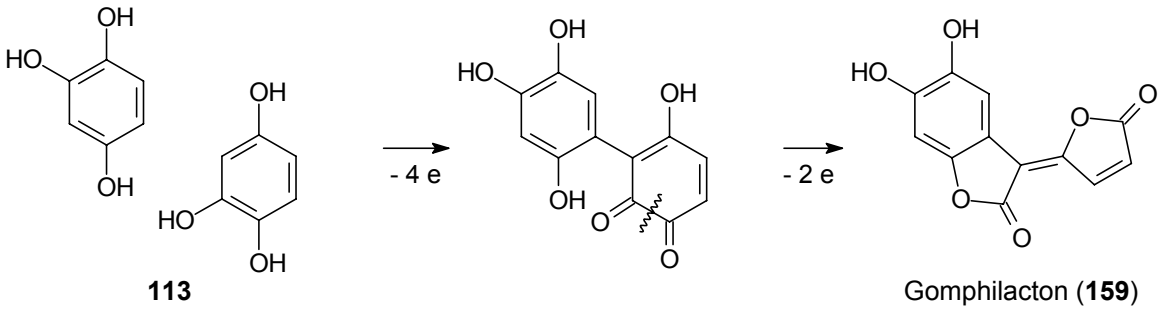
R = H: **156**
R = CH_3: **157**
R = $(CH_2)_{10}CH_3$: **158**
R = Geranylgeranyl: Bovilacton-4,4 (**136**)

Schema 66. Kondensation von 3-alkylierten 2,5-Dihydroxybenzo-1,4-chinonen mit anschließender Umlagerung zu 4-Ylidentetronsäuren.

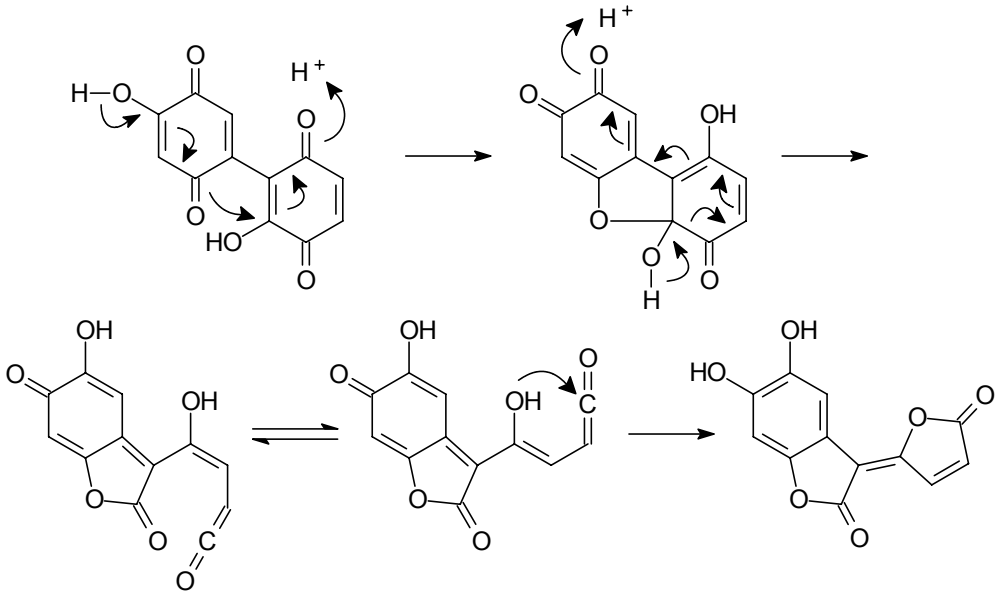
Bei der Bovilactonbiosynthese in *Suillus bovinus* (vgl. 7.6.1.1) findet im einleitenden Schritt eine Michael-Addition des Dihydroxybenzochinons **101** an das Monohydroxybenzochinon

147 statt (Schema 63), so daß zunächst kein Dibenzochinon, sondern ein arylsubstituiertes Benzochinon entsteht und im weiteren Verlauf ein zusätzlicher Oxidationsschritt folgen muß.

Gomphilacton (**159**) kommt in der Natur als Inhaltsstoff des Fleckenden Schmierlings *Gomphidius maculatus* und des Großen Gelbfußes *G. glutinosus* vor. Es entsteht biosynthetisch wahrscheinlich aus Benzol-1,2,4-triol (**113**), einem typischen Inhaltsstoff[369] von Pilzen der Gattung *Gomphidius* (Schema 67).[409] Auf welcher Oxidationsstufe die beiden Benzoltrioleinheiten verknüpft werden, ist nicht bekannt. Denkbar wäre ein Verlauf analog der Biosynthese des Bovilactons, wonach die Kupplung durch eine Michael-Addition auf der Oxidationsstufe der Monohydroxychinone erfolgt.



Schema 67. Wahrscheinliche Biosynthese des Gomphilactons (**159**) in *Gomphidius maculatus* und *G. glutinosus* aus Benzol-1,2,4-triol (**113**).[409] Die Oxidationsstufe des hypothetischen Dimerisierungsproduktes von **113** ist willkürlich gewählt.



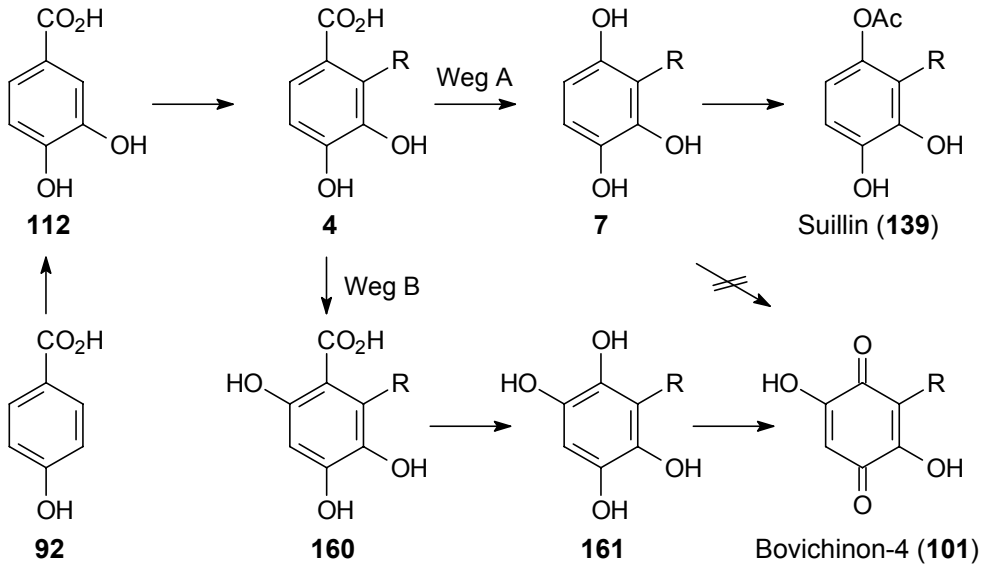
Schema 68. Alternative zu dem in Schema 63 vorgestellten Mechanismus der Posternak-Umlagerung über eine Keten-Zwischenstufe.[34] Unbeteiligte Substituenten wurden zur besseren Übersicht vernachlässigt.

Über den Mechanismus derartiger Posternak-Umlagerungen wurden noch keine Untersuchungen angestellt, so daß in Schema 63 lediglich ein Vorschlag dargestellt ist. Als Alternative wird das Auftreten einer Keten-Zwischenstufe diskutiert (Schema 68).[34,409]

7.6.2 Zur Biosynthese des Bovichinons (101)

7.6.2.1 Einführung der Seitenkette

Über die Frage, auf welcher Stufe der Biosynthese die enzymatische Polyprenylierung erfolgt, können weiterhin nur Mutmaßungen angestellt werden. Ein Einbau einer geranylgeranylierten Vorstufe in Bovichinon-4 (**101**) hat bei keinem Verfütterungsexperiment stattgefunden. Über mögliche Ursachen wird in Kap. 8 kurz diskutiert.



Schema 69. Hypothese einer Verzweigung in der Biosynthese des Suillins (**139**) und des Bovichinon-4 (**101**) (R = Geranylgeranyl).

Nach den bisherigen Vorstellungen handelt es sich bei 3-Geranylgeranylbenzol-1,2,4-triol (**7**) um eine unmittelbare Vorstufe von Bovichinon-4 (**101**). Nach Verfütterung von **7*** wird ein Isotopeneinbau aber weder in Bovichinon-4 (**101**) noch in der über Bovichinon-4 entstehenden Butenolidhälfte des Bovilacton-4,4 (**136**) detektiert. Für einen direkten Biosynthesevorläufer des Bovichinons ist dieses Verhalten ungewöhnlich. Neben der Annahme eines multifunktionalen Enzymkomplexes (s. Kap. 8) kann diese Beobachtung auch mit einer veränderten Biosynthesehypothese erklärt werden. Demnach stellt Suillin (**139**) bzw. **7** keine Vorstufe

des Bovichinon-4 (**101**) dar. Vielmehr könnte auf einer früheren Stufe eine Verzweigung des Stoffwechselweges in eine Suillin-Schiene (Weg A, Schema 69) und eine Bovichinon-Schiene (Weg B) stattfinden. Die Decarboxylierung von 2-Geranylgeranyl-3,4,6-trihydroxybenzoesäure (**160**) dürfte im Hinblick auf deren β-Ketocarbonsäurecharakter besonders leicht erfolgen.

7.6.2.2 Ein hoher Umsatz an Bovichinon-4 in *Suillus bovinus* ?

Verglichen mit vielen anderen pilzlichen Sekundärmetaboliten wird Bovichinon-4 von *Suillus bovinus* in verhältnismäßig großen Mengen produziert. Der Bovichinongehalt eines einzigen Fruchtkörpers übersteigt häufig 15 mg.

Bei dem in Kap. 7.5.5 beschriebenen Experiment fällt die ungewöhnlich hohe Verdünnungsrate des verfütterten isotopenmarkierten Bovichinons (**101****) auf. Würde Bovichinon im Fruchtkörper lediglich angereichert, so wäre – bei 10 mg [1',2'-$^{13}C_2$]Bovichinonzusatz und einem natürlichen Bovichinongehalt in der Größenordnung von 50 mg[59] – ein Verdünnungsfaktor von ca. $\frac{1}{6}$ und damit eine „Einbaurate“ an C-1' und C-2' des isolierten Bovichinons um 17 % zu erwarten. Gefunden wurde sechs Tage nach der Verfütterung eine um eine Zehnerpotenz höhere Verdünnung von etwa $\frac{1}{50}$, wie sich aus der „Einbaurate“ von 1.9 % der Positionen C-1' und C-2' im reisolierten Bovichinon (**101**) ergibt.

Von dem zum Erntezeitpunkt vorliegenden Bovichinonpool der betreffenden Fruchtkörper waren etwa 18 % alleine aus dem vom Pilz akzeptierten Anteil der verfütterten 4-Hydroxy-[1-^{13}C]benzoesäure neu synthetisiert worden, wie die ^{13}C-Einbauraten der Positionen C-2 und C-4 des isolierten Bovichinons von je 8.9 % belegen. Der tatsächliche Anteil des während des Wachstumszeitraumes neu synthetisierten Bovichinons übersteigt diesen Wert wahrscheinlich noch deutlich.

Diese Beobachtungen sprechen dafür, daß während der Inkubationszeit gleichzeitig eine erhebliche Neu-Biosynthese von Bovichinon-4 (**101**) *und* ein starker Abbau derselben Verbindung stattgefunden hat.

[59] Es wurden 32 mg Bovichinon-4 isoliert. Vorsichtig geschätzt könnte der tatsächliche Bovichinongehalt der beiden Fruchtkörper bei etwa 50 mg gelegen haben.

8 Abschließende Bemerkungen zu den Verfütterungsexperimenten mit *Suillus tridentinus* und *Suillus bovinus*

Bei Verfütterungen isotopenmarkierter prenylierter Arene an *S. tridentinus* und *S. bovinus* war in den jeweiligen Hauptfarbstoffen Tridentochinon (**102**) bzw. Bovichinon-4 (**101**) in keinem Fall eine signifikante Isotopenanreicherung detektierbar. Die nicht geranylgeranylierten Vorstufen 4-Hydroxy[1-^{13}C]benzoesäure (**92***) und 3,4-Dihydroxy[1-^{13}C]benzoesäure (**112***) dagegen werden trotz ihrer früheren Stellung im Stoffwechselweg stets zuverlässig mit guten Einbauraten inkorporiert.

Über Erklärungen zur Nichtakzeptanz polyprenylierter Arene durch die Pilze kann nur spekuliert werden. Möglicherweise werden die unpolaren Zwischenstufen bis zur Freisetzung der Hauptfarbstoffe Tridentochinon (**102**) bzw. Bovichinon-4 (**101**) an einem multifunktionalen Enzymkomplex fixiert, so daß kein Transport der Intermediate innerhalb der Zelle nötig ist. Ein Zutritt externer Vorstufen könnte demnach nur am Anfang der Sequenz und später nicht mehr oder nur sehr eingeschränkt erfolgen. Möglicherweise verhindern aber auch trotz der angewandten Cyclodextrin- und Liposomentechniken nach wie vor Transportprobleme dieser lipophilen Verbindungen im Zellverband einen effektiven Zutritt zu den Reaktionsorten.

Eine Beobachtung erscheint in diesem Zusammenhang interessant. 4-Hydroxy- (**92***) bzw. 3,4-Dihydroxy[1-^{13}C]benzoesäure (**112***) und DL-[*ring*-1-^{13}C]Tyrosin (DL-**111***) werden nach Verfütterung an *S. bovinus* sowohl in die aromatische als auch in die Butenolidhälfte des Bovilactons (**136**) inkorporiert. In Anbetracht des großen Bovichinonvorrates (**101**) im Fruchtkörper würde man eine starke „Verdünnung" des vom Pilz neu synthetisierten isotopenmarkierten Bovichinons erwarten. Demnach sollte die Butenolidhälfte des Bovilactons (**136**), welche biosynthetisch aus **92** bzw. **112** über Bovichinon-4 (**101**) entsteht, eine im Vergleich zur aromatischen Molekülhälfte des Bovilactons kleinere Einbaurate aufweisen: Bovichinon-4 (**101**) ist, wie gezeigt wurde, keine Vorstufe der aromatischen Hälfte des Bovilactons (**136**). Überraschenderweise werden aber **92***, **112*** und DL-**111*** in beide Molekülhälften des Bovilactons (**136**) stets relativ genau im Verhältnis 1:1 eingebaut.[60] Die erwartete „Verdünnung" des isotopenmarkierten Bovichinons (**101**) findet also nicht statt. Dieses Phänomen spricht dafür, daß ein Transport der lipophilen polyprenylierten Metabolite im Orga-

[60] Bei der Angabe der Einbauraten von Hydroxy[1-^{13}C]benzoesäuren im Butenolidteil des Bovilactons (**136**) ist zu berücksichtigen, daß die ursprüngliche Isotopenmarkierung auf zwei Kohlenstoffatome verteilt wird. Das Verhältnis der Einbauraten in C-4, C-10 und C-12 von **136** beträgt stets etwa 2:1:1 (vgl. 7.3 und 7.5.5).

nismus nur schlecht erfolgt bzw. daß sich die Reaktionszentren für die Biosynthese von Bovichinon-4 (**101**), **7** und Bovilacton-4,4 (**136**) räumlich nahestehen.

Dennoch konnten durch die in dieser Arbeit angewandten Verfütterungsmethoden wesentliche Verbesserungen erzielt werden.

Bei Verfütterungen von 4-Hydroxy[1-^{13}C]benzoesäure (**92***) an den Kuhröhrling *Suillus bovinus* liegen die Einbauraten in Bovichinon-4 (**101**) bei 2 × 1.1 %[61], wenn die Vorstufe in Dimethylsulfoxid gelöst verfüttert wird (vgl. 7.3). Wird **92*** vor der Applikation mit Hilfe von 2-Hydroxypropyl-β-cyclodextrin in Wasser solubilisiert, so beträgt die Einbaurate 2 × 9 % (vgl. 7.5.5). Mit hoher Wahrscheinlichkeit ist diese Verbesserung auf die in dieser Arbeit erstmals angewandte Cyclodextrin-Verfütterungsmethodik zurückzuführen.

In Bovilacton-4,4 (**136**), dem Kupplungsprodukt aus Bovichinon-4 (**101**) und 3-Geranylgeranylbenzol-1,2,4-triol (**7**) bzw. dessen oxidierter Form **147**, wird ein positiver Einbau einer prenylierten Vorstufe nur dann erhalten, wenn dem Pilz jeweils einer dieser beiden Kupplungspartner direkt zur Verfügung gestellt wird. Mit Hilfe der Liposomenverpackung des [1'-^{13}C]Geranylgeranylbenzoltriols **7*** wurde hier eine beachtliche Einbaurate von 16 % erzielt (vgl. 7.5.4). Eine frühere Verfütterung von [D_6]-**7** im Lösungsmittel Aceton hatte zu keinem Einbau geführt (vgl. 7.3).

Mit Hilfe der Cyclodextrinkomplexierung wurde eine gute Inkorporation von isotopenmarkiertem Bovichinon-4 (**101****) in Bovilacton-4,4 (**136**) erhalten: die Einbaurate betrug 3.3 % (vgl. 7.5.5). Von dem zum Erntezeitpunkt der Pilzfruchtkörper vorliegenden Bovilactonpool bestanden etwa 20 bis 24 % alleine aus dem vom Pilz akzeptierten Anteil der parallel verfütterten 4-Hydroxy[1-^{13}C]benzoesäure (**92***). Demgegenüber nimmt sich die Inkorporationsrate von **101**** relativ bescheiden aus. Obwohl Bovichinon-4 (**101**) im Unterschied zu 4-Hydroxybenzoesäure (**92**) eine direkte Vorstufe des Bovilactons (**136**) darstellt, wird **101** wesentlich schlechter eingebaut. Die Tatsache, daß überhaupt ein Einbau des Bovichinons **101**** in **136** erfolgte, ist mit großer Wahrscheinlichkeit auf die Verfütterungsmethodik zurückzuführen. Eine Verfütterung von [1'-^{13}C]Bovichinon-4 (**101***) in Aceton hatte zu keiner Inkorporation in **136** geführt.

[61] Die Angabe 2 × 1.1 % bedeutet, daß die Einbaurate für beide Kohlenstoffatome C-2 und C-4 des Bovichinons (**101**) *jeweils* 1.1 % beträgt. Die Einbaurate von **92*** in **101** beträgt somit eigentlich 2.2 % (vgl. hierzu Schema 57 und Schema 62).

Teil 2: Struktur, Synthese und biomimetischer Abbau des Naturstoffes Stephanosporin aus der Karottentrüffel *Stephanospora caroticolor* (Berk.) Pat.[410]

9 Vorkommen und Habitus von *Stephanospora caroticolor*[411]

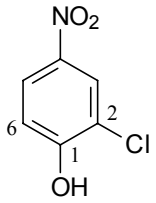
Erst beim Durchbrechen der Erdoberfläche sind die Fruchtkörper der ausgesprochen seltenen Karottentrüffel *Stephanospora caroticolor* (Berk.) Pat. an ihrer kräftig orangegelben Farbe zu erkennen. Die 1 bis 3 cm großen, unregelmäßig geformten und buckeligen Knollen (Abbildung 28) sind von weicher Konsistenz und wachsen hypogäisch in Laub- und Mischwäldern in lehmiger, kalkhaltiger Erde. Die auffällige Färbung durchzieht auch das Innere der Fruchtkörper.

Abbildung 28. Fruchtkörper von *Stephanospora caroticolor* (Berk.) Pat.

10 Bisher bekannte Inhaltsstoffe von *Stephanospora caroticolor*

Bereits seit längerem ist durch analytische HPLC-Untersuchungen bekannt, daß die gelbe Farbe methanolischer Extrakte der Karottentrüffel auf zwei Verbindungen zurückzuführen ist.[412] Eine der beiden Verbindungen wurde als 2-Chlor-4-nitrophenol (**162**) identifiziert.[413]

Mit UV/Vis-Spektren sowie einer Kationenanalyse wurde gezeigt, daß **162** im Pilz zu einem großen Teil als Kaliumsalz vorliegt.[413] Das in verschiedenen Pilzchargen gefundene Mengenverhältnis zwischen 2-Chlor-4-nitrophenol (**162**) und dem zweiten, zunächst unbekannten Farbstoff **163** unterliegt Schwankungen. So wird im Rohextrakt von beispielsweise über Nacht im Kühlschrank aufbewahrten oder getrockneten Fruchtkörpern hauptsächlich oder sogar ausschließlich 2-Chlor-4-nitrophenol (**162**) detektiert.



162

Versuche, den Farbstoff **163** mittels präparativer HPLC zu isolieren, scheiterten bisher an dessen Empfindlichkeit. Beim Einengen der Fraktionen, die **163** enthielten, war stets dessen Zersetzung zu 2-Chlor-4-nitrophenol (**162**) eingetreten.[414] Die bei der Auftrennung verwendeten Laufmittelgemische enthielten allerdings immer Trifluoressigsäure.

11 Isolierung und Strukturaufklärung von Stephanosporin (163)

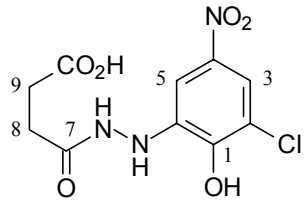
In einem etwa eine Stunde nach der Sammlung schonend bereiteten methanolischen Extrakt junger, unverletzter Fruchtkörper konnte mittels analytischer HPLC nur der Farbstoff **163** und kein Chlornitrophenol (**162**) nachgewiesen werden. Bisher[412-414] war **163** immer von 2-Chlor-4-nitrophenol (**162**) begleitet gewesen.

Der Zerfall von **163** während der Reinigung kann verhindert werden, indem die Verbindung unverzüglich mittels präparativer HPLC unter Verwendung eines säurefreien Laufmittelsystems aus dem Rohextrakt isoliert wird. Beim Einengen der Fraktionen tritt dann keine Zersetzung von **163** ein. Aus zwei Fruchtkörpern konnten so etwa 3 mg des zunächst unbekannten Farbstoffes **163** erhalten werden.

Das bereits seit längerer Zeit bekannte[412-414] ^{1}H-NMR-Spektrum (Abbildung 29) zeigt im Aromatenbereich zwei Dubletts mit δ_H 7.42 (^3J = 3.0 Hz, 1 H) und δ_H 7.79 (^3J = 3.0 Hz, 1 H) und im Aliphatenbereich ein Multiplett mit δ_H 2.60 (4 H). Eine große Hilfestellung bietet nun die Information, daß eine Umwandlung von **163** in 2-Chlor-4-nitrophenol (**162**) erfolgen kann. Im Vergleich zum Abbauprodukt **162** muß der Farbstoff **163** somit an C-6 einen zusätzlichen, spurlos abspaltbaren Substituenten tragen. Dieser Substituent beinhaltet offensichtlich eine CH_2CH_2-Gruppierung.

Aus dem HMBC-Spektrum kann entnommen werden, daß die CH_2CH_2-Einheit von zwei Carbonylgruppen mit δ_C 174.80 und 178.12 flankiert wird.

Die Molekülmasse von **163** wurde mittels eines LC/(–)-ESI-Massenspektrums zu *m/z* = 303 bestimmt. Das Isotopenmuster des Molekülpeaks bestätigt die Anwesenheit eines Chloratoms. Im LC/(–)-ESI-MS/MS des Mutterions *m/z* = 302 tritt ein Schlüsselion *m/z* = 116 auf, welches charakteristisch für eine Bernsteinsäuremonoamideinheit ist.[385]



Stephanosporin (**163**)

Bei dem Naturstoff **163** handelt es sich folglich um das 6-Hydrazinoderivat des 2-Chlor-4-nitrophenols (**162**), welches am β-Stickstoffatom einen Bernsteinsäurerest trägt. Die neue Verbindung wurde Stephanosporin benannt.[410]

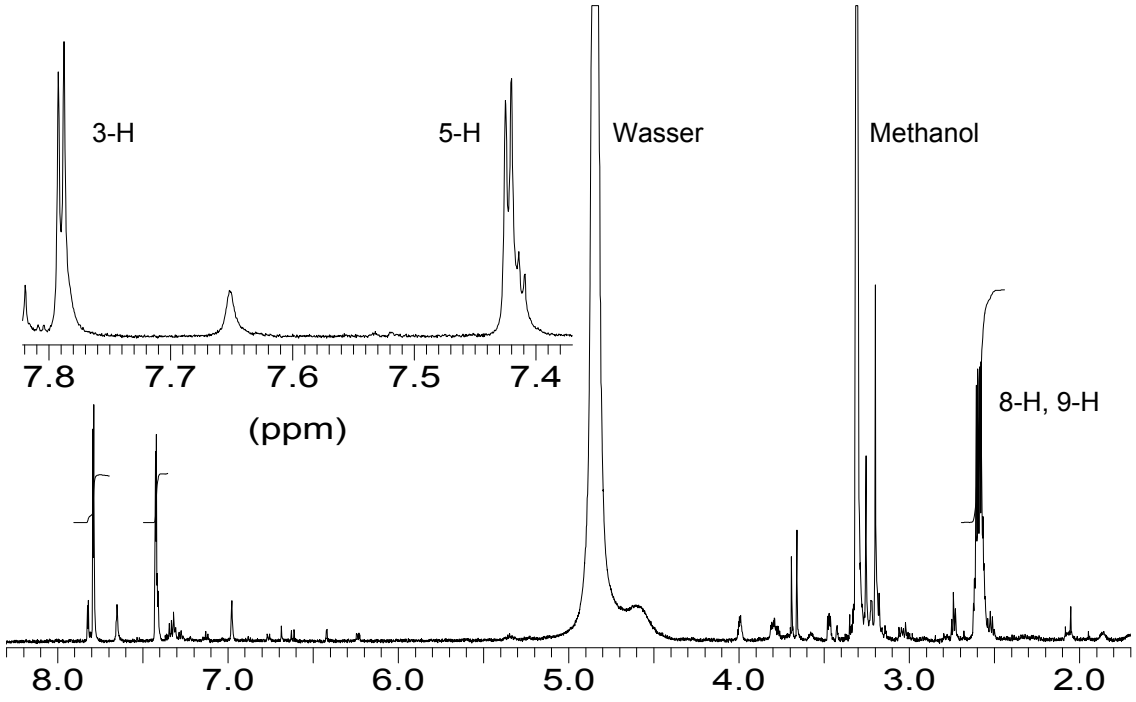


Abbildung 29. ^{1}H-NMR-Spektrum des über HPL-Chromatographie gereinigten natürlichen Stephanosporin-Dikaliumsalzes (**163**) ([D_4]Methanol, 600 MHz).

12 Synthese des Naturstoffes Stephanosporin (163)

Der Verlauf der Synthese ist in Schema 70 wiedergegeben. 2-Chlor-4,6-dinitrophenol (**165**) wurde bereits im Jahre 1859 von Peter Griess[415],62,63 durch Nitrierung von 2-Chlorphenol (**164**) hergestellt. Der Autor empfiehlt, die „Operationen im Freien an einem entlegenen Orte vorzunehmen". Griess[415] reduzierte nachfolgend selektiv die 6-Nitrogruppe mit Ammoniumsulfid, heute wird die Reduktion bevorzugt mit Natriumhydrogensulfid in ammoniakalischer Lösung durchgeführt.[418] 2-Amino-6-chlor-4-nitrophenol (**166**) fällt bei pH 3 bis 4 aus wäßriger Lösung aus. Diazotierung liefert 6-Chlor-4-nitrobenzo-1,2-chinon-2-diazid (**167**).[419] Auch diese Verbindung hielt Griess[416],62 bereits 1860 in Händen, er erkannte die Ungewöhnlichkeit der Diazoverbindungen bezüglich der „bisherigen Vorstellungen über den Aequivalentwerth des Stickstoffs". Zwei Jahre zuvor hatte Griess[420] die erste Diazoverbindung überhaupt, 4,6-Dinitrobenzo-1,2-chinon-2-diazid, synthetisiert und sich dabei noch „jedes Urtheils über ihre rationelle Constitution" enthalten.

Zur Reduktion von Diazoverbindungen zu Phenylhydrazinen sind hauptsächlich Sulfite und Zinn(II)-chlorid gebräuchlich, für kleinere Ansätze wird letzteres empfohlen.[421] Mit Zinn(II)-chlorid wird in stark salzsaurer Lösung gearbeitet. Da **167** noch eine weitere reduzierbare Gruppe enthält, ist darauf zu achten, daß das Reduktionsmittel in die Lösung des Chinondiazids eingetragen wird und nicht umgekehrt,[421] außerdem ist ein Überschuß des Reduktionsmittels zu vermeiden. 2-Chlor-6-hydrazino-4-nitrophenol fällt als Hydrochlorid **168** aus. Beim Einleiten von Schwefelwasserstoff in eine Lösung von **168** bildet sich kein Niederschlag, das Produkt ist folglich frei von Zinnsalzen.

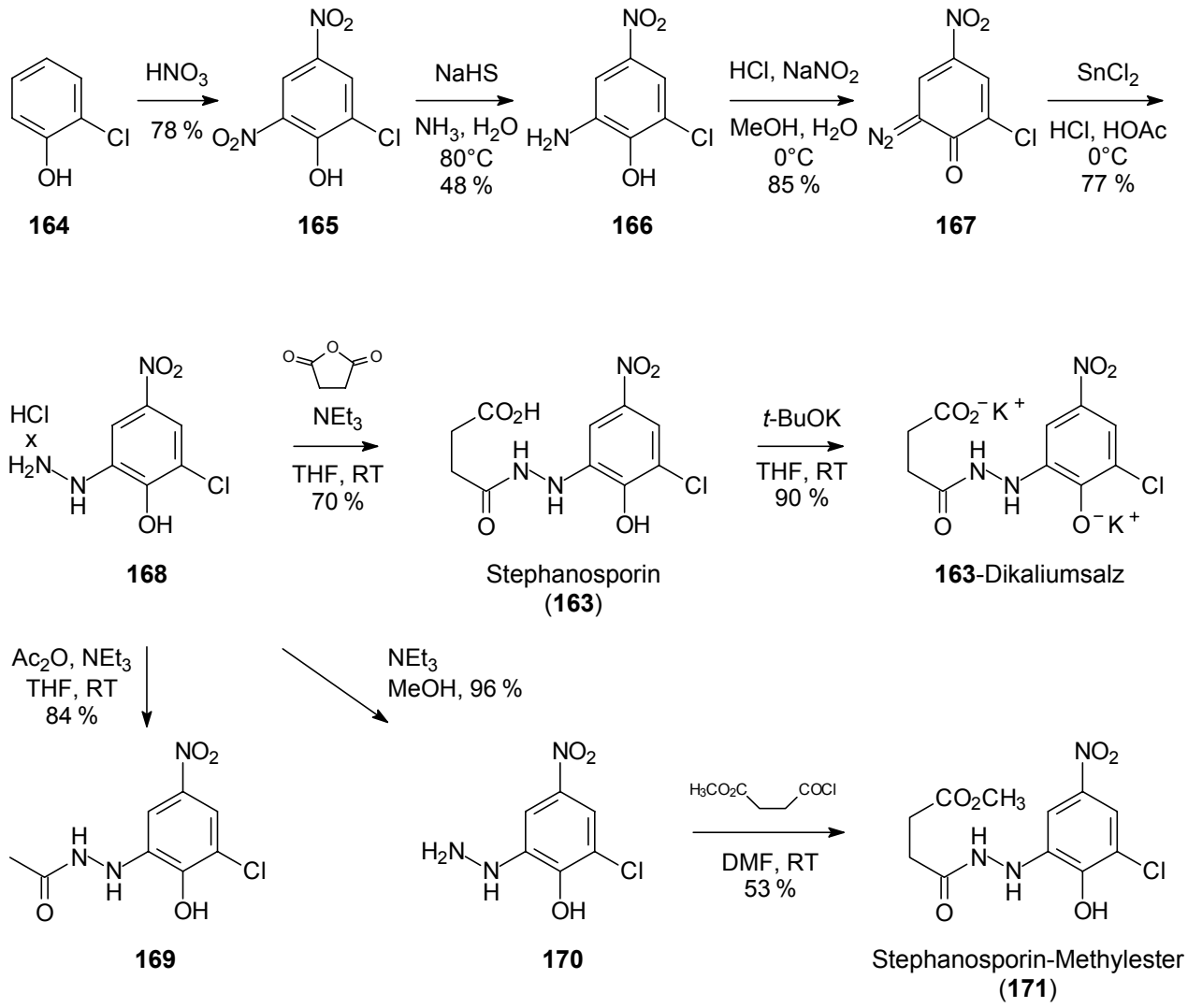
Das freie Arylhydrazin **170** wird am besten erhalten, indem eine methanolische Lösung des Hydrochlorids mit einem Unterschuß an Triethylamin versetzt wird. Es fällt als orangegelber Niederschlag in 90 % Ausbeute bzgl. der Base aus, Triethylammoniumchlorid und Reste des Hydrochlorids bleiben in Lösung.

Arylhydrazine reagieren mit Carbonsäureanhydriden bei Raumtemperatur zu 1-Acyl-2-arylhydrazinen.[421] Zur Synthese von Stephanosporin wird 2-Chlor-6-hydrazino-4-nitrophenol-Hydrochlorid (**168**) in Gegenwart von Triethylamin mit Bernsteinsäureanhydrid umgesetzt.

---

[62] Griess bezeichnet 2-Chlor-4,6-dinitrophenol (**165**) als „Dinitrochlorphenylsäure",[415] 2-Amino-6-chlor-4-nitrophenol (**166**) als „Amidonitrochlorphenylsäure"[415] und 6-Chlor-4-nitrobenzo-1,2-chinon-2-diazid (**167**) als „Diazonitrochlorphenol".[416]

[63] Ein Portrait über Leben und Werk von Peter Griess (1829-1888) verfaßte Krätz.[417]



Schema 70. Synthese von Stephanosporin (**163**) und dessen Dikaliumsalz, des Stephanosporin-Methylesters (**171**) und des *N*-Acetates **169**.

1-Acetyl-2-(3-chlor-2-hydroxy-5-nitrophenyl)hydrazin (**169**) wird analog dem Stephanosporin aus **168** und Acetanhydrid hergestellt. Stephanosporin-Methylester (**171**) wird erhalten, wenn 2-Chlor-6-hydrazino-4-nitrophenol (**170**) mit Bernsteinsäuremethylesterchlorid umgesetzt wird.

Das dunkelrote Stephanosporin-Dikaliumsalz fällt als Feststoff aus, wenn eine Lösung von Stephanosporin mit etwas mehr als zwei Äquivalenten einer Lösung von Kalium-*tert*-butylat in Tetrahydrofuran versetzt wird (Schema 70). Überschüssige Base bleibt so in Lösung und kann entfernt werden.

Im ^{1}H-NMR-Spektrum erweist sich die chemische Verschiebung der aromatischen Protonen erwartungsgemäß als pH-abhängig. Versetzt man eine Lösung von Stephanosporin (**163**) in [D_4]Methanol sukzessive bis zum Überschuß mit festem Kaliumcarbonat, so nähern sich die

chemischen Verschiebungen kontinuierlich bis zur nahezu völligen Übereinstimmung denen des Naturstoffes an. Das Signal für 6-H erfährt dabei einen Hochfeldshift (δ 7.55 → δ 7.41), das Signal für 4-H einen Tieffeldshift (δ 7.71 → δ 7.81). Die entsprechenden Verschiebungen im Naturstoff betragen δ 7.42 (6-H) und δ 7.79 (4-H). Löst man das mit *t*-BuOK hergestellte Dikaliumsalz, d.h. vollständig deprotoniertes Stephanosporin, in [D_4]Methanol, so werden die Veränderungen gegenüber der protonierten Form maximal: die chemischen Verschiebungen betragen δ 7.37 (6-H) und δ 7.82 (4-H). Die Daten belegen, daß Stephanosporin, entsprechend einem physiologischen pH-Wert, im Pilz zum großen Teil in Salzform vorliegt.

13 Abbau von Stephanosporin (163) zu 2-Chlor-4-nitrophenol (162)

Noch vor der Strukturaufklärung des Stephanosporins (**163**) hatten die geschilderten Beobachtungen bereits nahegelegt, daß es sich dabei möglicherweise um einen biosynthetischen Vorläufer von 2-Chlor-4-nitrophenol (**162**) handeln könnte. Diese Hypothese wird von den im folgenden geschilderten literaturbekannten Zusammenhängen sowie von Experimenten zum Abbau des Naturstoffes bestätigt.

13.1 1-Acyl-2-arylhydrazine und ihre Oxidationsprodukte

13.1.1 1-Acyl-2-aryldiazene als aktivierte Säurederivate

1-Acyl-2-arylhydrazine stellen nach Oxidation zum Diazensystem aktivierte Säurederivate dar. Die nach nucleophiler Abspaltung des Acylrestes resultierenden monosubstituierten Aryldiazene sind instabil. Im wäßrigen Reaktionsmedium erhält man so bei Oxidation von 1-Acyl-2-phenylhydrazinen mit Kupfersulfat die Carbonsäure, Stickstoff und Benzol.[422] In der Peptidchemie wird die Phenylhydrazidgruppe zum Schutz der Carboxylfunktion von Aminosäuren benutzt. Nach Oxidation der Hydrazinderivates zum Diazen, entweder beispielsweise mit Mangandioxid[423,424] oder, moderner, enzymatisch katalysiert,[425] zerfällt dieses in wäßrig-organischer Lösung in die Carbonsäure, Stickstoff und Benzol. Als Nucleophile können anstelle von Wasser auch Alkohole oder Amine dienen, so daß man Ester oder Amide erhält.[426] Diese Beobachtung führte zur Verwendung der Phenylhydrazideinheit

als säureaktivierende Gruppe bei Peptidkupplungen. Dabei wird als Nucleophil eine *C*-terminal geschützte α-Aminosäure mit einem in nichtwäßriger Lösung und bevorzugt in situ erzeugten 1-(α-Aminoacyl)-2-phenyldiazen umgesetzt.[426]

Umgekehrt benutzt Waldmann[427] polymergebundene *N*'-Aryl-carbonsäurehydrazide als „spurlose Anker"[428] bei der Festphasensynthese von Arenen. Nach Oxidation des Hydrazinsystems zum Diazen und Angriff eines Nucleophils (Alkohol oder Amin) zerfällt das System in den Aromaten, Stickstoff und ein polymergebundenes Carbonsäurederivat.

13.1.2 Zur Stabilität von 1-Acyl-2-aryldiazenen

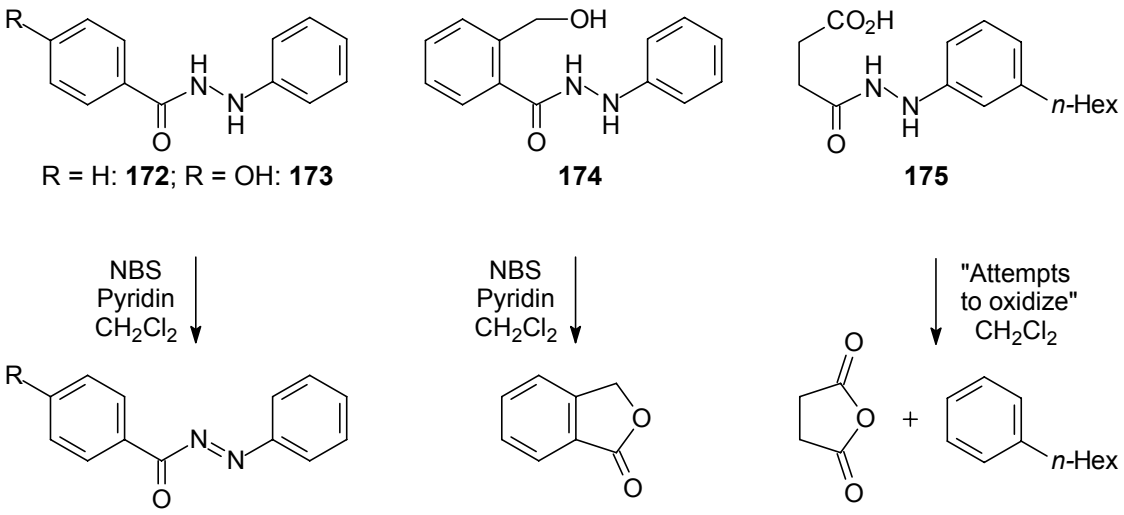
1-Acyl-2-aryldiazene sind in vielen Fällen isolierbare und einigermaßen stabile Verbindungen. Sie werden u.a.[429] aus den entsprechenden Hydrazinen durch Oxidation z.B. mit Blei(IV)-acetat[430] oder NBS[426,431] erhalten. Einer Gruppe dieses Typs kommt aber offensichtlich eine Sonderstellung zu: 1-Acyl-2-aryldiazene, welche in passender Stellung einen nucleophilen Substituenten im Acylrest tragen, zeichnen sich durch besondere Instabilität aus. Während beispielsweise die 1-Acyl-2-arylhydrazine **172** und **173** zu den korrespondierenden Diazenen oxidiert und diese auch problemlos isoliert werden können,[64] wird aus **174** kein Diazen erhalten. Stattdessen erfolgt eine Lactonisierung[431] (Schema 71). Verbindungen vom Typ **174** sind bei der Herstellung besonders kontrastreich entwickelbarer photographischer Filme von Interesse.[431,432] Ähnliche Beobachtungen werden beim Hexahydrospinamycin (**175**) gemacht, einem Derivat des Antibiotikums Spinamycin (**182**). Auch hier kann durch Oxidation kein Diazen erhalten werden, stattdessen isoliert man Succinanhydrid und *n*-Hexylbenzol (Schema 71).[433]

Von den Arylazoverbindungen allgemein besitzen 4-Hydroxyaryl- bzw. 2-Hydroxyaryldiazene eine besondere Eigenschaft: sie stehen im Gleichgewicht mit den entsprechenden Benzochinonhydrazonen (Schema 72). Die Lage des Gleichgewichtes ist substituenten- und lösungsmittelabhängig und läßt sich spektroskopisch bestimmen.[65] Aufgrund dieser Tautomerie kann den 1-Acyl-2-(4- oder 2-hydroxyaryl)diazenen wohl eine tendenziell höhere Stabilität zugesprochen werden als den nichtphenolischen Vertretern.

---

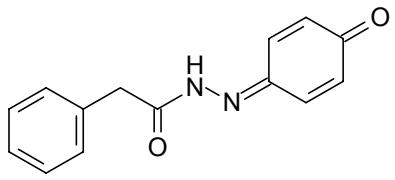
[64] Die genannten Diazene waren bei der Aufarbeitung stabil gegen verd. Salzsäure sowie Sodalösung und konnten aus Ethanol umkristallisiert werden.[431]

[65] Für Untersuchungen zur Tautomerie speziell von 1-Acyl-2-(4-hydroxyphenyl)diazenen (Acyl = Benzoyl) s. Lit.[434] Für Untersuchungen an 1-[Amino-]Acyl-2-(4- und 2-hydroxyphenyl)diazenen s. Lit.[435]

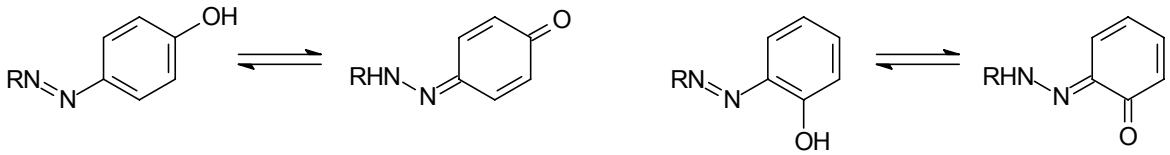


Schema 71. Oxidationsverhalten von 1-Acyl-2-arylhydrazinen. **174** und **175** tragen eine nucleophile Gruppe im Acylrest, welche auf der Diazen-Oxidationsstufe zur intramolekularen Cyclisierung geeignet ist (**172**-**174**: Lit.[431], **175**: Lit.[433]).

So wurde NG-061 (**176**), ein *N*'-Acyl-benzo-1,4-chinonhydrazon bzw. 1-Acyl-2-(4-hydroxyaryl)diazen, aus einem *Penicillium*-Stamm als Naturstoff isoliert.[436] Andererseits stellen auch 1-Acyl-2-(4-hydroxyphenyl)-diazene aktivierte Säurederivate dar und zerfallen nach nucleophiler Abspaltung des Acylrestes in Stickstoff und Phenol.[437] 1-Benzoyl-2-(4-hydroxyphenyl)diazen zersetzt sich bereits in neutraler Lösung oder, schneller, im Basischen in Benzoesäure, Stickstoff und Phenol.[435]



NG-061 (**176**)



Schema 72. Gleichgewicht von Hydroxyaryldiazen- und Benzochinonhydrazon-Formen.

13.1.3 Natur des Zerfalls von monosubstituierten Aryldiazenen

Der pK_a-Wert von Phenyldiazen beträgt etwa 18. Wird aus einem monosubstituierten Diazen-derivat mit Base das Diazenylanion erzeugt, so zerfällt dieses in Stickstoff und das entspre-

chende Carbanion.[438] Der Zerfall monosubstituierter Diazene unter Einwirkung von Sauerstoff oder anderen Oxidationsmitteln verläuft dagegen über einen Radikalmechanismus.

So läuft der Abbau von 1-Benzoyl-2-phenyldiazen in Methanol zu Benzoesäuremethylester sowie – wahrscheinlich über freies Phenyldiazen – zu Stickstoff und Benzol unter Verbrauch von Eisen(III) oder Silber(I) ab. Während der Reaktion treten Phenylradikale auf.[439] Phenyldiazen ist in sehr verdünnten, sauerstoffreien Lösungen einigermaßen stabil, in höherer Konzentration tritt eine bimolekulare Reaktion ein. Dabei entstehen neben den Hauptprodukten Benzol und Stickstoff mehrere weitere Verbindungen wie Hydrazobenzol und Biphenyl.[440] Bei Exposition des Phenyldiazens an Luft aber findet ein außerordentlich rascher Zerfall ebenfalls mit Benzol als Hauptprodukt statt,[440] wobei zwischenzeitlich Phenylradikale gebildet werden.[438] Weitere Aryldiazene zeigen ebenfalls diese „Sauerstoff-Reaktion".[441] Werden monosubstituierte Aryl- und Alkylhydrazine mit *m*-(Trifluormethyl)benzolsulfonylperoxid zum Diazen oxidiert, so kann das jeweilige Aren bzw. der Kohlenwasserstoff nur dann in befriedigenden Ausbeuten erhalten werden, wenn die Reaktionsmischung vor der Aufarbeitung Luftsauerstoff ausgesetzt wird.[442]

13.2 Experimentelle Untersuchungen zum Abbau des Stephanosporins

13.2.1 Oxidation des Stephanosporins

Der Abbau von Stephanosporin (**163**) zu 2-Chlor-4-nitrophenol (**162**) kann experimentell nachvollzogen werden. Löst man Stephanosporin in Methanol oder Tetrahydrofuran und setzt eine Lösung von drei Äquivalenten des auch von Nicholson und Cohen[439] bei der Oxidation des 1-Benzoyl-2-phenyldiazens (vgl. 13.1.3) verwendeten Eisen(III)-nitrat-Nonahydrats im selben Lösungsmittel zu, so wird **163** schnell in Chlornitrophenol umgewandelt. Daneben entsteht eine kleinere Menge 6-Chlor-4-nitrobenzo-1,2-chinon-2-diazid (**167**); Stephanosporin ist kaum mehr nachweisbar. Soweit die dünnschichtchromatographischen Analysen Aussagen erlauben, bewirkt eine „Überdosierung" des Fe^{3+} (4 Äquivalente) keine signifikante Änderung des Reaktionsverlaufs. Ebensowenig führen Variationen in der Geschwindigkeit der Zugabe des Oxidationsmittels zu Abweichungen.

Verwendet man zur Oxidation wasserfreies Eisen(III)-chlorid oder dessen Hexahydrat, so ist zu beobachten, daß die Umwandlung von Stephanosporin (**163**) in Chlornitrophenol (**162**) in Methanol besser abläuft als in Tetrahydrofuran. Auch hier wird nur wenig **167** gebildet.

Mangan(III)-acetat-Trihydrat in Ethanol oxidiert **163** relativ sauber zum Chlornitrophenol **162**. Dieses wird bei Oxidation mit Mangan(IV)-oxid dagegen nur in Spuren erhalten, Hauptprodukt ist hier das Chinondiazid **167**.

Am wenigsten Chinondiazid **167** entsteht, wenn **163** mit Cer(IV)-ammoniumnitrat oxidiert wird. Die Reaktion läuft in Methanol und Tetrahydrofuran gleichermaßen gut ab. Die Isolierung von 2-Chlor-4-nitrophenol (**162**) gelingt in 77 % Ausbeute. Succinanhydrid kann nach Oxidation mit CAN in Tetrahydrofuran mittels GC/MS nachgewiesen werden.

Mit *N*-Bromsuccinimid als Oxidationsmittel entsteht neben dem Hauptprodukt **167** nur wenig 2-Chlor-4-nitrophenol (**162**).

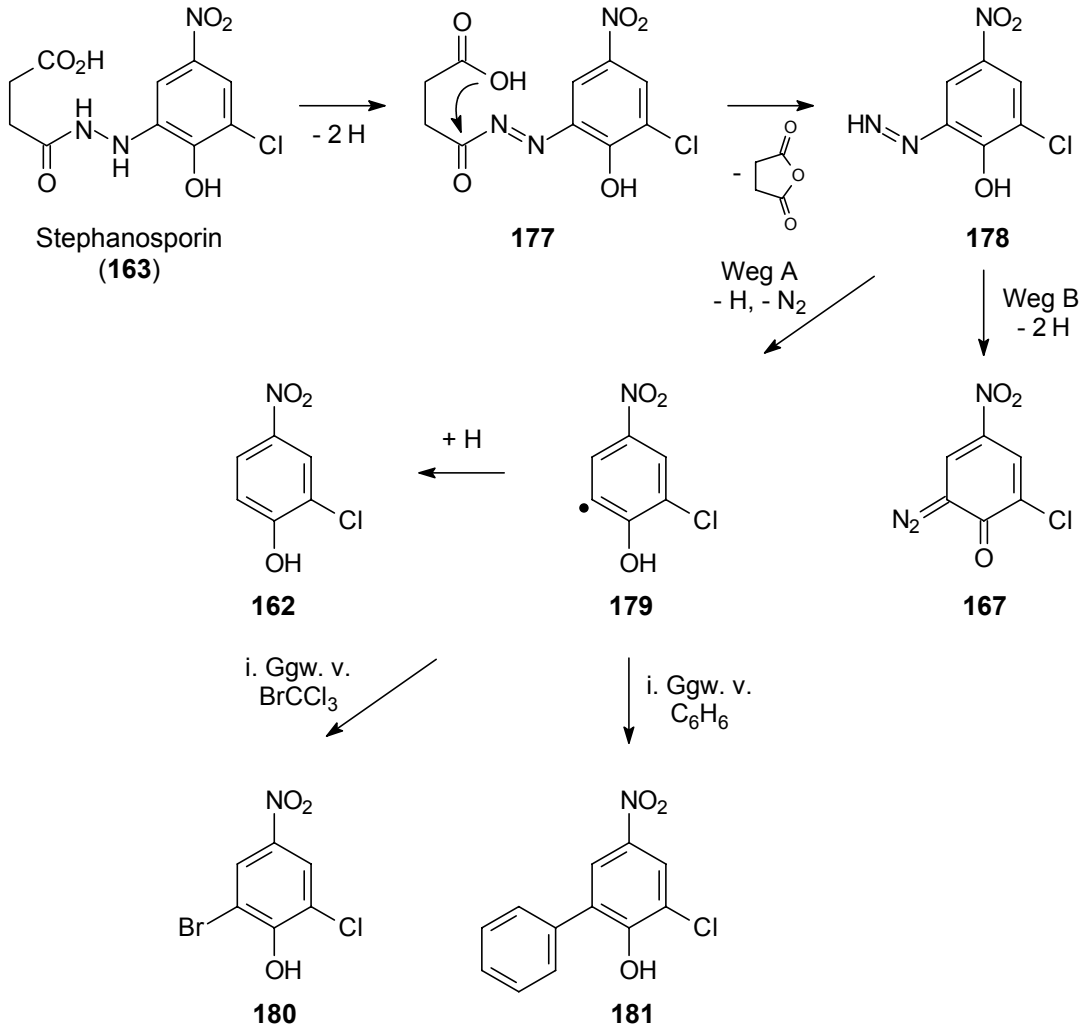
Blei(IV)-acetat läßt ebenso hauptsächlich das Chinondiazid **167** entstehen. Oxidation von **163** mit Iod in Methanol liefert nahezu ausschließlich das Chinondiazid **167** und fast kein Chlornitrophenol **162**, auch wenn nur ein Äquivalent I_2 entsprechend zwei übertragenen Elektronen eingesetzt wird. Daneben bleiben noch größere Anteile des Stephanosporins unumgesetzt.

Bei keinem Oxidationsversuch wurde ein Hinweis auf die Diazenzwischenstufe **177**, welche mit dem entsprechenden Benzo-1,2-chinonsuccinylhydrazon im Gleichgewicht stehen sollte, gefunden.

13.2.2 Nachweis des beim Abbau von Stephanosporin auftretenden Arylradikals

Der Nachweis des bei der Oxidation mit CAN intermediär auftretenden Arylradikals **179** gelingt durch die Bildung von charakteristischen Abfangprodukten (Schema 73).[443] Aus Löslichkeitsgründen ist eine Oxidation von Stephanosporin mit Cer(IV)-ammoniumnitrat in reinem Bromtrichlormethan nicht möglich. Doch auch im Gemisch mit Methanol entsteht neben Chlornitrophenol noch genügend Abfangprodukt. So kann bei Oxidation von Stephanosporin mit CAN in Bromtrichlormethan : Methanol = 2:1 in 59 % Ausbeute 2-Brom-6-chlor-4-nitrophenol (**180**) isoliert werden. Analog wird bei der CAN-Oxidation von Stephanosporin in Benzol : Methanol = 3:1 3-Chlor-5-nitro-1,1'-biphenyl-2-ol (**181**) mit einer Ausbeute von 20 % erhalten (Schema 73).

13.2.3 Mechanismus der Abbaureaktion des Stephanosporins



Schema 73. Durch Einelektronenüberträger induzierter Abbau des Stephanosporins (**163**) über die Diazenstufe zu 2-Chlor-4-nitrophenol (**162**) und Nachweis des intermediär auftretenden Arylradikals **179** durch Abfangexperimente (Weg A). Zweielektronenüberträger begünstigen die Oxidation zum Chinondiazid **167** (Weg B).

Die Oxidation des 1-Succinyl-2-arylhydrazinsystems **163** zum nicht faßbaren Aryldiazen **177** erfolgt unter Abgabe zweier Elektronen. Nach wahrscheinlich hauptsächlich intramolekularer nucleophiler Abspaltung des Acylrestes kann entweder eine weitere Zweielektronenoxidation zum Chinondiazid **167** erfolgen (Schema 73, Weg B) oder alternativ, nach Abzug eines einzelnen Elektrons, der radikalische Zerfall des Diazens in Stickstoff und das Arylradikal **179** (Weg A), welches sich durch Aufnahme eines Wasserstoffatoms aus dem Lösungsmittel unter Bildung des Chlornitrophenols **162** stabilisiert. Die Oxidationsmittel Ce(IV), Fe(III) und Mn(III) begünstigen Weg B, Oxidationsmittel wie NBS, Mn(IV), Pb(IV) und Iod den Weg A.

Das Auftreten des Arylradikals **179** wurde in Abfangexperimenten mit Bromtrichlormethan und Benzol nachgewiesen. Ein alternativer anionischer Abbaumechanismus des Aryldiazens erscheint im Pilz angesichts der physiologischen Umgebung ausgeschlossen. Die Anwesenheit einer nucleophilen Gruppe im Acylrest ist nach allen Erkenntnissen für die Instabilität der Diazen-Oxidationsstufe verantwortlich und ermöglicht somit erst den Abbauprozeß des Stephanosporins.

Im Pilz wird offensichtlich bei Verletzung der Fruchtkörper der enzymatische Abbau von Stephanosporin (**163**) zu Chlornitrophenol (**162**) eingeleitet. Möglicherweise liegt hier also ein Verteidigungsmechanismus vor. Das Verhalten von *Stephanospora caroticolor* könnte zusammen mit den in Abschnitt 14 kurz zusammengefaßten ähnlichen Beobachtungen an weiteren Organismen, meist Pilzen, für die Existenz eines biologischen Abwehrprinzips sprechen. Dieser Abwehrmechanismus würde dann auf der Oxidation von 1-Acyl-2-arylhydrazinen basieren, welche eine im Acylrest an geeigneter Position verankerte nucleophile Gruppe enthalten.

13.2.4 Biologische Aktivität von Stephanosporin und 2-Chlor-4-nitrophenol

Stephanosporin selbst und das Dikaliumsalz erwiesen sich im Test[66] nur als wenig aktiv gegen die untersuchten Bakterien und Pilze. Die Wirkung ist nicht wesentlich stärker als die des 1-Acetyl-2-(3-chlor-2-hydroxy-5-nitrophenyl)hydrazins (**169**) und des Stephanosporinmethylesters (**171**). Tendenziell ist die Wirkung des Stephanosporins (**163**) gegenüber Bakterien größer als die des 2-Chlor-4-nitrophenols (**162**). Gegenüber Pilzen hat sich **162** als wirksamer erwiesen.

Die Wirkung des 2-Chlor-4-nitrophenols (**162**) gegen Pilze ist seit langem bekannt. In einer Untersuchung zur fungiziden Aktivität von Phenolderivaten wurde die Notwendigkeit der freien Hydroxygruppe für die biologische Wirkung erwiesen. Die Aktivität wird durch eine Nitrogruppe in *para*-Position und ein Chloratom in *ortho*-Position verstärkt.[444] So ist **162** – im historischen Sinne – ein auch unter rauhen klimatischen Bedingungen effektives Lederfungizid mit etwas stärkerer Wirkung als 4-Nitrophenol.[445-447] Auch bei der Saatgutbehandlung sind Monochlormononitrophenole in ihrer antifungischen Wirkung den Chlorphenolen,

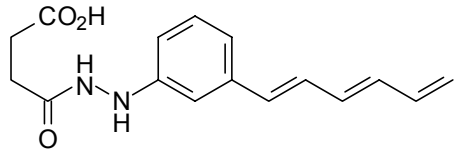
[66] Für die Durchführung der biologischen Tests sei Herrn Prof. Dr. T. Anke, Kaiserslautern, bestens gedankt. Die Testergebnisse sind in Kap. 23.5 wiedergegeben.

Nitrophenolen und Chlordinitrophenolen überlegen.[448] Ebenso wurde die Verwendung des Ammoniumsalzes von **162** zum Spritzen von Obstbäumen patentiert.[449]

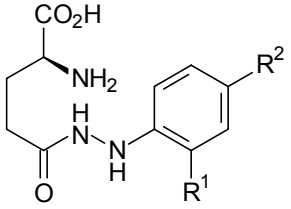
14 Mit Stephanosporin verwandte Natur- und Wirkstoffe

Interessanterweise wurde eine ganze Reihe von 1-Acyl-2-arylhydrazinen, deren Acyleinheit von verschiedenen Dicarbonsäuren, darunter auch von Bernsteinsäure, abgeleitet ist, von der Fa. Bayer AG[450],67 zur Verwendung als fungizide Mittel patentiert.

Das bereits erwähnte, aus einer *Streptomyces*-Art isolierte[451] Antibiotikum Spinamycin (**182**) besitzt wie Stephanosporin eine 1-Aryl-2-succinylhydrazin-struktur.[452] Kosower[433] untersuchte die biologische Aktivität des Hexahydrospinamycins (**175**) und verschiedener 1-Aryl-2-carbamoyl- und 1-Aryl-2-sulfamoylhydrazine und -diazene gegen Pilze. Die biologische Wirkung der „Diazen-Antibiotika“ wird auf eine Oxidation von zellulärem Glutathion zum Disulfid zurückgeführt, wobei die Diazenstufe im ständigen Cyclus von Luftsauerstoff reoxidiert wird. In Anbetracht der leichten nucleophilen Abspaltbarkeit der Acyleinheit von 1-Aryl-2-acyldiazenen mit internem Nucleophil und dem nachfolgenden Zerfall der Aryldiazene in Stickstoff und Aren erscheint ein Überdenken dieser Hypothese für Hydrazine wie Spinamycin (**182**) und Stephanosporin (**163**) oder die im folgenden erwähnten Verteter angebracht.



Spinamycin (**182**)



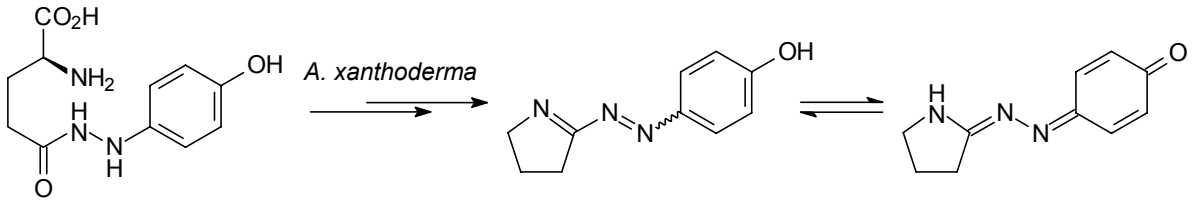
R^1	R^2	
CO_2H	H	Anthglutin (**183**)
H	CH_2OH	Agaritin (**184**)
H	CHO	Agaritinal (**185**)
H	CO_2H	**186**
H	OH	Xanthodermin (**187**)

Penicillium oxalicum produziert Anthglutin (**183**), einen spezifischen Inhibitor von γ-Glutamyl-Transpeptidase.[453,454] Unter Einwirkung von Eisen(III)-chlorid wird Anthglutin zu Glutaminsäure, Stickstoff und Benzoesäure abgebaut.[454]

Zahlreiche Vertreter der Gattung *Agaricus* (Champignons, Egerlinge) enthalten Agaritin (**184**).[455] Bei Oxidation mit Eisen(III)-chlorid zerfällt Agaritin in Glutaminsäure, Stickstoff

67 Da der Patentschutz keine Phenolderivate abdeckt, hat *St. caroticolor* zu keinem Zeitpunkt Patentrechte der Bayer AG verletzt.

und Benzylalkohol.[456] Die Aldehydform Agaritinal (**185**) wurde aus *A. subrufescens*[457] und *A. campestris*[458] isoliert, das Benzoesäurederivat **186** ist zusätzlich zu Agaritin (**184**) im Kulturchampignon *A. bisporus* enthalten.[459] Im Extrakt dieses Champignons wurde außerdem das freie 4-Hydroxymethylbenzoldiazoniumion nachgewiesen.[460] Das Diazoniumion entsteht in *A. bisporus* offenbar sowohl aus Agaritin direkt als auch über das durch enzymatische Spaltung erhaltene freie Arylhydrazin.[461] Mit der krebserregenden Wirkung u.a. des *A. bisporus* beschäftigt sich Toth.[462]



Xanthodermin (**187**) Agaricon (**188**)

Schema 74. Agaricon (dargestellt sind zwei mögliche tautomere Formen) wird in *Agaricus xanthoderma* wahrscheinlich aus Xanthodermin gebildet. Einleitender Schritt ist dabei die Oxidation zum Diazen. Nach nucleophilem Angriff der Aminogruppe auf die Carbonylgruppe wird anstelle der Abspaltung von Pyroglutaminsäure Wasser eliminiert und decarboxyliert.[34]

Eine ganz ähnliche Verbindung, das Xanthodermin (**187**), wurde von Steglich und Hilbig [34,463] aus dem unter SO_2-Zusatz bereiteten Extrakt frischer Fruchtkörper des Karbolegerlings *Agaricus xanthoderma* isoliert.[68] Auffällig ist das Verhalten von *A. xanthoderma* bei Verletzung der Fruchtkörper: die Pilze laufen chromgelb an und entwickeln einen phenolartigen Geruch. Tatsächlich wurde ein relativ hoher Phenolgehalt ermittelt.[465] Die intensive chromgelbe Farbe ist auf die Bildung von Agaricon (**188**) zurückzuführen.[463] Agaricon zersetzt sich bereits bei –20°C unter Phenolbildung. Mit großer Wahrscheinlichkeit entsteht Agaricon biosynthetisch aus Xanthodermin (**187**) (Schema 74). Ob **188** im Pilz aus Xanthodermin direkt oder über die potentielle reduzierte Vorstufe Leukoagaricon gebildet wird ist bisher ungeklärt.[464] Weiterhin enthält *A. xanthoderma* Benzo-1,4-chinon-4-diazid.[69] Die von Gill[465] beschriebenen Inhaltsstoffe Phenol (s.o.), Hydrochinon, 4,4'-Dihydroxyazobenzol und 4,4-Dihydroxybiphenyl werden nicht gefunden, wenn der Pilzextrakt mit SO_2-haltigem Methanol hergestellt wird. Phenol, Hydrochinon, 4,4'-Dihydroxyazobenzol und Benzo-1,4-chi-

[68] *A. xanthoderma* enthält nach Levenberg[455] auch Agaritin. Hilbig[464] vermutet aber, daß es sich bei Levenbergs Isolierung in Wirklichkeit um Xanthodermin gehandelt haben könnte.

[69] Das Chinondiazid wird in Extrakten gefunden, welche ohne SO_2-Zusatz hergestellt werden. Mit SO_2 findet man das Diazosulfonat als Artefakt.[463] Kurz nach Steglich berichtete eine weitere Arbeitsgruppe über die Isolierung des 4-Hydroxybenzoldiazosulfonates aus mit Sulfit behandelten Extrakten von *A. xanthoderma* und führte dessen Entstehung ebenfalls auf im Pilz vorliegendes 4-Hydroxybenzoldiazoniumion zurück.[466]

non-4-diazid sind allerdings Produkte verschiedener Oxidationsversuche (Eisen(III), Chloranil) mit Xanthodermin (**187**). Wahrscheinlich werden diese im Pilz erst bei Verletzung der Fruchtkörper aus Xanthodermin gebildet.[464]

Teil 3: Experimentelles

15 Methoden und Allgemeines

15.1 Analytik

^{1}H-NMR-Spektren wurden mit den Geräten Varian Mercury 200 (200.0 MHz) (Firma Varian, Darmstadt), Bruker ARX 300 (300.1 MHz) und Bruker AMX 600 (600.1 MHz) (Firma Bruker Physik AG, Karlsruhe) bei 300 K gemessen. Die chemischen Verschiebungen δ werden in ppm angegeben, wobei das jeweils angegebene Lösungsmittel als interner Standard verwendet wird ($CDCl_3$: δ 7.26, [D_4]Methanol: δ 3.31, [D_6]DMSO: δ 2.49, [D_6]Aceton: δ 2.04, [D_6]Benzol: δ 7.20). Wenn das Lösungsmittelsignal durch andere Signale überlagert ist wird TMS als Referenz herangezogen (Angabe „TMS“). Die Kopplungskonstanten *J* sind in Hz angegeben. Die Signale sind soweit möglich den entsprechenden Protonen zugeordnet.[70] Sind Zuordnungen austauschbar, so wird dies, wenn es sich um direkt aufeinanderfolgende Verschiebungswerte handelt, mit „/“ zwischen den Zahlenwerten oder andernfalls durch die Zeichen „#“, „†“ und „‡“ ausgedrückt. Bei Kopplungsmustern höherer Ordnung werden die Multiplizitätsbezeichnungen in Anführungsstriche gesetzt (z.B. „t“).[71]

^{13}C-NMR-Spektren wurden mit den Geräten Bruker ARX 300 (75.5 MHz) und Bruker AMX 600 (150.9 MHz) (Firma Bruker Physik AG, Karlsruhe) bei 300 K gemessen. Die chemischen Verschiebungen δ werden in ppm angegeben, wobei das jeweils angegebene Lösungsmittel als interner Standard verwendet wird ($CDCl_3$: δ 77.10, [D_4]Methanol: δ 49.00, [D_6]DMSO: δ 39.70, [D_6]Aceton: δ 29.80, [D_6]Benzol: δ 128.00). Die Kopplungskonstanten *J* sind in Hz angegeben. Die bei ^{1}H-Breitband-Entkopplung verbliebenen Kopplungen werden angegeben. Zuordnungen werden wie bei den ^{1}H-NMR-Spektren beschrieben angegeben.

2D-NMR-Experimente wurden an den Geräten Bruker AMX 600 und Bruker ARX 300 (Firma Bruker Physik AG, Karlsruhe) durchgeführt.

---

[70] Die Zuordnung von ^{1}H- und ^{13}C-NMR-Signalen in polyisoprenoiden Ketten erfolgte unter Berücksichtigung der in Kap. 2.7 vorgestellten Gesetzmäßigkeiten. Die Signale für die vinylischen Methylgruppen der Polyprenylketten werden ungeachtet der durch Kopplung bedingten Verbreiterung als Singuletts bezeichnet.

[71] Eine nützliche tabellarische Aufstellung der chemischen Verschiebungen (^{1}H und ^{13}C) von Lösungsmittelresten und häufigen Verunreinigungen in NMR-Proben findet man in Lit.[467]

Infrarot-Spektren wurden mit einem Perkin-Elmer FT-Spektrometer Spectrum-1000 (Firma Perkin-Elmer, Worwork, USA) gemessen. Feststoffe wurden als KBr-Preßling, Flüssigkeiten, Öle und schmierige Feststoffe als Film zwischen KBr-Platten vermessen. Die Wellenzahlen $\tilde{\nu}$ sind in cm^{-1} angegeben.

EI-Massenspektren wurden mit einem Finnigan MAT 95Q Sektorfeld-Quadrupol-Hybridgerät (Firma Thermo Finnigan, Bremen) mit kombinierter EI/CI-Quelle und Datensystem ICIS II oder alternativ an einem Finnigan MAT 90 Sektorfeldgerät mit kombinierter EI/FAB-Quelle und Datensystem ICIS II gemessen. Im EI-Modus betrug die Quellentemperatur 250°C und die Ionisierungsenergie 70 eV. Die Auflösung (10 % Tal) wurde auf > 1000 und für Hochauflösungsmessungen (HRMS) auf > 5000 eingestellt. Bei einer Scanrate von 0.5, 1 bzw. 2s / Dekade umfaßte der Massenbereich *m/z* = 40 bis 840, 40 bis 1640 bzw. 40 bis 3240. EI-Direktproben wurden auf den Platinfaden einer DCI-Schubstange aufgetragen und von 20°C bis 1600°C mit einer Rate von 60 oder 120°C/min geheizt. Angegeben werden die Ionisierungsmethode, die Massenzahlen *m/z* mit den zugehörigen Fragmentierungen und die relativen Intensitäten in %.

GC/EI-MS wurde an einem direkt gekoppelten Varian 3400 Gaschromatographen (Firma Varian, Darmstadt) mit split-splitlos Injektor und Autosampler A200S durchgeführt. Das Trägergas war Helium mit einer Flußrate von 1 ml/min. Die Temperatur des Injektors und der Direktkopplung zum Massenspektrometer (Finnigan MAT 90 oder MAT 95Q) betrug 300°C. Jeweils 0.2 bis 1 µl Probenlösung wurde mit einem Split von ca. 1:10 injiziert.

Säule 1: CS SE-54-CB-Kapillartrennsäule, Länge 25 m, Innendurchmesser 0.25 mm, Filmdicke 0.25 µm (Chromatographie-Service, Langerwehe, Deutschland).

Säule 2: DB-5-MS-Kapillartrennsäule, Länge 30 m, Innendurchmesser 0.25 mm, Filmdicke 0.25 µm (Firma Macherey & Nagel, Düren).

Temperaturprogramm 1: Start: 50°C (1 min isotherm), dann mit einer Rate von 25°C/min bis 300°C (4 min isotherm).

Temperaturprogramm 2: Start: 50°C (2 min isotherm), dann mit einer Rate von 10°C/min bis 300°C (15 min isotherm).

Zur Silylierung für GC-Untersuchungen wurden ca. 0.1 mg der betreffenden Probe in 20 bis 40 µl MSTFA suspendiert. Nach 1 bis 2 h Reaktionszeit im verschlossenen Gläschen bei 40 bis 50°C (vollständige Lösung) wurde direkt in das GC eingespritzt.

LC/ESI-Massenspektren wurden mit einem Triplequadrupol-Massenspektrometer Finnigan TSQ 7000 (Firma Thermo Finnigan, Bremen) gemessen. Der Massenbereich umfaßte *m/z* = 50 bis 800. Das Gerät war mit einer Gynkotek-HPLC-Anlage gekoppelt. Als Säule diente eine Nucleosil RP-18-Säule, 5 µm, Dimension 2 × 250 mm, Firma Macherey & Nagel, Düren. Die Flußrate für die HPLC betrug 250 µl/min, die Temperatur 35°C.

UV/Vis-Spektren wurden mit einem Perkin-Elmer UV/VIS-Spektrometer Lambda 16 oder einem Hewlett Packard HP 8452 Dioden-Array Spektrometer gemessen. Die Wellenlängen der Absorptionsmaxima werden in nm angegeben.

Schmelzpunkte wurden i.d.R. mit einem Reichert Thermovar Mikroheiztisch bestimmt. Die angegebenen Werte sind unkorrigiert.

Elementaranalysen wurden von der Mikroanalytischen Abteilung des Departments Chemie der Universität München durchgeführt.

PCS-Messungen wurden mit einem Zetamaster-Spektrometer der Firma Malvern Instruments Ltd., Malvern, UK durchgeführt.

15.2 Chromatographie

Analytische Dünnschichtchromatographie wurde auf DC-Aluminiumfolie, Kieselgel 60 F_{254} der Firma Merck durchgeführt. Angegeben sind das Fließmittelsystem und der R_f-Wert. Zur Detektion der Banden dienten UV-Licht der Wellenlängen 254 nm (Fluoreszenzlöschung) und 366 nm (Fluoreszenzanregung), NH_3-Gas und Iod (Iodkammer, Iod-Quarzsand-Gemisch) sowie durch Eintauchen in Cermolybdatlösung (25 g Phosphormolybdänsäure $H_3Mo_{12}O_{40}P$, 10 g Cer(IV)-sulfat, 80 ml konz. Schwefelsäure, dest. Wasser ad 1 l) und anschließendes Erhitzen mit einem Heißluftfön bis zur Blaufärbung.

Kieselgel-Säulenchromatographie wurde in zylindrischen Glassäulen an Kieselgel 60 (Korngröße 40-63 µm) der Firma Merck unter Druck durchgeführt (Flash-Chromatographie).[468] Angegeben werden die Eluenten.

Für die **präparative Radial-Schichtchromatographie** wurde ein Chromatotron Mod. 7924 der Firma Harrison Research, Palo Alto, Kalifornien, USA benutzt.

Polyamid-Säulenchromatographie wurde ohne Druck in zylindrischen Glassäulen an MN-Polyamid SC 6-Ac (acetyliertes Polycaprolactam) (Korngröße 0.05-0.16 mm) der Firma Macherey-Nagel, Düren, ausgeführt.

Größenausschlußchromatographie wurde ohne Druck in zylindrischen Glassäulen an Sephadex® LH-20 der Firma Pharmacia durchgeführt. Angegeben werden die Eluenten.

High Speed Countercurrent-Chromatographie wurde an einer Anlage der Firma Zinsser Analytic / Firma P.C. Inc. Potomac, MD, USA durchgeführt. In der Counter-Weight Triple Coil standen die Säulenvolumina 14, 80 und 240 ml zur Verfügung, die je nach Bedarf auch kombiniert werden konnten. Als Pumpe diente ein Rainin Dynamax SD-200 Solvent Delivery System. Die verwendeten Lösungsmittel wurden durch Schütteln in einem Scheidetrichter ins Gleichgewicht gesetzt, anschließend wurden die Phasen getrennt. Die Säule wurde bei stehendem Rotor mit der stationären Phase beschickt (Fluß 10 ml/min) und anschließend bei laufendem Rotor (825-950 min^{-1}) etwa 1 h mit der mobilen Phase äquilibriert (Fluß 1.5 ml/min). Die Probenaufgabe erfolgte bei stehendem Rotor über ein Dreiwegeventil direkt auf die Säule. Die Probe wurde dazu in einer kleinen Menge der mobilen – oder, wenn die Löslichkeit dies erforderte, in der stationären – Phase gelöst. Die Fraktionierung der mobilen Phase bei laufendem Rotor bzw. der stationären Phase nach Beendigung der Trennung (Fluß 10 ml/min) bei stehendem Rotor erfolgte mittels eines Fraktionssammlers.

HPL-Chromatographie im analytischen Maßstab wurde an zwei Anlagen der Firma Waters ausgeführt. Die eine Anlage bestand aus zwei Pumpen 510, einem Autosampler 717+ und einem Photodioden-Array-Detektor 996 mit Gradientensteuerung und Auswertung über PC (Software Millenium). Die andere Anlage bestand aus einer Pumpen- und Gradientensteuereinheit 600E mit einem Injektor U6K und einem Photodioden-Array-Detektor 990+. Zur

Probenvorbereitung wurde eine Festphasenextraktion über die dem Säulenmaterial entsprechende Kartusche der Firma Macherey-Nagel, Düren, durchgeführt.

System 1 Säulenmaterial: Nucleosil RP-18, 5 µm (Firma Knauer, Berlin).
Säulendimension: 4 × 250 mm.
Gradient: Start: 100 % A, 50 min: 100 % B (linear), 65 min: 100 % B.
Laufmittel A: Wasser : Acetonitril = 9:1.
Laufmittel B: Acetonitril.
Flußrate:1 ml/min.

HPL-Chromatographie im präparativen Maßstab wurde entweder an einer Waters-Anlage, bestehend aus zwei Pumpen 590 EF, einer Gradientensteuereinheit 680 und einem Injektor U6K, einem Knauer Variable Wavelength Monitor mit superpräparativer Flußzelle und einem Knauer Linienschreiber TY oder an einer Merck-Hitachi-Anlage, bestehend aus einer L-6200 Intelligent Pumpe, einem 655A Variable Wavelength UV-Monitor und einem D-2000 Chromato-Integrator durchgeführt.
Lösungsmittel in HPLC-Qualität wurden von der Firma Merck bezogen und vor Gebrauch filtriert und entgast. Wasser wurde mit einer Reinstwasseranlage Milli-Qplus der Firma Millipore aufbereitet. Zur Probenvorbereitung wurde eine Festphasenextraktion über die dem Säulenmaterial entsprechende Kartusche der Firma Macherey-Nagel, Düren, durchgeführt.

System 2 Säulenmaterial: Nucleosil RP-18, 5 µm (Firma Bischoff, Leonberg).
Säulendimension: 20 × 250 mm.
Gradient: Start: 100 % A, 50 min: 100 % B (linear), 65 min: 100 % B.
Laufmittel A: Wasser : Acetonitril = 9:1.
Laufmittel B: Acetonitril.
Flußrate: 5 ml/min.

System 3 Säulenmaterial: Nucleosil RP-18, 7 µm (Firma Knauer, Berlin).
Säulendimension: 20 × 250 mm.
Gradient: Start: 100 % Wasser, 40 min: 100 % Methanol (linear), 60 min: 100 % Methanol.
Flußrate: 6 ml/min.

15.3 Extrusion von Liposomen

Die Extrusion von Liposomen wurde unter einem Stickstoffdruck von 3 bar mit einem 10 ml-Lipex-Thermobarrel-Extruder (Firma Northern Lipids Inc., Vancouver, Kanada) bei 30°C duchgeführt. Es wurde eine PVP-haltige 400 nm-Polycarbonatmembran (Durchmesser 25 mm) der Firma Osmotics und eine PE-Drain Disc (Durchmesser 25 mm) der Firma Whatman Filtration Products benutzt.

15.4 Allgemeine Arbeitsmethoden, Lösungsmittel, Spezialchemikalien

Auf die Beschreibung von Standardmethoden wird verzichtet. Für alle feuchtigkeitsempfindlichen Reaktionen (Verwendung von abs. Lösungsmitteln und/oder metallorganischen Reagenzien) wurden im Vakuum oder im Argonstrom mit einem Heißluftfön ausgeheizte und mit Argon befüllte Glasapparaturen verwendet.

Die Konzentrationen von Alkyllithiumlösungen wurden vor Gebrauch durch Titration mit Diphenylessigsäure bestimmt.[469],[72]

Abs. Tetrahydrofuran wurde von Kalium / Benzophenon[471] und abs. Methylenchlorid von Sicapent® der Firma Merck jeweils unter Stickstoffatmosphäre abdestilliert. Abs. Diethylether, abs. Methanol und abs. Toluol wurden über Molsieb 4 Å getrocknet von der Firma Fluka bezogen. Mit Ausnahme von Diethylether wurden alle Lösungsmittel für Extraktion und Chromatographie durch Destillation gereinigt. Angaben zur Zusammensetzung von Lösungsmittelgemischen verstehen sich stets als Volumenverhältnisse.

Natrium[1-^{13}C]acetat, Natrium[2-^{13}C]acetat und Natrium[1,2-$^{13}C_2$]acetat (alle mit 99 % ^{13}C-Gehalt) wurden von der Firma Euriso-Top SA, Saint-Aubin Cedex, Frankreich bezogen.

Kupfer(I)-iodid (99.999 %) und Kupfer(I)-chlorid (99.995+ %) wurden von der Fa. Aldrich bezogen.

Ei-Phosphatidylcholin („Lipoid E-PC“) wurde von der Firma Lipoid GmbH, Ludwigshafen bezogen. Zusammensetzung laut Firmenangaben: 33 % (w/w) Palmitinsäure, 27 % Ölsäure und Isomere, 17 % Linolsäure, 14 % Stearinsäure, 4 % Arachidonsäure, 1 % Palmitoleinsäure, 3 % höher ungesättigte Fettsäuren.

[72] Für die Titration von Alkyllithiumlösungen wird auch das im Vergleich zu Diphenylessigsäure teurere 4-Biphenylmethanol wegen des schärferen Farbumschlages empfohlen.[470]

15.5 Bestimmung der Einbauraten isotopenmarkierter Verbindungen

Die quantitative Bestimmung der Inkorporation einer ^{13}C-isotopenmarkierten Biosynthesezwischenstufe in einen Sekundärmetaboliten erfolgt mittels ^{13}C-NMR-Spektroskopie. Die Einbaurate (angegeben in %) einer ^{13}C-isotopenmarkierten Verbindung in einen Stoffwechselmetaboliten berechnet sich nach Gleichung 1. Dabei wird der natürliche ^{13}C-Gehalt in Höhe von 1.1 % vom ermittelten ^{13}C-Gesamtgehalt des betreffenden Atoms subtrahiert.

$$\text{Einbaurate} = \frac{a}{b} \cdot 1.1\ \% - 1.1\ \% \qquad (1)$$

a: Integralwert des Signals des angereicherten Atoms

b: Integralwert desselben Signals im Spektrum der unmarkierten Verbindung bzw. Integralwert des Signals eines chemisch sehr ähnlichen Kohlenstoffatoms

a) Einbau von $^{13}C_1$-Einheiten

Für den Intensitätsvergleich von Kohlenstoffsignalen muß zwischen den Meßpulsen durch ausreichend lange Wartezeit eine im Idealfall vollständige Spin-Gitter-Relaxation ermöglicht werden („quantitatives Spektrum“). Benötigt werden unter identischen Bedingungen gemessene Spektren sowohl der unmarkierten Substanz als auch der isotopenangereicherten Verbindung. Liegt ein zum angereicherten C-Atom chemisch sehr ähnliches nichtangereichertes C-Atom im Molekül vor, so kann auf das Spektrum der unmarkierten Verbindung verzichtet und ein direkter Intensitätsvergleich vorgenommen werden. Als untere Grenze einer zweifelsfrei detektierbaren Einbaurate wird i.a. 0.5 % betrachtet.

b) Einbau von $^{13}C_2$-Einheiten

Zur Bestimmung der Einbaurate in mit $^{13}C_2$-Einheiten markierten Verbindungen ist lediglich das unter normalen Meßbedingungen aufgenommene ^{13}C-NMR-Spektrum des isotopenangereicherten Metaboliten erforderlich. Dies gilt nur, wenn im verfütterten Precursor ausschließlich $^{13}C_2$-Einheiten und keine signifikanten Anteile von ^{13}C–^{12}C-Paaren vorliegen. Die beiden Linien der durch $^1J_{CC}$-Kopplung verursachten Dublettaufspaltung stellen dann den ^{13}C-Einbau (Wert a–b) dar. Das Singulettsignal zwischen den Linien des Dubletts entspricht dem zum Vergleich heranzuziehenden natürlichen ^{13}C-Gehalt (Wert b). Nach Umformung von Gleichung 1 lassen sich die aus den Integralwerten des NMR-Spektrums abzulesenden Werte bequem einsetzen (Gleichung 2). Bei Vorliegen von $^{13}C_2$-Einheiten können auch kleinere Einbauraten als 0.5 % unzweifelhaft erkannt und bestimmt werden.

$$\text{Einbaurate} = \frac{a - b}{b} \cdot 1.1\ \% \qquad (2)$$

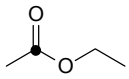
16 Synthese von (*E*,*E*,*E*)-Polyprenylalkoholen und -bromiden

16.1 ^{13}C-isotopenmarkierter Essigsäureethylester (9*, 9**)

In einer trockenen und mit Schutzgas befüllten kleinen Destillationsapparatur werden Natrium[1-^{13}C]acetat (**8***) bzw. Natrium[1,2-$^{13}C_2$]acetat (**8****) (1 Äquiv.) und trockenes Diethylsulfat (3 Äquiv.) vorgelegt. Das hygroskopische Natriumacetat ist zuvor sorgfältig i. Vak. zu trocknen (Trockenpistole, $CaCl_2$, 100°C). Unter Rühren erhitzt man das Gemisch auf 145°C, worauf das Erhitzen langsam und vorsichtig fortgesetzt wird. Bei einer Ölbadtemperatur von 155-165°C setzt die Reaktion schlagartig unter Aufschäumen ein und der Essigsäureethylester destilliert als farblose Flüssigkeit in die auf 0°C gekühlte Vorlage über. Um eine möglichst hohe Ausbeute zu erlangen, kann der Destillationskolben längere Zeit und auf bis zu 170°C erhitzt werden. In geringen Mengen werden Ethanol und Diethylether als Zersetzungsprodukte des Diethylsulfats gebildet, ferner kann das Produkt einen geringen Anteil Diethylsulfat enthalten, es wird aber i.d.R. keine weitere Reinigung vorgenommen.

Ausbeute: um 85 % (Ansatzgröße 13 bis 90 mmol), farblose Flüssigkeit.

[1-^{13}C]Essigsäureethylester (**9***)



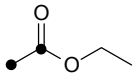
Durch Umsetzung von Natrium[1-^{13}C]acetat (**8***) mit Diethylsulfat.

^{1}H-NMR (300 MHz, $CDCl_3$): δ = 1.25 (t, $^3J_{HH}$ = 7.1 Hz, 3 H, $^{13}CO_2CH_2CH_3$), 2.03 (d, $^2J_{CH}$ = 6.8 Hz, 3 H, $CH_3{}^{13}CO$), 4.10 (qd, $^3J_{HH}$ = 7.1 Hz, $^3J_{CH}$ = 3.1 Hz, 2 H, $^{13}CO_2CH_2CH_3$).

^{13}C-NMR (75 MHz, $CDCl_3$): δ = 14.25 ($^{13}CO_2CH_2CH_3$), 21.09 (d, $^1J_{CC}$ = 59 Hz, $CH_3{}^{13}CO$), 60.46 ($^{13}CO_2CH_2CH_3$), 171.22 (^{13}CO).

$^{13}CC_3H_8O_2$ (89.10).

[1,2-$^{13}C_2$]Essigsäureethylester (**9****)



Durch Umsetzung von Natrium[1,2-$^{13}C_2$]acetat (**8****) mit Diethylsulfat.

^{1}H-NMR (300 MHz, $CDCl_3$): δ = 1.24 (t, $^{3}J_{HH}$ = 7.2 Hz, 3 H, $^{13}CO_2CH_2CH_3$), 2.02 (dd, $^{1}J_{CH}$ = 129 Hz, $^{2}J_{CH}$ = 6.9 Hz, 3 H, $^{13}CH_3$), 4.10 (qd, $^{3}J_{HH}$ = 7.2 Hz, $^{3}J_{CH}$ = 3.1 Hz, $^{13}CO_2CH_2CH_3$).

^{13}C-NMR (75 MHz, $CDCl_3$): δ = 14.23 (d, $^{3}J_{CC}$ = 2.1 Hz, $^{13}CO_2CH_2CH_3$), 21.06 (d, $^{1}J_{CC}$ = 59.3 Hz, $^{13}CH_3$), 60.44 ($^{13}CO_2CH_2CH_3$), 171.20 (d, $^{1}J_{CC}$ = 59.3 Hz, ^{13}CO).

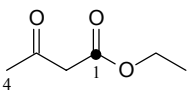
$^{13}C_2C_2H_8O_2$ (90.09).

16.2 ^{13}C-isotopenmarkierter Acetessigsäureethylester (10*, 10**)

Nach Lit.[207] wird in einem Schlenkkolben Hexamethyldisilazan (2.7 Äquiv.) in abs. Tetrahydrofuran gelöst (c = 1.5 M). Nach Kühlung auf –78°C wird eine Lösung von *n*-Butyllithium (2 Äquiv.) in Hexan zugegeben, worauf man auf RT kommen läßt, kurz rührt und auf –78°C kühlt. Man tropft langsam eine Lösung des entsprechenden *C*-isotopenmarkierten Essigsäureethylesters (**9*** bzw. **9****) (1.0 Äquiv.) in Tetrahydrofuran zu, rührt 0.5 h und setzt anschließend tropfenweise Acetylchlorid zu. Nach 2 h Rühren entfernt man das Kühlbad, läßt auf RT kommen und versetzt bis zur Neutralität oder leicht sauren Reaktion mit verd. Salzsäure. Es wird mehrmals mit Diethylether extrahiert, mit 5-proz. Natriumhydrogencarbonatlösung und ges. NaCl-Lösung gewaschen und über Na_2SO_4 getrocknet. Nach Entfernen des Lösungsmittels i. Vak. – wobei die Flüchtigkeit des Produktes zu beachten ist – wird mittels Vakuumdestillation bei ca. 20 mbar (Kühlung der Vorlage im Eisbad) gereinigt. Die Nebenprodukte Trimethylsilylalkohol und Hexamethyldisiloxan sind flüchtiger als das Produkt.

Ausbeute 60 bis 65 % (Ansatzgröße 20 bis 75 mmol).
Sdp. 65°C (18 mbar).
R_f 0.30 (Isohexan : Essigsäureethylester = 7:1).

[1-^{13}C]Acetessigsäureethylester (**10***)



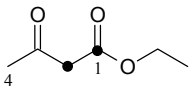
Durch Umsetzung von [1-^{13}C]Essigsäureethylester (**9***) mit Acetylchlorid.

^{1}H-NMR (300 MHz, $CDCl_3$): δ = 1.28 (t, $^{3}J_{HH}$ = 7.1 Hz, 3 H, $^{13}CO_2CH_2CH_3$), 2.27 (s, 3 H, 4-H), 3.44 (d, $^{2}J_{CH}$ = 7.3 Hz, 2 H, 2-H), 4.20 (qd, $^{3}J_{HH}$ = 7.2 Hz, $^{3}J_{CH}$ = 3.2 Hz, 2 H, $^{13}CO_2CH_2CH_3$), 4.97 (s, ~0.06 H, 2-H, Enolform).

^{13}C-NMR (75 MHz, $CDCl_3$): δ = 14.15 (d, $^3J_{CC}$ = 2.1 Hz, $^{13}CO_2CH_2\mathit{C}H_3$), 30.18 (C-4), 50.21 (d, $^1J_{CC}$ = 58.4 Hz, C-2), 61.45 (d, $^2J_{CC}$ = 2.3 Hz, $^{13}CO_2\mathit{C}H_2CH_3$), 167.18 (^{13}C-1), 172.70 (^{13}C-1, Enolform), 200.68 (d, $^2J_{CC}$ = 2.4 Hz, C-3).

$^{13}CC_5H_{10}O_3$ (131.13).

[1,2-$^{13}C_2$]Acetessigsäureethylester (**10****)



Durch Umsetzung von [1,2-$^{13}C_2$]Essigsäureethylester (**9****) mit Acetylchlorid.

^{1}H-NMR (300 MHz, $CDCl_3$): δ = 1.27 (t, $^3J_{HH}$ = 7.2 Hz, 3 H, $^{13}CO_2CH_2C\mathit{H}_3$), 2.25 (d, $^3J_{CH}$ = 1.4 Hz, 3 H, 4-H), 3.42 (dd, $^1J_{CH}$ = 130 Hz, $^2J_{CH}$ = 7.4 Hz, 2 H, 2-H), 4.19 (qd, $^3J_{HH}$ = 7.2 Hz, $^3J_{CH}$ = 3.1 Hz, 2 H, $^{13}CO_2C\mathit{H}_2CH_3$), 4.96 (d, $^1J_{CH}$ = 169 Hz, ~0.07 H, 2-H, Enolform).

^{13}C-NMR (75 MHz, $CDCl_3$): δ = 14.14 ($^{13}CO_2CH_2\mathit{C}H_3$), 30.16 (d, $^2J_{CC}$ = 14.7 Hz, C-4), 50.19 (d, $^1J_{CC}$ = 58.4 Hz, ^{13}C-2), 61.42 ($^{13}CO_2\mathit{C}H_2CH_3$), 89.81 (d, $^1J_{CC}$ = 75.3 Hz, ^{13}C-2, Enolform), 167.18 (d, $^1J_{CC}$ = 58.4 Hz, ^{13}C-1), 172.69 (d, $^1J_{CC}$ = 75.3 Hz, ^{13}C-1, Enolform), 200.69 (d, $^1J_{CC}$ = 37.9 Hz, C-3).

EI-MS *m/z* (%) = 132 (15) $[M]^+$, 117 (4) $[M–CH_3]^+$, 104 (9), 90 (60) $[M–C_2H_2O]^+$, 87 (47) $[M–C_2H_5O]^+$, 71 (10), 62 (22), 45 (21) $[C_2H_5O]^+$, 44 (26), 43 (100) $[C_2H_3O]^+$.

$^{13}C_2C_4H_{10}O_3$ (132.12).

16.3 C-4-Alkylierung von Acetessigsäureethylester

Nach Lit.[204,472] wird Natriumhydrid (1.1 Äquiv.) in abs. Tetrahydrofuran suspendiert (c(NaH) ≈ 0.45 M) und auf 0°C gekühlt. Nach tropfenweiser Zugabe von Acetessigsäureethylester[73] (**10**, **10*** bzw. **10****) (1 Äquiv.) rührt man 10 min und setzt langsam eine Lösung von *n*-Butyllithium (1.05 Äquiv.) in Hexan zu. Nach 10 min Rühren wird eine Lösung von Geranylbromid (**11**) bzw. (*E*,*E*)-Farnesylbromid (**12**) (1.1 Äquiv.) in Tetrahydrofuran langsam zugegeben und anschließend 1.5 h bei 0°C gerührt. Es wird mit ges. wäßr. Ammoniumchloridlösung versetzt und mehrmals mit Diethylether extrahiert. Nach dem Waschen der vereinigten organischen Phasen mit Wasser (2 ×) und ges. NaCl-Lösung wird

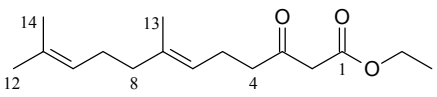
[73] Das Natriumsalz des (nicht isotopenmarkierten) Acetessigsäureethylesters ist auch im Handel erhältlich.

über Na_2SO_4 getrocknet, das Lösungsmittel i. Vak. entfernt und das Produkt mittels Säulenchromatographie über Kieselgel (Isohexan : Essigsäureethylester = 10:1 bzw. 15:1) gereinigt.

a) Farnesolderivat

(*E*)-7,11-Dimethyl-3-oxo-dodeca-6,10-diensäureethylester (**13**)

6.51 g (50.0 mmol) Acetessigsäureethylester (**10**) werden mit Geranylbromid (**11**) umgesetzt.



Ausbeute 7.46 g (28.0 mmol, 56 %), gelbliche Flüssigkeit.

R_f 0.43 (Isohexan : Essigsäureethylester = 10:1).

^{1}H-NMR (300 MHz, $CDCl_3$): δ = 1.26 (t, ^3J = 7.1 Hz, 3 H, $CO_2CH_2CH_3$), 1.57 (s, 3 H) / 1.59 (s, 3 H) (13-H, 14-H), 1.66 (s, 3 H, 12-H), 1.90-2.09 (m, 4 H, 8-H, 9-H), 2.21-2.32 (m, 2 H, 5-H), 2.55 („t“, ^3J = 7.4 Hz, 2 H, 4-H), 3.40 (s, 2 H, 2-H), 4.17 (q, ^3J = 7.1 Hz, 2 H, $CO_2CH_2CH_3$), 4.95 (s, ~0.07 H, 2-H, Enolform), 5.05 (m, 2 H, 6-H, 10-H).

^{13}C-NMR (75 MHz, $CDCl_3$): δ = 14.13 ($CO_2CH_2CH_3$), 16.00 (C-13), 17.68 (C-14), 22.21 (C-5), 25.68 (C-12), 26.64 (C-9), 39.66 (C-8), 43.06 (C-4), 49.42 (C-2), 61.32 ($CO_2CH_2CH_3$), 89.20 (< 0.1 C, C-2, Enolform), 122.15 / 124.19 (C-6, C-10), 131.44 (C-11), 136.76 (C-7), 167.22 (C-1), 202.57 (C-3).

EI-MS *m/z* (%) = 266 (9) $[M]^+$, 248 (15), 223 (14), 205 (44), 197 (14) $[M–C_5H_9]^+$, 151 (11), 143 (18), 136 (49), 109 (100), 105 (29), 93 (12), 81 (40) $[C_6H_9]^+$, 69 (62) $[C_5H_9]^+$, 41 (19) $[C_3H_5]^+$.

EA ber. C 72.14 H 9.84
gef. C 71.81 H 9.97

$C_{16}H_{26}O_3$ (266.38).

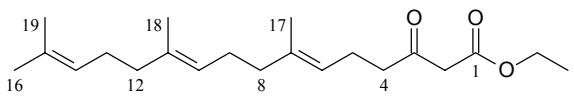
b) Geranylgeraniolderivate

Ausbeute 57 bis 70 % (Ansatzgröße 10 bis 30 mmol), gelbliche Flüssigkeit.

R_f 0.33 (Isohexan : Essigsäureethylester = 15:1).

(*E*,*E*)-7,11,15-Trimethyl-3-oxo-hexadeca-6,10,14-triensäureethylester (**14**)

Durch Umsetzung von Acetessigsäureethylester (**10**) mit Farnesylbromid (**12**).



^{1}H-NMR (300 MHz, $CDCl_3$): δ = 1.27 (t, ^3J = 7.1 Hz, 3 H, $CO_2CH_2CH_3$), 1.59 (s, br., 6 H) / 1.60 (s, 3 H) (17-H, 18-H, 19-H), 1.67 (s, 3 H, 16-H), 1.92-2.11 (m, 8 H, 8-H, 9-H, 12-H, 13-H), 2.20-2.33 (m, 2 H, 5-H), 2.56 („t“, J = 7.4 Hz, 2 H, 4-H), 3.42 (s, 2 H, 2-H), 4.18 (q, ^3J = 7.1 Hz, 2 H, $CO_2CH_2CH_3$), 4.96 (s, 0.08 H, 2-H, Enolform), 5.02-5.13 (m, 3 H, 6-H, 10-H, 14-H).

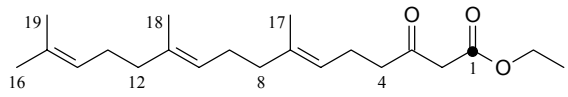
^{13}C-NMR (75 MHz, $CDCl_3$): δ = 14.16 ($CO_2CH_2CH_3$), 16.06 (s, 2 CH_3, C-17, C-18), 17.73 (C-19), 22.23 (C-5), 25.74 (C-16), 26.60 / 26.82 (C-9, C-13), 39.70 / 39.77 (C-8, C-12), 43.12 (C-4), 49.45 (C-2), 61.37 ($CO_2CH_2CH_3$), 89.22 (sehr kleines Signal, C-2, Enolform), 122.14 / 124.09 / 124.43 (C-6, C-10, C-14), 131.31 (C-15), 135.14 / 136.85 (C-7, C-11), 167.25 (C-1), 202.61 (C-3).

EI-MS *m/z* (%) = 335 (4) $[M+1]^+$, 334 (13) $[M]^+$, 273 (6), 247 (18), 205 (11), 197 (13), 177 (12), 159 (14), 143 (11), 137 (26), 136 (57), 135 (28), 123 (18), 121 (22), 109 (61), 107 (13), 105 (20), 95 (18), 93 (21), 81 (67) $[C_6H_9]^+$, 69 (100) $[C_5H_9]^+$, 68 (14), 67 (13), 43 (12), 41 (19) $[C_3H_5]^+$.

$C_{21}H_{34}O_3$ (334.50).

(*E*,*E*)-7,11,15-Trimethyl-3-oxo-[1-^{13}C]hexadeca-6,10,14-triensäureethylester (**14***)

Durch Umsetzung von [1-^{13}C]Acetessigsäureethylester (**10***) mit Farnesylbromid (**12**).



^{1}H-NMR (300 MHz, $CDCl_3$): δ = 1.28 (t, $^3J_{HH}$ = 7.1 Hz, 3 H, $^{13}CO_2CH_2CH_3$), 1.59 (s, br., 6 H) / 1.61 (s, 3 H) (17-H, 18-H, 19-H), 1.68 (s, 3 H, 16-H), 1.90-2.12 (m, 8 H, 8-H, 9-H, 12-H, 13-H), 2.20-2.34 (m, 2 H, 5-H, 2.56 („t“, $J \approx$ 7.4 Hz, 2 H, 4-H), 3.42 (d, $^2J_{CH}$ = 7.4 Hz, 2 H, 2-H), 4.19 (qd, $^3J_{HH}$ = , $^3J_{CH}$ = 3.2 Hz, 2 H, $^{13}CO_2CH_2CH_3$), 4.97 (s, ~0.06 H, 2-H, Enolform), 5.00-5.13 (m, 3 H, 6-H, 10-H, 14-H).

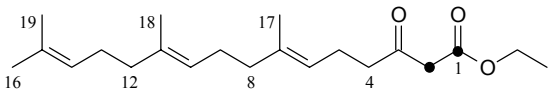
^{13}C-NMR (75 MHz, $CDCl_3$): δ = 14.18 ($^{13}CO_2CH_2CH_3$), 16.07 (s, 2 CH_3, C-17, C-18), 17.75 (C-19), 22.21 (C-5), 25.77 (C-16), 26.60 / 26.81 (C-9, C-13), 39.71 / 39.77 (C-8, C-12), 43.13 (C-4), 49.44 (d, $^1J_{CC}$ = 58.4 Hz, C-2), 61.39 ($^{13}CO_2CH_2CH_3$), 122.11 / 124.08 / 124.42 (C-6, C-10, C-14), 131.35 (C-15),

135.16 / 136.88 (C-7, C-11), 167.28 (^{13}C-1), 172.83 (^{13}C-1, Enolform), 202.68 (C-3).

$^{13}CC_{20}H_{34}O_3$ (335.49).

(*E*,*E*)-7,11,15-Trimethyl-3-oxo-[1,2-$^{13}C_2$]hexadeca-6,10,14-triensäureethylester (**14****)

Durch Umsetzung von [1,2-$^{13}C_2$]Acetessigsäureethylester (**10****) mit Farnesylbromid (**12**).



^{1}H-NMR (300 MHz, $CDCl_3$): δ = 1.27 (t, $^3J_{HH}$ = 7.1 Hz, 3 H, $^{13}CO_2CH_2CH_3$), 1.59 (m, 6 H) / 1.61 (s, 3 H) (17-H, 18-H, 19-H), 1.67 (s, 3 H, 16-H), 1.90-2.12 (m, 8 H, 8-H, 9-H, 12-H, 13-H), 2.21-2.34 (m, 2 H, 5-H), 2.56 („t“, $J \approx 7.4$ Hz, 2 H, 4-H), 3.41 (dd, $^1J_{CH}$ = 130 Hz, $^2J_{CH}$ = 7.4 Hz, 2 H, 2-H), 4.19 (qd, $^3J_{HH}$ = 7.1 Hz, $^3J_{CH}$ = 3.2 Hz, 2 H, $^{13}CO_2CH_2CH_3$), 4.96 (d, $^1J_{CH}$ = 168 Hz, ~0.05 H, 2-H, Enolform), 5.00-5.13 (m, 3 H, 6-H, 10-H, 14-H).

^{13}C-NMR (75 MHz, $CDCl_3$): δ = 14.17 ($^{13}CO_2CH_2CH_3$), 16.07 (2 CH_3, C-17, C-18), 17.75 (C-19), 22.24 (C-5), 25.76 (C-16), 26.62 / 26.84 (C-9, C-13), 39.72 / 39.78 (C-8, C-12), 43.14 (d, $^2J_{CC}$ = 12.9 Hz, C-4), 49.46 (d, $^1J_{CC}$ = 58.5 Hz, ^{13}C-2), 61.41 ($^{13}CO_2CH_2CH_3$), 89.23 (d, $^1J_{CC}$ = 75.2 Hz, ^{13}C-2, Enolform), 122.15 / 124.11 / 124.44 (C-6, C-10, C-14), 131.35 (C-15), 135.18 / 136.89 (C-7, C-11), 167.28 (d, $^1J_{CC}$ = 58.5 Hz, ^{13}C-1), 172.84 (d, $^1J_{CC}$ = 75.2 Hz, ^{13}C-1, Enolform). Signal für C-3 nicht aufgelöst.

$^{13}C_2C_{19}H_{34}O_3$ (336.48).

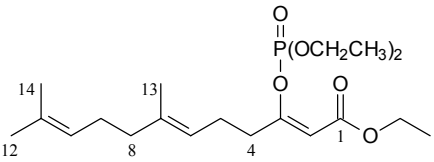
16.4 Herstellung von (*Z*)-Alkenylphosphaten aus β-Ketoestern

Nach Lit.[204,473] wird eine Suspension von Natriumhydrid (1.1 Äquiv.) in abs. Diethylether (c(NaH) ≈ 0.2 M) auf 0°C gekühlt. Nach tropfenweiser Zugabe des entsprechenden β-Ketoesters **13** bzw. **14** (1.0 Äquiv.) rührt man 0.5 h bei 0°C und tropft anschließend Diethylchlorphosphat (1.1 Äquiv.) zu. Nach Entfernen des Kühlbades läßt man 1 bis 2 h bei RT rühren. Es wird mit ges. wäßr. Ammoniumchloridlösung versetzt, mehrmals mit Diethylether extrahiert und mit 5-proz. $NaHCO_3$-Lösung sowie ges. NaCl-Lösung gewaschen. Nach Trocknen über Na_2SO_4 entfernt man das Lösungsmittel i. Vak. Das nahezu quantitativ erhaltene Rohprodukt wird nicht gereinigt.

a) Farnesolderivat

(2*Z*,6*E*)-3-(Diethoxyphosphoryloxy)-7,11-dimethyl-dodeca-2,6,10-triensäureethylester (**15**)

Durch Umsetzung von 15.03 g (56.42 mmol) (*E*)-7,11-Dimethyl-3-oxo-dodeca-6,10-diensäureethylester (**13**).



Ausbeute 22.30 g (55.40 mmol, 98 %), gelbliche Flüssigkeit (Rohprodukt).

^{1}H-NMR (300 MHz, $CDCl_3$): δ = 1.23 (t, $^3J_{HH}$ = 7.1 Hz, 3 H, $CO_2CH_2CH_3$), 1.33 (td, $^3J_{HH}$ = 7.1 Hz, $^4J_{PH}$ = 1.2 Hz, 6 H, $P(OCH_2CH_3)_2$), 1.56 (s, 3 H) / 1.58 (s, 3 H) (13-H, 14-H), 1.64 (s, 3 H, 12-H), 1.90-2.08 (m, 4 H, 8-H, 9-H), 2.20-2.29 (m, 2 H, 5-H), 2.42 („t“, $J \approx 7.2$ Hz, 2 H, 4-H), 4.12 (q, $^3J_{HH}$ = 7.1 Hz, 2 H, $CO_2CH_2CH_3$), 4.23 (dq, $^3J_{PH}$ = 8.0 Hz, $^3J_{HH}$ = 7.1 Hz, 4 H, $P(OCH_2CH_3)_2$), 5.01-5.10 (m, 2 H, 6-H, 10-H), 5.31 (s, 1 H, 2-H).

^{13}C-NMR (75 MHz, $CDCl_3$): δ = 14.24 ($CO_2CH_2CH_3$), 16.06 (C-13), 16.07 (d, $^3J_{PC}$ = 7.0 Hz, 2 CH_3, $P(OCH_2CH_3)_2$), 17.66 (C-14), 24.92 (C-5), 25.65 (C-12), 26.63 (C-9), 35.27 (C-4), 39.63 (C-8), 59.83 ($CO_2CH_2CH_3$), 64.72 (d, $^2J_{PC}$ = 6.2 Hz, 2 CH_2, $P(OCH_2CH_3)_2$), 105.34 (d, $^3J_{PC}$ = 7.3 Hz, C-2), 121.87 / 124.16 (C-6, C-10), 131.42 (C-11), 137.01 (C-7), 161.35 (d, $^2J_{PC}$ = 7.0 Hz, C-3), 163.78 (d, $^4J_{PC}$ = 2.1 Hz, C-1).

EI-MS *m/z* (%) = 402 (6) $[M]^+$, 357 (20), 287 (42), 266 (20), 220 (38), 192 (15), 164 (12), 155 (100), 133 (14), 127 (22), 105 (13), 99 (30), 81 (4) $[C_6H_9]^+$, 69 (19) $[C_5H_9]^+$, 41 (11) $[C_3H_5]^+$.

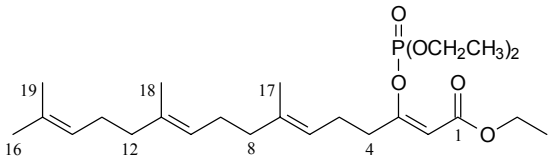
$C_{20}H_{35}O_6P$ (402.47).

b) Geranylgeraniolderivate

Ausbeute: 92 bis 98 % (Ansatzgröße 6.5 bis 20 mmol), gelbliche Flüssigkeit (Rohprodukt).

(2*Z*,6*E*,10*E*)-3-(Diethoxyphosphoryloxy)-7,11,15-trimethyl-hexadeca-2,6,10,14-tetraensäureethylester (**16**)

Durch Umsetzung von (*E*,*E*)-7,11,15-Trimethyl-3-oxo-hexadeca-6,10,14-triensäureethylester (**14**).



^{1}H-NMR (300 MHz, $CDCl_3$): δ = 1.25 (t, $^3J_{HH}$ = 7.1 Hz, 3 H, $CO_2CH_2CH_3$), 1.34 (td, $^3J_{HH}$ = 7.1 Hz, $^4J_{PH}$ = 1.2 Hz, 6 H, $P(OCH_2OCH_3)_2$), 1.58 (s, 6 H) / 1.60 (s, 3 H) (17-H, 18-H, 19-H), 1.66 (s, 3 H, 16-H), 1.91-2.10 (m, 8 H, 8-H, 9-H, 12-H, 13-H), 2.20-2.31 (m, 2 H, 5-H), 2.44 („t“, *J* = 7.3 Hz, 2 H, 4-H), 4.13 (q, $^3J_{HH}$ = 7.1 Hz, 2 H, $CO_2CH_2CH_3$), 4.24 (dq, $^3J_{PH}$ = 8.0 Hz, $^3J_{HH}$ = 7.1 Hz, 4 H, $P(OCH_2OCH_3)_2$), 5.03-5.13 (m, 3 H, 6-H, 10-H, 14-H), 5.33 (s, 1 H, 2-H).

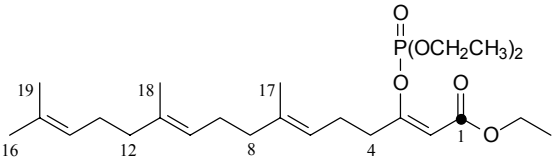
^{13}C-NMR (75 MHz, $CDCl_3$): δ = 14.27 ($CO_2CH_2CH_3$), 16.01 (C-17$^{\#}$), 16.10 (d, $^3J_{PC}$ = 7.0 Hz, 2 CH_3, $P(OCH_2OCH_3)_2$), 16.13 (C-18$^{\#}$), 17.70 (C-19), 24.97 (C-5), 25.72 (C-16), 26.64 / 26.79 (C-9, C-13), 35.30 (C-4), 39.68 / 39.74 (C-8, C-12), 59.88 ($CO_2CH_2CH_3$), 64.76 (d, $^2J_{PC}$ = 6.2 Hz, 2 CH_2, $P(OCH_2OCH_3)_2$), 105.37 (d, $^3J_{PC}$ = 7.6 Hz, C-2), 121.85 / 124.08 / 124.40 (C-6, C-10, C-14), 131.28 (C-15), 135.12 / 137.12 (C-7, C-11), 161.39 (d, $^2J_{PC}$ = 7.0 Hz, C-3), 163.82 (C-1).

EI-MS *m/z* (%) = 470 (8) $[M]^+$, 425 (18), 355 (9), 316 (12), 289 (13), 288 (11), 287 (44), 266 (36), 247 (15), 220 (50), 201 (16), 192 (18), 173 (12), 164 (12), 159 (10), 155 (100), 136 (14), 135 (20), 134 (13), 133 (18), 127 (23), 121 (13), 109 (16), 107 (12), 105 (21), 99 (26), 93 (15), 91 (10), 81 (23) $[C_6H_9]^+$, 69 (53) $[C_5H_9]^+$, 67 (10), 41 (22) $[C_3H_5]^+$.

$C_{25}H_{43}O_6P$ (470.59).

(2*Z*,6*E*,10*E*)-3-(Diethoxyphosphoryloxy)-7,11,15-trimethyl-[1-^{13}C]hexadeca-2,6,10,14-tetraensäureethylester (**16***)

Durch Umsetzung von (*E*,*E*)-7,11,15-Trimethyl-3-oxo-[1-^{13}C]hexadeca-6,10,14-triensäureethylester (**14***).



^{1}H-NMR (300 MHz, $CDCl_3$): δ = 1.26 (t, $^3J_{HH}$ = 7.1 Hz, 3 H, $^{13}CO_2CH_2CH_3$), 1.35 (td, $^3J_{HH}$ = 7.1 Hz, $^4J_{PH}$ = 1.2 Hz, 4 H, $P(OCH_2CH_3)_2$), 1.59 (s, 6 H) / 1.61 (s, 3 H)

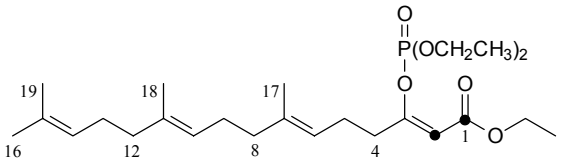
(17-H, 18-H, 19-H), 1.67 (s, 3 H, 16-H), 1.90-2.11 (m, 8 H, 8-H, 9-H, 12-H, 13-H), 2.22-2.31 (m, 2 H, 5-H), 2.45 („t“, $J \approx 7.4$ Hz, 2 H, 4-H), 4.14 (qd, $^3J_{HH}$ = 7.1 Hz, $^3J_{CH}$ = 3.1 Hz, 2 H, $^{13}CO_2CH_2CH_3$), 4.25 (dq, $^3J_{PH} \approx {}^3J_{HH} \approx 7.2$ Hz , 4 H, $P(OCH_2CH_3)_2$), 5.05-5.12 (m, 3 H, 6-H, 10-H, 14-H), 5.34 (s, 1 H, 2-H).

^{13}C-NMR (75 MHz, $CDCl_3$): δ = 14.30 ($^{13}CO_2CH_2CH_3$), 16.05 (C-17$^{\#}$), 16.15 (d, $^3J_{PC}$ = 7.1 Hz, 2 CH_3, $P(OCH_2CH_3)_2$), 16.17 (C-18$^{\#}$), 17.75 (C-19), 25.00 (C-5), 25.76 (C-16), 26.68 / 26.83 (C-9, C-13), 35.36 (C-4), 39.72 / 39.78 (C-8, C-12), 59.93 ($^{13}CO_2CH_2CH_3$), 64.79 (d, $^2J_{PC}$ = 6.5 Hz, 2 CH_2, $P(OCH_2CH_3)_2$), 105.39 (dd, $^1J_{CC}$ = 78.1 Hz, $^3J_{PC}$ = 7.5 Hz, C-2), 121.87 / 124.12 / 124.44 (C-6, C-10, C-14), 131.34 (C-15), 135.18 / 137.17 (C-7, C-11), 161.43 (dd, J = 7.2 Hz, J =1.3 Hz, C-3), 163.86 (d, $^4J_{PC}$ = 2.1 Hz, ^{13}C-1).

$^{13}CC_{24}H_{43}O_6P$ (471.58).

(2*Z*,6*E*,10*E*)-3-(Diethoxyphosphoryloxy)-7,11,15-trimethyl-[1,2-$^{13}C_2$]hexadeca-2,6,10,14-tetraensäureethylester (**16****)

Durch Umsetzung von (*E*,*E*)-7,11,15-Trimethyl-3-oxo-[1,2-$^{13}C_2$]hexadeca-6,10,14-triensäureethylester (**14****).



^{1}H-NMR (300 MHz, $CDCl_3$): δ = 1.26 (t, $^3J_{HH}$ = 7.1 Hz, 3 H, $^{13}CO_2CH_2CH_3$), 1.35 (td, $^3J_{HH}$ = 7.1 Hz, $^4J_{PH}$ = 1.2 Hz, 4 H, $P(OCH_2CH_3)_2$), 1.59 (s, 6 H) / 1.61 (s, 3 H) (17-H, 18-H, 19-H), 1.67 (s, 3 H, 16-H), 1.90-2.15 (m, 8 H, 8-H, 9-H, 12-H, 13-H), 2.21-2.34 (m, 2 H, 5-H), 2.38-2.53 (m, 2 H, 4-H), 4.14 (qd, $^3J_{HH}$ = 7.1 Hz, $^3J_{CH}$ = 3.1 Hz, 2 H, $^{13}CO_2CH_2CH_3$), 4.25 (dq, $^3J_{PH} \approx {}^3J_{HH} \approx 7.2$ Hz , 4 H, $P(OCH_2CH_3)_2$), 5.05-5.12 (m, 3 H, 6-H, 10-H, 14-H), 5.33 (d, $^1J_{CH}$ = 163 Hz, 1 H, 2-H).

^{13}C-NMR (75 MHz, $CDCl_3$): δ = 14.29 ($^{13}CO_2CH_2CH_3$), 16.04 (C-17$^{\#}$), 16.14 (d, $^3J_{PC}$ = 7.2 Hz, 2 CH_3, $P(OCH_2CH_3)_2$), 16.16 (C-18$^{\#}$), 17.74 (C-19), 25.00 (C-5), 25.75 (C-16), 26.68 / 26.83 (C-9, C-13), 35.32 (m, C-4), 39.72 / 39.77 (C-8, C-12), 59.93 ($^{13}CO_2CH_2CH_3$), 64.80 (d, $^2J_{PC}$ = 6.2 Hz, 2 CH_2, $P(OCH_2CH_3)_2$), 105.40 (dd, $^1J_{CC}$ = 78.3 Hz, $^3J_{PC}$ = 7.6 Hz, ^{13}C-2), 121.86 / 124.11 / 124.43 (C-6, C-10, C-14), 131.33 (C-15), 135.18 / 137.17 (C-7, C-11), 163.87 (dd, $^1J_{CC}$ = 78.3 Hz, $^4J_{PC}$ = 1.8 Hz, ^{13}C-1). Signal für C-3 nicht aufgelöst.

$^{13}C_2C_{23}H_{43}O_6P$ (472.57).

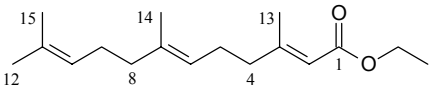
16.5 Umsetzung von (*Z*)-Alkenylphosphaten mit Me_2CuLi

Nach Lit.[204] wird Kupfer(I)-iodid (1.5 Äquiv.) im Schlenkkolben i. Vak. ausgeheizt. Nach Abkühlen und Befüllen mit Argon wird abs. Diethylether (c(CuI) ≈ 0.5 M) zugegeben und die Suspension auf 0°C gekühlt. Man gibt eine Lösung von Methyllithium (3 Äquiv.) in Diethylether zu, rührt 0.5 h bei 0°C und kühlt anschließend auf –78°C. Das entsprechende (*Z*)-Alkenylphosphat **15** bzw. **16** (1 Äquiv.) wird langsam zugetropft. Man läßt innerhalb 3 h auf -40°C kommen und setzt ein 1:1-Gemisch aus ges. wäßr. Kaliumcarbonatlösung und ges. Ammoniumchloridlösung zu, entfernt das Kältebad und rührt 0.5 h. Nach Zusetzen von Diethylether zentrifugiert man, um die unlöslichen Cu(I)-Salze abzuscheiden, trennt die organische Phase ab, setzt zur wäßrigen Phase unter Aufschlämmen des Bodensatzes Diethylether zu und wiederholt denn Vorgang zweimal. Die vereinigten organischen Phasen werden mit wäßr. Ammoniaklösung und ges. NaCl-Lösung gewaschen und über Na_2SO_4 getrocknet. Nach dem Entfernen des Lösungsmittels i. Vak. wird mittels Säulenchromatographie über Kieselgel mit dem Laufmittel Isohexan : Essigsäureethylester = 25:1 gereinigt.

a) Farnesolderivat

(*E*,*E*)-3,7,11-Trimethyl-dodeca-2,6,10-triensäureethylester (**17**)

Durch Umsetzung von 10.06 g (25.0 mmol) (2*Z*,6*E*)-3-(Diethoxyphosphoryloxy)-7,11-dimethyl-dodeca-2,6,10-triensäureethylester (**15**).



Ausbeute 5.45 g (20.6 mmol, 82 %), gelbliche Flüssigkeit.

R_f 0.33 (Isohexan : Essigsäureethylester = 25:1).

^{1}H-NMR (300 MHz, $CDCl_3$): δ = 1.26 (t, ^3J = 7.1 Hz, 3 H, $CO_2CH_2CH_3$), 1.59 (s, 6 H, 14-H, 15-H), 1.67 (s, 3 H, 12-H), 1.92-2.17 (m, 8 H, 4-H, 5-H, 8-H, 9-H), 2.16 (s, 3 H, 13-H), 4.13 (q, ^3J = 7.1 Hz, 2 H, $CO_2CH_2CH_3$), 5.08 (m, 2 H, 6-H, 10-H), 5.65 (s, 1 H, 2-H).

^{13}C-NMR (75 MHz, $CDCl_3$): δ = 14.39 ($CO_2CH_2CH_3$), 16.06 (C-14), 17.72 (C-15), 18.85 (C-13), 25.72 (C-12), 26.03 / 26.73 (C-5, C-9), 39.73 (C-8), 41.01 (C-4), 59.48 ($CO_2CH_2CH_3$), 115.73 (C-2), 122.97 / 124.29 (C-6, C-10), 131.43 (C-11), 136.17 (C-7), 159.77 (C-3), 166.92 (C-1).

EI-MS *m/z* (%) = 264 (7) $[M]^+$, 221 (10), 219 (9), 128 (48), 121 (29), 81 (36) $[C_6H_9]^+$, 69 (100) $[C_5H_9]^+$, 41 (39) $[C_3H_5]^+$.

$C_{17}H_{28}O_2$ (264.41).

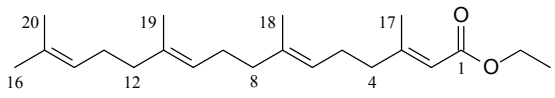
b) Geranylgeraniolderivate

Ausbeute: 70 bis 90 % (Ansatzgröße 7 bis 20 mmol), farblose Flüssigkeit.

R_f 0.40 (Isohexan : Essigsäureethylester = 25:1).

(*E*,*E*,*E*)-3,7,11,15-Tetramethyl-hexadeca-2,6,10,14-tetraensäureethylester (**18**)

Durch Umsetzung von (2*Z*,6*E*,10*E*)-3-(Diethoxyphosphoryloxy)-7,11,15-trimethyl-hexadeca-2,6,10,14-tetraensäureethylester (**16**).



^{1}H-NMR (300 MHz, $CDCl_3$): δ = 1.27 (t, ^3J = 7.1 Hz, 3 H, $CO_2CH_2CH_3$), 1.60 (s, br., 9 H, 18-H, 19-H, 20-H), 1.68 (s, 3 H, 16-H), 1.92-2.20 (m, 12 H, 4-H, 5-H, 8-H, 9-H, 12-H, 13-H), 2.16 (s, 3 H, 17-H), 4.15 (q, ^3J = 7.1 Hz, 2 H, $CO_2CH_2CH_3$), 5.05-5.14 (m, 3 H, 6-H, 10-H, 14-H), 5.66 (m, 1 H, 2-H).

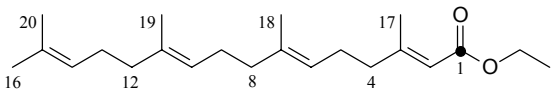
^{13}C-NMR (75 MHz, $CDCl_3$): δ = 14.41 ($CO_2CH_2CH_3$), 16.06 / 16.10 (C-18, C-19), 17.75 (C-20), 18.88 (C-17), 25.76 (C-16), 26.07 (C-5), 26.68 / 26.84 (C-9, C-13), 39.74 / 39.78 (C-8, C-12), 41.05 (C-4), 59.50 ($CO_2CH_2CH_3$), 115.72 (C-2), 122.99 / 124.18 / 124.46 (C-6, C-10, C-14), 131.31 (C-15), 135.11 / 136.23 (C-7, C-11), 159.80 (C-3), 166.95 (C-1).

EI-MS *m/z* (%) = 333 (3) $[M+1]^+$, 332 (12) $[M]^+$, 287 (6), 205 (5), 189 (9), 149 (11), 137 (17), 136 (29), 135 (21), 128 (41), 123 (18), 122 (11), 121 (32), 109 (15), 107 (18), 95 (18), 93 (23), 91 (12), 82 (15), 81 (55) $[C_6H_9]^+$, 79 (13), 69 (100) $[C_5H_9]^+$, 68 (19), 67 (22), 55 (16), 53 (15), 41 (20) $[C_3H_5]^+$.

$C_{22}H_{36}O_2$ (332.53).

(*E*,*E*,*E*)-3,7,11,15-Tetramethyl-[1-^{13}C]hexadeca-2,6,10,14-tetraensäureethylester (**18***)

Durch Umsetzung von (2*Z*,6*E*,10*E*)-3-(Diethoxyphosphoryloxy)-7,11,15-trimethyl-[1-^{13}C]hexadeca-2,6,10,14-tetraensäureethylester (**16***).



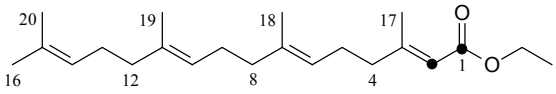
^{1}H-NMR (300 MHz, $CDCl_3$): δ = 1.27 (t, ^{3}J = 7.1 Hz, 3 H, $CO_2CH_2CH_3$), 1.60 (s, br., 9 H, 18-H, 19-H, 20-H), 1.68 (s, 3 H, 16-H), 1.90-2.23 (m, 12 H, 4-H, 5-H, 8-H, 9-H, 12-H, 13-H), 2.16 (s, 3 H, 17-H), 4.14 (qd, $^{3}J_{HH}$ = 7.1 Hz, $^{3}J_{CH}$ = 3.1 Hz, 2 H, $CO_2CH_2CH_3$), 5.05-5.15 (m, 3 H, 6-H, 10-H, 14-H), 5.66 (m, 1 H, 2-H).

^{13}C-NMR (75 MHz, $CDCl_3$): δ = 14.41 ($CO_2CH_2CH_3$), 16.06 / 16.10 (C-18, C-19), 17.75 (C-20), 18.88 (C-17), 25.75 (C-16), 26.08 (C-5), 26.68 / 26.85 (C-9, C-13), 39.75 / 39.79 (C-8, C-12), 41.10 (C-4), 59.49 ($CO_2CH_2CH_3$), 115.71 (d, $^{1}J_{CC}$ = 75.6 Hz, C-2), 122.99 / 124.19 / 124.46 (C-6, C-10, C-14), 131.32 (C-15), 135.11 / 136.23 (C-7, C-11), 159.79 (C-3), 166.95 (^{13}C-1).

$^{13}CC_{21}H_{36}O_2$ (333.52).

(*E*,*E*,*E*)-3,7,11,15-Tetramethyl-[1,2-$^{13}C_2$]hexadeca-2,6,10,14-tetraensäureethylester (**18****)

Durch Umsetzung von (2*Z*,6*E*,10*E*)-3-(Diethoxyphosphoryloxy)-7,11,15-trimethyl-[1,2-$^{13}C_2$]hexadeca-2,6,10,14-tetraensäureethylester (**16****).



^{1}H-NMR (300 MHz, $CDCl_3$): δ = 1.27 (t, ^{3}J = 7.1 Hz, 3 H, $CO_2CH_2CH_3$), 1.60 (s, br., 9 H, 18-H, 19-H, 20-H), 1.67 (s, 3 H, 16-H), 1.90-2.20 (m, 12 H, 4-H, 5-H, 8-H, 9-H, 12-H, 13-H), 2.16 (s, 3 H, 17-H), 4.14 (qd, $^{3}J_{HH}$ = 7.1 Hz, $^{3}J_{CH}$ = 3.0 Hz, 2 H, $CO_2CH_2CH_3$), 5.05-5.15 (m, 3 H, 6-H, 10-H, 14-H), 5.66 (d, $^{1}J_{CH}$ = 159 Hz, 1 H, 2-H).

^{13}C-NMR (75 MHz, $CDCl_3$): δ = 14.39 ($CO_2CH_2CH_3$), 16.06 / 16.10 (C-18, C-19), 17.75 (C-20), 18.88 (C-17), 25.76 (C-16), 26.08 (d, $^{3}J_{CC}$ = 2.6 Hz, C-5), 26.68 / 26.84 (C-9, C-13), 39.75 / 39.78 (C-8, C-12), 41.05 (dd, $^{2}J_{CC}$ = 6.8 Hz, $^{3}J_{CC}$ = 2.9 Hz, C-4), 59.50 ($CO_2CH_2CH_3$), 115.71 (d, $^{1}J_{CC}$ = 75.7 Hz, ^{13}C-2), 122.99 /

124.19 / 124.46 (C-6, C-10, C-14), 131.32 (C-15), 135.11 / 136.23 (C-7, C-11), 159.79 (d, $^1J_{CC}$ = 72.2 Hz, C-3), 166.95 (d, $^1J_{CC}$ = 75.7 Hz, ^{13}C-1).

$^{13}C_2C_{20}H_{36}O_2$ (334.50).

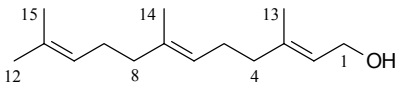
16.6 Reduktion von Acrylsäureethylestern zu Allylalkoholen

Nach Lit.[204] wird der entsprechende Ethylester (1 Äquiv.) in abs. Toluol gelöst (c(Ester) ≈ 0.25 M). Nach Kühlung auf 0°C wird eine Lösung von Diisobutylaluminiumhydrid (3 Äquiv) zugegeben (Gasentwicklung) und 3 h bei 0°C gerührt. Vorsichtig (starkes Schäumen) wird mit ges. wäßr. Kaliumnatriumtartratlösung versetzt, das Kühlbad entfernt und mehrmals mit Diethylether extrahiert. Nach Waschen der vereinigten organischen Phasen mit 5-proz. $NaHCO_3$-Lösung, Wasser und ges. NaCl-Lösung, Trocknen über Na_2SO_4 und Entfernen des Lösungsmittels i. Vak. wird das Rohprodukt mittels Säulenchromatographie über Kieselgel mit dem Eluenten Isohexan : Essigsäureethylester = 7:1 gereinigt. Die in geringen Mengen entstandenen (2*Z*)-Derivate sind bei entsprechender Säulenlänge vollständig abtrennbar.

a) Farnesol

(*E*,*E*)-Farnesol (**19**)

Durch Reduktion von 12.2 g (46.1 mmol) (*E*,*E*)-3,7,11-Trimethyl-dodeca-2,6,10-triensäureethylester (**17**).



Ausbeute 7.80 g (35.1 mmol, 76 %), farblose Flüssigkeit.

R_f 0.20 (Isohexan : Essigsäureethylester = 7:1).

^{1}H-NMR (300 MHz, $CDCl_3$): δ = 1.5 (s, br., 1 H, OH), 1.59 (s, 6 H, 14-H, 15-H), 1.67 (s, 6 H, 12-H, 13-H), 1.92-2.16 (m, 8 H, 4-H, 5-H, 8-H, 9-H), 4.14 (d, ^3J = 7.0 Hz, 2 H, 1-H), 5.04-5.14 (m, 2 H, 6-H, 10-H), 5.40 („tq“, ^3J = 7.0 Hz, J = 1.2 Hz, 1 H, 2-H).

^{13}C-NMR (75 MHz, $CDCl_3$): δ = 16.02 (C-14), 16.30 (C-13), 17.70 (C-15), 25.71 (C-12), 26.35 (C-5), 26.76 (C-9), 39.59 (C-4), 39.73 (C-8), 59.37 (C-1), 123.46 (C-2), 123.84 / 124.37 (C-6, C-10), 131.35 (C-11), 135.37 (C-7), 139.69 (C-3).[74]

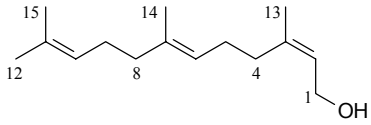
[74] Für genaue ^{13}C-NMR-Zuordnungen der aliphatischen Signale aller isomeren Farnesole s. Lit.[192]

EI-MS *m/z* (%) = 222 (1) $[M]^+$, 204 (2), 191 (4), 189 (2), 179 (2), 161 (4), 138 (3), 137 (8), 136 (13), 135 (5), 123 (9), 122 (5), 121 (9), 109 (10), 107 (10), 95 (11), 93 (17), 81 (31 $[C_6H_9]^+$), 69 (100) $[C_5H_9]^+$, 41 (27) $[C_3H_5]^+$.

EA ber. C 81.02 H 11.79
gef. C 81.12 H 12.19

$C_{15}H_{26}O$ (222.37).

Nebenprodukt: (2*Z*,6*E*)-Farnesol



Ausbeute ca. 5 %, farblose Flüssigkeit.

R_f 0.23 (Isohexan : Essigsäureethylester = 7:1).

^{1}H-NMR (300 MHz, $CDCl_3$): δ = 1.5 (s, br., 1 H, OH), 1.59 (s, 6 H, 14-H, 15-H), 1.67 (s, 3 H, 12-H), 1.74 (s, 3 H, 13-H), 1.92-2.13 (m, 8 H, 4-H, 5-H, 8-H, 9-H), 4.09 (d, ^3J = 7.1 Hz, 2 H, 1-H), 5.04-5.14 (m, 2 H, 6-H, 10-H), 5.42 („tq“, ^3J = 7.1 Hz, J = 1.3 Hz, 1 H, 2-H).[75]

^{13}C-NMR (75 MHz, $CDCl_3$): δ = 16.02 (C-14), 17.70 (C-15), 23.47 (C-13), 25.71 (C-12), 26.55 (C-5), 26.69 (C-9), 32.01 (C-4), 39.73 (C-8), 59.02 (C-1), 123.63 / 124.27 / 124.47 (C-2, C-6, C-10), 131.44 (C-11), 135.95 (C-7), 139.91 (C-3).[74]

$C_{15}H_{26}O$ (222.37).

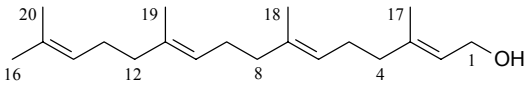
b) Geranylgeraniole

Ausbeute 75 bis 85 % (Ansatzgröße 4 bis 18 mmol), farblose Flüssigkeit.

R_f 0.24 (Isohexan : Essigsäureethylester = 7:1).

(*E*,*E*,*E*)-Geranylgeraniol (**20**)

Durch Reduktion von (*E*,*E*,*E*)-3,7,11,15-Tetramethyl-hexadeca-2,6,10,14-tetraensäureethylester (**18**).



IR (KBr): $\tilde{\nu}$ = 3326 cm^{-1} (s, br.), 2966 (s), 2920 (ss), 2855 (s), 1668 (w), 1446 (s), 1382 (m), 1106 (w), 1002 (s), 836 (w), 597 (w).

[75] ^{1}H-NMR in Übereinstimmung mit Lit.[189], Supporting Information (http://pubs.acs.org).

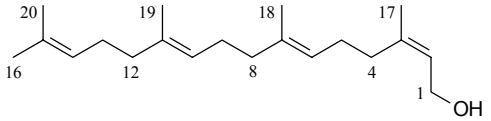
^{1}H-NMR (300 MHz, $CDCl_3$): δ = 1.1 (s, br., 1 H, OH), 1.60 (s, 9 H, 18-H, 19-H, 20-H), 1.68 (s, 6 H, 16-H, 17-H), 1.92-2.05 (m, 12 H, 4-H, 5-H, 8-H, 9-H, 12-H, 13-H), 4.15 (d, ^3J = 6.8 Hz, 2 H, 1-H), 5.06-5.15 (m, 3 H, 6-H, 10-H, 14-H), 5.42 („t“, $J \approx 7$ Hz, 1 H, 2-H).

^{13}C-NMR (75 MHz, $CDCl_3$): δ = 16.10 (s, 2 CH_3, C-18, C-19), 16.37 (C-17), 17.77 (C-20), 25.79 (C-16), 26.39 (C-5), 26.69 (C-9), 26.83 (C-13), 39.64 (C-4), 39.77 / 39.80 (C-8, C-12), 59.50 (C-1), 123.37 (C-2), 123.84 / 124.24 / 124.45 (C-6, C-10, C-14), 131.38 (C-15), 135.06 / 135.47 (C-7, C-11), 139.94 (C-3).[76]

EI-MS *m/z* (%) = 290 (2) $[M]^+$, 272 (3), 221 (3), 204 (6), 203 (5), 189 (5), 137 (16), 136 (19), 135 (17), 123 (16), 121 (19), 109 (15), 107 (19), 95 (22), 93 (30), 81 (52) $[C_6H_9]^+$, 79 (10), 69 (100) $[C_5H_9]^+$, 68 (15), 67 (17), 55 (12).

$C_{20}H_{34}O$ (290.49).

Nebenprodukt: (2*Z*,6*E*,14*E*)-Geranylgeraniol



Ausbeute ca. 5 %, farblose Flüssigkeit.

R_f 0.29 (Isohexan : Essigsäureethylester = 7:1).

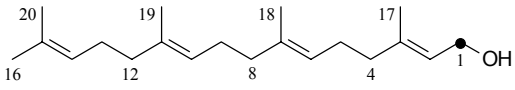
^{1}H-NMR (300 MHz, $CDCl_3$): δ = 1.38 (s, br., 1 H, OH), 1.60 (s, 9 H, 18-H, 19-H, 20-H), 1.68 (s, 3 H, 16-H), 1.74 (s, 3 H, 17-H), 1.91-2.16 (m, 12 H, 4-H, 5-H, 8-H, 9-H, 12-H, 13-H), 4.09 (d, ^3J = 7.2 Hz, 2 H, 2-H), 5.10 (m, 3 H, 6-H, 10-H, 14-H), 5.43 („t“, $J \approx 7.1$ Hz, 1 H, 2-H).

^{13}C-NMR (75 MHz, $CDCl_3$): δ = 16.05 (s, 2 CH_3, C-18, C-19), 17.71 (C-20), 23.49 (C-17), 25.73 (C-16), 26.59 (C-5), 26.64 (C-9), 26.82 (C-13), 32.05 (C-4), 39.74 / 39.77 (C-8, C-12), 59.05 (C-1), 123.66 / 124.16 / 124.45 / 124.48 (C-2, C-6, C-10, C-14), 131.30 (C-15), 135.11 / 136.02 (C-7, C-11), 139.97 (C-3).[76]

$C_{20}H_{34}O$ (290.49).

(*E*,*E*,*E*)-[1-^{13}C]Geranylgeraniol (**20***)

Durch Reduktion von (*E*,*E*,*E*)-3,7,11,15-Tetramethyl-[1-^{13}C]hexadeca-2,6,10,14-tetraensäureethylester (**18***).



[76] Für genaue ^{13}C-NMR-Zuordnungen der aliphatischen Signale aller isomeren Geranylgeraniole s. Lit.[192,194]

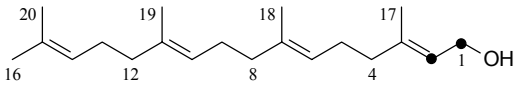
^{1}H-NMR (300 MHz, $CDCl_3$): δ = 1.1 (s, br., 1 H, OH), 1.60 (s, 9 H, 18-H, 19-H, 20-H), 1.68 (s, 6 H, 16-H, 17-H), 1.90-2.18 (m, 12 H, 4-H, 5-H, 8-H, 9-H, 12-H, 13-H), 4.15 (dd, $^1J_{CH}$ = 142 Hz, $^3J_{HH}$ = 7.0 Hz, 2 H, 1-H), 5.06-5.15 (m, 3 H, 6-H, 10-H, 14-H), 5.38-5.46 (m, 1 H, 2-H).

^{13}C-NMR (75 MHz, $CDCl_3$): δ = 16.08 (s, 2 CH_3, C-18, C-19), 16.35 (C-17), 17.75 (C-20), 25.76 (C-16), 26.40 (C-5), 26.71 (C-9), 26.84 (C-13), 39.61 (C-4), 39.76 / 39.80 (C-8, C-12), 59.47 (^{13}C-1), 123.43 (d, $^1J_{CC}$ = 47.5 Hz, C-2), 123.87 / 124.26 / 124.47 (C-6, C-10, C-14), 131.33 (C-15), 135.04 / 135.46 (C-7, C-11), 139.86 (C-3).[76]

$^{13}CC_{19}H_{34}O$ (291.48).

(*E*,*E*,*E*)-[1,2-$^{13}C_2$]Geranylgeraniol (**20****)

Durch Umsetzung von (*E*,*E*,*E*)-3,7,11,15-Tetramethyl-[1,2-$^{13}C_2$]hexadeca-2,6,10,14-tetraensäureethylester (**18****).



^{1}H-NMR (300 MHz, $CDCl_3$): δ = 1.3 (s, br., 1 H, OH), 1.60 (s, 9-H, 18-H, 19-H, 20-H), 1.68 (s, 6 H, 16-H, 17-H), 1.91-2.18 (m, 12 H, 4-H, 5-H, 8-H, 9-H, 12-H, 13-H), 4.14 (ddd, $^1J_{CH}$ = 142 Hz, $^3J_{HH}$ = 6.4 Hz, $^2J_{CH}$ = 4.0 Hz, 2 H, 1-H), 5.06-5.15 (m, 3 H, 6-H, 10-H, 14-H), 5.42 (dm, $^1J_{CH}$ ≈ 153 Hz, 1 H, 2-H).

^{13}C-NMR (75 MHz, $CDCl_3$): δ = 16.08 (s, 2 CH_3, C-18, C-19), 16.35 (d, $^2J_{CC}$ = 2.9 Hz, C-17), 17.75 (C-20), 25.76 (C-16), 26.40 (d, $^3J_{CC}$ = 2.9 Hz, C-5), 26.70 (C-9), 26.84 (C-13), 39.55-39.70 (m, C-4), 39.76 / 39.80 (C-8, C-12), 59.46 (d, $^1J_{CC}$ = 47.6 Hz, ^{13}C-1), 123.42 (d, $^1J_{CC}$ = 47.6 Hz, ^{13}C-2), 131.34 (C-15), 135.04 / 135.46 (C-7, C-11), 139.86 (d, $^1J_{CC}$ = 72.8 Hz, C-3).[76] Die Signale für C-6, C-10 und C-14 sind vom ^{13}C-2-Signal überlagert.

$^{13}C_2C_{18}H_{34}O$ (292.47).

16.7 Bromierung von Allylalkoholen

In Anlehnung an Lit.[474] wird der betreffende Allylalkohol (1 Äquiv.) in abs. Methylenchlorid gelöst (c = 1 M). Die Lösung wird mit Triphenylphosphan (1.1 Äquiv.) versetzt, nach Kühlung auf 0°C gibt man Tetrabrommethan (1.2 Äquiv.) in einer Portion zu. Nach 2 h Rühren bei 0°C wird das Methylenchlorid bei RT i. Vak. entfernt, mit 5-proz. $NaHCO_3$-Lösung ver-

setzt und mehrmals mit Diethylether extrahiert. Nach Waschen der vereinigten Etherphasen mit Wasser und ges. NaCl-Lösung, Trocknen über Na_2SO_4 und Entfernen des Lösungsmittels i. Vak. wird mit *n*-Hexan verrührt und für einige h in den Kühlschrank gestellt. Danach wird bei RT filtriert, mit *n*-Hexan gewaschen, das Volumen eingeengt, über Nacht bei –20°C stehengelassen und abermals filtriert. Ggf. wird der Prozeß wiederholt. Reste von Bromoform und Tetrabrommethan entfernt man im Falle von Farnesyl- und Geranylgeranylbromid durch mehrstündiges Trocknen an der Ölpumpe.
Im Falle von Geranylbromid wird das Produkt mittels Vakuumdestillation gereinigt. (Poly)-prenylbromide sind vor Licht zu schützen. Bei –20°C ist eine Aufbewahrung über mehrere Wochen hinweg ohne Qualitätsverlust möglich.

mögliche Verunreinigungen der Produkte:

Tetrabrommethan

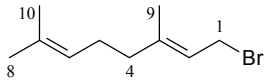
^{13}C-NMR (75 MHz, $CDCl_3$): δ = –29.61.

Bromoform

^{1}H-NMR (300 MHz, $CDCl_3$): δ = 6.83.

^{13}C-NMR (75 MHz, $CDCl_3$): δ = 9.78.

a) Geranylbromid (**11**)



Durch Umsetzung von Geraniol.

Ausbeute 70-80 % nach Destillation, farblose Flüssigkeit.

Sdp. 60°C (0.051 mbar).

R_f 0.95 (Isohexan : Essigsäureethylester = 7:1).

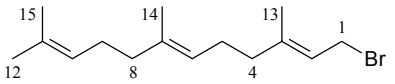
^{1}H-NMR (300 MHz, $CDCl_3$): δ = 1.60 (s, 3 H, 10-H), 1.68 (s, 3 H, 8-H), 1.73 (s, 3 H, 9-H), 2.00-2.16 (m, 4 H, 4-H, 5-H), 4.02 (d, ^{3}J = 8.5 Hz, 2 H, 1-H), 5.03-5.11 (m, 1 H, 6-H), 5.53 („tq“, $J \approx 8.5$ Hz, $J \approx 1.2$ Hz, 1 H, 2-H).

^{13}C-NMR (75 MHz, $CDCl_3$): δ = 16.03 (C-9), 17.77 (C-10), 25.74 (C-8), 26.28 (C-5), 29.71 (C-1), 39.60 (C-4), 120.63 (C-2), 123.61 (C-6), 132.05 (C-7), 143.65 (C-3).

$C_{10}H_{17}Br$ (217.15).

b) (*E*,*E*)-Farnesylbromid (**12**)

Durch Umsetzung von 2.47 g (11.1 mmol) (*E*,*E*)-Farnesol (**19**).



Ausbeute 3.02 g (10.6 mmol, 95 %), gelbe Flüssigkeit (Rohprodukt).

R_f 0.95 (Isohexan : Essigsäureethylester = 7:1).

^{1}H-NMR (300 MHz, $CDCl_3$): δ = 1.60 (s, 6 H, 14-H, 15-H), 1.68 (s, 3 H, 12-H), 1.73 (s, 3 H, 13-H), 1.93-2.17 (m, 8 H, 4-H, 5-H, 8-H, 9-H), 4.02 (d, ^3J = 8.5 Hz, 2 H, 1-H), 5.09 (m, 2 H, 6-H, 10-H), 5.53 („t“, $J \approx$ 8.5 Hz, 1 H, 2-H).

^{13}C-NMR (75 MHz, $CDCl_3$): δ = 16.05 / 16.12 (C-13, C-14), 17.77 (C-15), 25.77 (C-12), 26.18 (C-5), 26.78 (C-9), 29.72 (C-1), 39.60 (C-4), 39.75 (C-8), 120.65 (C-2), 123.47 (C-6), 124.40 (C-10), 131.39 (C-11), 135.70 (C-7), 143.67 (C-3).[77]

$C_{15}H_{25}Br$ (285.27).

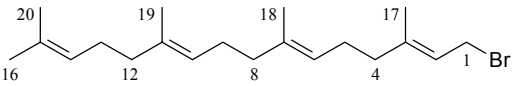
c) Geranylgeranylbromid

Ausbeute: um 90 % (Ansatzgröße um 1 mmol), farblose bis geringfügig bräunliche Flüssigkeit (Rohprodukt).

R_f 0.95 (Isohexan : Essigsäureethylester = 7:1).

(*E*,*E*,*E*)-Geranylgeranylbromid (**25**)

Durch Umsetzung von (*E*,*E*,*E*)-Geranylgeraniol (**20**).



^{1}H-NMR (300 MHz, $CDCl_3$): δ = 1.60 (s, 9 H, 18-H, 19-H, 20-H), 1.68 (s, 3 H, 16-H), 1.75 (s, 3 H, 17-H), 1.93-2.18 (m, 12 H, 4-H, 5-H, 8-H, 9-H, 12-H, 13-H), 4.02 (d, ^3J = 8.5 Hz, 2 H, 1-H), 5.06-5.16 (m, 3 H, 6-H, 10-H, 14-H), 5.53 („tq“, $J \approx$ 8.5 Hz, $J \approx$ 1.2 Hz, 1 H, 2-H).

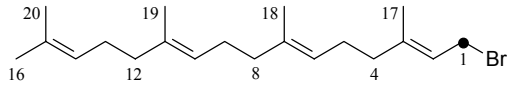
^{13}C-NMR (75 MHz, $CDCl_3$): δ = 16.07 / 16.10 / 16.15 (C-17, C-18, C-19), 17.78 (C-20), 25.79 (C-16), 26.20 (C-5), 26.69 / 26.86 (C-9, C-13), 29.75 (C-1), 39.63 (C-4), 39.76 / 39.82 (C-8, C-12), 120.65 (C-2), 123.49 / 124.27 / 124.48 (C-6, C-10, C-14), 131.35 (C-15), 135.06 / 135.74 (C-7, C-11), 143.70 (C-3).

[77] Zuordnungen C-4/C-8, C-5/C-9, C-6/C-10 nach Lit.[191]

$C_{20}H_{33}Br$ (353.39).

(*E*,*E*,*E*)-[1-^{13}C]Geranylgeranylbromid (**25***)

Durch Umsetzung von (*E*,*E*,*E*)-[1-^{13}C]Geranylgeraniol (**20***).



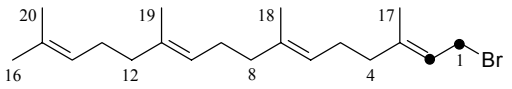
^{1}H-NMR (300 MHz, $CDCl_3$): δ = 1.60 (s, 9 H, 18-H, 19-H, 20-H), 1.68 (s, 3 H, 16-H), 1.73 (s, 3 H, 17-H), 1.93-2.15 (m, 12 H, 4-H, 5-H, 8-H, 9-H, 12-H, 13-H), 4.02 (dd, $^{1}J_{CH}$ = 153 Hz, $^{3}J_{HH}$ = 8.4 Hz, 2 H, 2-H), 5.05-5.15 (m, 3 H, 6-H, 10-H, 14-H), 5.48-5.58 (m, 1 H, 2-H).

^{13}C-NMR (75 MHz, $CDCl_3$): δ = 16.02 / 16.08 / 16.13 (C-17, C-18, C-19), 17.76 (C-20), 25.77 (C-16), 26.19 (C-5), 26.68 / 26.85 (C-9, C-13), 29.69 (^{13}C-1), 39.61 (d, $^{3}J_{CC}$ = 5.0 Hz, C-4), 39.75 / 39.80 (C-8, C-12), 120.63 (d, $^{1}J_{CC}$ = 47.6 Hz, C-2), 123.47 / 124.26 / 124.46 (C-6, C-10, C-14), 131.31 (C-15), 135.03 / 135.71 (C-7, C-11), 143.65 (C-3).

$^{13}CC_{19}H_{33}Br$ (354.38).

(*E*,*E*,*E*)-[1,2-$^{13}C_2$]Geranylgeranylbromid (**25****)

Durch Umsetzung von (*E*,*E*,*E*)-[1,2-$^{13}C_2$]Geranylgeraniol (**20****).



Ausbeute 401 mg (1.13 mmol, 87 %), nahezu farblose Flüssigkeit (Rohprodukt).

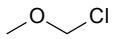
^{1}H-NMR (300 MHz, $CDCl_3$): δ = 1.60 (s, 9 H, 18-H, 19-H, 20-H), 1.68 (s, 3 H, 16-H), 1.73 („d“, $^{3}J_{CH}$ = 5.0 Hz, 3 H, 17-H), 1.93-2.15 (m, 12 H, 4-H, 5-H, 8-H, 9-H, 12-H, 13-H), 4.01 (ddd, $^{1}J_{CH}$ = 153 Hz, $^{3}J_{HH}$ = 8.4 Hz, $^{2}J_{CH}$ = 3.9 Hz, 2 H, 2-H), 5.05-5.15 (m, 3 H, 6-H, 10-H, 14-H), 5.51 (dm, $^{1}J_{CH}$ ≈ 159 Hz, 1 H, 2-H).

$^{13}C_2C_{18}H_{33}Br$ (355.36).

17 Synthesen polyprenylierter Arene

17.1 Allgemeine Arbeitsvorschriften zu Kapitel 17

AAV 1: Herstellung von Chlormethoxymethan (MOMCl)



Nach Lit.[237] werden in einem Einhalskolben mit Rührfisch und Septum 7.99 g (105 mmol, 1.05 Äquiv.) Dimethoxymethan (getrocknet über Molekularsieb) und 0.24 ml (6.0 mmol, 0.06 Äquiv.) Methanol (getrocknet über Molekularsieb) vorgelegt. Ausheizen des Kolbens oder Schutzgasatmosphäre sind nicht erforderlich. Mittels einer Spritze werden 7.85 g (100 mmol, 1.00 Äquiv.) Acetylchlorid innerhalb von ca. 5 min in mehreren Portionen zugegeben. Die Temperatur darf dabei 45°C nicht überschreiten, bei größeren Ansätzen wird daher ein Innenthermometer verwendet. Man rührt bei RT, bis die Umsetzung vollständig ist (etwa 24 bis 36 h, NMR-Kontrolle). Die so erhaltene 6 M Lösung von Chlormethoxymethan in Essigsäuremethylester wird direkt eingesetzt; sie kann im dicht verschlossenen Kolben wochenlang aufbewahrt werden.

^{1}H-NMR (300 MHz, $CDCl_3$): δ = 3.49 (s, 3 H, OCH_3), 5.44 (2, 2 H, OCH_2Cl).
^{13}C-NMR (75 MHz, $CDCl_3$): δ = 57.67 (OCH_3), 84.61 (OCH_2Cl).
C_2H_5ClO (80.51).

Essigsäuremethylester:
^{1}H-NMR (300 MHz, $CDCl_3$): δ = 2.03 (s, 3 H, CH_3CO), 3.64 (s, 3 H, OCH_3).
Acetylchlorid:
^{1}H-NMR (300 MHz, $CDCl_3$): δ = 2.65 (s, 3 H, CH_3CO).
Dimethoxymethan:
^{1}H-NMR (300 MHz, $CDCl_3$): δ = 3.33 (s, 6 H, 2 OCH_3), 4.55 (s, 2 H, OCH_2O).

AAV 2: Spaltung von (Methoxymethyl)arylethern mit Chlorwasserstoff

In einem Schlenkkolben wird das Substrat in trockenem Methanol bzw. Isopropanol gelöst (c = 0.1 M). Ist das Reaktionsprodukt oxidationsempfindlich, so wird die Lösung durch mehrmaliges wechselweises Anlegen von Vakuum und Belüften mit Argon von Sauerstoff befreit.

Anschließend wird die jeweils angegebene Menge[78] Acetylchlorid zugegeben. Die Reaktion wird dünnschichtchromatographisch verfolgt, unnötig lange Reaktionszeiten sind zu vermeiden. Nach Beendigung der Abspaltung wird mit Wasser versetzt und mehrmals mit Essigsäureethylester extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden zweimal mit Wasser gewaschen (pH-Kontrolle). Nach Entfernen des Lösungsmittels wird i. Vak. getrocknet und wie angegeben gereinigt.

AAV 3: Spaltung von (Methoxymethyl)arylethern mit Toluolsulfonsäure

Eine 0.1 M Lösung des geschützten Substrates in Isopropanol wird mit 4-Toluolsulfonsäure-Monohydrat versetzt und bei 60°C gerührt. Nach Beendigung der Reaktion wird mit Wasser versetzt und mehrmals mit Essigsäureethylester extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden zweimal mit Wasser gewaschen. Nach Entfernen des Lösungsmittels wird i. Vak. getrocknet und wie angegeben gereinigt.

AAV 4: Polyprenylierung von 1,2,4-Tris(methoxymethoxy)benzol (**31**) an C-3

In einem Schlenkkolben werden 1.2 Äquiv. 1,2,4-Tris(methoxymethoxy)benzol (**31**) in abs. Tetrahydrofuran gelöst (c = 0.1 M) und bei 0°C mit 1.2 Äquiv. *n*-Butyllithium versetzt. Man rührt 0.5 h bei RT, kühlt anschließend auf 0°C und versetzt mit 1.2 Äquiv. festem Kupfer(I)-chlorid. Nach 0.5 h wird auf –20°C gekühlt und eine Lösung des Polyprenylbromides (1.0 Äquiv.) in Tetrahydrofuran mittels einer Spritzenpumpe langsam zugesetzt. Nach Beendigung des Zutropfens rührt man noch 0.5 h bei –20 bis –10°C, entfernt dann das Kühlbad und läßt auf RT kommen. Nach Quenchen mit ges. NH_4Cl-Lösung und mehrfacher Extraktion mit Diethylether werden die vereinigten organischen Phasen über Na_2SO_4 getrocknet, das Lösungsmittel i. Vak. entfernt und das Produkt wie angegeben gereinigt.

AAV 5: Polyprenylierung von 1-Brom-2,3,5-tris(methoxymethoxy)benzol (**38**)

In einem Schlenkkolben werden 1.2 Äquiv. 1-Brom-2,3,5-tris(methoxymethoxy)benzol (**38**) in abs. Tetrahydrofuran gelöst (c = 0.2 M). Nach Kühlung auf -78°C tropft man 1.3 Äquiv.

[78] Die Zahl der jeweils angegebenen Äquivalente bezieht sich dabei immer auf die Einheit eines Moleküles, auch wenn dieses mehrere abzuspaltende MOM-Schutzgruppen trägt.

einer Lösung von *n*-Butyllithium in Hexan zu, rührt die farblose Lösung 15 min, setzt 0.04 Äquiv. einer Lösung von Li_2CuCl_4 in Tetrahydrofuran zu und rührt weitere 10 min. Mittels einer Spritzenpumpe wird eine Lösung von 1.0 Äquiv. des entsprechenden Polyprenylbromides in abs. Tetrahydrofuran (c = 0.2 bis 0.4 M) langsam (innerhalb etwa 0.5 bis 0.75 h für einen 0.5 mmol-Ansatz) zugetropft. Nach Beendigung des Zutropfens rührt man noch 2.5 h bei –78°C, entfernt anschließend das Kühlbad und läßt die Lösung auf RT erwärmen. Es wird mit ges. wäßr. NH_4Cl-Lösung und verd. Ammoniaklösung versetzt und mehrmals mit Diethylether extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden mit ges. NaCl-Lösung gewaschen und über Na_2SO_4 getrocknet. Nach Entfernen des Lösungsmittels i. Vak. reinigt man wie angegeben.

AAV 6: Herstellung von Isopropylmagnesiumbromid

In einem 25 ml-Zweihalskolben mit Rührfisch, Septum und Rückflußkühler werden ca. 0.36 g (15 mmol, 1.5 Äquiv.) Magnesiumspäne i. Vak. ausgeheizt. Nach Abkühlen und Fluten mit Argon setzt man 7 ml abs. Tetrahydrofuran zu. Zu diesem Gemisch läßt man aus einer Spritze ca. 10 % einer Lösung von 1.23 g (10 mmol, 1 Äquiv.) Isopropylbromid in 3 ml abs. Tetrahydrofuran fließen. Nach zwei bis vier Minuten beginnt die Erwärmung des Gemisches und es stellt sich eine leichte Trübung ein. Mittels einer Spritzenpumpe wird nun der Rest der Alkylhalogenidlösung langsam (innerhalb etwa 20-30 min) zugetropft, wobei die Lösung mäßig warm wird. Nach Beendigung des Zutropfens erwärmt man noch 1 h auf 60°C. Die überstehende Lösung wird nach Absetzenlassen des überschüssigen Magnesiums ohne Filtration verwendet.

Bestimmung der Konzentration in Anlehnung an Lit.[475]: Ca. 0.8 mmol Menthol werden genau abgewogen und in einem ausgeheizten und mit Argon befüllten Schlenkkolben zusammen mit einer Spatelspitze trockenem 1,10-Phenanthrolin in ca. 2.5 ml abs. Tetrahydrofuran gelöst. Aus einer 1 ml-Spritze wird unter Rühren bis zur Violettfärbung mit Grignard-Lösung titriert. Die Konzentrationen liegen i.d.R. um 0.85 M.

Zur Übertragung des Grignard-Reagenzes sollten nur Spritzen mit relativ kurzen (4 cm) und nicht zu dünnen Kanülen verwendet werden. Im Falle längerer Kanülen wurde des öfteren (insbesondere bei sehr langsamer Tropfgeschwindigkeit) Verstopfung durch eine glasartige Erhärtung der Lösung in der Kanüle beobachtet.

AAV 7: Herstellung von Lithiumtrichlorocuprat(I)

Ein 25 ml-Schlenkkolben mit Rührfisch wird mit Argon befüllt und gewogen. Ca. 100 mg trockenes Lithiumchlorid (2 Äquiv.) werden zugegeben, dessen genaue Masse man anschließend durch Wägung bestimmt. Nach Ausheizen des Kolbens zusammen mit dem LiCl, Abkühlen und Befüllen mit Argon setzt man soviel Tetrahydrofuran zu, daß später eine etwa 0.2 M Lösung an Li_2CuCl_3 resultiert. Nach Zugabe von 1 Äquiv. Kupfer(I)-chlorid und Rühren entsteht schnell eine klare, schwach grünliche Lösung von Lithiumtrichlorocuprat(I), die nicht über längere Zeit haltbar ist. Handelsübliches (grünes) CuCl ist ungeeignet. Eine Reinigung[476] ist unter größeren Substanzverlusten möglich. Dazu wird mit konz. HCl versetzt und filtriert. In die grüne Lösung läßt man vorsichtig Wasser einlaufen, bis sich ein nahezu farbloser Niederschlag bildet. Dieser wird abfiltriert, einmal mit Eisessig und mehrmals mit Diethylether gewaschen und i. Vak. bei 100°C (Trockenpistole) getrocknet. Alternativ kann reines (99.995 %), nahezu farbloses CuCl im Handel bezogen werden. Reines CuCl wird unter Licht-, Feuchtigkeits- und Luftausschluß gelagert.

AAV 8: Kupplung von Aryliodiden mit Polyprenylbromiden

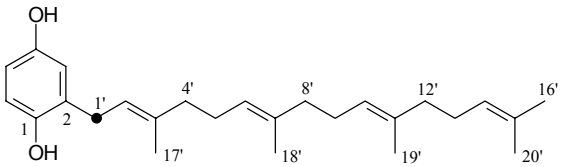
Eine 0.2 M Lösung des Aryliodids (1.2 Äquiv.) in abs. Tetrahydrofuran wird auf -20°C gekühlt. Man tropft langsam 1.35 Äquiv. einer Lösung von Isopropylmagnesiumbromid in Tetrahydrofuran (AAV 6) zu und rührt 0.5 h, worauf man 0.04 Äquiv. einer Lösung von Li_2CuCl_4 in abs. Tetrahydrofuran[79] zusetzt. Alternativ kann auch Li_2CuCl_3 (AAV 7) verwendet werden. Nach 10 min Rühren wird eine Lösung von 1.0 Äquiv. des entsprechenden Prenylbromids in abs. Tetrahydrofuran (Konzentration etwa 0.2 bis 0.4 M) mittels einer Spritzenpumpe langsam (innerhalb etwa 0.5 bis 0.75 h für einen 0.5 mmol-Ansatz) zugetropft. Nach Beendigung des Zutropfens wird noch 1.5 h bei –20°C weitergerührt. Dann entfernt man das Kühlbad, läßt auf RT kommen und quencht mit ges. NH_4Cl-Lösung. Nach Zusatz von verd. Ammoniaklösung extrahiert man mehrmals mit Diethylether, wäscht die vereinigten organischen Phasen mit ges. NaCl-Lösung und trocknet über Na_2SO_4. Nach Entfernen des Lösungsmittels wird das Rohprodukt durch Säulenchromatographie an Kieselgel gereinigt.

[79] Eine 0.2 M Lösung von Li_2CuCl_4 in THF kann im Handel bezogen werden. Alternativ ist die Herstellung der Lösung durch Vereinigen von LiCl und $CuCl_2$ in THF möglich.[252]

AAV 9: Verseifung von Benzoesäuremethylesterderivaten

Die Esterverseifung erfolgt unter mäßigem Rückfluß (Ölbadtemperatur 100°C) im Gemisch Methanol : 2 N wäßr. LiOH = 3:1 (v/v). Es werden mindestens 1.5 Äquiv. LiOH eingesetzt; bei kleinen Ansatzgrößen entsprechend mehr, so daß ungehindertes Refluxieren möglich ist (auch eine große Überdosierung der Base hat keinerlei negative Auswirkung). Nach Beendigung der Umsetzung wird mit Wasser versetzt, mit 2 N HCl schwach angesäuert und mehrmals mit Essigsäureethylester extrahiert. Nach Waschen der vereinigten organischen Phasen mit Wasser wird das Lösungsmittel entfernt und i. Vak. getrocknet. Eine Reinigung der Produkte ist i.d.R. nicht erforderlich.

17.2 (*E*,*E*,*E*)-[1'-^{13}C]Geranylgeranylhydrochinon (5*)



In Anlehnung an Lit.[10,60] werden 0.119 g (1.00 mmol, 2 Äquiv.) Hydrochinon und 16 µl (0.125 mmol, 0.25 Äquiv.) Bortrifluorid-Etherat in 1 ml abs. Dioxan gelöst. Zu dieser Lösung tropft man bei 60°C langsam (innerhalb 0.5 bis 0.75 h) eine Lösung von 0.146 g (0.5 mmol, 1 Äquiv.) [1-^{13}C]Geranylgeraniol (**20***) in Dioxan. Man rührt bei 60°C solange, bis kein Geranylgeraniol mehr vorhanden ist (etwa 2.5 h, DC-Kontrolle). Die Lösung wird nach Abkühlen mit Wasser versetzt und anschließend wird mehrmals mit Diethylether extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden mit Wasser und ges. NaCl-Lösung gewaschen und über Na_2SO_4 getrocknet. Nach dem Entfernen des Lösungsmittels i. Vak. trennt man den Hauptteil des nicht umgesetzten Hydrochinons ab, indem man den Rückstand in Chloroform aufnimmt und durch Glaswolle filtriert (nachwaschen mit Chloroform). Das Filtrat wird i. Vak. vom Lösungsmittel befreit und das Rohprodukt durch Säulenchromatographie über Kieselgel mit dem Laufmittel Isohexan : Essigsäureethylester = 4:1 gereinigt.

Ausbeute 60.3 mg (0.157 mmol, 31 %), farblose Flüssigkeit.

R_f 0.26 (Isohexan : Essigsäureethylester = 4:1).

^{1}H-NMR (300 MHz, $CDCl_3$): δ = 1.61 (s, 9 H, 18'-H, 19'-H, 20'-H), 1.69 (s, 3 H, 16'-H), 1.76 (s, 3 H, 17'-H), 1.94-2.22 (m, 12 H, 4'-H, 5'-H, 8'-H, 9'-H, 12'-H, 13'-H), 3.30 (dd, $^1J_{CH}$ = 127 Hz, $^3J_{HH}$ = 7.1 Hz, 2 H, 1'-H), 4.89 (s, br., 1 H, OH), 4.93

(s, br., 1 H, OH), 5.06-5.19 (m, 3 H, 6'-H, 10'-H, 14'-H), 5.26-5.36 (m, 1 H, 2'-H), 6.54-6.70 (m, 3 H, ArH).

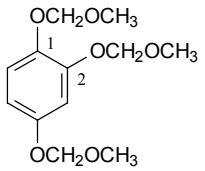
^{13}C-NMR (75 MHz, $CDCl_3$): δ = 16.07 / 16.12 (C-18', C-19'), 16.27 (d, $^3J_{CC}$ = 3.8 Hz, C-17'), 17.74 (C-20'), 25.75 (C-16'), 26.49 / 26.65 / 26.83 (C-5', C-9', C-13'), 29.71 (C-1'), 39.65-39.89 (C-4', C-8', C-12'), 113.82 / 116.68 (2 CH) (C-3, C-5, C-6), 121.36 (d, $^1J_{CC}$ = 42.7 Hz, C-2'), 123.79 / 124.30 / 124.49 (C-6', C-10', C-14'), 128.39 (d, $^1J_{CC}$ = 42.7 Hz, C-2), 131.35 (C-15'), 135.04 / 135.62 / 138.67 (C-3', C-7', C-11'), 148.18 / 149.38 (d, J_{CC} = 4.1 Hz) (C-1, C-4).

EI-MS *m/z* (%) = 384 (13) $[M+1]^+$, 383 (42) $[M]^+$, 368 (1), 340 (2), 314 (2) $[M-C_5H_9]^+$, 301 (2), 259 (8), 247 (6), 233 (6), 232 (6), 204 (8), 202 (5), 191 (11), 190 (9), 179 (25), 178 (18), 177 (15), 164 (31), 162 (38), 150 (8), 149 (12), 148 (9), 137 (12), 135 (18), 124 (79), 123 (24), 121 (19), 109 (25), 107 (19), 95 (24), 93 (20), 91 (13), 81 (49) $[C_6H_9]^+$, 69 (100) $[C_5H_9]^+$, 68 (18), 67 (23), 55 (18), 53 (16), 41 (46) $[C_3H_5]^+$.

$^{13}CC_{25}H_{38}O_2$ (383.58).

17.3 3-Polyprenylbenzol-1,2,4-triole (7, 7*, 33)

1,2,4-Tris(methoxymethoxy)benzol (**31**)



Beschrieben wird die Herstellung aus dem im Vergleich zu Benzol-1,2,4-triol billigeren käuflichen Triacetat. Man löst 5.04 g (20 mmol) 1,2,4-Triacetoxybenzol (**30**) unter Erwärmen in 50 ml Methanol. Durch mehrmaliges wechselweises Anlegen von Vakuum und Schutzgas wird die Lösung von Sauerstoff befreit. Man gibt 3.9 ml (4.00 g, 80 mmol, 4 Äquiv.) Hydrazin-Monohydrat zu, rührt 15 min bei RT und entfernt anschließend die flüchtigen Komponenten i. Vak. Der Rückstand wird mit schutzgasgesättigter verd. Salzsäure versetzt und mehrfach mit Essigsäureethylester extrahiert. Nach Waschen mit ges. NaCl-Lösung und Trocknen über Na_2SO_4 wird das Lösungsmittel i. Vak. entfernt. Eine Suspension des Rohproduktes (2.45 g, 97 %) in 50 ml abs. Methylenchlorid wird unter leichter Kühlung mit 19.0 ml (114 mmol, 6 Äquiv.) einer 6 M Lösung von Methoxymethylchlorid in Essigsäuremethylester (AAV 1) sowie 26 ml (19.6 g, 152 mmol, 8 Äquiv.) Ethyldiisopropylamin[80] versetzt, wobei vollständige Auflösung eintritt. Nach mehreren Stunden Rühren wird mit verd. Natronlauge versetzt,

[80] Etwas höhere Ausbeuten (70 bis 80 %) können erreicht werden, wenn mehrmals hintereinander Natriumhydrid im Wechsel mit MOMCl zugegeben wird. Die oben beschriebene Methode ist bequemer durchzuführen.

der Hauptteil des Lösungsmittels i. Vak. entfernt und mehrmals mit Diethylether extrahiert. Nach Waschen der vereinigten organischen Phasen mit ges. NaCl-Lösung und Trocknen über Na_2SO_4 werden Ether und Hünig-Base i. Vak. entfernt. Das Rohprodukt wird mittels Säulenchromatographie an Kieselgel mit dem Laufmittel Isohexan : Essigsäureethylester = 3:1 gereinigt.

Ausbeute 3.21 g (12.4 mmol, 62 %), geringfügig gelbe Flüssigkeit.

R_f 0.35 (Isohexan : Essigsäureethylester = 3:1).

IR (KBr): $\tilde{\nu}$ = 2994 cm^{-1} (m), 2956 (s), 2901 (s), 2827 (m), 2787 (w), 1609 (m), 1596 (m), 1505 (s), 1469 (m), 1442 (m), 1402 (m), 1261 (m), 1223 (s), 1194 (s), 1153 (s), 1126 (m), 1080 (s), 1008 (s, br.), 923 (s), 850 (m), 811 (m), 767 (w), 708 (w), 666 (w), 631 (w).

^{1}H-NMR (300 MHz, $CDCl_3$): δ = 3.46 (s, 3 H, $OCH_2OC\mathit{H}_3$), 3.50 (s, 3 H, $OCH_2OC\mathit{H}_3$), 3.51 (s, 3 H, $OCH_2OC\mathit{H}_3$), 5.10 (s, 2 H, $OC\mathit{H}_2OCH_3$), 5.14 (s, 2 H, $OC\mathit{H}_2OCH_3$), 5.20 (s, 2 H, $OC\mathit{H}_2OCH_3$), 6.64 (dd, ^3J = 8.9 Hz, ^4J = 2.9 Hz, 1 H, 5-H), 6.88 (d, ^4J = 2.9 Hz, 1 H, 3-H), 7.05 (d, ^3J = 8.9 Hz, 1 H, 6-H).

^{13}C-NMR (75 MHz, $CDCl_3$): δ = 55.97 ($OCH_2O\mathit{C}H_3$), 56.15 ($OCH_2O\mathit{C}H_3$), 56.24 ($OCH_2O\mathit{C}H_3$), 95.12 ($O\mathit{C}H_2OCH_3$), 95.53 ($O\mathit{C}H_2OCH_3$), 96.30 ($O\mathit{C}H_2OCH_3$), 106.57 / 109.38 / 118.25 (C-3, C-5, C-6), 142.31 / 148.27 / 152.98 (C-1, C-2, C-4).

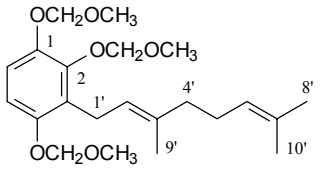
EI-MS *m/z* (%) = 259 (4) $[M+1]^+$, 258 (35) $[M]^+$, 213 (2) $[M–C_2H_5O]^+$, 195 (2), 182 (28), 152 (52), 137 (7), 123 (2), 121 (2), 79 (2), 45 (100) $[C_2H_5O]^+$.

EA ber. C 55.81 H 7.02
gef. C 55.82 H 7.26

$C_{12}H_{18}O_6$ (258.27).

3-Geranyl-1,2,4-tris(methoxymethoxy)benzol (**32**)

Nach AAV 4 werden 62.0 mg (0.240 mmol) 1,2,4-Tris(methoxymethoxy)benzol (**31**) mit 43.4 mg (0.200 mmol) Geranylbromid umgesetzt. Die Reinigung des Produktes erfolgt durch Säulenchromatographie an Kieselgel mit dem Eluenten Isohexan : Essigsäureethylester = 7:1.



Ausbeute 55.3 mg (0.140 mmol, 70 %), farblose Flüssigkeit.

R_f 0.27 (Isohexan : Essigsäureethylester = 7:1).

IR (KBr): $\tilde{\nu}$ = 2957 cm^{-1} (s, br.), 2927 (s), 2850 (m), 2826 (m), 1593 (w), 1485 (s), 1440 (m), 1399 (w), 1250 (m), 1206 (m), 1154 (s), 1082 (m), 1045 (ss, br.), 943 (s), 925 (m), 805 (w), 717 (w).

^{1}H-NMR (300 MHz, $CDCl_3$): δ = 1.57 (s, 3 H, 10'-H), 1.64 (s, 3 H, 8'-H), 1.78 (s, 3 H, 9'-H), 1.94-2.10 (m, 4 H, 4'-H, 5'-H), 3.44 (d, $^3J \approx 7$ Hz[81], 2 H, 1'-H), 3.46 (s, 3 H, OCH_2OCH_3), 3.50 (s, 3 H, OCH_2OCH_3), 3.59 (s, 3 H, OCH_2OCH_3), 5.03-5.11 (m, 1 H, 6'-H), 5.10 (s, 2 H, OCH_2OCH_3), 5.12 (s, br., 4 H, 2 OCH_2OCH_3), 5.22 („tq“, ^3J = 6.8 Hz, ^4J = 1.2 Hz, 1 H, 2'-H), 6.78 (d, ^3J = 9.1 Hz, 1 H, ArH), 6.92 (d, ^3J = 9.1 Hz, 1 H, ArH).

^{13}C-NMR (75 MHz, $CDCl_3$): δ = 16.24 (C-9'), 17.68 (C-10'), 23.64 (C-1'), 25.70 (C-8'), 26.74 (C-5'), 39.78 (C-4'), 55.91 (OCH_2OCH_3), 56.16 (OCH_2OCH_3), 57.54 (OCH_2OCH_3), 94.94 (OCH_2OCH_3), 95.92 (OCH_2OCH_3), 99.27 (OCH_2OCH_3), 110.05 / 114.68 (C-5, C-6), 122.98 (C-2'), 124.42 (C-6'), 126.19 (C-3), 131.29 (C-7'), 134.84 (C-3'), 144.99 / 145.80 / 150.97 (C-1, C-2, C-4).

EI-MS *m/z* (%) = 395 (4) $[M+1]^+$, 394 (16) $[M]^+$, 318 (6), 317 (4), 285 (7), 217 (16), 203 (11), 189 (13), 151 (20), 135 (15), 69 (20) $[C_5H_9]^+$, 45 (100) $[C_2H_5O]^+$, 41 (10) $[C_3H_5]^+$.

HR-EI-MS ber. 394.2355, gef. 394.2368.

$C_{22}H_{34}O_6$ (394.51).

3-(*E*,*E*,*E*)-Geranylgeranyl-1,2,4-tris(methoxymethoxy)benzol (**34**, **34***)

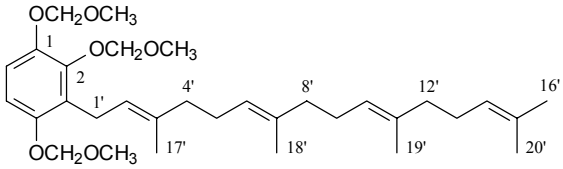
Die Herstellung erfolgt nach AAV 4 aus 1,2,4-Tris(methoxymethoxy)benzol (**31**) und (*E*,*E*,*E*)-Geranylgeranylbromid (**25** bzw. **25***). Das Rohprodukt wird mittels Säulenchromatographie über Kieselgel mit dem Laufmittel Isohexan : Essigsäureethylester = 10:1 gereinigt.

Ausbeute 73 % (Ansatzgröße 0.25 mmol), farblose Flüssigkeit.

R_f 0.23 (Isohexan : Essigsäureethylester = 10:1).

[81] Wegen Überlagerung des Dublettsignales δ 3.44 mit dem Signal δ 3.46 ist die genaue Bestimmung der Kopplungskonstanten nicht möglich.

*a) Daten der unmarkierten Verbindung: 3-(E,E,E)-Geranylgeranyl-1,2,4-tris-(methoxymethoxy)benzol (**34**)*



IR (KBr): $\tilde{\nu}$ = 2956 cm^{-1} (s, sh), 2925 (s, br.), 2849 (s), 2826 (s, sh), 1666 (w), 1593 (w), 1485 (s), 1440 (s), 1399 (m), 1382 (m), 1250 (s), 1206 (m), 1154 (s), 1089 (s), 1046 (ss, br.), 944 (s), 926 (s), 805 (m), 717 (w), 679 (w).

^{1}H-NMR (300 MHz, $CDCl_3$): δ = 1.57 (s, 3 H) / 1.59 (s, 3 H) / 1.60 (s, 3 H) (18'-H, 19'-H, 20'-H), 1.68 (s, 3 H, 16'-H), 1.78 (s, 3 H, 17'-H), 1.91-2.11 (m, 12 H, 4'-H, 5'-H, 8'-H, 9'-H, 12'-H, 13'-H), 3.44 (d, $^3J \approx 7$ Hz[81], 2 H, 1'-H), 3.46 (s, 3 H, $OCH_2OC\mathit{H}_3$), 3.50 (s, 3 H, $OCH_2OC\mathit{H}_3$), 3.59 (s, 3 H, $OCH_2OC\mathit{H}_3$), 5.05-5.13 (m, 3 H, 4'-H, 8'-H, 12'-H), 5.10 (s, 2 H, $OC\mathit{H}_2OCH_3$), 5.12 (s, br., 4 H, 2 $OC\mathit{H}_2OCH_3$), 5.23 („tq“, ^3J = 6.7 Hz, ^4J = 1.2 Hz, 1 H, 2'-H), 6.78 (d, ^3J = 9.0 Hz, 1 H, ArH), 6.93 (d, ^3J = 9.0 Hz, 1 H, ArH).

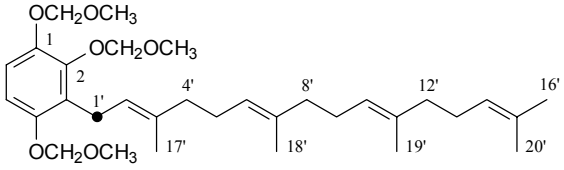
^{13}C-NMR (75 MHz, $CDCl_3$): δ = 16.05 (s, 2 CH_3, C-18', C-19'), 16.30 (C-17'), 17.73 (C-20'), 23.66 (C-1'), 25.74 (C-16'), 26.72 / 26.75 / 26.84 (C-5', C-9', C-13'), 39.78 (2 CH_2) / 39.84 (1 CH_2) (C-4', C-8', C-12'), 55.91 ($OCH_2O\mathit{C}H_3$), 56.17 ($OCH_2O\mathit{C}H_3$), 57.56 ($OCH_2O\mathit{C}H_3$), 94.93 ($O\mathit{C}H_2OCH_3$), 95.93 ($O\mathit{C}H_2OCH_3$), 99.28 ($O\mathit{C}H_2OCH_3$), 110.05 / 114.68 (C-5, C-6), 122.92 (C-2'), 124.31 / 124.33 / 124.48 (C-6', C-10', C-14'), 126.18 (C-3), 131.28 (C-15'), 134.93 (2 C) / 134.99 (C-3', C-7', C-11'), 144.99 / 145.81 / 150.97 (C-1, C-2, C-4).

EI-MS *m/z* (%) = 531 (4) $[M+1]^+$, 530 (13) $[M]^+$, 485 (3) $[M–C_2H_5O]^+$, 453 (8), 421 (9), 353 (5), 285 (17), 217 (53), 189 (47), 151 (71), 147 (35), 139 (36), 135 (28), 121 (36), 81 (47) $[C_6H_9]^+$, 69 (83) $[C_5H_9]^+$, 45 (100) $[C_2H_5O]^+$, 41 (14) $[C_3H_5]^+$.

HR-EI-MS ber. 530.3607, gef. 530.3617.

$C_{32}H_{50}O_6$ (530.75).

*b) Daten der markierten Verbindung: 3-(E,E,E)-[1'-^{13}C]Geranylgeranyl-1,2,4-tris(methoxymethoxy)benzol (**34***)*



^{1}H-NMR (300 MHz, $CDCl_3$): δ = 1.58 (s, 3 H) / 1.59 (s, 3 H) / 1.60 (s, 3 H) (18'-H, 19'-H, 20'-H), 1.68 (s, 3 H, 16'-H), 1.78 (s, 3 H, 17'-H), 1.91-2.12 (m, 12 H, 4'-H, 5'-H, 8'-H, 9'-H, 12'-H, 13'-H), 3.44 (dd, $^1J_{CH}$ = 128 Hz, $^3J_{HH}$ = 6.6 Hz, 2 H, 1'-H), 3.46 (s, 3 H, $OCH_2OC\mathit{H}_3$), 3.50 (s, 3 H, $OCH_2OC\mathit{H}_3$), 3.59 (s, 3 H,

OCH_2OCH_3), 5.05-5.16 (m, 3 H, 4'-H, 8'-H, 12'-H), 5.10 (s, 2 H, OCH_2OCH_3), 5.12 (s, br., 4 H, 2 OCH_2OCH_3), 5.17-5.26 (m, 1 H, 2'-H), 6.78 (d, ^3J = 9.1 Hz, 1 H, ArH), 6.92 (d, ^3J = 9.1 Hz, 1 H, ArH).

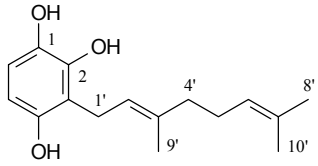
^{13}C-NMR (75 MHz, $CDCl_3$): δ = 16.05 (s, 2 CH_3, C-18', C-19'), 16.31 (d, $^3J_{CC}$ = 3.8 Hz, C-17'), 17.73 (C-20'), 23.66 (^{13}C-1'), 25.75 (C-16'), 26.72 / 26.75 / 26.84 (C-5', C-9', C-13'), 39.69-39.95 (m, C-4', C-8', C-12'), 55.92 (OCH_2OCH_3), 56.17 (OCH_2OCH_3), 57.57 (OCH_2OCH_3), 94.93 (OCH_2OCH_3), 95.93 (OCH_2OCH_3), 99.28 (OCH_2OCH_3), 110.05 / 114.68 (C-5, C-6), 122.91 (d, $^1J_{CC}$ = 42.9 Hz, C-2'), 124.31 / 124.33 / 124.48 (C-6', C-10', C-14'), 126.17 (d, $^1J_{CC}$ = 44.0 Hz, C-3), 131.28 (C-15'), 134.94 (2 C) / 135.00 (C-3', C-7', C-11'), 144.98 / 145.80 / 150.97 (C-1, C-2, C-4).

EI-MS *m/z* (%) = 531 (6) $[M]^+$, 486 (2) $[M–C_2H_5O]^+$, 455 (5), 454 (5), 354 (3), 286 (8), 236 (9), 218 (22), 192 (15), 190 (19), 152 (27), 140 (15), 135 (12), 121 (15), 109 (11), 107 (13), 95 (13), 93 (11), 81 (25) $[C_6H_9]^+$, 69 (56) $[C_5H_9]^+$, 45 (100) $[C_2H_5O]^+$, 41 (16) $[C_3H_5]^+$.

$^{13}CC_{31}H_{50}O_6$ (531.74).

3-Geranylbenzol-1,2,4-triol (**33**)

Nach AAV 2 wird eine Lösung von 51.4 mg (0.130 mmol) **32** in 1.3 ml Methanol mit 19 µl (0.261 mmol, 2 Äquiv.) Acetylchlorid entschützt. Die Reaktionszeit beträgt etwa 3 h. Das Rohprodukt wird durch Säulenchromatographie über Kieselgel mit dem Laufmittel Isohexan : Aceton = 2:1 gereinigt.



Ausbeute 21.9 mg (83.4 µmol, 64 %), farblose Flüssigkeit, die langsam zu einem schmierigen Feststoff erstarrt.

R_f 0.36 (Isohexan : Aceton = 2:1).

IR (KBr): $\tilde{\nu}$ = 3430 cm^{-1} (ss, br.), 2967 (m), 2925 (s), 2855 (m), 1628 (m, br.), 1487 (s), 1412 (w), 1378 (m), 1329 (m), 1297 (m), 1234 (m), 1031 (m), 962 (m), 886 (w), 792 (m), 754(w).

^{1}H-NMR (300 MHz, $CDCl_3$): δ = 1.69 (s, 3 H, 10'-H), 1.68 (s, 3 H, 8'-H), 1.82 (s, 3 H, 9'-H), 2.02-2.18 (m, 4 H, 4'-H, 5'-H), 3.44 (d, ^3J = 7.1 Hz, 2 H, 1'-H), 4.83 (s, 1 H, OH), 4.92 (s, 1 H, OH), 5.01-5.09 (m, 1 H, 6'-H), 5.28 („tq“, ^3J = 7.1 Hz, ^4J = 1.3 Hz, 1 H, 2'-H), 5.60 (s, 1 H, OH), 6.28 (d, ^3J = 8.6 Hz, 1 H, ArH), 6.62 (d, ^3J = 8.6 Hz, 1 H, ArH).

^{13}C-NMR (75 MHz, $CDCl_3$): δ = 16.26 (C-9'), 17.78 (C-10'), 23.04 (C-1'), 25.76 (C-8'), 26.39 (C-5'), 39.73 (C-4'), 107.02 / 113.05 (C-5, C-6), 114.67 (C-3), 121.34 (C-2'), 123.78 (C-6'), 132.31 (C-7'), 137.54 (C-3'), 139.56 / 143.10 / 148.44 (C-1, C-2, C-4).

EI-MS *m/z* (%) = 263 (10) $[M+1]^+$, 262 (59) $[M]^+$, 245 (4), 219 (8), 217 (9), 191 (3), 179 (17), 177 (71), 163 (11), 147 (14), 139 (81), 138 (100), 123 (56), 109 (21), 91 (13), 69 (58), 55 (14), 41 (43).

HR-EI-MS ber. 262.1569, gef. 262.1556.

$C_{16}H_{22}O_3$ (262.35).

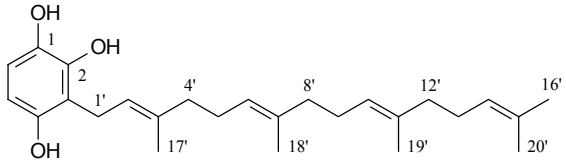
3-(*E*,*E*,*E*)-Geranylgeranylbenzol-1,2,4-triol (**7**, **7***)

Die Entschützung erfolgt nach AAV 2 mit 2 Äquivalenten Acetylchlorid in Methanol. Die Reaktionszeit beträgt etwa 3 h. Das Rohprodukt wird mittels Säulenchromatographie über Kieselgel mit dem Eluenten Isohexan : Aceton = 3:1 gereinigt.

Ausbeute 68 % (Ansatzgröße 0.16 mmol), geringfügig gelbe Flüssigkeit, die nur langsam zu einem schmierigen Feststoff erstarrt.

R_f 0.19 (Isohexan : Aceton = 3:1).

*a) Daten der unmarkierten Verbindung: 3-(E,E,E)-Geranylgeranylbenzol-1,2,4-triol (**7**)*



IR (KBr): $\tilde{\nu}$ = 3413 cm^{-1} (s, br.), 2966 (s), 2920 (ss), 2854 (s), 1666 (w), 1608 (w), 1487 (s), 1449 (m), 1379 (m), 1296 (m), 1246 (m), 1230 (m), 1185 (m), 1026 (m), 965 (m), 888 (m), 796 (m), 751 (w).

^{1}H-NMR (300 MHz, $CDCl_3$): δ = 1.60 (s, 9 H, 18'-H, 19'-H, 20'-H), 1.69 (s, 3 H, 16'-H), 1.82 (s, 3 H, 17'-H), 1.93-2.18 (m, 12 H, 4'-H, 5'-H, 8'-H, 9'-H, 12'-H, 13'-H), 3.45 (d, $^3J_{HH}$ = 7.1 Hz, 2 H, 1'-H), 4.88 (s, 1 H, OH), 4.99 (s, 1 H, OH), 5.04-5.15 (m, 3 H, 6'-H, 10'-H, 14'-H), 5.29 („tq“, ^3J = 7.0 Hz, ^4J = 1.2 Hz, 1 H, 2'-H), 5.61 (s, 1 H, OH), 6.27 (d, ^3J = 8.6 Hz, 1 H, 5-H), 6.61 (d, ^3J = 8.6 Hz, 1 H, 6-H).

^{13}C-NMR (75 MHz, $CDCl_3$): δ = 16.08 / 16.14 (C-18', C-19'), 16.31 (C-17'), 17.76 (C-20'), 23.03 (C-1'), 25.76 (C-16'), 26.40 / 26.66 / 26.84 (C-5', C-9', C-13'), 39.75 (2 CH_2) / 39.79 (1 CH_2) (C-4', C-8', C-12'), 106.96 / 113.07 (C-5, C-6),

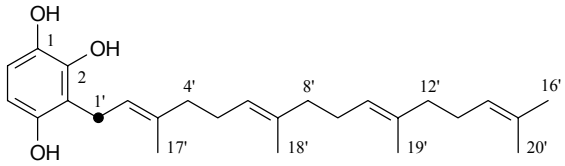
114.63 (C-3), 121.31 (C-2'), 123.62 / 124.30 / 124.50 (C-6', C-10', C-14'), 131.37 (C-15'), 135.07 / 135.85 / 137.47 (C-3', C-7', C-11'), 139.52 / 143.13 / 148.47 (C-1, C-2, C-4).

EI-MS *m/z* (%) = 399 (8) $[M+1]^+$, 398 (31) $[M]^+$, 396 (5) $[M–2\ H]^+$, 330 (3), 329 (3) $[M–C_5H_9]^+$, 262 (7), 259 (11), 219 (7), 217 (11), 194 (19), 179 (33), 177 (87), 139 (100), 138 (43), 123 (18), 121 (21), 109 (21), 107 (15), 81 (38) $[C_6H_9]^+$, 69 (64) $[C_5H_9]^+$, 55 (8), 41 (14) $[C_3H_5]^+$.

HR-EI-MS ber. 398.2821, gef. 398.2828.

$C_{26}H_{38}O_3$ (398.59).

*b) Daten der markierten Verbindung: 3-(E,E,E)-[1'-^{13}C]Geranylgeranylbenzol-1,2,4-triol (**7***)*



^{1}H-NMR (300 MHz, $CDCl_3$): δ = 1.60 (s, 9 H, 18'-H, 19'-H, 20'-H), 1.68 (s, 3 H, 16'-H), 1.82 (s, 3 H, 17'-H), 1.91-2.17 (m, 12 H, 4'-H, 5'-H, 8'-H, 9'-H, 12'-H, 13'-H), 3.44 (dd, $^1J_{CH}$ = 128 Hz, $^3J_{HH}$ = 7.0 Hz, 2 H, 1'-H), 5.04-5.16 (m, 3 H, 6'-H, 10'-H, 14'-H), 5.24-5.33 (m, 1 H, 2'-H), 5.60 (s, br., 1 H, OH), 6.27 (dd, $^3J_{HH}$ = 8.6 Hz, $^4J_{CH}$ = 1.0 Hz, 1 H, 5-H), 6.61 (d, ^3J = 8.6 Hz, 1 H, 6-H).

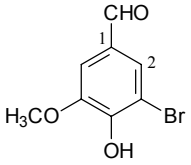
^{13}C-NMR (75 MHz, $CDCl_3$): δ = 16.08 / 16.14 (C-18', C-19'), 16.31 (d, $^3J_{CC}$ = 3.9 Hz, C-17'), 17.76 (C-20'), 23.03 (^{13}C-1'), 25.77 (C-16'), 26.40 / 26.66 / 26.85 (C-5', C-9', C-13'), 39.65-39.88 (m, C-4', C-8', C-12'), 106.93 / 113.07 (C-5, C-6), 114.61 (d, $^1J_{CC}$ = 43.4 Hz, C-3), 121.33 (d, $^1J_{CC}$ = 42.0 Hz, C-2'), 123.62 / 124.30 / 124.50 (C-6', C-10', C-14'), 131.36 (C-15'), 135.07 / 135.84 / 137.50 (C-3', C-7', C-11'), 139.48 / 143.14 / 148.48 (C-1, C-2, C-4).

EI-MS *m/z* (%) = 400 (18) $[M+1]^+$, 399 (60) $[M]^+$, 263 (10), 259 (11), 207 (10), 195 (14), 191 (11), 180 (36), 178 (30), 140 (100), 139 (45), 123 (21), 121 (15), 109 (18), 107 (13), 95 (17), 93 (12), 81 (30) $[C_6H_9]^+$, 69 (39) $[C_5H_9]^+$, 41 (20) $[C_3H_5]^+$.

$^{13}CC_{25}H_{38}O_3$ (399.58).

17.4 6-Polyprenylbenzol-1,2,4-triole (6, 6*, 40)

3-Brom-4-hydroxy-5-methoxybenzaldehyd, 5-Bromvanillin (**36**)



Nach Lit.[213] werden 15.22 g (100 mmol) Vanillin (**35**) in einem Einhalskolben mit Rührfisch und Tropftrichter mit 30 ml Eisessig versetzt. Eine Lösung von 5.1 ml (0.10 mol) Brom in 20 ml Eisessig wird schnell zugetropft, wobei leichte Erwärmung eintritt. Nach Beendigung des Zutropfens rührt man noch 5 min weiter und setzt langsam 250 ml Wasser zu. Das ausgefallene Produkt wird abfiltriert, mit Wasser gewaschen, getrocknet und anschließend aus EtOH (150 ml) umkristallisiert.

Ausbeute 17.89 g (77.4 mmol, 77 %), farblose kubische Kristalle.

Schmp. 162-164°C (Lit.[213] 163-164°C).

R_f 0.56 (Toluol : HCO_2H : HCO_2Et = 10:5:3).

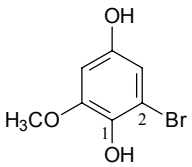
^{1}H-NMR (300 MHz, [D_6]Aceton): δ = 3.96 (s, 3 H, OCH_3), 7.44 (d, ^4J = 1.8 Hz, 1 H, ArH), 7.70 (d, ^4J = 1.8 Hz, 1 H, ArH), 9.81 (s, 1 H, CHO).

^{13}C-NMR (75 MHz, [D_6]Aceton): δ = 56.84 (OCH_3), 109.33 (C-3), 110.00 (C-6), 129.57 (C-2), 130.80 (C-1), 149.40 / 150.57 (C-4, C-5), 190.27 (CHO).

EI-MS *m/z* (%) = 232 (95) $[M]^+$ (^{81}Br), 231 (77) $[M–H]^+$ (^{81}Br), 230 (100) $[M]^+$ (^{79}Br), 229 (70) $[M–H]^+$ (^{79}Br), 217 (3), 215 (2), 203 (5) $[M–CHO]^+$ (^{81}Br), 201 (6) $[M–CHO]^+$ (^{79}Br), 189 (9), 187 (10), 161 (5), 159 (5), 152 (6), 151 (6) $[M–Br]^+$, 136 (2), 135 (3), 108 (2), 107 (4), 79 (8), 58 (24), 43 (57).

$C_8H_7BrO_3$ (231.05).

2-Brom-6-methoxybenzol-1,4-diol (**37**)



Nach der Methode von Lit.[214] wird in ein argongesättigtes Gemisch aus 33 ml Tetrahydrofuran und 13 ml Wasser eine Mischung aus 2.31 g (10.0 mmol) 5-Bromvanillin (**36**) und 1.65 g (10.5 mmol, 1.05 Äquiv.) Natriumpercarbonat (Na_2CO_3 × 1.5 H_2O_2) eingetragen. Einwirkung von Ultraschall ist nicht erforderlich. Man rührt solange, bis die Umsetzung vollständig ist (ca. 2 bis 3 h). Das Lösungsmittel wird entfernt, der Rückstand i. Vak. getrocknet und mittels

Säulenchromatographie an Kieselgel mit dem Laufmittel Isohexan : Essigsäureethylester = 2:1 gereinigt.

Ausbeute 2.00 g (9.15 mmol, 91 %), braungrauer Feststoff.

R_f 0.25 (Isohexan : Essigsäureethylester = 2:1),
0.50 (Toluol : HCO_2H : HCO_2Et = 10:5:3).

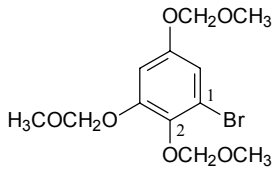
^{1}H-NMR (300 MHz, [D_6]Aceton): δ = 3.80 (s, 3 H, OCH_3), 6.48 (d, ^4J = 2.6 Hz, 1 H, ArH), 6.57 (d, ^4J = 2.6 Hz, 1 H, ArH), 7.45 (s, br., 1 H, OH), 8.04 (s, br., 1 H, OH).

^{13}C-NMR (75 MHz, [D_6]Aceton): δ = 56.47 (OCH_3), 100.54 (C-5$^{\#}$), 108.98 (C-2), 110.88 (C-3$^{\#}$), 138.18 / 149.52 / 151.53 (C-1, C-4, C-6).

EI-MS *m/z* (%) = 220 (8) $[M]^+$ (^{81}Br), 219 (94) $[M–H]^+$ (^{81}Br), 218 (9) $[M]^+$ (^{79}Br), 217 (100) $[M–H]^+$ (^{79}Br), 205 (56) $[M–CH_3]^+$ (^{81}Br), 203 (54) $[M–CH_3]^+$ (^{79}Br), 177 (37) $[M–CH_3–CO]^+$ (^{81} Br), 175 (37) $[M–CH_3–CO]^+$ (^{79}Br), 95 (7), 69 (13), 53 (16), 43 (4).

$C_7H_7BrO_3$ (219.03).

1-Brom-2,3,5-tris(methoxymethoxy)benzol (**38**)



In einem Schlenkkolben werden 1.025 g (4.68 mmol) 2-Brom-6-methoxybenzol-1,4-diol (**37**) in 10 ml abs. Methylenchlorid suspendiert und auf 0°C gekühlt. Nach Zutropfen von 1.8 ml (18.7 mmol, 4 Äquiv.) Bortribromid läßt man auf RT kommen und stellt den Kolben solange ins Ultraschallbad, bis vollständige Lösung eingetreten ist (ca. 10 min). Es wird 4 h bei RT gerührt, anschließend werden bei 0°C vorsichtig ca. 10 ml argongesättigtes Methanol zugesetzt. Man läßt auf RT kommen, refluxiert 0.5 h und destilliert nach Abkühlen Lösungsmittel und Borsäuretrimethylester i. Vak. in eine Kühlfalle ab. Der braune, feste Rückstand (R_f 0.44 (Toluol : HCO_2H : HCO_2Et = 10:5:3)) wird nach Trocknen i. Vak. in 10 ml abs. Methylenchlorid suspendiert, mit 4.7 ml (28 mmol, 6 Äquiv.) einer 6 M Lösung von Chlormethoxymethan in Essigsäuremethylester (AAV 1) sowie 6.4 ml (37 mmol, 8 Äquiv.) Ethyldiisopropylamin versetzt (Erwärmung, evtl. leichte Kühlung nötig) und über Nacht gerührt. Man versetzt mit verd. wäßr. Ammoniaklösung und extrahiert mehrmals mit Diethylether. Die vereinigten organischen Phasen werden mit ges. NaCl-Lösung gewaschen und über Na_2SO_4 getrocknet. Nach Entfernen des Lösungsmittels i. Vak. reinigt man mittels

Säulenchromatographie über Kieselgel mit dem Laufmittel Isohexan : Essigsäureethylester = 5:1.

Ausbeute 1.29 g (3.84 mmol, 82 %), farblose Flüssigkeit.

R_f 0.30 (Isohexan : Essigsäureethylester = 5:1).

IR (KBr): $\tilde{\nu}$ = 2995 cm^{-1} (m), 2958 (m), 2935 (m), 2904 (m), 2827 (m), 1600 (m), 1574 (m), 1485 (s), 1440 (m), 1397 (m), 1314 (w), 1294 (w), 1266 (w), 1223 (m), 1192 (m), 1156 (ss), 1134 (m), 1085 (s), 1023 (s), 1000 (s), 958 (s), 927 (s), 842 (m), 823 (m), 764 (w), 731 (w), 678 (w), 628 (w).

^{1}H-NMR (300 MHz, $CDCl_3$): δ = 3.46 (s, 3 H, OCH_2OCH_3), 3.48 (s, 3 H, OCH_2OCH_3), 3.65 (s, 3 H, OCH_2OCH_3), 5.09 (s, 2 H, OCH_2OCH_3), 5.10 (s, 2 H, OCH_2OCH_3), 5.16 (s, 2 H, OCH_2OCH_3), 6.81 (d, ^4J = 2.8 Hz, 1 H, ArH), 6.93 (d, ^4J = 2.8 Hz, 1 H, ArH).

^{13}C-NMR (75 MHz, $CDCl_3$): δ = 56.15 (OCH_2OCH_3), 56.41 (OCH_2OCH_3), 57.95 (OCH_2OCH_3), 94.94 (OCH_2OCH_3), 95.37 (OCH_2OCH_3), 98.97 (OCH_2OCH_3), 105.36 / 113.50 (C-4, C-6), 117.82 (C-1), 139.19 / 151.40 / 154.16 (C-2, C-3, C-5).

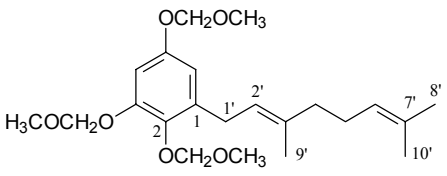
EI-MS *m/z* (%) = 338 (5) $[M]^+$ (^{81}Br), 336 (5) $[M]^+$ (^{79}Br), 293 (0.6) $[M–C_2H_5O]^+$ (^{81}Br), 291 (0.6) $[M–C_2H_5O]^+$ (^{79}Br), 262 (12), 260 (12), 257 (2) $[M–Br]^+$, 232 (10), 230 (10), 181 (2), 45 (100) $[C_2H_5O]^+$.

EA ber. C 42.75 H 5.08 Br 23.70
gef. C 42.61 H 5.05 Br 23.88

$C_{12}H_{17}BrO_6$ (337.17).

1-Geranyl-2,3,5-tris(methoxymethoxy)benzol (**39**)

Nach AAV 5 werden 97.4 mg (0.448 mmol) Geranylbromid (**11**) mit **38** umgesetzt. Das Produkt wird mittels Säulenchromatographie über Kieselgel mit dem Laufmittel Isohexan : Essigsäureethylester = 5:1 gereinigt.



Ausbeute 150 mg (0.381 mmol, 85 %[82]), farblose Flüssigkeit.

[82] Die angegebene Ausbeute bezieht sich auf eine Versuchsdurchführung mit Arylhalogenid und Polyprenylbromid im stöchiometrischen Verhältnis 1:1.

R_f 0.36 (Isohexan : Essigsäureethylester = 5:1).

IR (KBr): $\tilde{\nu}$ = 2958 cm^{-1} (s), 2928 (s), 2853 (m), 2826 (m), 1600 (s), 1485 (s), 1440 (m), 1398 (m), 1323 (m), 1226 (m), 1189 (m), 1155 (s), 1082 (s), 1031 (s), 976 (s), 942 (m), 925 (s), 848 (m), 777 (w), 746 (w), 686 (w), 632 (w), 562 (w).

^{1}H-NMR (300 MHz, $CDCl_3$): δ = 1.60 (s, 3 H, 10'-H), 1.68 (s, 3 H, 8'-H), 1.70 (s, 3 H, 9'-H), 2.00-2.17 (m, 4 H, 4'-H, 5'-H), 3.39 (d, ^3J = 7.2 Hz, 2 H, 1'-H), 3.47 (s, 3 H, OCH_2OCH_3), 3.50 (s, 3 H, OCH_2OCH_3), 3.60 (s, 3 H, OCH_2OCH_3), 5.04 (s, 2 H, OCH_2OCH_3), 5.10 (s, 2 H, OCH_2OCH_3), 5.07-5.16 (m, 1 H, 6'-H), 5.17 (s, 2 H, OCH_2OCH_3), 5.30 („tq“, ^3J = 7.2 Hz, ^4J = 1.1 Hz, 1 H, 2'-H), 6.53 (d, ^4J = 2.8 Hz, 1 H, ArH), 6.72 (d, ^4J = 2.8 Hz, 1 H, ArH).

^{13}C-NMR (75 MHz, $CDCl_3$): δ = 16.24 (C-9'), 17.73 (C-10'), 25.72 (C-8'), 26.76 (C-5'), 28.57 (C-1'), 39.79 (C-4'), 56.05 (OCH_2OCH_3), 56.29 (OCH_2OCH_3), 57.48 (OCH_2OCH_3), 94.99 (OCH_2OCH_3), 95.34 (OCH_2OCH_3), 99.26 (OCH_2OCH_3), 103.35 / 110.34 (C-4, C-6), 122.41 (C-2'), 124.33 (C-6'), 131.49 (C-7'), 136.62 / 136.68 (C-1, C-3'), 139.70 / 150.35 / 153.80 (C-2, C-3, C-5).

EI-MS *m/z* (%) = 395 (12) $[M+1]^+$, 394 (54) $[M]^+$, 362 (8), 319 (4), 318 (15), 317 (6), 285 (6), 265 (5), 226 (5), 221 (5), 217 (8), 203 (5), 196 (6), 195 (7), 191 (5), 183 (7), 182 (5), 159 (5), 152 (5), 151 (6), 147 (9), 135 (10), 123 (8), 81 (4) $[C_6H_9]^+$, 69 (17) $[C_5H_9]^+$, 45 (100) $[C_2H_5O]^+$, 41 (8) $[C_3H_5]^+$.

EA ber. C 66.98 H 8.69
gef. C 66.78 H 8.92

$C_{22}H_{34}O_6$ (394.51).

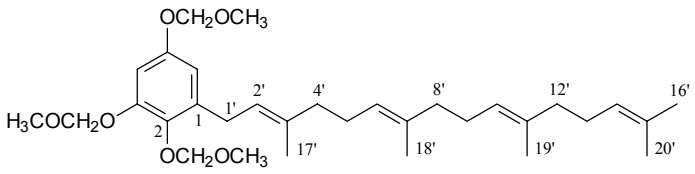
1-(*E*,*E*,*E*)-Geranylgeranyl-2,3,5-tris(methoxymethoxy)benzol (**41**, **41***)

Die Herstellung erfolgt nach AAV 5 durch Umsetzung von (*E*,*E*,*E*)-Geranylgeranylbromid (**25** bzw. **25***) mit **38**. Das Rohprodukt wird durch Säulenchromatographie über Kieselgel mit dem Eluenten Isohexan : Essigsäureethylester = 6:1 gereinigt.

Ausbeute 74 %[82] bis 83 % (Ansatzgröße 0.4 bis 0.6 mmol), farblose Flüssigkeit.

R_f 0.34 (Isohexan : Essigsäureethylester = 6:1).

*a) Daten der unmarkierten Verbindung: 1-(E,E,E)-Geranylgeranyl-2,3,5-tris(methoxymethoxy)benzol (**41**)*



IR (KBr): $\tilde{\nu}$ = 2959 cm^{-1} (s), 2925 (s), 2851 (s), 2826 (s), 1600 (m), 1484 (m), 1439 (m), 1398 (w), 1383 (w), 1323 (w), 1226 (w), 1189 (w), 1155 (s), 1082 (s), 1035 (s), 977 (s), 942 (m), 925 (m), 848 (w).

^{1}H-NMR (300 MHz, $CDCl_3$): δ = 1.60 (s, 9 H, 18'-H, 19'-H, 20'-H), 1.68 (s, 3 H, 16'-H), 1.71 (s, 3 H, 17'-H), 1.92-2.17 (m, 12 H, 4'-H, 5'-H, 8'-H, 9'-H, 12'-H, 13'-H), 3.39 (d, ^3J = 7.1 Hz, 2 H, 1'-H), 3.47 (s, 3 H, $OCH_2OC\mathit{H}_3$), 3.50 (s, 3 H, $OCH_2OC\mathit{H}_3$), 3.59 (s, 3 H, $OCH_2OC\mathit{H}_3$), 5.04 (s, 2 H, $OC\mathit{H}_2OCH_3$), 5.05-5.16 (m, 3 H, 6'-H, 10'-H, 14'-H), 5.09 (s, 2 H, $OC\mathit{H}_2OCH_3$), 5.17 (s, 2 H, $OC\mathit{H}_2OCH_3$), 5.31 („tq“, ^3J = 7.2 Hz, ^4J = 1.2 Hz, 1 H, 2'-H), 6.53 (d, ^4J = 2.9 Hz, 1 H, ArH), 6.72 (d, ^4J = 2.9 Hz, 1 H, ArH).

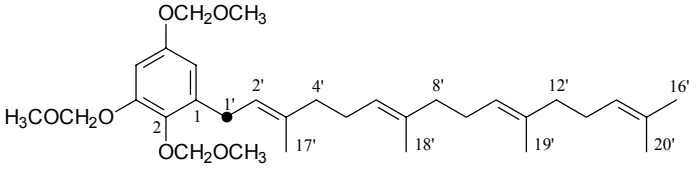
^{13}C-NMR (75 MHz, $CDCl_3$): δ = 16.07 / 16.09 (C-18', C-19'), 16.31 (C-17'), 17.75 (C-20'), 25.76 (C-16'), 26.75 / 26.79 / 26.85 (C-5', C-9', C-13'), 28.59 (C-1'), 39.79 / 39.80 / 39.85 (C-4', C-8', C-12'), 56.06 ($OCH_2OC\mathit{H}_3$), 56.31 ($OCH_2OC\mathit{H}_3$), 57.49 ($OCH_2OC\mathit{H}_3$), 95.00 ($OC\mathit{H}_2OCH_3$), 95.35 ($OC\mathit{H}_2OCH_3$), 99.27 ($OC\mathit{H}_2OCH_3$), 103.35 / 110.34 (C-4, C-6), 122.35 (C-2'), 124.23 / 124.35 / 124.49 (C-6', C-10', C-14'), 131.31 (C-15'), 134.96 / 135.18 (C-7'$^{\#}$, C-11'$^{\#}$), 136.68 (C-1), 136.73 (C-3'$^{\#}$), 139.70 / 150.36 / 153.82 (C-2, C-3, C-5).

EI-MS *m/z* (%) = 531 (5) $[M+1]^+$, 530 (14) $[M]^+$, 498 (1), 453 (1), 421 (1), 271 (3), 265 (4), 221 (6), 217 (6), 195 (8), 183 (8), 161 (8), 159 (7), 147 (12), 135 (10), 121 (11), 95 (9), 93 (11), 81 (20) $[C_6H_9]^+$, 69 (47) $[C_5H_9]^+$, 45 (100) $[C_2H_5O]^+$, 41 (11) $[C_3H_5]^+$.

EA ber. C 72.42 H 9.50
gef. C 72.12 H 9.50

$C_{32}H_{50}O_6$ (530.75).

*b) Daten der markierten Verbindung: 1-(E,E,E)-[1'-^{13}C]Geranylgeranyl-2,3,5-tris(methoxymethoxy)benzol (**41***)*



^{1}H-NMR (300 MHz, $CDCl_3$): δ = 1.60 (s, 9 H, 18'-H, 19'-H, 20'-H), 1.68 (s, 3 H, 16'-H), 1.71 (s, 3 H, 17'-H), 1.92-2.17 (m, 12 H, 4'-H, 5'-H, 8'-H, 9'-H, 12'-H, 13'-H), 3.39 (dd, $^{1}J_{CH}$ = 128 Hz, $^{3}J_{HH}$ = 7.1 Hz, 2 H, 1'-H), 3.47 (s, 3 H, OCH_2OCH_3), 3.50 (s, 3 H, OCH_2OCH_3), 3.60 (s, 3 H, OCH_2OCH_3), 5.04 (s, 2 H, OCH_2OCH_3), 5.04-5.17 (m, 3 H, 6'-H, 10'-H, 14'-H), 5.09 (s, 2 H, OCH_2OCH_3), 5.17 (s, 2 H, OCH_2OCH_3), 5.25-5.36 (m, 1 H, 2'-H), 6.53 (dd, $^{3}J_{CH}$ = 4.4 Hz, $^{4}J_{HH}$ = 2.9 Hz, 1 H, 6-H), 6.72 (d, $^{4}J_{HH}$ = 2.9 Hz, 1 H, 4-H).

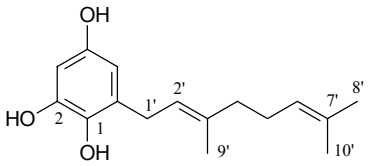
^{13}C-NMR (75 MHz, $CDCl_3$): δ = 16.06 (2 CH_3, C-18', C-19'), 16.29 (d, $^{3}J_{CC}$ = 3.8 Hz, C-17'), 17.73 (C-20'), 25.75 (C-16'), 26.74 / 26.78 / 26.84 (C-5', C-9', C-13'), 28.58 (^{13}C-1'), 39.72-39.91 (m, C-4', C-8', C-12'), 56.04 (OCH_2OCH_3), 56.29 (OCH_2OCH_3), 57.48 (OCH_2OCH_3), 94.99 (OCH_2OCH_3), 95.34 (OCH_2OCH_3), 99.26 (OCH_2OCH_3), 103.35 / 110.34 (C-4, C-6), 122.35 (d, $^{1}J_{CC}$ = 43.7 Hz, C-2'), 124.23 / 124.35 / 124.49 (C-6', C-10', C-14'), 131.29 (C-15'), 134.94 / 135.16 (C-7$^{\#}$, C-11$^{\#}$), 136.67 (d, $^{1}J_{CC}$ = 43.5 Hz, C-1), 136.71 (C-3$^{\#}$), 139.70 / 150.34 / 153.81 (d, J_{CC} = 4.7 Hz) (C-2, C-3, C-5).

EI-MS *m/z* (%) = 532 (4) $[M+1]^+$, 531 (12) $[M]^+$, 499 (1), 454 (1), 266 (4), 222 (6), 196 (8), 184 (7), 147 (9), 135 (9), 121 (9), 109 (8), 107 (8), 95 (8), 93 (8), 81 (18) $[C_6H_9]^+$, 69 (53) $[C_5H_9]^+$, 45 (100) $[C_2H_5O]^+$, 41 (10) $[C_3H_5]^+$.

HR-EI-MS ber. 531.3641, gef. 531.3626.

$^{13}CC_{31}H_{50}O_6$ (531.74).

6-Geranylbenzol-1,2,4-triol (**40**)



Nach AAV 2 wird eine Lösung von 63.4 mg (0.161 mmol) 1-Geranyl-2,3,5-tris(methoxymethoxy)benzol (**39**) in Methanol mit 23 µl (0.32 mmol, 2 Äquiv.) Acetylchlorid versetzt. Die Reaktionszeit beträgt etwa 3 bis 3.5 h. Das Rohprodukt wird durch Säulenchromatographie über Kieselgel mit dem Laufmittel Isohexan : Aceton = 2:1 gereinigt.

Ausbeute 29.9 mg (0.114 mmol, 71 %), brauner, schmieriger Feststoff.

R_f 0.30 (Isohexan : Aceton = 2:1).

IR (KBr): $\tilde{\nu}$ = 3392 cm^{-1} (ss, br.), 2969 (s), 2924 (s), 2856 (m), 2497 (m), 2391 (m), 1617 (s), 1500 (s), 1480 (s), 1459 (s), 1376 (s), 1205 (s), 1146 (s), 1004 (s), 943 (w), 830 (m), 781 (w).

^{1}H-NMR (300 MHz, $CDCl_3$): δ = 1.60 (s, 3 H, 10'-H), 1.69 (s, 3 H, 8'-H), 1.75 (s, 3 H, 9'-H), 2.02-2.21 (m, 4 H, 4'-H, 5'-H), 3.28 (d, ^3J = 7.2 Hz, 2 H, 1'-H), 4.99 (s, br., 1 H, OH), 5.05-5.09 (m, 2 H, 6'-H, OH), 5.28 („tq“, ^3J = 7.2 Hz, ^4J = 1.2 Hz, 1 H, 2'-H), 5.78 (s, br., 1 H, OH), 6.17 (d, ^4J = 2.9 Hz, 1 H, 5-H), 6.32 (d, ^4J = 2.9 Hz, 1 H, 3-H).[83]

^{13}C-NMR (75 MHz, $CDCl_3$): δ = 16.18 (C-9'), 17.79 (C-10'), 25.78 (C-8'), 26.39 (C-5'), 29.94 (C-1'), 39.67 (C-4'), 101.20 / 107.79 (C-3, C-5), 121.48 (C-2'), 123.88 (C-6'), 128.82 (C-6), 132.29 (C-8'), 135.77 (C-3'), 138.88 / 145.28 / 149.48 (C-1, C-2, C-4).

EI-MS *m/z* (%) = 263 (4) $[M+1]^+$, 262 (23) $[M]^+$, 260 (6) $[M–2H]^+$, 177 (72), 147 (21), 140 (19), 139 (24), 138 (51), 123 (18), 111 (14), 91 (17), 81 (11) $[C_6H_9]^+$, 77 (16), 69 (19) $[C_5H_9]^+$, 41 (100) $[C_3H_5]^+$.

HR-EI-MS ber. 262.1569, gef. 262.1553.

$C_{16}H_{22}O_3$ (262.35).

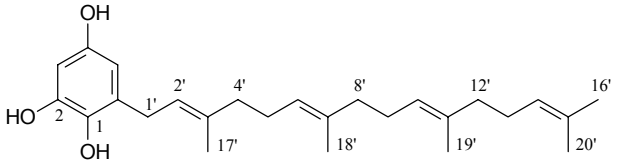
6-(*E*,*E*,*E*)-Geranylgeranylbenzol-1,2,4-triol (**6**, **6***)

41 bzw. **41*** werden nach AAV 2 mit 2 Äquivalenten Acetylchlorid in Methanol entschützt. Die Reaktionszeit beträgt etwa 3 bis 3.5 h. Das Rohprodukt wird durch Säulenchromatographie über Kieselgel mit dem Eluenten Isohexan : Aceton = 2:1 gereinigt.

Ausbeute 78 bis 86 %, bräunlicher schmieriger Feststoff.

R_f 0.34 (Isohexan : Aceton = 2:1).

*a) Daten der unmarkierten Verbindung: 6-(E,E,E)-Geranylgeranylbenzol-1,2,4-triol (**6**)*



IR (KBr): $\tilde{\nu}$ = 3401 cm^{-1} (ss, br.), 2968 (m), 2921 (s), 2855 (m), 1636 (m), 1618 (m), 1480 (s), 1375 (s), 1321 (m), 1277 (m), 1236 (m), 1180 (m), 1145 (s), 1012 (m), 830 (m), 783 (w), 617 (w), 573 (w, br.).

^{1}H-NMR (300 MHz, $CDCl_3$): δ = 1.61 (s, 9 H, 18'-H, 19'-H, 20'-H), 1.69 (s, 3 H, 16'-H), 1.76 (s, 3 H, 17'-H), 1.92-2.19 (m, 12 H, 4'-H, 5'-H, 8'-H, 9'-H, 12'-H, 13'-H), 3.29 (d, ^3J = 7.2 Hz, 2 H, 1'-H), 4.99 (s, br., 1 H, OH), 5.03-5.16 (m, 4 H, 6'-H,

[83] Die Signale aller Wasserstoffatome der Hydroxygruppen verschwinden nach Zusatz von wenig $[D_4]$Methanol.

10'-H, 14'-H, OH), 5.29 („tq“, ^3J = 7.2 Hz, ^4J = 1.2 Hz, 1 H, 2'-H), 5.77 (s, br., 1 H, OH), 6.17 (d, ^4J = 2.9 Hz, 1 H, 5-H), 6.32 (d, ^4J = 2.9 Hz, 1 H, 3-H).

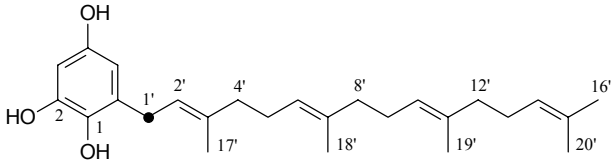
^{13}C-NMR (75 MHz, $CDCl_3$): δ = 16.07 / 16.14 (C-18', C-19'), 16.25 (C-17'), 17.75 (C-20'), 25.75 (C-16'), 26.42 / 26.66 / 26.83 (C-5', C-9', C-13'), 29.87 (C-1'), 39.71 / 39.75 / 39.78 (C-4', C-8', C-12'), 101.21 / 107.79 (C-3, C-5), 121.41 (C-2'), 123.72 / 124.23 / 124.48 (C-6', C-10', C-14'), 128.74 (C-6), 131.38 (C-15'), 135.15 / 135.79 (2 C) (C-3', C-7', C-11'), 138.94 / 145.20 / 149.44 (C-1, C-2, C-4).

EI-MS *m/z* (%) = 399 (17) $[M+1]^+$, 398 (63) $[M]^+$, 396 (2) $[M–2H]^+$, 383 (2) $[M–CH_3]^+$, 355 (5), 330 (4), 329 (5) $[M–C_5H_9]^+$, 287 (3), 259 (22), 247 (14), 217 (11), 206 (18), 194 (46), 179 (51), 177 (60), 147 (20), 139 (86), 138 (66), 135 (24), 123 (29), 121 (25), 109 (31), 107 (19), 95 (28), 93 (19), 81 (59) $[C_6H_9]^+$, 69 (100) $[C_5H_9]^+$, 55 (10), 41 (17) $[C_3H_5]^+$.

HR-EI-MS ber. 396.2664 für $[M–2H]^+$, gef. 396.2641.[84]

$C_{26}H_{38}O_3$ (398.59).

*b) Daten der markierten Verbindung: 6-(E,E,E)-[1'-^{13}C]Geranylgeranylbenzol-1,2,4-triol (**6***)*



^{1}H-NMR (300 MHz, $CDCl_3$): δ = 1.61 (s, 9 H, 18'-H, 19'-H, 20'-H), 1.69 (s, 3 H, 16'-H), 1.75 (s, 3 H, 17'-H), 1.93-2.20 (m, 12 H, 4'-H, 5'-H, 8'-H, 9'-H, 12'-H, 13'-H), 3.28 (dd, $^1J_{CH}$ = 127 Hz, $^3J_{HH}$ = 7.2 Hz, 2 H, 1'-H), 4.90-5.17 (m, 4 H, 6'-H, 10'-H, 14'-H, OH), 5.24-5.34 (m, 1 H, 2'-H), 5.76 (s, br., 1 H, OH), 6.17 (dd, $^3J_{CH}$ = 4.4 Hz, $^4J_{HH}$ = 2.8 Hz, 1 H, 5-H), 6.32 (d, $^4J_{HH}$ = 2.8 Hz, 1 H, 3-H).

^{13}C-NMR (75 MHz, $CDCl_3$): δ = 16.07 / 16.14 (C-18', C-19'), 16.24 (d, $^3J_{CC}$ = 3.8 Hz, C-17'), 17.74 (C-20'), 25.75 (C-16'), 26.43 / 26.65 / 26.82 (C-5', C-9', C-13'), 29.85 (^{13}C-1'), 39.60-39.85 (m, 3 CH_2, C-4', C-8', C-12'), 101.22 / 107.81 (C-3, C-5), 121.40 (d, $^1J_{CC}$ = 42.9 Hz, C-2'), 123.72 / 124.23 / 124.48 (C-6', C-10', C-14'), 128.75 (d, $^1J_{CC}$ = 43.5 Hz, C-6), 131.38 (C-15'), 135.15 / 135.80 (2 C) (C-3', C-7', C-11'), 138.92 / 145.17 / 149.40 (d, J_{CC} = 4.7 Hz) (C-1, C-2, C-4).

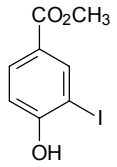
EI-MS *m/z* (%) = 400 (12) $[M+1]^+$, 399 (42) $[M]^+$, 331 (2), 330 (2) $[M–C_5H_9]^+$, 263 (5), 259 (8), 248 (7), 207 (9), 195 (25), 180 (26), 178 (27), 149 (10), 148 (10), 141 (23), 140 (58), 139 (46), 135 (17), 123 (21), 121 (18), 109 (25), 107 (15), 95 (23), 93 (17), 81 (52) $[C_6H_9]^+$, 69 (100) $[C_5H_9]^+$, 55 (16), 41 (32) $[C_3H_5]^+$.

[84] Probenauftrag für HR-EI-MS im vorliegenden Fall mittels Particle-Beam. Dabei erhält man bei **6** für $[M–2H]^+$ einen wesentlich intensitätsstärkeren Peak (7 %) als für $[M]^+$ (1.5 %).

$^{13}CC_{25}H_{38}O_3$ (399.58).

17.5 4-Hydroxy-3-polyprenyl-benzoesäuren (1, 1*, 52)

4-Hydroxy-3-iodbenzoesäuremethylester (**49**)



Nach der Methode von Lit.[257] werden zu einer Lösung von 1.52 g (10.0 mmol) 4-Hydroxybenzoesäuremethylester (**48**) in 30 ml Acetonitril 1.80 g (12.0 mmol, 1.2 Äquiv.) NaI gegeben. Anschließend trägt man portionsweise innerhalb etwa 10 min 2.95 g (12 mmol, 1.2 Äquiv.) Chloramin T-Hydrat ein und rührt 90 min. Die Farbe der Lösung schlägt beim Zusetzen des Chloramin T ins braune um und hellt sich im Laufe der Zeit auf. Es wird mit 2 N HCl schwach angesäuert und der Hauptteil des Lösungsmittels am Rotationsverdampfer entfernt. Der Rückstand wird mit Wasser versetzt und mehrmals mit Essigsäureethylester extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden mit verd. Natriumthiosulfatlösung sowie mit ges. NaCl-Lösung gewaschen und über Na_2SO_4 getrocknet. Das Rohprodukt wird durch Chromatographie an Kieselgel über eine lang bemessene Säule mit dem Eluenten Isohexan : Essigsäureethylester = 3:1 gereinigt. Das 3,5-diiodierte Produkt[85] kann im Unterschied zu nicht umgesetztem 4-Hydroxybenzoesäuremethylester abgetrennt werden.

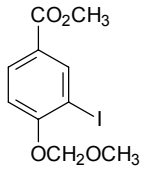
Ausbeute	2.31 g (8.31 mmol, 83 %) monoiodierte Verbindung **49**, verunreinigt durch 0.16 g (1.0 mmol) nichtiodierte Verbindung **48**. Farbloser Feststoff.
R_f	0.34 (Isohexan : Essigsäureethylester = 3:1).
^{1}H-NMR	(300 MHz, [D$_6$]Aceton): δ = 3.83 (s, 3 H, CO_2CH_3), 7.02 (d, ^3J = 8.5 Hz, 1 H, 5-H), 7.87 (dd, ^3J = 8.5 Hz, ^4J = 2.1 Hz, 1 H, 6-H), 8.34 (d, ^4J = 2.1 Hz, 1 H, 2-H).[86]
^{13}C-NMR	(75 MHz, [D$_6$]Aceton): δ = 51.67 (CO_2CH_3), 83.23 (C-3), 114.86 (C-5$^{\#}$), 123.86 (C-1), 131.61 / 141.18 (C-2$^{\#}$, C-6$^{\#}$), 161.03 (C-4), 165.12 (CO_2CH_3).[86]
GC/EI-MS	Säule 1, Tprg. 1, R_t = 7.67 min. *m/z* (%) = 279 (7) $[M+1]^+$, 278 (75) $[M]^+$, 248 (8), 247 (100), 219 (8), 191 (1), 151 (1), 136 (3), 121 (3), 120 (4), 119 (3), 92 (11), 64 (4), 63 (7), 62 (2), 53 (4).

[85] isolierte Ausbeute des diiodierten Produktes 5 %; R_f = 0.57 (Isohexan : Essigsäureethylester = 3:1); ^{1}H-NMR (300 MHz, [D$_6$]Aceton): δ = 3.85 (s, 3 H, CO_2CH_3), 8.33 (s, 2 H, 2-H, 6-H), 8.78 (s, 1 H, OH).

[86] Angegeben sind nur die Daten der monoiodierten Verbindung.

$C_8H_7IO_3$ (278.05).

3-Iod-4-(methoxymethoxy)benzoesäuremethylester (**44**)



Eine Lösung von 2.40 g 4-Hydroxy-3-iodbenzoesäuremethylester (**49**) im untrennbaren Gemisch mit 4-Hydroxybenzoesäuremethylester (**48**) in Methylenchlorid wird mit 2.5 ml einer 6 M Lösung von Chlormethoxymethan in Essigsäuremethylester (AAV 1) sowie mit 3.7 ml Ethyldiisopropylamin versetzt. Nach einigen h Rühren wird mit verd. Ammoniaklösung versetzt und mehrmals mit Diethylether extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden mit ges. NaCl-Lösung gewaschen und über Na_2SO_4 getrocknet. Das Rohprodukt wird mittels Säulenchromatographie über Kieselgel mit dem Laufmittel Isohexan : Essigsäureethylester = 7:1 gereinigt. Nichtiodierter 4-(Methoxymethoxy)benzoesäuremethylester kann dadurch nicht abgetrennt werden. Das Verhältnis von Aryliodid **44** zu nichtiodierter Verbindung ist anhand des ^{1}H-NMR-Spektrums durch Integration zu bestimmen.[87]

Ausbeute 2.52 g, 90 %, farbloser Feststoff. Stoffmengenverhältnis iodiert (**44**) : nichtiodiert = 82:18.

R_f 0.35 (Isohexan : Essigsäureethylester = 7:1).

^{1}H-NMR (300 MHz, $CDCl_3$): δ = 3.50 (s, 3 H, $OCH_2OC\mathit{H}_3$), 3.88 (s, 3 H, CO_2CH_3), 5.29 (s, 2 H, $OC\mathit{H}_2OCH_3$), 7.07 (d, ^3J = 8.6 Hz, 1 H, 5-H), 7.96 (dd, ^3J = 8.6 Hz, ^4J = 2.1 Hz, 1 H, 6-H), 8.45 (d, ^4J = 2.1 Hz, 1 H, 2-H).[86]

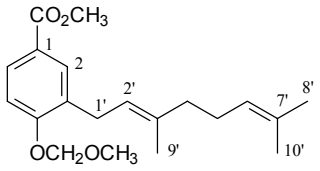
^{13}C-NMR (75 MHz, $CDCl_3$): δ = 52.21 ($CO_2\mathit{C}H_3$), 56.68 ($OCH_2O\mathit{C}H_3$), 86.30 (C-3), 94.81 ($O\mathit{C}H_2OCH_3$), 113.51 (C-5$^{\#}$), 125.34 (C-1), 131.42 / 141.13 (C-2$^{\#}$, C-6$^{\#}$), 159.61 (C-4), 165.48 ($\mathit{C}O_2CH_3$).[86]

GC/EI-MS Säule 1, Tprg. 1, R_t = 8.82 min.
m/z (%) = 322 (28) $[M]^+$, 292 (5), 291 (11), 261 (6), 45 (100) $[C_2H_5O]^+$.

GC/HR-EI-MS Säule 1, Tprg. 1.
ber. 321.9702, gef. 321.9703.
$C_{10}H_{11}IO_4$ (322.10).

[87] Hierzu wichtige ^{1}H-NMR-Signale des 4-(Methoxymethoxy)benzoesäuremethylesters (300 MHz, $CDCl_3$): δ = 7.04 (d, ^3J = 8.9 Hz, 2 H), 7.98 (d, ^3J = 8.9 Hz, 2 H). Das Verhältnis von **44** zur nichtiodierten Verbindung war im Laufe mehrerer Versuche Schwankungen unterworfen.

3-Geranyl-4-(methoxymethoxy)benzoesäuremethylester (**50**)



Nach AAV 8 werden 74.5 mg (0.343 mmol) Geranylbromid (**11**) mit **44** umgesetzt. Bei der Einwaage ist zu beachten, daß das Aryliodid **44** i.d.R. mit nicht abtrennbarem 4-(Methoxymethoxy)benzoesäuremethylester verunreinigt ist. Das Rohprodukt wird durch Säulenchromatographie über Kieselgel mit dem Eluenten Isohexan : Essigsäureethylester = 12:1 gereinigt.

Ausbeute 90.4 mg (0.272 mmol, 79 %[88]), farblose Flüssigkeit.

R_f 0.27 (Isohexan : Essigsäureethylester = 12:1).

IR (KBr): $\tilde{\nu}$ = 2952 cm^{-1} (s, sh), 2915 (s), 2854 (s, sh), 1721 (ss), 1606 (s), 1498 (m), 1437 (s), 1378 (w), 1326 (w), 1297 (s), 1266 (s), 1247 (s), 1193 (m), 1155 (s), 1121 (s), 1079 (s), 997 (s), 925 (m), 832 (w), 771 (s), 657 (w).

^{1}H-NMR (300 MHz, $CDCl_3$): δ = 1.59 (s, 3 H, 10'-H), 1.66 (s, 3 H, 8'-H), 1.72 (s, 3 H, 9'-H), 1.99-2.15 (m, 4 H, 4'-H, 5'-H), 3.36 (d, ^3J = 7.2 Hz, 2 H, 1'-H), 3.48 (s, 3 H, $OCH_2OC\mathit{H}_3$), 3.88 (s, 3 H, CO_2CH_3), 5.06-5.14 (m, 1 H, 6'-H), 5.26 (s, 2 H, $OC\mathit{H}_2OCH_3$), 5.30 (t, br., $^3J \approx$ 7.3 Hz, 1 H, 2'-H), 7.07 („d“, ^3J = 9.3 Hz, 1 H, 5-H), 7.82-7.88 (m, 2 H, 2-H, 6-H).

^{13}C-NMR (75 MHz, $CDCl_3$): δ = 16.21 (C-9'), 17.71 (C-10'), 25.70 (C-8'), 26.75 (C-5'), 28.64 (C-1'), 39.83 (C-4'), 51.87 ($CO_2\mathit{C}H_3$), 56.21 ($OCH_2O\mathit{C}H_3$), 94.07 ($O\mathit{C}H_2OCH_3$), 112.89 (C-5), 121.82 (C-2'), 123.33 (C-1†), 124.27 (C-6'), 129.22 (C-2$^{\#}$), 130.77 (C-3), 131.21 (C-6$^{\#}$), 131.47 (C-7'), 136.61 (C-3'), 158.71 (C-4), 167.08 ($\mathit{C}O_2CH_3$).

EI-MS *m/z* (%) = 322 (4) $[M]^+$, 301 (10), 288 (7), 287 (35), 257 (17), 233 (8), 232 (14), 231 (21), 219 (11), 217 (23), 203 (27), 189 (19), 188 (12), 187 (100), 173 (13), 165 (28), 159 (11), 135 (13), 123 (98), 122 (28), 81 (7) $[C_6H_9]^+$, 69 (41) $[C_5H_9]^+$, 45 (92) $[C_2H_5O]^+$.

EA ber. C 72.26 H 8.49
gef. C 72.31 H 8.39

$C_{20}H_{28}O_4$ (332.44).

[88] Die Ausbeute bezieht sich auf einen Einsatz von 1.1 Äquivalenten Aryliodid.

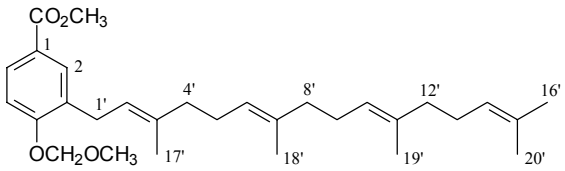
3-(*E*,*E*,*E*)-Geranylgeranyl-4-(methoxymethoxy)benzoesäuremethylester (**53**, **53***)

Die Herstellung erfolgt nach AAV 8 aus **44** und (*E*,*E*,*E*)-Geranylgeranylbromid (**25** bzw. **25***). Bei der Einwaage ist zu beachten, daß das Aryliodid **44** i.d.R. mit nicht abtrennbarem 4-(Methoxymethoxy)benzoesäuremethylester verunreinigt ist. Das Rohprodukt wird mittels Säulenchromatographie über Kieselgel mit dem Eluenten Isohexan : Essigsäureethylester = 12:1 gereinigt.

Ausbeute 80 bis 88 % (Ansatzgröße um 0.4 mmol), farblose Flüssigkeit.

R_f 0.30 (Isohexan : Essigsäureethylester = 12:1).

*a) Daten der unmarkierten Verbindung: 3-(E,E,E)-Geranylgeranyl-4-(methoxymethoxy)benzoesäuremethylester (**53**)*



IR (KBr): $\tilde{\nu}$ = 2951 cm^{-1} (s, sh), 2917 (s), 2853 (s), 1722 (ss), 1606 (m), 1498 (m), 1437 (s), 1383 (w), 1326 (w), 1297 (s), 1266 (s), 1246 (s), 1193 (m), 1155 (s), 1131 (s), 1121 (s), 1080 (s), 999 (s), 925 (m), 832 (w), 771 (s), 658 (w).

^{1}H-NMR (300 MHz, $CDCl_3$): δ = 1.60 (s, 9 H, 18'-H, 19'-H, 20'-H), 1.68 (s, 3 H, 16'-H), 1.73 (s, 3 H, 17'-H), 1.92-2.17 (m, 12 H, 4'-H, 5'-H, 8'-H, 9'-H, 12'-H, 13'-H), 3.37 (d, ^3J = 7.2 Hz, 2 H, 1'-H), 3.48 (s, 3 H, $OCH_2OC\mathit{H}_3$), 3.87 (s, 3 H, $CO_2C\mathit{H}_3$), 5.04-5.16 (m, 3 H, 6'-H, 10'-H, 14'-H), 5.25 (s, 2 H, $OC\mathit{H}_2OCH_3$), 5.31 („tq“, ^3J = 7.2 Hz, ^4J = 1.2 Hz, 1 H, 2'-H), 7.07 („d“, ^3J = 9.2 Hz, 1 H, 5-H), 7.83-7.88 (m, 2 H, 2-H, 6-H).

^{13}C-NMR (75 MHz, $CDCl_3$): δ = 16.05 (s, 2 CH_3, C-18', C-19'), 16.26 (C-17'), 17.73 (C-20'), 25.75 (C-16'), 26.72 / 26.74 /26.84 (C-5', C-9', C-13'), 28.66 (C-1'), 39.76 / 39.79 / 39.88 (C-4', C-8', C-12'), 51.87 ($CO_2\mathit{C}H_3$), 56.22 ($OCH_2O\mathit{C}H_3$), 94.08 ($O\mathit{C}H_2OCH_3$), 112.90 (C-5), 121.80 (C-2'), 123.34 (C-1), 124.18 / 124.32 / 124.48 (C-6', C-10', C-14'), 129.24 (C-2$^{\#}$), 130.76 (C-3), 131.23 (C-6$^{\#}$), 131.29 (C-15'), 134.95 / 135.16 / 136.67 (C-3', C-7', C-11'), 158.72 (C-4), 167.08 ($\mathit{C}O_2CH_3$).

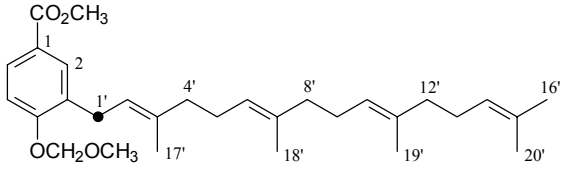
EI-MS *m/z* (%) = 469 (1) $[M+1]^+$, 468 (3) $[M]^+$, 437 (1) $[M–OCH_3]^+$, 423 (2) $[M–C_2H_5O]^+$, 399 (3) $[M–C_6H_9]^+$, 367 (1), 323 (4), 299 (4), 262 (3), 259 (5), 255 (7), 217 (9), 203 (17), 189 (10), 187 (26), 165 (17), 159 (9), 137 (8), 136 (9), 135 (14), 123 (10), 121 (13), 109 (10), 107 (10), 95 (13), 93 (12), 81 (35) $[C_6H_9]^+$, 69 (100) $[C_5H_9]^+$, 45 (83) $[C_2H_5O]^+$, 41 (26) $[C_3H_5]^+$.

HR-EI-MS ber. 468.3240, gef. 468.3209.

EA ber. C 76.88 H 9.46
gef. C 76.80 H 9.43

$C_{30}H_{44}O_4$ (468.68).

*b) Daten der markierten Verbindung: 3-(E,E,E)-[1'-^{13}C]Geranylgeranyl-4-(methoxymethoxy)benzoesäuremethyl-ester (**53***)*



^{1}H-NMR (300 MHz, $CDCl_3$): δ = 1.60 (s, 9 H, 18'-H, 19'-H, 20'-H), 1.68 (s, 3 H, 16'-H), 1.73 (s, 3 H, 17'-H), 1.92-2.17 (m, 12 H, 4'-H, 5'-H, 8'-H, 9'-H, 12'-H, 13'-H), 3.37 (dd, $^1J_{CH}$ = 127.5 Hz, $^3J_{HH}$ = 7.2 Hz, 2 H, 1'-H), 3.48 (s, 3 H, $OCH_2OC\mathit{H}_3$), 3.87 (s, 3 H, $CO_2C\mathit{H}_3$), 5.05-5.16 (m, 3 H, 6'-H, 10'-H, 14'-H), 5.25 (s, 2 H, $OC\mathit{H}_2OCH_3$), 5.27-5.36 (m, 1 H, 2'-H), 7.07 („d“, ^3J = 9.2 Hz, 1 H, 5-H), 7.83-7.88 (m, 2 H, 2-H, 6-H).

^{13}C-NMR (75 MHz, $CDCl_3$): δ = 16.05 (s, 2 CH_3, C-18', C-19'), 16.25 (d, $^3J_{CC}$ = 3.8 Hz, C-17'), 17.73 (C-20'), 25.74 (C-16'), 26.72 (2 CH_2) / 26.84 (1 CH_2) (C-5', C-9', C-13'), 28.66 (^{13}C-1'), 39.68-39.98 (m, 3 CH_2, C-4', C-8', C-12'), 51.87 ($CO_2\mathit{C}H_3$), 56.21 ($OCH_2O\mathit{C}H_3$), 94.07 ($O\mathit{C}H_2OCH_3$), 112.89 (C-5), 121.79 (d, $^1J_{CC}$ = 43.7 Hz, C-2'), 123.34 (d, $^3J_{CC}$ = 2.9 Hz, C-1), 124.18 / 124.31 / 124.48 (C-6', C-10', C-14'), 129.23 (C-2$^{\#}$), 130.75 (d, $^3J_{CC}$ = 43.7 Hz, C-3), 131.24 (C-6$^{\#}$), 131.28 (C-15'), 134.94 / 135.15 / 136.66 (C-3', C-7', C-11'), 158.71 (C-4), 167.07 ($\mathit{C}O_2CH_3$).

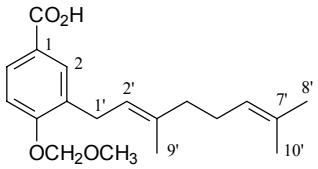
EI-MS *m/z* (%) = 470 (2) $[M+1]^+$, 469 (6) $[M]^+$, 438 (2) $[M–OCH_3]^+$, 424 (3) $[M–C_2H_5O]^+$, 400 (4) $[M–C_5H_9]^+$, 368 (2), 324 (6), 300 (6), 263 (6), 259 (9), 256 (11), 232 (10), 218 (13), 210 (11), 204 (23), 190 (10), 189 (10), 188 (37), 166 (19), 137 (12), 136 (15), 135 (18), 123 (14), 121 (14), 109 (12), 107 (10), 95 (13), 93 (12), 81 (40) $[C_6H_9]^+$, 69 (100) $[C_5H_9]^+$, 45 (83) $[C_2H_5O]^+$, 41 (19) $[C_3H_5]^+$.

HR-EI-MS ber. 469.3273, gef. 469.3248.

$^{13}CC_{29}H_{44}O_4$ (469.67).

3-Geranyl-4-(methoxymethoxy)benzoesäure (**51**)

114.0 mg (0.343 mmol) 3-Geranyl-4-(methoxymethoxy)benzoesäuremethylester (**50**) werden nach AAV 9 verseift. Die Reaktionszeit beträgt etwa 4 h.



Ausbeute 108.4 mg (0.340 mmol, 99 %), farbloser Feststoff.

R_f 0.49 (Chloroform : Methanol = 10:1).

^{1}H-NMR (300 MHz, $CDCl_3$): δ = 1.60 (s, 3 H, 10'-H), 1.68 (s, 3 H, 8'-H), 1.74 (s, 3 H, 9'-H), 2.02-2.17 (m, 4 H, 4'-H, 5'-H), 3.39 (d, ^3J = 7.2 Hz, 2 H, 1'-H), 3.50 (s, 3 H, $OCH_2OC\mathit{H}_3$), 5.08-5.16 (m, 1 H, 6'-H), 5.29 (s, 2 H, $OC\mathit{H}_2OCH_3$), 5.33 („tq“, ^3J = 7.2 Hz, ^4J = 1.2 Hz, 1 H, 2'-H), 7.11 (d, ^3J = 9.1 Hz, 1 H, 5-H), 7.92-7.97 (m, 2 H, 2-H, 6-H).

^{13}C-NMR (75 MHz, $CDCl_3$): δ = 16.22 (C-9'), 17.75 (C-10'), 25.72 (C-8'), 26.74 (C-5'), 28.60 (C-1'), 39.84 (C-4'), 56.28 ($OCH_2O\mathit{C}H_3$), 94.07 ($O\mathit{C}H_2OCH_3$), 112.93 (C-5), 121.66 (C-2'), 122.44 (C-1), 124.26 (C-6'), 130.06 (C-2$^{\#}$), 130.92 (C-3), 131.56 (C-7'), 131.87 (C-6$^{\#}$), 136.85 (C-3'), 159.46 (C-4), 172.34 (CO_2H).

EI-MS *m/z* (%) = 318 (2) $[M]^+$, 273 (12) $[M–C_2H_5O]^+$, 203 (9), 189 (16), 187 (35), 123 (35), 91 (8), 69 (38) $[C_5H_9]^+$, 45 (100) $[C_2H_5O]^+$, 41 (28) $[C_3H_5]^+$.

$C_{19}H_{26}O_4$ (318.41).

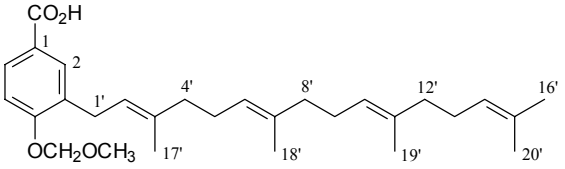
3-(*E*,*E*,*E*)-Geranylgeranyl-4-(methoxymethoxy)benzoesäure (**54**, **54***)

53 bzw. **53*** werden nach AAV 9 verseift. Die Reaktionszeit beträgt ca. 4 h.

Ausbeute 99 % (Ansatzgröße 0.25 mmol), nahezu farblose Flüssigkeit.

R_f 0.42 (Chloroform : Methanol = 12:1).

*a) Daten der unmarkierten Verbindung: 3-(E,E,E)-Geranylgeranyl-4-(methoxymethoxy)benzoesäure (**54**)*



^{1}H-NMR (300 MHz, $CDCl_3$): δ = 1.60 (s, 9 H, 18'-H, 19'-H, 20'-H), 1.68 (s, 3 H, 16'-H), 1.74 (s, 3 H, 17'-H), 1.93-2.18 (m, 12 H, 4'-H, 5'-H, 8'-H, 9'-H, 12'-H, 13'-H), 3.39 (d, ^3J = 7.5 Hz, 2 H, 1'-H), 3.49 (s, 3 H, $OCH_2OC\mathit{H}_3$), 5.05-5.18 (m, 3 H,

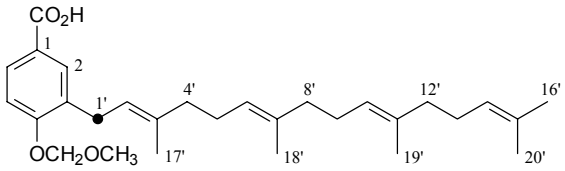
6'-H, 10'-H, 14'-H), 5.33 (t, br., $^3J \approx 7.2$ Hz, 1 H, 2'-H), 7.11 (d, $^3J = 9.1$ Hz, 1 H, 5-H), 7.92-7.97 (m, 2 H, 2-H, 6-H).

^{13}C-NMR (75 MHz, $CDCl_3$): δ = 16.09 / 16.11 (C-18', C-19'), 16.27 (C-17'), 17.74 (C-20'), 25.76 (C-16'), 26.74 (2 CH_2) / 26.85 (1 CH_2) (C-5', C-9', C-13'), 28.65 (C-1'), 39.79 / 39.81 / 39.90 (C-4', C-8', C-12'), 56.27 ($OCH_2O\mathit{C}H_3$), 94.06 ($O\mathit{C}H_2OCH_3$), 112.93 (C-5), 121.65 (C-2'), 122.45 (C-1), 124.18 / 124.34 / 124.51 (C-6', C-10', C-14'), 130.08 (C-2$^{\#}$), 130.91 (C-3), 131.28 (C-15'), 131.89 (C-6$^{\#}$), 134.95 / 135.21 / 136.86 (C-3', C-7', C-11'), 159.45 (C-4), 172.25 (CO_2H).

EI-MS *m/z* (%) = 454 (5) $[M]^+$, 385 (5) $[M–C_5H_9]^+$, 323 (7), 259 (7), 255 (11), 203 (10), 189 (19), 187 (26), 151 (13), 137 (11), 136 (13), 135 (15), 123 (12), 121 (13), 109 (10), 107 (11), 95 (14), 93 (13), 81 (39) $[C_6H_9]^+$, 69 (100) $[C_5H_9]^+$, 45 (88) $[C_2H_5O]^+$, 41 (28) $[C_3H_5]^+$.

$C_{29}H_{42}O_4$ (454.65).

*b) Daten der markierten Verbindung: 3-(E,E,E)-[1'-^{13}C]Geranylgeranyl-4-(methoxymethoxy)benzoesäure (**54***)*

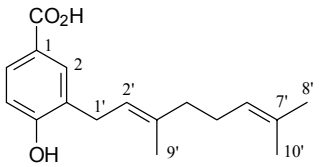


^{1}H-NMR (300 MHz, $CDCl_3$): δ = 1.60 (s, 9 H, 18'-H, 19'-H, 20'-H), 1.68 (s, 3 H, 16'-H), 1.74 (s, 3 H, 17'-H), 1.93-2.18 (m, 12 H, 4'-H, 5'-H, 8'-H, 9'-H, 12'-H, 13'-H), 3.39 (dd, $^1J_{CH} = 128$ Hz, $^3J_{HH} = 7.1$ Hz, 2 H, 1'-H), 3.49 (s, 3 H, $OCH_2OC\mathit{H}_3$), 5.04-5.17 (m, 3 H, 6'-H, 10'-H, 14'-H), 5.28 (s, 2 H, $OC\mathit{H}_2OCH_3$), 5.27-5.38 (m, 1 H, 2'-H), 7.08-7.13 (m, 1 H, 5-H), 7.91-7.97 (m, 2 H, 2-H, 6-H).

^{13}C-NMR (75 MHz, $CDCl_3$): δ = 16.07 / 16.09 (C-18', C-19'), 16.27 (d, $^3J_{CC} = 3.5$ Hz, C-17'), 17.75 (C-20'), 25.76 (C-16'), 26.74 (2 CH_2) / 26.86 (1 CH_2) (C-5', C-9', C-13'), 28.66 (^{13}C-1'), 39.73-39.95 (m, 3 CH_2, C-4', C-8', C-12'), 56.28 ($OCH_2O\mathit{C}H_3$), 94.07 ($O\mathit{C}H_2OCH_3$), 112.94 (C-5), 121.65 (d, $^1J_{CC} = 43.7$ Hz, C-2'), 122.44 (C-1), 124.18 / 124.35 / 124.51 (C-6', C-10', C-14'), 130.08 (C-2$^{\#}$), 130.91 (d, $^1J_{CC} = 43.7$ Hz, C-3), 131.29 (C-15'), 131.90 (C-6$^{\#}$), 134.96 / 135.21 / 136.87 (C-3', C-7', C-11'), 159.45 (C-4), 172.20 (CO_2H).

$^{13}CC_{28}H_{42}O_4$ (455.64).

3-Geranyl-4-hydroxybenzoesäure (**52**)[89]



Nach AAV 3 wird eine Lösung von 39.6 mg (0.124 mmol) 3-Geranyl-4-(methoxymethoxy)benzoesäure (**51**) in Isopropanol mit 23.6 mg (0.124 mmol, 1.0 Äquiv.) 4-Toluolsulfonsäure-Monohydrat entschützt. Die Reaktionszeit beträgt etwa 4.5 h. Das Rohprodukt wird durch Säulenchromatographie über Kieselgel mit dem Laufmittel Chloroform : Methanol = 10:1 gereinigt.

Ausbeute 30.4 mg (0.111 mmol, 89 %), farbloser Feststoff.

Schmp. 63-65°C (Lit.[29] 67-69°C).

R_f 0.28 (Chloroform : Methanol = 10:1).

IR (KBr): $\tilde{\nu}$ = 3392 cm^{-1} (s, br.), 2970 (s), 2924 (s), 2855 (s), 2729 (m), 2658 (m), 2605 (m), 2550 (m), 1670 (s), 1594 (s), 1415 (s), 1307 (m), 1280 (s), 1260 (s), 1134 (m), 1101 (w), 911 (w), 896 (w), 839 (w), 827 (w), 774 (m), 635 (m).

^{1}H-NMR (300 MHz, $CDCl_3$): δ = 1.60 (s, 3 H, 10'-H), 1.69 (s, 3 H, 8'-H), 1.79 (s, 3 H, 9'-H), 2.04-2.22 (m, 4 H, 4'-H, 5'-H), 3.42 (d, ^3J = 7.1 Hz, 2 H, 1'-H), 5.04-5.12 (m, 1 H, 6'-H), 5.33 („tq“, ^3J = 7.1 Hz, ^4J = 1.2 Hz, 1 H, 2'-H), 6.86 (d, ^3J = 9.0 Hz, 1 H, 5-H), 7.91 (dd, ^3J = 9.0 Hz, ^4J = 2.1 Hz, 1 H, 6-H), 7.91 (d, ^4J = 2.1 Hz, 1 H, 2-H).

^{13}C-NMR (75 MHz, $CDCl_3$): δ = 16.34 (C-9'), 17.78 (C-10'), 25.74 (C-8'), 26.45 (C-5'), 29.76 (C-1'), 39.75 (C-4'), 115.89 (C-5), 120.91 (C-2'), 121.76 (C-1), 123.77 (C-6'), 126.95 (C-3), 130.63 (C-2$^{\#}$), 132.20 (C-7'), 132.68 (C-6$^{\#}$), 139.62 (C-3'), 159.65 (C-4), 172.23 (CO_2H).

EI-MS *m/z* (%) = 274 (12) $[M]^+$, 259 (6) $[M–CH_3]^+$, 231 (29), 218 (10), 216 (10), 206 (10), 205 (6) $[M–C_5H_9]^+$, 204 (12), 203 (16), 191 (26), 189 (30), 187 (20), 177 (13), 161 (54), 151 (62), 123 (100), 109 (10), 107 (17), 105 (8), 91 (18), 81 (9) $[C_6H_9]^+$, 77 (9), 69 (63) $[C_5H_9]^+$, 41 (15) $[C_3H_5]^+$.

HR-EI-MS ber. 274.1569, gef. 274.1580.

$C_{17}H_{22}O_3$ (274.36).

[89] Bei der Entschützung von **51** mit 10 Äquiv. AcCl in Isopropanol nach AAV 2 (Reaktionszeit ca. 7 h) entsteht zu einem Anteil von etwa 8 % das HCl-Additionsprodukt **55**, welches durch Chromatographie an Kieselgel nicht abgetrennt werden kann. Das Nebenprodukt **55** ist im ^{1}H-NMR-Spektrum wegen Signalüberlagerungen schlecht erkennbar, im ^{13}C-NMR-Spektrum aber tritt das Signal für die beiden endständigen Methylgruppen (δ 32.53 in $CDCl_3$) deutlich in Erscheinung. Die Identifizierung von **55** erfolgte nach Methoxymethylierung des Produktgemisches und chromatographischer Reinigung durch NMR- und Massenspektren.

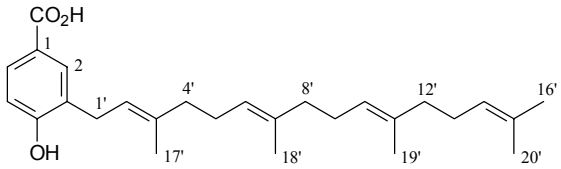
3-(*E*,*E*,*E*)-Geranylgeranyl-4-hydroxybenzoesäure (**1**, **1***)

Nach AAV 3 wird eine Lösung von **54** bzw. **54*** in Isopropanol mit 1.0 Äquiv. 4-Toluolsulfonsäure-Monohydrat entschützt. Die Reaktionszeit beträgt etwa 6 h. Das Produkt wird durch Säulenchromatographie über Kieselgel mit dem Eluenten Chloroform : Methanol = 12:1 gereinigt.

Ausbeute 85 bis 90 % (Ansatzgröße 0.05 bis 0.14 mmol), wachsartiger, farbloser Feststoff.

R_f 0.27 (Chloroform : Methanol = 12:1).

*a) Daten der unmarkierten Verbindung: 3-(E,E,E)-Geranylgeranyl-4-hydroxybenzoesäure (**1**)*



IR (KBr): $\tilde{\nu}$ = 3387 cm^{-1} (s, br.), 2967 (s), 2922 (s), 2855 (s), 2664 (m), 2544 (m), 1682 (s), 1603 (s), 1506 (w), 1444 (m), 1410 (m), 1383 (m), 1276 (s), 1219 (m), 1172 (m), 1128 (m), 1096 (m), 928 (w), 833 (m), 774 (m), 636 (m).

^{1}H-NMR (300 MHz, $CDCl_3$): δ = 1.60 (s, 9 H, 18'-H, 19'-H, 20'-H), 1.68 (s, 3 H, 16'-H), 1.80 (s, 3 H, 17'-H), 1.91-2.20 (m, 12 H, 4'-H, 5'-H, 8'-H, 9'-H, 12'-H, 13'-H), 3.42 (d, ^3J = 7.1 Hz, 2 H, 1'-H), 5.04-5.16 (m, 3 H, 6'-H, 10'-H, 14'-H), 5.33 (t, br., ^3J = 7.2 Hz, 1 H, 2'-H), 6.85 (d, ^3J = 9.0 Hz, 1 H, 5-H), 7.90 (dd, ^3J = 9.0 Hz, ^4J = 2.1 Hz, 1 H, 6-H), 7.90 (d, ^4J = 2.1 Hz, 1 H, 2-H).

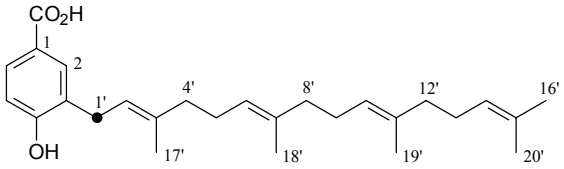
^{13}C-NMR (75 MHz, $CDCl_3$): δ = 16.09 / 16.16 (C-18', C-19'), 16.42 (C-17'), 17.76 (C-20'), 25.78 (C-16'), 26.45 / 26.68 / 26.86 (C-5', C-9', C-13'), 29.87 (C-1'), 39.75 (1 CH_2) / 39.80 (2 CH_2) (C-4', C-8', C-12'), 115.91 (C-5), 120.89 (C-2'), 121.80 (C-1), 123.61 / 124.32 / 124.50 (C-6', C-10', C-14'), 126.85 (C-3), 130.65 (C-2$^{\#}$), 131.35 (C-15'), 132.70 (C-6$^{\#}$), 135.04 / 135.83 (C-7', C-11'), 139.75 (C-3'), 159.64 (C-4), 171.92 (CO_2H).

EI-MS *m/z* (%) = 411 (2) $[M+1]^+$, 410 (6) $[M]^+$, 367 (3), 341 (8) $[M–C_5H_9]^+$, 259 (8), 217 (5), 204 (11), 189 (15), 161 (22), 151 (54), 137 (15), 136 (19), 135 (21), 123 (20), 121 (18), 109 (18), 107 (27), 95 (19), 93 (17), 91 (11), 81 (56) $[C_6H_9]^+$, 69 (100) $[C_5H_9]^+$, 55 (11), 41 (24) $[C_3H_5]^+$.

HR-EI-MS ber. 410.2821, gef. 410.2834.

$C_{27}H_{38}O_3$ (410.60).

*b) Daten der markierten Verbindung: 3-(E,E,E)-[1'-^{13}C]Geranylgeranyl-4-hydroxybenzoesäure (**1***)*



^{1}H-NMR (300 MHz, $CDCl_3$): δ = 1.60 (s, 9 H, 18'-H, 19'-H, 20'-H), 1.68 (s, 3 H, 16'-H), 1.80 (s, 3 H, 17'-H), 1.91-2.21 (m, 12 H, 4'-H, 5'-H, 8'-H, 9'-H, 12'-H, 13'-H), 3.42 (dd, $^{1}J_{CH}$ = 127 Hz, $^{3}J_{HH}$ = 7.1 Hz, 2 H, 1'-H), 5.04-5.16 (m, 3 H, 6'-H, 10'-H, 14'-H), 5.29-5.39 (m, 1 H, 2'-H), 6.85 (d, $^{3}J_{HH}$ = 9.0 Hz, 1 H, 5-H), 7.88-7.93 (m, 2 H, 2-H, 6-H).

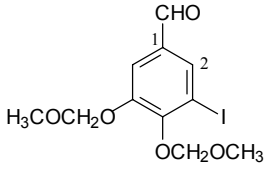
^{13}C-NMR (75 MHz, $CDCl_3$): δ = 16.08 / 16.15 (C-18', C-19'), 16.40 (d, $^{3}J_{CC}$ = 3.5 Hz, C-17'), 17.76 (C-20'), 25.77 (C-16'), 26.46 / 26.68 / 26.86 (C-5', C-9', C-13'), 29.80 (^{13}C-1'), 39.63-39.91 (m, C-4', C-8', C-12'), 115.87 (C-5), 120.91 (d, $^{1}J_{CC}$ = 42.3 Hz, C-2'), 121.77 (s, br., C-1), 123.63 / 124.32 / 124.50 (C-6', C-10', C-14'), 126.91 (d, $^{1}J_{CC}$ = 44.3 Hz, C-3), 130.63 (C-2$^{\#}$), 131.33 (C-15'), 132.68 (C-6$^{\#}$), 135.02 / 135.79 (C-7', C-11'), 139.63 (C-3'), 159.64 (C-4), 172.16 (CO_2H).

EI-MS *m/z* (%) = 412 (2) $[M+1]^+$, 411 (8) $[M]^+$, 368 (2), 342 (10) $[M–C_5H_9]^+$, 287 (4), 259 (7), 232 (6), 218 (6), 205 (12), 204 (13), 192 (10), 190 (13), 162 (15), 152 (56), 137 (19), 136 (27), 135 (26), 123 (24), 121 (19), 109 (20), 107 (18), 95 (21), 93 (21), 81 (55) $[C_6H_9]^+$, 69 (100) $[C_5H_9]^+$, 55 (12), 41 (31) $[C_3H_5]^+$.

$^{13}CC_{26}H_{38}O_3$ (411.59).

17.6 3,4-Dihydroxy-5-polyprenylbenzoesäuren (2, 2*, 60)

3-Iod-4,5-bis(methoxymethoxy)benzaldehyd (**57**)



1.39 g (5.00 mmol) 5-Iodvanillin (**56**) werden in 10 ml trockenem Methylenchlorid suspendiert. Nach Kühlung auf 0°C werden 1.20 ml (12.5 mmol, 2.5 Äquiv.) Bortribromid zugegeben. Anschließend entfernt man das Eisbad und rührt 4 h bei RT, wobei das Iodvanillin bald in Lösung geht. Nach Kühlen auf 0°C werden ca. 10 ml Methanol langsam zugesetzt, worauf man die Lösung 0.5 h unter Argon refluxiert. Nach Abkühlen auf RT werden das Lösungsmittel, das überschüssige Methanol sowie der Borsäuretrimethylester i. Vak. über eine Kühlfalle abdestilliert. Der Rückstand wird mit Wasser versetzt und mehrmals mit Essigsäureethylester extrahiert. Die vereinigten Essigesterphasen werden mit ges. NaCl-

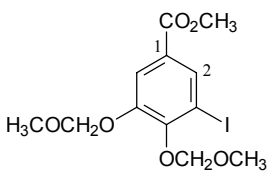
Lösung gewaschen und anschließend über Na_2SO_4 getrocknet. Nach Entfernen des Lösungsmittels wird der erhaltene 3,4-Dihydroxy-5-iodbenzaldehyd i. Vak. getrocknet.

Das Rohprodukt wird in 10 ml trockenem Methylenchlorid suspendiert und auf 0°C gekühlt. Man gibt 1.7 ml (10 mmol, 2 Äquiv.) einer 6 M Lösung von Chlormethoxymethan in Essigsäuremethylester (AAV 1) und danach 2.6 ml (15 mmol, 2.5 Äquiv.) Ethyldiisopropylamin zu und entfernt anschließend das Eisbad. Nach Beendigung der Reaktion wird 2 N Ammoniaklösung zugesetzt und mehrmals mit Methylenchlorid extrahiert. Die vereinigten Methylenchloridphasen werden mit Wasser und ges. NaCl-Lösung gewaschen und über Na_2SO_4 getrocknet. Das Rohprodukt wird nach Entfernen des Lösungsmittels durch Säulenchromatographie über Kieselgel mit dem Laufmittel Isohexan : Essigsäureethylester = 5:2 gereinigt.

Ausbeute	1.60 g (4.53 mmol, 91 %), farblose Flüssigkeit.
R_f	0.44 (Isohexan : Essigsäureethylester = 5:2).
IR	(KBr): $\tilde{\nu}$ = 2996 cm^{-1} (m, sh), 2959 (m), 2934 (m), 2906 (m), 2830 (m), 1697 (ss), 1584 (m), 1561 (m), 1466 (m), 1428 (s), 1400 (w), 1377 (s), 1267 (s), 1232 (w), 1208 (m), 1156 (ss), 1129 (s), 1075 (s), 1011(s), 927 (ss), 861 (w), 819 (w), 789 (w), 743 (m), 658 (w), 588 (w).
^{1}H-NMR	(300 MHz, $CDCl_3$): δ = 3.50 (s, 3 H, OCH_2OCH_3), 3.66 (s, 3 H, OCH_2OCH_3), 5.24 (s, 2 H, OCH_2OCH_3), 5.31 (s, 2 H, OCH_2OCH_3), 7.62 (d, ^4J = 1.9 Hz, 1 H, 6-H), 7.95 (d, ^4J = 1.9 Hz, 1 H, 2-H), 9.81 (s, 1 H, CHO).
^{13}C-NMR	(75 MHz, $CDCl_3$): δ = 56.63 (OCH_2OCH_3), 58.61 (OCH_2OCH_3), 92.66 (C-3), 95.25 (OCH_2OCH_3), 99.07 (OCH_2OCH_3), 116.34 (C-6), 133.99 (C-1), 135.13 (C-2), 149.91 / 151.72 (C-4, C-5), 189.49 (CHO).
EI-MS	*m/z* (%) = 352 (10) $[M]^+$, 337 (0.5), 307 (6), 292 (17), 277 (5), 276 (48), 275 (8), 260 (9), 149 (2), 45 (100) $[C_2H_5O]^+$.

$C_{11}H_{13}IO_5$ (352.12).

3-Iod-4,5-bis(methoxymethoxy)benzoesäuremethylester (**45**)



Eine Lösung von 1.17 g (3.33 mmol) 3-Iod-4,5-bis(methoxymethoxy)benzaldehyd (**57**) in 40 ml Methanol wird auf 0°C gekühlt. Man setzt schnell eine kalte Lösung von 0.485 g (8.65 mmol, 2.6 Äquiv.) KOH in 11 ml Methanol zu, gefolgt von der schnellen Zugabe einer kalten Lösung von 1.10 g (4.33 mmol, 1.3 Äquiv.) Iod in 11 ml

Methanol. Die Reaktion ist nach wenigen Minuten beendet. Es wird Wasser zugesetzt und mehrmals mit Essigsäureethylester extrahiert. Die vereinigten Essigesterphasen werden je 1 × mit Wasser und mit ges. NaCl-Lösung gewaschen und über Na_2SO_4 getrocknet. Nach Entfernen des Lösungsmittels wird das Rohprodukt durch Säulenchromatographie über Kieselgel mit dem Laufmittel Isohexan : Essigsäureethylester = 5:1 gereinigt.

Ausbeute 1.20 g (3.13 mmol, 94 %), gelbliche Flüssigkeit.

R_f 0.29 (Isohexan : Essigsäureethylester = 5:1).

IR (KBr): $\tilde{\nu}$ = 2997 cm^{-1} (w), 2953 (m), 2906 (w, sh), 2830 (w), 1722 (s), 1589 (w), 1563 (m), 1476 (m), 1434 (s), 1389 (s), 1283 (s), 1250 (m), 1228 (m), 1205 (m), 1157 (s), 1075 (m), 1010 (s), 975 (m), 937 (s), 807 (w), 765 (s), 702 (w).

^{1}H-NMR (300 MHz, $CDCl_3$): δ = 3.49 (s, 3 H, OCH_2OCH_3), 3.65 (s, 3 H, OCH_2OCH_3), 3.88 (s, 3 H, CO_2CH_3), 5.22 (s, 2 H, OCH_2OCH_3), 5.27 (s, 2 H, OCH_2OCH_3), 7.76 (d, ^4J = 2.0 Hz, 1 H, 6-H), 8.14 (d, ^4J = 2.0 Hz, 1 H, 2-H).

^{13}C-NMR (75 MHz, $CDCl_3$): δ = 52.41 (CO_2CH_3), 56.59 (OCH_2OCH_3), 58.54 (OCH_2OCH_3), 92.01 (C-3), 95.27 (OCH_2OCH_3), 99.00 (OCH_2OCH_3), 117.82 (C-6), 127.63 (C-1), 134.11 (C-2), 149.09 / 150.51 (C-4, C-5), 165.22 (CO_2CH_3).

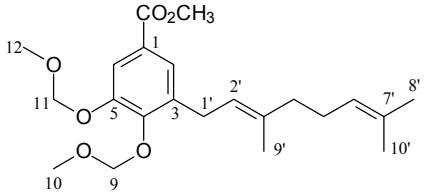
EI-MS *m/z* (%) = 382 (8) $[M]^+$, 351 (1), 306 (100), 275 (12), 255 (2), 179 (2), 45 (62) $[C_2H_5O]^+$.

EA ber. C 37.72 H 3.96 I 33.21
gef. C 37.79 H 3.95 I 33.17

$C_{12}H_{15}IO_6$ (382.15).

3-Geranyl-4,5-bis(methoxymethoxy)benzoesäuremethylester (**58**)

Nach der Allgemeinen Arbeitsvorschrift 8 werden 89.4 mg (0.411 mmol) Geranylbromid (**11**) mit **45** umgesetzt. Das Rohprodukt wird durch Säulenchromatographie über Kieselgel mit dem Eluenten Isohexan : Essigsäureethylester = 6:1 gereinigt.



Ausbeute 0.141 g (0.358 mmol, 87 %[82]), farblose Flüssigkeit.

R_f 0.28 (Isohexan : Essigsäureethylester = 6:1).

IR (KBr): $\tilde{\nu}$ = 2953 cm^{-1} (s, sh), 2915 (s, br.), 2853 (m, sh), 1722 (ss), 1589 (s), 1484 (m), 1435 (s), 1401 (m), 1378 (w), 1329 (s), 1298 (s), 1247 (m), 1219 (s), 1195 (s), 1180 (s), 1157 (s), 1077 (s), 1036 (s), 961 (s), 927 (sh), 830 (w, br.), 769 (s).

^{1}H-NMR (300 MHz, $CDCl_3$): δ = 1.59 (s, 3 H, 10'-H), 1.66 (s, 3 H, 8'-H), 1.71 (s, 3 H, 9'-H), 2.00-2.16 (m, 4 H, 4'-H, 5'-H), 3.44 (d, ^3J = 7.2 Hz, 2 H, 1'-H), 3.50 (s, 3 H, 12-H), 3.58 (s, 3 H, 10-H), 3.87 (s, 3 H, CO_2CH_3), 5.06-5.14 (m, 1 H, 6'-H), 5.18 (s, 2 H, 9-H), 5.22 (s, 2 H, 11-H), 5.31 („tq“, ^3J = 7.2 Hz, ^4J = 1.3 Hz, 1 H, 2'-H), 7.57 (d, ^4J = 2.0 Hz, 1 H, 2-H), 7.64 (d, ^4J = 2.0 Hz, 1 H, 6-H).[90]

^{13}C-NMR (75 MHz, $CDCl_3$): δ = 16.28 (C-9'), 17.72 (C-10'), 25.69 (C-8'), 26.70 (C-5'), 28.50 (C-1'), 39.77 (C-4'), 52.08 (CO_2CH_3), 56.44 (C-12), 57.61 (C-10), 95.20 (C-11), 99.03 (C-9), 115.21 (C-6), 122.00 (C-2'), 124.24 (C-6'), 124.95 (C-2), 125.88 (C-1), 131.49 (C-7'), 136.14 (C-3'), 136.87 (C-3), 148.97 (C-4), 149.31 (C-5), 166.74 (CO_2CH_3).[90]

EI-MS *m/z* (%) = 392 (4) $[M]^+$, 361 (10), 360 (15), 347 (20) $[M–C_2H_5O]^+$, 316 (12), 315 (26), 285 (11), 273 (11), 271 (16), 263 (10), 260 (11), 259 (14), 248 (10), 247 (29), 233 (17), 219 (17), 215 (23), 194 (12), 193 (26), 189 (10), 181 (16), 135 (27), 123 (26), 122 (11), 81 (5) $[C_6H_9]^+$, 69 (24) $[C_5H_9]^+$, 45 (100) $[C_2H_5O]^+$, 41 (11) $[C_3H_5]^+$.

EA ber. C 67.32 H 8.39
gef. C 67.02 H 8.43

$C_{22}H_{32}O_6$ (392.49).

3-(*E*,*E*,*E*)-Geranylgeranyl-4,5-bis(methoxymethoxy)benzoesäuremethylester (**61**, **61***)

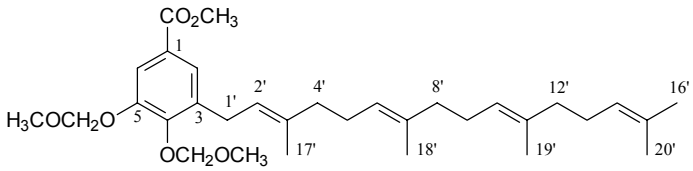
Die Herstellung erfolgt nach AAV 8 aus **45** und (*E*,*E*,*E*)-Geranylgeranylbromid (**25** bzw. **25***). Das Rohprodukt wird durch Säulenchromatographie an Kieselgel mit dem Laufmittel Isohexan : Essigsäureethylester = 7:1 gereinigt.

Ausbeute 71 %[82] bis 78 % (Ansatzgröße 0.3 bis 0.4 mmol), farblose Flüssigkeit.

R_f 0.34 (Isohexan : Essigsäureethylester = 7:1).

[90] Die Zuordnung der Signale erfolgte mittels HMQC-, HMBC- und NOESY-Spektren.

*a) Daten der unmarkierten Verbindung: 3-(E,E,E)-Geranylgeranyl-4,5-bis(methoxymethoxy)-benzoesäuremethylester (**61**)*



IR (KBr): $\tilde{\nu}$ = 2952 cm^{-1} (s), 2917 (s), 2852 (m), 1723 (s), 1590 (m), 1484 (m), 1435 (s), 1401 (w), 1383 (w), 1329 (m), 1310 (m), 1298 (m), 1246 (w), 1219 (m), 1195 (m), 1180 (m), 1158 (s), 1094 (m), 1077 (m), 1037 (s), 962 (s), 927 (m), 769 (s), 595 (w, br.).

^{1}H-NMR (300 MHz, $CDCl_3$): δ = 1.59 (s, 9 H, 18'-H, 19'-H, 20'-H), 1.67 (s, 3 H, 16'-H), 1.72 (s, 3 H, 17'-H), 1.92-2.17 (m, 12 H, 4'-H, 5'-H, 8'-H, 9'-H, 12'-H, 13'-H), 3.44 (d, ^3J = 7.1 Hz, 2 H, 1'-H), 3.50 (s, 3 H, $OCH_2OC\mathit{H}_3$), 3.58 (s, 3 H, $OCH_2OC\mathit{H}_3$), 3.87 (s, 3 H, $CO_2C\mathit{H}_3$), 5.05-5.18 (m, 3 H, 6'-H, 10'-H, 14'-H), 5.18 (s, 2 H, $OC\mathit{H}_2OCH_3$), 5.22 (s, 2 H, $OC\mathit{H}_2OCH_3$), 5.32 („tq“, ^3J = 7.1 Hz, ^4J = 1.2 Hz, 1 H, 2'-H), 7.57 (d, ^4J = 2.0 Hz, 1 H, 2-H), 7.64 (d, ^4J = 2.0 Hz, 1 H, 6-H).

^{13}C-NMR (75 MHz, $CDCl_3$): δ = 16.03 / 16.06 (C-18', C-19'), 16.33 (C-17'), 17.72 (C-20'), 25.73 (C-16'), 26.72 (2 CH_2) / 26.83 (1 CH_2) (C-5', C-9', C-13'), 28.52 (C-1'), 39.76 / 39.78 / 39.82 (C-4', C-8', C-12'), 52.08 ($CO_2\mathit{C}H_3$), 56.44 ($OCH_2O\mathit{C}H_3$), 57.62 ($OCH_2O\mathit{C}H_3$), 95.20 ($O\mathit{C}H_2OCH_3$), 99.03 ($O\mathit{C}H_2OCH_3$), 115.22 (C-2$^{\#}$), 121.94 (C-2'), 124.15 / 124.32 / 124.47 / 124.96 (C-6$^{\#}$, C-6', C-10', C-14'), 125.88 (C-1), 131.26 (C-15'), 134.93 / 135.18 (C-7'†, C-11'†), 136.12 (C-3), 136.97 (C-3'†), 148.97 / 149.32 (C-4, C-5), 166.74 ($\mathit{C}O_2CH_3$).

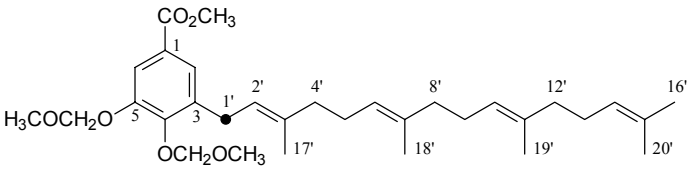
EI-MS *m/z* (%) = 529 (0.6) $[M+1]^+$, 528 (1.5) $[M]^+$, 497 (2) $[M–OCH_3]^+$, 496 (2) $[M–CH_3OH]^+$, 483 (4) $[M–C_2H_5O]^+$, 459 (2) $[M–C_5H_9]^+$, 451 (4), 427 (3), 395 (2), 383 (2), 327 (4), 315 (6), 259 (10), 247 (22), 233 (14), 219 (15), 215 (13), 193 (35), 181 (13), 147 (12), 135 (19), 123 (11), 121 (17), 109 (14), 107 (12), 95 (14), 93 (13), 81 (33) $[C_6H_9]^+$, 69 (83) $[C_5H_9]^+$, 45 (100) $[C_2H_5O]^+$, 41 (16) $[C_3H_5]^+$.

HR-EI-MS ber. 528.3451, gef. 528.3459.

EA ber. C 72.69 H 9.15
gef. C 72.50 H 9.10

$C_{32}H_{48}O_6$ (528.73).

*b) Daten der markierten Verbindung: 3-(E,E,E)-[1'-^{13}C]Geranylgeranyl-4,5-bis(methoxymethoxy)benzoesäuremethylester (**61***)*



^{1}H-NMR (300 MHz, $CDCl_3$): δ = 1.59 (s, 9 H, 18'-H, 19'-H, 20'-H), 1.67 (s, 3 H, 16'-H), 1.72 (s, 3 H, 17'-H), 1.91-2.17 (m, 12 H, 4'-H, 5'-H, 8'-H, 9'-H, 12'-H, 13'-H), 3.44 (dd, $^{1}J_{CH}$ = 128 Hz, $^{3}J_{HH}$ = 7.1 Hz, 2 H, 1'-H), 3.50 (s, 3 H, $OCH_2OC\mathit{H}_3$), 3.58 (s, 3 H, $OCH_2OC\mathit{H}_3$), 3.87 (s, 3 H, $CO_2C\mathit{H}_3$), 5.04-5.17 (m, 3 H, 6'-H, 10'-H, 14'-H), 5.18 (s, 2 H, $OC\mathit{H}_2OCH_3$), 5.22 (s, 2 H, $OC\mathit{H}_2OCH_3$), 5.27-5.36 (m, 1 H, 2'-H), 7.57 (dd, $^{3}J_{CH}$ = 4.1 Hz, $^{4}J_{HH}$ = 2.0 Hz, 1 H, 2-H), 7.64 (d, $^{4}J_{HH}$ = 2.0 Hz, 1 H, 6-H).

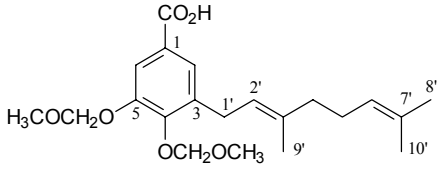
^{13}C-NMR (75 MHz, $CDCl_3$): δ = 16.04 / 16.06 (C-18', C-19'), 16.33 (d, $^{3}J_{CC}$ = 3.5 Hz, C-17'), 17.72 (C-20'), 25.73 (C-16'), 26.72 (2 CH_2) / 26.83 (1 CH_2) (C-5', C-9', C-13'), 28.52 (^{13}C-1'), 39.70-39.88 (m, C-4', C-8', C-12'), 52.08 ($CO_2\mathit{C}H_3$), 56.44 ($OCH_2O\mathit{C}H_3$), 57.62 ($OCH_2O\mathit{C}H_3$), 95.21 ($O\mathit{C}H_2OCH_3$), 99.03 ($O\mathit{C}H_2OCH_3$), 115.22 (C-2$^{\#}$), 121.94 (d, $^{1}J_{CC}$ = 43.7 Hz, C-2'), 124.15 / 124.32 / 124.47 / 124.96 (C-6$^{\#}$, C-6', C-10', C-14'), 125.88 (d, $^{3}J_{CC}$ = 3.8 Hz, C-1), 131.27 (C-15'), 134.93 / 135.18 (C-7'†, C-11'†), 136.12 (d, $^{1}J_{CC}$ = 43.7 Hz, C-3), 136.97 (C-3'†), 148.97 / 149.31 (C-4, C-5), 166.74 ($\mathit{C}O_2CH_3$).

EI-MS *m/z* (%) = 529 (1) $[M]^+$, 498 (2) $[M–OCH_3]^+$, 497 (2) $[M–CH_3OH]^+$, 484 (4), 460 (2) $[M–C_5H_9]^+$, 452 (3), 428 (3), 396 (2), 384 (2), 361 (2), 360 (2), 328 (3), 316 (5), 248 (18), 234 (13), 220 (12), 216 (11), 194 (30), 182 (12), 135 (18), 121 (16), 109 (14), 107 (12), 95 (13), 93 (15), 81 (32) $[C_6H_9]^+$, 69 (71) $[C_5H_9]^+$, 45 (100) $[C_2H_5O]^+$, 41 (18) $[C_3H_5]^+$.

$^{13}CC_{31}H_{48}O_6$ (529.72).

3-Geranyl-4,5-bis(methoxymethoxy)benzoesäure (**59**)

Nach AAV 9 werden 234 mg (0.598 mmol) 3-Geranyl-4,5-bis(methoxymethoxy)benzoesäuremethylester (**58**) verseift. Die Reaktionszeit beträgt etwa 4 h.



Ausbeute 221 mg (0.585 mmol, 98 %), farblose Flüssigkeit.

R_f 0.50 (Chloroform : Methanol = 6:1),
0.55 (Toluol : HCO_2H : HCO_2Et = 10:5:3).

^{1}H-NMR (300 MHz, $CDCl_3$): δ = 1.60 (s, 3 H, 10'-H), 1.67 (s, 3 H, 8'-H), 1.73 (s, 3 H, 9'-H), 2.02-2.18 (m, 4 H, 4'-H, 5'-H), 3.46 (d, ^3J = 7.2 Hz, 2 H, 1'-H), 3.52 (s, 3 H, $OCH_2OC\mathit{H}_3$), 3.60 (s, 3 H, $OCH_2OC\mathit{H}_3$), 5.07-5.15 (m, 1 H, 6'-H), 5.22 (s, 2 H, $OC\mathit{H}_2OCH_3$), 5.24 (s, 2 H, $OC\mathit{H}_2OCH_3$), 5.33 („tq“, ^3J = 7.1 Hz, ^4J = 1.2 Hz, 1 H, 2'-H), 7.65 (d, ^4J = 2.0 Hz, 1 H, ArH), 7.72 (d, ^4J = 2.0 Hz, 1 H, ArH).

^{13}C-NMR (75 MHz, $CDCl_3$): δ = 16.30 (C-9'), 17.77 (C-10'), 25.72 (C-8'), 26.71 (C-5'), 28.48 (C-1'), 39.78 (C-4'), 56.49 ($OCH_2OC\mathit{H}_3$), 57.68 ($OCH_2OC\mathit{H}_3$), 95.30 ($OC\mathit{H}_2OCH_3$), 99.05 ($OC\mathit{H}_2OCH_3$), 115.87 (C-6), 121.83 (C-2'), 124.23 (C-6'), 124.97 (C-1), 125.70 (C-2), 131.59 (C-7'), 136.25 (C-3), 137.14 (C-3'), 149.37 / 149.76 (C-4, C-5), 171.72 (CO_2H).

EI-MS *m/z* (%) = 378 (1) $[M]^+$, 346 (6), 333 (12), 301 (14), 285 (4), 271 (17), 247 (17), 233 (9), 219 (10), 215 (8), 205 (9), 179 (12), 167 (8), 135 (18), 123 (20), 81 (5) $[C_6H_9]^+$, 69 (27) $[C_5H_9]^+$, 45 (100) $[C_2H_5O]^+$, 41 (15) $[C_3H_5]^+$.

$C_{21}H_{30}O_6$ (378.47).

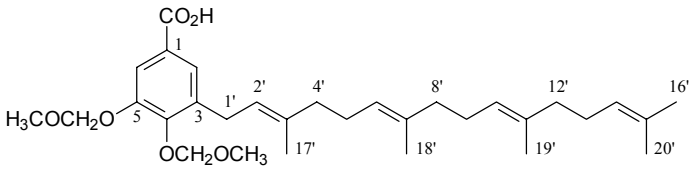
3-(*E*,*E*,*E*)-Geranylgeranyl-4,5-bis(methoxymethoxy)benzoesäure (**62**, **62***)

Die Verseifung der Methylester **61** und **61*** erfolgt nach AAV 9. Die Reaktionszeit beträgt etwa 4 h.

Ausbeute um 98 % (Rohprodukt), farblose Flüssigkeit.

R_f 0.43 (Chloroform : Methanol = 9:1).

*a) Daten der unmarkierten Verbindung: 3-(E,E,E)-Geranylgeranyl-4,5-bis(methoxymethoxy)-benzoesäure (**62**)*



^{1}H-NMR (300 MHz, $CDCl_3$): δ = 1.59 (s, 6 H) / 1.61 (s, 3 H) (18'-H, 19'-H, 20'-H), 1.67 (s, 3 H, 16'-H), 1.74 (s, 3 H, 17'-H), 1.92-2.19 (m, 12 H, 4'-H, 5'-H, 8'-H, 9'-H, 12'-H, 13'-H), 3.46 (d, ^3J = 7.0 Hz, 2 H, 1'-H), 3.52 (s, 3 H, $OCH_2OC\mathit{H}_3$), 3.60 (s, 3 H, $OCH_2OC\mathit{H}_3$), 5.05-5.18 (m, 3 H, 6'-H, 10'-H, 14'-H), 5.22 (s, 2 H,

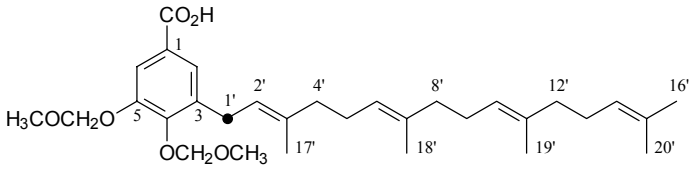
OCH_2OCH_3), 5.24 (s, 2 H, OCH_2OCH_3), 5.33 (t, br., $^3J \approx 7.2$ Hz, 1 H, 2'-H), 7.65 (d, $^4J = 2.0$ Hz, 1 H, 2-H), 7.72 (d, $^4J = 2.0$ Hz, 1 H, 6-H).

^{13}C-NMR (75 MHz, $CDCl_3$): δ = 16.05 / 16.09 (C-18', C-19'), 16.35 (C-17'), 17.73 (C-20'), 25.74 (C-16'), 26.73 (2 CH_2) / 26.84 (1 CH_2) (C-5', C-9', C-13'), 28.51 (C-1'), 39.77 / 39.79 / 39.83 (C-4', C-8', C-12'), 56.47 (OCH_2OCH_3), 57.66 (OCH_2OCH_3), 95.29 (OCH_2OCH_3), 99.04 (OCH_2OCH_3), 115.87 (C-6), 121.78 (C-2'), 124.15 / 124.35 / 124.50 (C-6', C-10', C-14'), 124.97 (C-1), 125.71 (C-2), 131.27 (C-15'), 134.93 / 135.23 (C-7', C-11'), 136.22 (C-3), 137.19 (C-3'), 149.37 / 149.75 (C-4, C-5), 171.74 (CO_2H).

EI-MS *m/z* (%) = 514 (1) $[M]^+$, 482 (1), 469 (2) $[M–C_2H_5O]^+$, 445 (1) $[M–C_5H_9]^+$, 259 (4), 247 (11), 205 (7), 179 (13), 135 (12), 123 (8), 121 (11), 109 (9), 107 (9), 95 (11), 93 (10), 81 (27) $[C_6H_9]^+$, 69 (71) $[C_5H_9]^+$, 45 (100) $[C_2H_5O]^+$, 41 (16) $[C_3H_5]^+$.

$C_{31}H_{46}O_6$ (514.70).

*b) Daten der markierten Verbindung: 3-(E,E,E)-[1'-^{13}C]Geranylgeranyl-4,5-bis(methoxymethoxy)benzoesäure (**62***)*

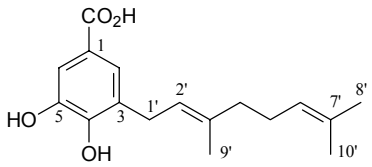


^{1}H-NMR (300 MHz, $CDCl_3$): δ = 1.59 (s, 6 H) / 1.61 (s, 3 H) (18'-H, 19'-H, 20'-H), 1.67 (s, 3 H, 16'-H), 1.74 (s, 3 H, 17'-H), 1.92-2.19 (m, 12 H, 4'-H, 5'-H, 8'-H, 9'-H, 12'-H, 13'-H), 3.46 (dd, $^1J_{CH} = 128$ Hz, $^3J_{HH} = 7.1$ Hz, 2 H, 1'-H), 3.52 (s, 3 H, OCH_2OCH_3), 3.60 (s, 3 H, OCH_2OCH_3), 5.05-5.17 (m, 3 H, 6'-H, 10'-H, 14'-H), 5.22 (s, 2 H, OCH_2OCH_3), 5.24 (s, 2 H, OCH_2OCH_3), 5.29-5.38 (m, 1 H, 2'-H), 7.65 (dd, $^3J_{CH} = 4.1$ Hz, $^4J_{HH} = 2.0$ Hz, 1 H, 2-H), 7.72 (d, $^4J_{HH} = 2.0$ Hz, 1 H, 6-H).

^{13}C-NMR (75 MHz, $CDCl_3$): δ = 16.05 / 16.09 (C-18', C-19'), 16.34 (d, $^3J_{CC} = 3.2$ Hz, C-17'), 17.73 (C-20'), 25.74 (C-16'), 26.73 (2 CH_2) / 26.84 (1 CH_2) (C-5', C-9', C-13'), 28.51 (^{13}C-1'), 39.70-39.92 (m, 3 CH_2, C-4', C-8', C-12'), 56.47 (OCH_2OCH_3), 57.66 (OCH_2OCH_3), 95.29 (OCH_2OCH_3), 99.04 (OCH_2OCH_3), 115.87 (C-6), 121.78 (d, $^1J_{CC} = 43.7$ Hz, C-2'), 124.15 / 124.35 / 124.50 (C-6', C-10', C-14'), 124.98 (d, $^3J_{CC} = 3.5$ Hz, C-1), 125.71 (C-2), 131.27 (C-15'), 134.93 / 135.23 (C-7', C-11'), 136.22 (d, $^1J_{CC} = 43.4$ Hz, C-3), 137.18 (C-3'), 149.36 / 149.74 (C-4, C-5), 171.75 (CO_2H).

$^{13}CC_{30}H_{46}O_6$ (515.69).

3-Geranyl-4,5-dihydroxybenzoesäure (**60**)



Nach AAV 2 wird eine Lösung von 63.3 mg (0.167 mmol) 3-Geranyl-4,5-bis(methoxymethoxy)benzoesäure (**59**) in Isopropanol mit 48 µl (0.669 mmol, 4 Äquiv.) Acetylchlorid versetzt. Die Reaktionszeit beträgt etwa 5 h. Das Rohprodukt wird durch Säulenchromatographie über Kieselgel mit dem Eluenten Chloroform : Methanol = 6:1 gereinigt.

Ausbeute	41.6 mg (0.143 mmol, 85 %), farbloser Feststoff.
R_f	0.30 (Chloroform : Methanol = 6:1), 0.45 (Toluol : HCO_2H : HCO_2Et = 10:5:3).
IR	(KBr): $\tilde{\nu}$ = 3431 cm^{-1} (s), 3288 (s, br.), 2968 (s), 2924 (s), 2856 (m), 2540 (m), 2445 (m), 1672 (s), 1602 (s), 1500 (w), 1443 (s), 1376 (s), 1356 (s), 1299 (s), 1232 (s), 1103 (m), 1045 (w), 985 (m), 894 (w), 772 (s), 711 (m).
^{1}H-NMR	(300 MHz, [D_6]Aceton, TMS): δ = 1.58 (s, 3 H, 10'-H), 1.64 (s, 3 H, 8'-H), 1.74 (s, 3 H, 9'-H), 2.00-2.18 (m, 4 H, 4'-H, 5'-H), 3.39 (d, ^3J = 7.2 Hz, 2 H, 1'-H), 5.08-5.17 (m, 1 H, 6'-H), 5.38 („tq“, ^3J = 7.3 Hz, ^4J = 1.2 Hz, 1 H, 2'-H), 7.45 (s, 2 H, 2-H, 6-H), 8.75 (s, br.,1 H, OH).
^{13}C-NMR	(75 MHz, [D_6]Aceton, TMS): δ = 16.22 (C-9'), 17.73 (C-10'), 25.80 (C-8'), 27.37 / 28.63 (C-1', C-5'), 40.47 (C-4'), 114.96 (C-6), 121.98 (C-1), 123.07 / 124.13 / 125.02 (C-2, C-2', C-6'), 128.71 (C-3), 131.77 (C-7'), 136.71 (C-3'), 144.69 / 148.74 (C-4, C-5), 168.23 (CO_2H).
^{1}H-NMR	(300 MHz, [D_6]DMSO): δ = 1.53 (s, 3 H, 10'-H), 1.60 (s, 3 H, 8'-H), 1.65 (s, 3 H, 9'-H), 1.91-2.10 (m, 4 H, 4'-H, 5'-H), 3.23 (d, ^3J = 7.2 Hz, 2 H, 1'-H), 5.01-5.12 (m, 1 H, 6'-H), 5.26 (t, br., ^3J = 7.1 Hz, 1 H, 2'-H), 7.19 (d, ^4J = 1.9 Hz, 1 H, ArH), 7.24 (d, ^4J = 1.9 Hz, 1 H, ArH), 8.96 (s, br., 1 H, OH), 9.62 (s, br., 1 H, OH), 12.24 (s, br., 1 H, CO_2H).
^{13}C-NMR	(75 MHz, [D_6]DMSO): δ = 16.06 (C-9'), 17.75 (C-10'), 25.65 (C-8'), 26.37 / 27.95 (C-1', C-5'), 39.48 (C-4'),[91] 114.15 (C-6), 120.99 (C-1), 122.24 / 122.50 / 124.21 (C-2, C-2', C-6'), 127.84 (C-3), 131.00 (C-7'), 135.40 (C-3'), 144.49 / 147.81 (C-4, C-5), 167.67 (CO_2H).
EI-MS	*m/z* (%) = 290 (7) $[M]^+$, 246 (25) $[M–CO_2]^+$, 205 (33), 203 (16), 177 (20), 161 (29), 159 (31), 131 (26), 123 (87), 109 (23), 91 (14), 81 (13) $[C_6H_9]^+$, 77 (11), 69 (100) $[C_5H_9]^+$, 44 (22) $[CO_2]^+$, 41 (58) $[C_3H_5]^+$.

[91] Das Signal wird vom Lösungsmittelsignal verdeckt und ist nur im ^{13}C-DEPT-NMR-Spektrum sichtbar.

HR-EI-MS ber. 290.1518, gef. 290.1515.

$C_{17}H_{22}O_4$ (290.36).

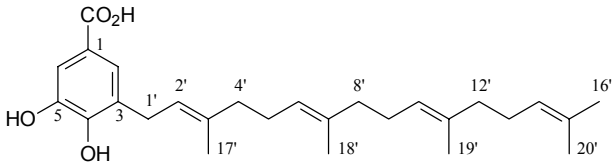
3-(*E*,*E*,*E*)-Geranylgeranyl-4,5-dihydroxybenzoesäure (**2**, **2***)

62 bzw. **62*** werden nach AAV 2 mit 5 Äquiv. Acetylchlorid in Isopropanol entschützt. Die Reaktionszeit beträgt etwa 5 h. Das Rohprodukt wird durch Säulenchromatographie über Kieselgel mit dem Laufmittel Chloroform : Methanol = 9:1 gereinigt.

Ausbeute 84 bis 86 % (Ansatzgröße 0.12 bis 0.2 mmol), farbloser Feststoff.

R_f 0.29 (Chloroform : Methanol = 9:1).

*a) Daten der unmarkierten Verbindung: 3-(E,E,E)-Geranylgeranyl-4,5-dihydroxybenzoesäure (**2**)*



IR (KBr): $\tilde{\nu}$ =3433 cm^{-1} (s), 3289 (s, br.), 2967 (s), 2922 (s), 2854 (s), 1688 (s), 1603 (m), 1444 (s), 1376 (m), 1293 (s), 1234 (s), 1099 (m), 987 (m), 775 (m), 707 (m), 566 (w), 551 (w).

^{1}H-NMR (300 MHz, $CDCl_3$): δ = 1.60 (s, 9 H, 18'-H, 19'-H, 20'-H), 1.68 (s, 3 H, 16'-H), 1.77 (s, 3 H, 17'-H), 1.92-2.19 (m, 12 H, 4'-H, 5'-H, 8'-H, 9'-H, 12'-H, 13'-H), 3.40 (d, ^3J = 7.1 Hz, 2 H, 2'-H), 5.04-5.15 (m, 3 H, 6'-H, 10'-H, 14'-H), 5.34 (t, br., $^3J \approx$ 6.5 Hz, 1 H, 2'-H), 7.53 (s, 2 H, 2-H, 6-H).

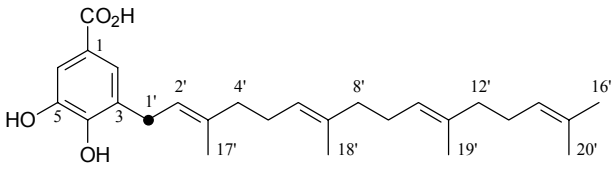
^{13}C-NMR (75 MHz, $CDCl_3$): δ = 16.07 / 16.12 (C-18', C-19'), 16.33 (C-17'), 17.74 (C-20'), 25.75 (C-16'), 26.52 / 26.69 / 26.84 (C-5', C-9',C-13'), 29.18 (C-1'), 39.65-39.88 (m, 3 CH_2, C-4', C-8', C-12'), 115.11 (C-6), 120.87 (C-1), 121.05 (C-2'), 123.79 / 124.29 / 124.50 / 125.07 (C-2, C-6', C-10', C-14'), 127.59 (C-3), 131.36 (C-15'), 135.07 / 135.67 (C-7', C-11'), 139.00 (C-3'), 143.19 / 147.90 (C-4, C-5), 172.48 (CO_2H).

EI-MS *m/z* (%) = 427 (3) $[M+1]^+$, 426 (13) $[M]^+$, 411 (2) $[M–CH_3]^+$, 383 (8), 357 (17) $[M–C_5H_9]^+$, 315 (6), 302 (6), 289 (5) $[357–C_5H_8]^+$, 275 (10), 259 (16), 247 (12), 222 (14), 220 (16), 207 (23), 205 (32), 177 (21), 167 (91), 137 (27), 136 (27), 135 (34), 123 (38), 121 (31), 109 (32), 107 (23), 95 (29), 93 (24), 81 (69) $[C_6H_9]^+$, 69 (100) $[C_5H_9]^+$, 41 (17) $[C_3H_5]^+$.

HR-EI-MS ber. 426.2770, gef.426.2744.

$C_{27}H_{38}O_4$ (426.60).

*b) Daten der markierten Verbindung: 3-(E,E,E)-[1'-^{13}C]Geranylgeranyl-4,5-dihydroxybenzoesäure (**2***)*



^{1}H-NMR (300 MHz, $CDCl_3$): δ = 1.59 (s, 9 H, 18'-H, 19'-H, 20'-H), 1.68 (s, 3 H, 16'-H), 1.78 (s, 3 H, 17'-H), 1.92-2.20 (m, 12 H, 4'-H, 5'-H, 8'-H, 9'-H, 12'-H, 13'-H), 3.41 (dd, $^1J_{CH}$ = 128 Hz, ^3J = 7.1 Hz, 2 H, 2'-H), 5.04-5.15 (m, 3 H, 6'-H, 10'-H, 14'-H), 5.30-5.39 (m, 1 H, 2'-H), 7.53 (s, 2 H, 2-H, 6-H).

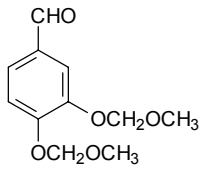
^{13}C-NMR (75 MHz, $CDCl_3$): δ = 16.07 / 16.14 (C-18', C-19'), 16.34 (d, $^3J_{CC}$ = 2.9 Hz, C-17'), 17.75 (C-20'), 25.76 (C-16'), 26.49 / 26.69 / 26.84 (C-5', C-9', C-13'), 29.30 (^{13}C-1'), 39.68-39.88 (m, 3 CH_2, C-4', C-8', C-12'), 115.12 (C-6), 121.01 (d, $^3J_{CC}$ = 3.2 Hz, C-1), 121.04 (d, $^1J_{CC}$ = 42.9 Hz, C-2'), 123.75 / 124.28 / 124.50 / 125.01 (C-2, C-6', C-10', C-14'), 127.49 (d, $^1J_{CC}$ = 43.5 Hz, C-3), 131.37 (C-15'), 135.09 / 135.72 (C-7', C-11'), 139.15 (C-3'), 143.27 / 147.80 (C-4, C-5), 172.33 (CO_2H).

EI-MS *m/z* (%) = 428 (4) $[M+1]^+$, 427 (12) $[M]^+$, 412 (3) $[M–CH_3]^+$, 384 (7), 358 (16) $[M–C_5H_9]^+$, 276 (10), 259 (16), 248 (12), 234 (11), 223 (14), 221 (17), 208 (23), 206 (33), 204 (23), 168 (89), 149 (18), 137 (28), 136 (32), 135 (35), 123 (36), 121 (31), 109 (32), 107 (21), 95 (29), 93 (24), 81 (68) $[C_6H_9]^+$, 69 (100) $[C_5H_9]^+$, 55 (9), 41 (16) $[C_3H_5]^+$.

$^{13}CC_{26}H_{38}O_4$ (427.59).

17.7 3,4-Dihydroxy-2-polyprenylbenzoesäuren (4, 4*, 68)

3,4-Bis(methoxymethoxy)benzaldehyd (**64**)



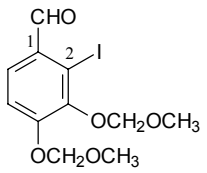
3.94 g (28.5 mmol) 3,4-Dihydroxybenzaldehyd (**63**) werden in 25 ml Dimethylformamid gelöst. Es werden 19 ml (0.11 mmol, 4 Äquiv.) einer 6 M Lösung von Chlormethoxymethan in Essigsäuremethylester (AAV 1) und 29 ml (0.17 mol, 6 Äquiv.) Ethyldiisopropylamin zugegeben. Nach 1 h Rühren wird verd. wäßr. Ammoniaklösung zugesetzt und mehrmals mit Essigsäureethylester extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden mit ges. NaCl-Lösung gewaschen

und über Na_2SO_4 getrocknet. Nach Entfernen des Lösungsmittels i. Vak. wird mittels Säulenchromatographie über Kieselgel mit dem Laufmittel Isohexan : Essigsäureethylester = 5:2 gereinigt.

Ausbeute	5.36 g (23.7 mmol, 83 %), farbloser Feststoff.
Schmp.	58°C (Lit.[477] 60°C).
R_f	0.43 (Isohexan : Essigsäureethylester = 5:2).
IR	(KBr): $\tilde{\nu}$ = 2995 cm^{-1} (m), 2967 (m), 2942 (m), 2832 (m), 1677 (s), 1596 (s), 1585 (s), 1508 (s), 1450 (m), 1436 (m), 1395 (m), 1263 (s), 1230 (m), 1162 (s), 1128 (s), 1085 (s), 1071 (s), 1006 (s), 967 (s), 918 (s), 876 (m), 816 (m), 774 (w), 736 (m), 667 (w), 636 (m), 586 (w), 523 (w), 462 (w).
^{1}H-NMR	(300 MHz, [D_6]Aceton): δ = 3.47 (s, 3 H, OCH_2OCH_3), 3.48 (s, 3 H, OCH_2OCH_3), 5.27 (s, 2 H, OCH_2OCH_3), 5.33 (s, 2 H, OCH_2OCH_3), 7.30 (d, ^3J = 8.3 Hz, 1 H, 5-H), 7.56 (dd, ^3J = 8.3 Hz, ^4J = 1.9 Hz, 1 H, 6-H), 7.64 (d, ^4J = 1.9 Hz, 1 H, 2-H), 9.87 (s, 1 H, CHO).
^{13}C-NMR	(75 MHz, [D_6]Aceton): δ = 56.36 (OCH_2OCH_3), 56.52 (OCH_2OCH_3), 95.66 (OCH_2OCH_3), 96.08 (OCH_2OCH_3), 116.72 / 116.81 / 126.92 (C-2, C-5, C-6), 132.20 (C-1), 148.57 / 153.71 (C-3, C-4), 191.32 (CHO).
EI-MS	*m/z* (%) = 226 (14) $[M]^+$, 211 (2) $[M–CH_3]^+$, 181 (4) $[M–C_2H_5O]^+$, 166 (7), 150 (23), 149 (9), 134 (5), 45 (100) $[C_2H_5O]^+$.
EA	ber. C 58.40 H 6.24 gef. C 58.31 H 6.18

$C_{11}H_{14}O_5$ (226.23).

2-Iod-3,4-bis(methoxymethoxy)benzaldehyd (**65**)



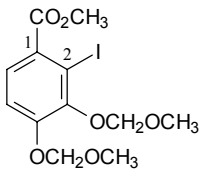
In einem Schlenkkolben mit Rührfisch und Septum werden zu einer Lösung von 0.57 ml (4.4 mmol, 1.1 Äquiv.) *N*,*N*,*N*'-Trimethylethylendiamin in 10 ml abs. Tetrahydrofuran bei 0°C 4.2 mmol (1.05 Äquiv.) einer Lösung von *n*-Butyllithium in Hexan getropft. Nach 15 min Rühren kühlt man auf –20°C und tropft eine Lösung von 0.905 g (4.00 mmol, 1 Äquiv.) 3,4-Bis(methoxymethoxy)benzaldehyd (**64**) in 3 ml Tetrahydrofuran zu, rührt 30 min und setzt 12 mmol (3 Äquiv.) *n*-Butyllithiumlösung zu. Es wird 3 h bei –20°C gerührt. Anschließend kühlt man auf –40°C und setzt mittels einer Spritze in einer Portion eine Lösung von 5.1 g (18 mmol) Diiodethan in 5 ml Tetrahydrofuran zu (Gasentwicklung!). Man rührt 5 min,

entfernt das Kühlbad, läßt auf RT kommen und quencht mit ges. wäßr. Ammoniumchloridlösung. Es wird nach Zusatz von Natriumthiosulfat und Wasser mehrmals mit Diethylether extrahiert. Man wäscht die vereinigten organischen Phasen mit ges. NaCl-Lösung, trocknet über Na_2SO_4, entfernt das Lösungsmittel i. Vak. und reinigt durch Säulenchromatographie über Kieselgel mit dem Eluenten Isohexan : Essigsäureethylester = 3:1.

Ausbeute	0.884 g (2.51 mmol, 63 %), hellgelber Feststoff.
Schmp.	55-57°C.
R_f	0.36 (Isohexan : Essigsäureethylester = 3:1), 0.34 (Isohexan:Aceton = 5:1).
IR	(KBr): $\tilde{\nu}$ = 2956 cm^{-1} (w), 2930 (w), 2915 (w), 2851 (w), 2835 (w), 1691 (s), 1575 (s), 1474 (s), 1370 (m), 1306 (w), 1271 (s), 1247 (s), 1211 (m), 1159 (s), 1124 (m), 1088 (s), 975 (ss), 919 (s), 905 (m), 829 (m), 772 (w), 676 (w), 648 (w), 544 (w), 485 (w), 433 (w).
^{1}H-NMR	(300 MHz, [D$_6$]Aceton): δ = 3.49 (s, 3 H, $OCH_2OC\mathit{H}_3$), 3.65 (s, 3 H, $OCH_2OC\mathit{H}_3$), 5.23 (s, 2 H, $OC\mathit{H}_2OCH_3$), 5.39 (s, 2 H, $OC\mathit{H}_2OCH_3$), 7.32 (d, ^3J = 8.6 Hz, 1 H, ArH), 7.62 (d, ^3J = 8.6 Hz, 1 H, ArH), 10.00 (s, 1 H, CHO).
^{13}C-NMR	(75 MHz, [D$_6$]Aceton): δ = 56.83 ($OCH_2O\mathit{C}H_3$), 58.66 ($OCH_2O\mathit{C}H_3$), 95.69 ($O\mathit{C}H_2OCH_3$), 99.75 ($O\mathit{C}H_2OCH_3$), 100.55 (C-2), 116.30 (C-5), 127.44 (C-6), 131.05 (C-1), 147.42 / 155.65 (C-3, C-4), 195.00 (CHO).
EI-MS	*m/z* (%) = 352 (21) $[M]^+$, 307 (6) $[M–C_2H_5O]^+$, 292 (58), 276 (49), 275 (13), 260 (25), 149 (4), 45 (100) $[C_2H_5O]^+$.
EA	ber. C 37.52 H 3.72 I 36.04 gef. C 37.28 H 3.51 I 35.96

$C_{11}H_{13}IO_5$ (352.12).

2-Iod-3,4-bis(methoxymethoxy)benzoesäuremethylester (**46**)



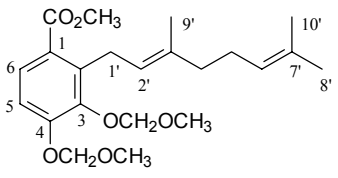
Nach der Methode von Lit.[264] wird eine Lösung von 0.400 g (1.14 mmol, 1 Äquiv.) 2-Iod-3,4-bis(methoxymethoxy)benzaldehyd (**65**) in 15 ml Methanol auf 0°C gekühlt. Man setzt schnell eine Lösung von 0.195 g (2.96 mmol, 2.6 Äquiv.) Kaliumhydroxid (Gehalt 85 %) in 3.5 ml Methanol und sofort danach schnell eine Lösung von 0.375 g (1.48 mmol, 1.3 Äquiv.) Iod in 3.5 ml Methanol zu und rührt 1 h bei 0°C. Man gibt nochmals die gleichen Mengen KOH und I_2 in Lösung zu und rührt weiter bei 0°C, bis die Umsetzung beendet ist (ca. 2 h,

DC-Kontrolle (Isohexan:Aceton = 5:1)). Zur Aufarbeitung wird mit wäßr. Ammoniumchloridlösung sowie Natriumthiosulfatlösung versetzt und mehrmals mit Diethylether extrahiert. Nach dem Waschen der vereinigten organischen Phasen mit ges. NaCl-Lösung und Trocknen über Na_2SO_4 entfernt man das Lösungsmittel i. Vak. und reinigt durch Säulenchromatographie an Kieselgel mit dem Laufmittel Isohexan : Aceton = 5:1. Das in geringen Mengen (etwa 3 %) entstandene Nebenprodukt 2-Iod-4,5-bis(methoxymethoxy)benzoesäuremethylester erkennt man im ^{1}H-NMR-Spektrum ($CDCl_3$) an den Signalen δ 7.68 (s) und 7.72 (s). Diese Verunreinigung kann durch Chromatographie über Kieselgel mit dem Laufmittel Chloroform : Aceton = 40:1 abgetrennt werden (R_f = 0.37).

Ausbeute	0.416 g (1.09 mmol, 96 %), farblose Flüssigkeit.
R_f	0.30 (Isohexan : Aceton = 5:1), 0.32 (Chloroform : Aceton = 40:1).
IR	(KBr): $\tilde{\nu}$ = 2996 cm^{-1} (m), 2953 (s), 2096 (s), 2829 (m), 1728 (ss), 1582 (s), 1479 (s), 1434 (s), 1382 (s), 1295 (s), 1267 (ss, br.), 1219 (s), 1208 (s), 1197 (s), 1158 (ss, br.), 1082 (s), 982 (s, br.), 948 (s), 886 (m), 828 (m), 773 (m), 744 (w), 679 (w), 639 (w).
^{1}H-NMR	(300 MHz, $CDCl_3$): δ = 3.48 (s, 3 H, $OCH_2OC\mathit{H}_3$), 3.68 (s, 3 H, $OCH_2OC\mathit{H}_3$), 3.89 (s, 3 H, CO_2CH_3), 5.17 (s, 2 H, $OC\mathit{H}_2OCH_3$), 5.33 (s, 2 H, $OC\mathit{H}_2OCH_3$), 7.13 (d, ^3J = 8.6 Hz, 1 H, ArH), 7.52 (d, ^3J = 8.6 Hz, 1 H, ArH).
^{13}C-NMR	(75 MHz, $CDCl_3$): δ = 52.42 ($CO_2\mathit{C}H_3$), 56.54 ($OCH_2OC\mathit{H}_3$), 58.57 ($OCH_2OC\mathit{H}_3$), 94.68 (C-2), 94.96 ($O\mathit{C}H_2OCH_3$), 99.06 ($O\mathit{C}H_2OCH_3$), 115.21 (C-5), 127.47 (C-6), 130.03 (C-1), 147.12 / 152.27 (C-3, C-4), 166.83 ($\mathit{C}O_2CH_3$).
EI-MS	*m/z* (%) = 383 (2) $[M+1]^+$, 382 (15) $[M]^+$, 351 (3), 337 (2), 307 (10), 306 (100), 275 (33), 255 (15), 179 (7), 45 (32) $[C_2H_5O]^+$.
HR-EI-MS	ber. 381.9913, gef. 381.9898.

$C_{12}H_{15}IO_6$ (382.15).

2-Geranyl-3,4-bis(methoxymethoxy)benzoesäuremethylester (**66**)



Nach AAV 8 werden 100 mg (0.262 mmol) 2-Iod-3,4-bis-(methoxymethoxy)benzoesäuremethylester (**46**) mit Geranylbromid (**11**) umgesetzt. Das Rohprodukt wird durch Säulenchromatographie über Kieselgel mit dem Laufmittel Iso-

hexan : Essigsäureethylester = 4:1 gereinigt.

Ausbeute 90.9 mg (0.232 mmol, 88 %), farbloses Öl.

R_f 0.39 (Isohexan : Essigsäureethylester = 4:1).

IR (KBr): $\tilde{\nu}$ = 2951 cm^{-1} (m), 2914 (m), 2854 (m), 1722 (s), 1596 (m), 1574 (w), 1486 (m), 1435 (s), 1264 (ss), 1207 (m), 1157 (s), 1136 (m), 1089 (m), 1035 (s), 964 (s), 939 (m), 827 (w), 792 (w), 754 (w).

^{1}H-NMR (300 MHz, $CDCl_3$): δ = 1.56 (s, 3 H, 10'-H), 1.63 (s, 3 H, 8'-H), 1.74 (s, 3 H, 9'-H), 1.91-2.09 (m, 4 H, 4'-H, 5'-H), 3.49 (s, 3 H, $OCH_2OC\mathit{H}_3$), 3.59 (s, 3 H, $OCH_2OC\mathit{H}_3$), 3.81 (d, $^3J \approx 7$ Hz[92], 2 H, 1'-H), 3.83 (s, 3 H, CO_2CH_3), 5.01-5.09 (m, 1 H, 6'-H), 5.07 (s, 2 H, $OC\mathit{H}_2OCH_3$), 5.13 („tq“, ^3J = 6.3 Hz, ^4J = 1.2 Hz, 1 H, 2'-H), 5.23 (s, 2 H, $OC\mathit{H}_2OCH_3$), 7.01 (d, ^3J = 8.7 Hz, 1 H, ArH), 7.60 (d, ^3J = 8.7 Hz, 1 H, ArH).

^{13}C-NMR (75 MHz, $CDCl_3$): δ = 16.42 (C-9'), 17.69 (C-10'), 25.67 (C-8'), 26.11 (C-1'), 26.75 (C-5'), 39.72 (C-4'), 51.91 ($CO_2\mathit{C}H_3$), 56.41 ($OCH_2O\mathit{C}H_3$), 57.68 ($OCH_2O\mathit{C}H_3$), 94.75 ($O\mathit{C}H_2OCH_3$), 99.24 ($O\mathit{C}H_2OCH_3$), 112.68 (aromat. CH), 123.41 (C-2'), 124.39 (C-6'), 124.65 (C-1), 127.53 (aromat. CH), 131.26 (C-7'), 135.24 (C-3'), 138.59 (C-2), 144.88 / 152.92 (C-3, C-4), 167.88 ($\mathit{C}O_2CH_3$).

EI-MS *m/z* (%) = 392 (4) $[M]^+$, 361 (3), 360 (3), 349 (8), 348 (7), 347 (34) $[M-C_2H_5O]^+$, 315 (15), 263 (11), 259 (11), 247 (25), 241 (14), 233 (17), 227 (17), 219 (19), 215 (28), 202 (11), 194 (13), 193 (12), 157 (12), 135 (17), 123 (21), 122 (23), 69 (21) $[C_5H_9]^+$, 45 (100) $[C_2H_5O]^+$, 41 (12) $[C_3H_5]^+$.

EA ber. C 76.32 H 8.33
gef. C 66.94 H 8.04

$C_{22}H_{32}O_6$ (392.49).

2-(*E*,*E*,*E*)-Geranylgeranyl-3,4-bis(methoxymethoxy)benzoesäuremethylester (**69**, **69***)

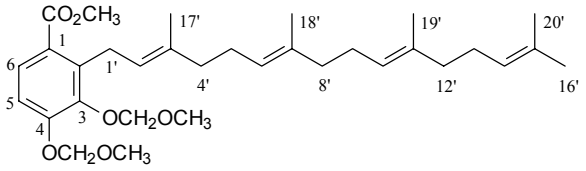
Die Herstellung erfolgt nach AAV 8 aus **46** und (*E*,*E*,*E*)-Geranylgeranylbromid (**25** bzw. **25***). Das Rohprodukt wird durch Säulenchromatographie an Kieselgel mit dem Eluenten Isohexan : Essigsäureethylester = 6:1 gereinigt.

Ausbeute 78 % (Ansatzgröße 0.2 mmol), farblose Flüssigkeit.

R_f 0.31 (Isohexan : Essigsäureethylester = 6:1).

[92] Wegen Überlagerung des Dublettsignals mit δ 3.83 ist die genaue Bestimmung der Kopplungskonstanten nicht möglich.

*a) Daten der unmarkierten Verbindung: 2-(E,E,E)-Geranylgeranyl-3,4-bis(methoxymethoxy)benzoesäuremethylester (**69**)*



IR (KBr): $\tilde{\nu}$ = 2917 cm^{-1} (s), 2853 (m), 1723 (s), 1596 (m), 1486 (m), 1435 (s), 1398 (w), 1383 (w), 1263 (s), 1220 (m), 1207 (m), 1192 (m), 1157 (s), 1135 (m), 1090 (m), 1033 (s), 965 (m), 931 (m), 828 (w), 792 (m), 753 (m).

^{1}H-NMR (300 MHz, $CDCl_3$): δ = 1.56 (s, 3 H) / 1.58 (s, 3 H) / 1.59 (s, 3 H) (18'-H, 19'-H, 20'-H), 1.67 (s, 3 H, 16'-H), 1.75 (s, 3 H, 17'-H), 1.90-2.10 (m, 12 H, 4'-H, 5'-H, 8'-H, 9'-H, 12'-H, 13'-H), 3.49 (s, 3 H, $OCH_2OC\mathit{H}_3$), 3.60 (s, 3 H, $OCH_2OC\mathit{H}_3$), 3.82 (d, $^3J \approx 7.6$ Hz[92], 2 H, 1'-H), 3.83 (s, 3 H, CO_2OCH_3), 5.08 (s, 2 H, $OC\mathit{H}_2OCH_3$), 5.04–5.18 (m, 4 H, 2'-H, 6'-H, 10'-H, 14'-H), 5.23 (s, 2 H, $OC\mathit{H}_2OCH_3$), 7.01 (d, ^3J = 8.7 Hz, 1 H, ArH), 7.60 (d, ^3J = 8.7 Hz, 1 H, ArH).

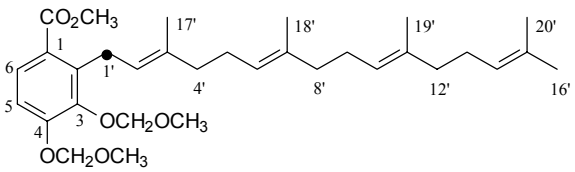
^{13}C-NMR (75 MHz, $CDCl_3$): δ = 16.03 (s, 2 CH_3, C-18', C-19'), 16.49 (C-17'), 17.72 (C-20'), 25.74 (C-16'), 26.12 (C-1'), 26.70 / 26.80 / 26.82 (C-5', C-9', C-13'), 39.74 (1 CH_2) / 39.78 (2 CH_2) (C-4', C-8', C-12'), 51.92 ($CO_2\mathit{C}H_3$), 56.41 ($OCH_2OC\mathit{H}_3$), 57.69 ($OCH_2OC\mathit{H}_3$), 94.76 ($OC\mathit{H}_2OCH_3$), 99.24 ($OC\mathit{H}_2OCH_3$), 112.68 (aromat. CH), 123.34 (C-2'), 124.28 / 124.35 / 124.48 (C-6', C-10', C-14'), 124.64 (C-1), 127.53 (aromat. CH), 131.26 (C-15'), 134.89 / 134.97 / 135.35 (C-3', C-7', C-11'), 138.59 (C-2), 144.88 / 152.92 (C-3, C-4), 167.87 ($\mathit{C}O_2CH_3$).

EI-MS *m/z* (%) = 529 (1) $[M+1]^+$, 528 (2) $[M]^+$, 484 (3), 483 (8) $[M–C_2H_5O]^+$, 451 (3), 427 (2), 391 (5), 359 (5), 333 (5), 327 (4), 315 (7), 263 (16), 259 (15), 247 (34), 233 (21), 227 (13), 225 (10), 219 (27), 215 (25), 203 (10), 201 (10), 193 (15), 157 (13), 135 (11), 121 (18), 109 (12), 107 (11), 95 (12), 93 (12), 91 (9), 81 (29) $[C_6H_9]^+$, 69 (75) $[C_5H_9]^+$, 67 (12), 45 (100) $[C_2H_5O]^+$, 41 (20) $[C_3H_5]^+$.

EA ber. C 72.69 H 9.15
gef. C 72.50 H 9.28

$C_{32}H_{48}O_6$ (528.73).

*b) Daten der markierten Verbindung: 2-(E,E,E)-[1'-^{13}C]Geranylgeranyl-3,4-bis-(methoxymethoxy)benzoesäuremethylester (**69***)*



^{1}H-NMR (600 MHz, $CDCl_3$): δ = 1.57 (s, 3 H) / 1.58 (s, 3 H) / 1.59 (s, 3 H) (18'-H, 19'-H, 20'-H), 1.67 (s, 3 H, 16'-H), 1.75 (s, 3 H, 17'-H), 1.92-1.99 (m, 6 H) / 2.00-2.08 (m, 6 H) (4'-H, 5'-H, 8'-H, 9'-H, 12'-H, 13'-H), 3.49 (s, 3 H, $OCH_2OC\mathit{H}_3$), 3.60 (s, 3 H, $OCH_2OC\mathit{H}_3$), 3.81 (dd, $^1J_{CH}$ = 129 Hz, $^3J_{HH}$ = 6.3 Hz, 2 H, 1'-H), 3.83 (s, 3 H, CO_2OCH_3), 5.05-5.11 (m, 3 H, 6'-H, 10'-H, 14'-H), 5.08 (s, 2 H, $OC\mathit{H}_2OCH_3$), 5.11–5.16 (m, 1 H, 2'-H), 5.23 (s, 2 H, $OC\mathit{H}_2OCH_3$), 7.01 (d, ^3J = 8.7 Hz, 1 H, ArH), 7.60 (d, ^3J = 8.7 Hz, 1 H, ArH).

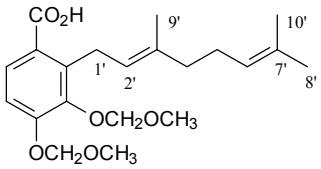
^{13}C-NMR (75 MHz, $CDCl_3$): δ = 16.04 (s, 2 CH_3, C-18', C-19'), 16.50 (d, $^4J_{CC}$ = 3.8 Hz, C-17'), 17.73 (C-20'), 25.74 (C-16'), 26.13 (^{13}C-1'), 26.71 / 26.80 / 26.83 (C-5', C-9', C-13'), 39.67-39.90 (m, 3 CH_2, C-4', C-8', C-12'), 51.92 ($CO_2\mathit{C}H_3$), 56.42 ($OCH_2O\mathit{C}H_3$), 57.70 ($OCH_2O\mathit{C}H_3$), 94.76 ($O\mathit{C}H_2OCH_3$), 99.25 ($O\mathit{C}H_2OCH_3$), 112.69 (aromat. CH), 123.34 (d, $^1J_{CC}$ = 42.9 Hz, C-2'), 124.28 / 124.35 / 124.48 (C-6', C-10', C-14'), 124.65 (C-1), 127.53 (aromat. CH), 131.27 (C-15'), 134.90 / 134.97 / 135.36 (C-3', C-7', C-11'), 138.59 (d, $^1J_{CC}$ = 42.9 Hz, C-2), 144.89 / 152.91 (C-3, C-4), 167.89 ($\mathit{C}O_2CH_3$).

EI-MS *m/z* (%) = 530 (1) $[M+1]^+$, 529 (2) $[M]^+$, 485 (2), 484 (7) $[M–C_2H_5O]^+$, 452 (2), 428 (2), 392 (3), 360 (5), 334 (5), 328 (4), 316 (6), 284 (7), 278 (8), 264 (15), 248 (35), 234 (20), 220 (26), 216 (27), 194 (17), 121 (23), 95 (16), 81 (34) $[C_6H_9]^+$, 69 (82) $[C_5H_9]^+$, 45 (100) $[C_2H_5O]^+$, 41 (17) $[C_3H_5]^+$.

$^{13}CC_{31}H_{48}O_6$ (529.72).

2-Geranyl-3,4-bis(methoxymethoxy)benzoesäure (**67**)

Nach AAV 9 werden 84.4 mg (0.215 mmol) 2-Geranyl-3,4-bis(methoxymethoxy)benzoesäuremethylester (**66**) verseift. Die Reaktionszeit beträgt ca. 2.5 h.



Ausbeute 77.7 mg (0.205 mmol, 95 %), farbloser Feststoff.

R_f 0.41 (Chloroform : Methanol = 8:1),
0.65 (Toluol : HCO_2H : HCO_2Et = 10:5:3).

^{1}H-NMR (300 MHz, $CDCl_3$): δ = 1.55 (s, 3 H, 10'-H), 1.63 (s, 3 H, 8'-H), 1.77 (s, 3 H, 9'-H), 1.91-2.10 (m, 4 H, 4'-H, 5'-H), 3.51 (s, 3 H, $OCH_2OC\mathit{H}_3$), 3.62 (s, 3 H, $OCH_2OC\mathit{H}_3$), 3.90 (d, ^3J = 6.3 Hz, 2 H, 1'-H), 5.01-5.10 (m, 1 H, 6'-H), 5.10 (s, 2 H, $OC\mathit{H}_2OCH_3$), 5.13-5.20 (m, 1 H, 2'-H), 5.26 (s, 2 H, $OC\mathit{H}_2OCH_3$), 7.05 (d, ^3J = 8.8 Hz, 1 H, ArH), 7.81 (d, ^3J = 8.8 Hz, 1 H, ArH).

^{13}C-NMR (75 MHz, $CDCl_3$): δ = 16.42 (C-9'), 17.70 (C-10'), 25.68 (C-8'), 26.17 (C-1'), 26.75 (C-5'), 39.78 (C-4'), 56.50 ($OCH_2O\mathit{C}H_3$), 57.74 ($OCH_2O\mathit{C}H_3$), 94.71 ($O\mathit{C}H_2OCH_3$), 99.25 ($O\mathit{C}H_2OCH_3$), 112.59 (aromat. CH), 123.01 (C-1), 123.30 (C-2'), 124.43 (C-6'), 128.87 (aromat. CH), 131.26 (C-7'), 135.35 (C-3'), 139.86 (C-2), 144.97 / 153.80 (C-3, C-4), 172.77 (CO_2H).

EI-MS *m/z* (%) = 378 (2) $[M]^+$, 333 (14) $[M–C_2H_5O]^+$, 247 (13), 219 (11), 215 (10), 205 (12), 135 (12), 123 (18), 122 (15), 81 (3) $[C_6H_9]^+$, 69 (20) $[C_5H_9]^+$, 45 (100) $[C_2H_5O]^+$, 41 (14) $[C_3H_5]^+$.

$C_{21}H_{30}O_6$ (378.47).

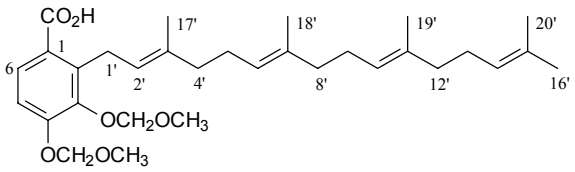
2-(*E*,*E*,*E*)-Geranylgeranyl-3,4-bis(methoxymethoxy)benzoesäure (**70**, **70***)

Nach AAV 9 werden 38.5 mg (72.7 µmol) 2-(*E*,*E*,*E*)-Geranylgeranyl-3,4-bis(methoxymethoxy)benzoesäuremethylester (**69** bzw. **69***) verseift. Die Reaktionszeit beträgt etwa 3 h.

Ausbeute 98 % (Ansatzgröße 0.1 mmol), farbloser, schmieriger Feststoff.

R_f 0.50 (Chloroform : Methanol = 10:1),
0.66 (Toluol : HCO_2H : HCO_2Et = 10:5:3).

*a) Daten der unmarkierten Verbindung: 2-(E,E,E)-Geranylgeranyl-3,4-bis(methoxymethoxy)benzoesäure (**70**)*



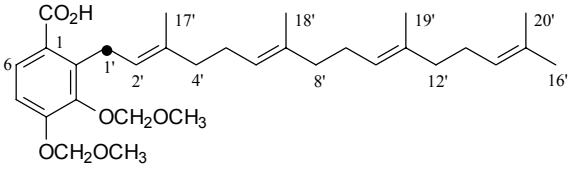
^{1}H-NMR (300 MHz, $CDCl_3$): δ = 1.55 (s, 3 H) / 1.57 (s, 3 H) / 1.59 (s, 3 H) (18'-H, 19'-H, 20'-H), 1.67 (s, 3 H, 16'-H), 1.77 (s, 3 H, 17'-H), 1.88-2.11 (m, 12 H, 4'-H, 5'-H, 8'-H, 9'-H, 12'-H, 13'-H), 3.51 (s, 3 H, $OCH_2OC\mathit{H}_3$), 3.61 (s, 3 H, $OCH_2OC\mathit{H}_3$), 3.89 (d, ^3J = 6.3 Hz, 2 H, 1'-H), 5.03-5.12 (m, 3 H, 6'-H, 10'-H, 14'-H), 5.09 (s, 2 H, $OC\mathit{H}_2OCH_3$), 5.14-5.21 (m, 1 H, 2'-H), 7.05 (d, ^3J = , 8.8 Hz, 1 H, ArH), 7.80 (d, ^3J = 8.8 Hz, 1 H, ArH).

^{13}C-NMR (75 MHz, $CDCl_3$): δ = 16.05 (s, 2 CH_3, C-18', C-19'), 16.50 (C-17'), 17.74 (C-20'), 25.75 (C-16'), 26.20 (C-1'), 26.74 / 26.82 / 26.85 (C-5', C-9', C-13'), 39.76 / 39.79 / 39.85 (C-4', C-8', C-12'), 56.50 ($OCH_2O\mathit{C}H_3$), 57.75 ($OCH_2O\mathit{C}H_3$), 94.72 ($O\mathit{C}H_2OCH_3$), 99.25 ($O\mathit{C}H_2OCH_3$), 112.59 (aromat. CH), 122.99 (C-1), 123.21 (C-2'), 124.32 / 124.40 / 124.50 (C-6', C-10', C-14'), 128.87 (aromat. CH), 131.28 (C-15'), 134.88 / 134.96 / 135.48 (C-3', C-7', C-11'), 139.84 (C-2), 144.97 / 153.78 (C-3, C-4), 172.53 (CO_2H).

EI-MS *m/z* (%) = 514 (2) $[M]^+$, 469 (8) $[M–C_2H_5O]^+$, 413 (2), 377 (2), 345 (4), 301 (6), 259 (14), 249 (18), 247 (34), 233 (17), 219 (22), 205 (21), 189 (13), 179 (12), 135 (15), 121 (20), 109 (15), 107 (14), 95 (15), 93 (14), 81 (32) $[C_6H_9]^+$, 69 (69) $[C_5H_9]^+$, 45 (100) $[C_2H_5O]^+$, 41 (21) $[C_3H_5]^+$.

$C_{31}H_{46}O_6$ (514.70).

*b) Daten der markierten Verbindung: 2-(E,E,E)-[1'-^{13}C]Geranylgeranyl-3,4-bis-(methoxymethoxy)benzoesäure (**70***)*

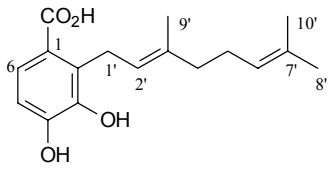


^{1}H-NMR (300 MHz, $CDCl_3$): δ = 1.55 (s, 3 H) / 1.57 (s, 3 H) / 1.59 (s, 3 H) (18'-H, 19'-H, 20'-H), 1.67 (s, 3 H, 16'-H), 1.78 (s, 3 H, 17'-H), 1.89-2.11 (m, 12 H, 4'-H, 5'-H, 8'-H, 9'-H, 12'-H, 13'-H), 3.50 (s, 3 H, $OCH_2OC\mathit{H}_3$), 3.61 (s, 3 H, $OCH_2OC\mathit{H}_3$), 3.90 (dd, $^1J_{CH}$ = 130 Hz, $^3J_{HH}$ = 6.3 Hz, 2 H, 1'-H), 5.03-5.13 (m, 3 H, 6'-H, 10'-H, 14'-H), 5.10 (s, 2 H, $OC\mathit{H}_2OCH_3$), 5.14-5.21 (m, 1 H, 2'-H), 5.26 (s, 2 H, $OC\mathit{H}_2OCH_3$), 7.05 (d, ^3J = 8.8 Hz, 1 H, ArH), 7.81 (d, ^3J = 8.8 Hz, 1 H, ArH).

^{13}C-NMR (75 MHz, $CDCl_3$): δ = 16.03 (s, 2 CH_3, C-18', C-19'), 16.48 (d, $^3J_{CC}$ = 2.9 Hz, C-17'), 17.72 (C-20'), 25.73 (C-16'), 26.19 (^{13}C-1'), 26.72 / 26.82 / 26.84 (C-5', C-9', C-13'), 39.63-39.95 (m, C-4', C-8', C-12'), 56.48 ($OCH_2O\mathit{C}H_3$), 57.73 ($OCH_2O\mathit{C}H_3$), 94.70 ($O\mathit{C}H_2OCH_3$), 99.23 ($O\mathit{C}H_2OCH_3$), 112.58 (aromat. CH), 123.03 (C-1), 123 20 (d, $^1J_{CC}$ = 42.6 Hz, C-2'), 124.31 / 124.39 / 124.49 (C-6', C-10', C-14'), 128.85 (aromat. CH), 131.25 (C-15'), 134.86 / 134.94 / 135.45 (C-3', C-7', C-11'), 139.81 (d, $^1J_{CC}$ = 42.6 Hz, C-2), 144.96 / 153.76 (C-3, C-4), 172.62 (CO_2H).

$^{13}CC_{30}H_{46}O_6$ (515.69).

2-Geranyl-3,4-dihydroxybenzoesäure (**68**)



Nach AAV 2 wird eine Lösung von 64.3 mg (0.170 mmol) 2-Geranyl-3,4-bis(methoxymethoxy)benzoesäure (**67**) in Isopropanol mit 5 Äquiv. Acetylchlorid entschützt. Die Reaktionszeit beträgt etwa 5 h. Das Rohprodukt wird durch Säulenchromatographie an Kieselgel mit dem Eluenten Chloroform : Methanol = 8:1 gereinigt.

Ausbeute 42.5 mg (0.146 mmol, 86 %), farbloser Feststoff.

R_f 0.29 (Chloroform : Methanol = 8:1),
0.45 (Toluol : HCO_2H : HCO_2Et = 10:5:3).

IR (KBr): $\tilde{\nu}$ = 3447 cm^{-1} (s), 2970 (m), 2923 (m), 1683 (s), 1586 (m), 1498 (w), 1448 (m), 1376 (m), 1344 (m), 1296 (s), 1238 (m), 1195 (m), 1147 (m), 1007 (w), 970 (w), 873 (w), 788 (w), 754 (w), 705 (w), 632 (w).

^{1}H-NMR (300 MHz, [D_6]Aceton, TMS): δ = 1.55 (s, 3 H, 10'-H), 1.61 (s, 3 H, 8'-H), 1.78 (s, 3 H, 9'-H), 1.90-2.10 (m, 4 H, 4'-H, 5'-H), 3.88 (d, ^3J = 6.8 Hz, 2 H, 1'-H), 5.02-5.12 (m, 1 H, 6'-H), 5.27 („tq“, ^3J = 7.0 Hz, ^4J = 1.2 Hz, 1 H, 2'-H), 6.77 (d, ^3J = 8.4 Hz, 1 H, ArH), 7.35 (s, br., 1 H, OH), 7.44 (d, ^3J = 8.4 Hz, 1 H, ArH), 9.09 (s, br., 1 H, OH).

^{13}C-NMR (75 MHz, [D_6]Aceton, TMS): δ = 16.47 (C-9'), 17.68 (C-10'), 25.79 (C-8'), 26.04 (C-1'), 27.46 (C-5'), 40.60 (C-4'), 112.50 (C-5$^{\#}$), 122.59 (C-1), 124.32 / 124.52 / 125.16 (C-6$^{\#}$, C-2', C-6'), 131.51 / 131.89 (C-2, C-7'), 134.87 (C-3'), 144.38 / 148.81 (C-3, C-4), 169.26 (CO_2H).

EI-MS *m/z* (%) = 290 (3) $[M]^+$, 246 (37), 205 (14), 203 (18), 177 (22), 163 (23), 161 (63), 159 (35), 131 (31), 123 (100), 109 (25), 91 (14), 81 (15) $[C_6H_9]^+$, 69 (88) $[C_5H_9]^+$, 44 (42), 43 (28), 41 (57) $[C_3H_5]^+$.

HR-EI-MS ber. 290.1518, gef. 290.1505.

$C_{17}H_{22}O_4$ (290.36).

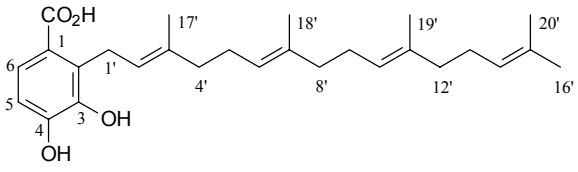
2-(*E*,*E*,*E*)-Geranylgeranyl-3,4-dihydroxybenzoesäure (**4**, **4***)

Die Entschützung von **70** bzw. **70*** erfolgt nach AAV 2 mit 5 Äquiv. Acetylchlorid in Isopropanol. Die Reaktionszeit beträgt etwa 5 h. Das Rohprodukt wird durch Säulenchromatographie über Kieselgel mit dem Laufmittel Chloroform : Methanol = 10:1 gereinigt.

Ausbeute 78 % (Ansatzgröße 0.1 mmol), geringfügig bräunlicher, schmieriger Feststoff.

R_f 0.33 (Chloroform : Methanol = 10:1),
0.51 (Toluol : HCO_2H : HCO_2Et = 10:5:3).

*a) Daten der unmarkierten Verbindung: 2-(E,E,E)-Geranylgeranyl-3,4-dihydroxybenzoesäure (**4**)*



IR (KBr): $\tilde{\nu}$ = 3446 cm^{-1} (s), 3292 (s, br.), 3140 (s, br.), 2966 (s), 2921 (s), 2854 (s), 1682 (s), 1621 (m), 1615 (m), 1584 (s), 1504 (m), 1494 (m), 1446 (m), 1378 (m), 1343 (s), 1296 (s), 1237 (s), 1195 (s), 1148 (m), 1009 (m), 971 (m), 874 (m), 830 (m), 788 (m), 754 (m), 706 (m), 632 (m), 536 (w), 450 (w).

^{1}H-NMR (300 MHz, $CDCl_3$): δ = 1.60 (s, 9 H, 18'-H, 19'-H, 20'-H), 1.67 (s, 3 H, 16'-H), 1.85 (s, 3 H, 17'-H), 1.90-2.19 (m, 12 H, 4'-H, 5'-H, 8'-H, 9'-H, 12'-H, 13'-H), 3.93 (d, ^3J = 6.8 Hz, 2 H, 1'-H), 5.02-5.14 (m, 3 H, 6'-H, 10'-H, 14'-H), 5.28 (t, br., $^3J \approx$ 6.2 Hz, 1 H, 2'-H), 6.83 (d, ^3J = 8.6 Hz, 1 H, ArH), 7.66 (d, ^3J = 8.6 Hz, 1 H, ArH).

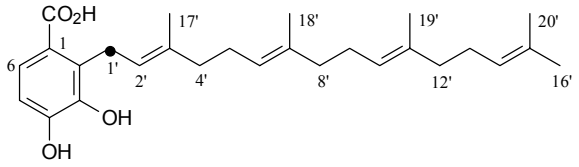
^{13}C-NMR (75 MHz, $CDCl_3$): δ = 16.08 / 16.17 (C-18', C-19'), 16.37 (C-17'), 17.76 (C-20'), 25.77 (C-16'), 26.38 (C-5'$^{\#}$), 26.60 (C-1'), 26.65 / 26.84 (C-9'$^{\#}$, C-13'$^{\#}$), 39.67-39.88 (m, 3 CH_2, C-4', C-8', C-12'), 112.56 (C-5$^{\#}$), 120.61 (C-1), 121.63 (C-2'), 123.56 / 124.21 / 124.49 (C-6', C-10', C-14'), 126.10 (C-6$^{\#}$), 130.51 (C-2), 131.37 (C-15'), 135.14 / 135.97 (C-7', C-11'), 139.50 (C-3'), 142.71 / 149.04 (C-3, C-4), 172.80 (CO_2H).

EI-MS *m/z* (%) = 427 (5) $[M+1]^+$, 426 (17) $[M]^+$, 411 (3) $[M–CH_3]^+$, 383 (7), 357 (17) $[M–C_5H_9]^+$, 289 (19) $[357–C_5H_8]^+$, 271 (19), 259 (39), 229 (23), 221 (49), 205 (100), 203 (57), 175 (43), 167 (44), 165 (46), 163 (45), 161 (30), 157 (32), 149 (33), 135 (36), 123 (34), 121 (37), 109 (36), 107 (33), 95 (32), 93 (28), 81 (62) $[C_6H_9]^+$, 69 (88) $[C_5H_9]^+$, 41 (19) $[C_3H_5]^+$.

HR-EI-MS ber. 426.2770, gef. 426.2756.

$C_{27}H_{38}O_4$ (426.60).

*b) Daten der markierten Verbindung: 2-(E,E,E)-[1'-^{13}C]Geranylgeranyl-3,4-dihydroxybenzoesäure (**4***)*



^{1}H-NMR (300 MHz, $CDCl_3$): δ = 1.59 (s, 9 H, 18'-H, 19'-H, 20'-H), 1.67 (s, 3 H, 16'-H), 1.85 (s, 3 H, 17'-H), 1.90-2.18 (m, 12 H, 4'-H, 5'-H, 8'-H, 9'-H, 12'-H, 13'-H), 3.92 (dd, $^1J_{CH}$ = 131 Hz, $^3J_{HH}$ = 6.7 Hz, 2 H, 1'-H), 5.01-5.14 (m, 3 H, 6'-H, 10'-H, 14'-H), 5.23-5.32 (m, 1 H, 2'-H), 6.82 (d, ^3J = 8.6 Hz, 1 H, ArH), 7.65 (d, ^3J = 8.6 Hz, 1 H, ArH).

^{13}C-NMR (75 MHz, $CDCl_3$): δ = 16.07 / 16.16 (C-18', C-19'), 16.35 (d, $^3J_{CC}$ = 3.2 Hz, C-17'), 17.75 (C-20'), 25.76 (C-16'), 26.56 (^{13}C-1'), 26.84 (C-9' oder C-13'), 39.66-39.85 (m, C-4', C-8', C-12'), 112.53 (C-5$^{\#}$), 120.72 (C-1), 121.67 (d, $^1J_{CC}$ = 41.4 Hz, C-2'), 123.60 / 124.22 / 124.48 (C-6', C-10', C-14'), 126.02 (C-6$^{\#}$),

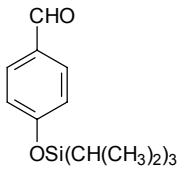
130.50 (d, $^1J_{CC}$ = 42.3 Hz, C-2), 131.34 (C-15'), 135.12 / 135.91 (C-7', C-11'), 139.31 (C-3'), 142.73 / 148.97 (C-3, C-4), 173.00 (CO_2H).[93]

EI-MS *m/z* (%) = 427 (0.3) $[M]^+$, 425 (0.3), 383 (2), 358 (1) $[M–C_5H_9]^+$, 340 (1), 314 (2), 301 (1), 300 (1), 290 (2) $[358–C_5H_8]^+$, 272 (3), 259 (6), 206 (30), 162 (51), 124 (39), 121 (20), 109 (19), 107 (17), 95 (20), 93 (20), 81 (51) $[C_6H_9]^+$, 69 (100) $[C_5H_9]^+$.

$^{13}CC_{26}H_{38}O_4$ (427.59).

17.8 4-Hydroxy-2-polyprenylbenzoesäuren (3, 3*, 76)

4-(Triisopropylsilyloxy)benzaldehyd (**72**)



Nach der Standardmethode von Lit.[268] werden 1.22 g (10.0 mmol) 4-Hydroxybenzaldehyd (**71**) in 20 ml abs. Methylenchlorid gelöst und mit 2.12 g (11.0 mmol, 1.1 Äquiv.) Triisopropylsilylchlorid, 1.67 ml (12.0 mmol, 1.2 Äquiv.) Triethylamin sowie 0.12 g (1.0 mmol, 0.1 Äquiv.) 4-Dimethylaminopyridin (DMAP) versetzt. Nach 12 h Rühren wird Wasser zugesetzt und mehrmals mit Diethylether extrahiert. Nach dem Waschen mit ges. NaCl-Lösung und Trocknen über Na_2SO_4 entfernt man das Lösungsmittel i. Vak. und reinigt durch Säulenchromatographie an Kieselgel mit dem Eluenten Isohexan : Essigsäureethylester = 15:1.

Ausbeute 2.68 g (9.64 mmol, 96 %), farblose Flüssigkeit.

R_f 0.35 (Isohexan : Essigsäureethylester = 15:1).

^{1}H-NMR (300 MHz, $CDCl_3$): δ = 1.04-1.14 (m, 18 H, 6 CH_3), 1.20-1.35 (m, 3 H, 3 Si-CH), 6.97 („d“, ^3J = 8.5 Hz, 2 H, 3-H, 5-H), 7.78 („d“, ^3J = 8.5 Hz, 2 H, 2-H, 6-H), 9.87 (s, 1 H, CHO).

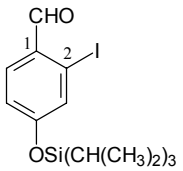
^{13}C-NMR (75 MHz, $CDCl_3$): δ = 12.75 (s, 3 Si-CH), 17.89 (s, 6 CH_3), 120.38 (C-3, C-5), 130.26 (C-1), 131.99 (C-2, C-6), 161.98 (C-4), 190.86 (CHO).

EI-MS *m/z* (%) = 279 (5) $[M+1]^+$, 278 (20) $[M]^+$, 236 (17), 235 (100) $[M–CH(CH_3)_2]^+$, 207 (36), 179 (53), 165 (18), 151 (14), 149 (16), 137 (15), 105 (7), 77 (9), 43 (9), 41 (8).

$C_{16}H_{26}O_2Si$ (278.47).

[93] Die Signale δ 26.38 und 26.65 (vgl. ^{13}C-NMR-Spektrum der nichtmarkierten Verbindung) sind durch das intensive Signal δ 26.56 (^{13}C-1') überlagert.

2-Iod-4-(triisopropylsilyloxy)benzaldehyd (**73**)

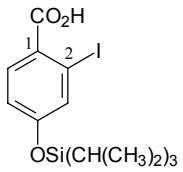


In einem Schlenkkolben mit Rührfisch und Septum werden 0.56 ml (4.40 mmol, 1.1 Äquiv.) *N*,*N*,*N*'-Trimethylethylendiamin in 10 ml abs. Tetrahydrofuran gelöst. Nachdem man bei 0°C 4.20 mmol (1.05 Äquiv.) einer Lösung von *n*-Butyllithium in Hexan zugetropft hat, rührt man 15 min, kühlt anschließend auf –20°C und setzt langsam eine Lösung von 1.11 g (4.00 mmol) 4-(Triisopropylsilyloxy)benzaldehyd (**72**) zu. Nach weiteren 30 min Rühren werden langsam 12.0 mmol (3 Äquiv.) *n*-Butyllithiumlösung zugegeben, worauf man 15 h bei –20°C rührt. Bei –40°C wird anschließend eine Lösung von 5.1 g (18 mmol, 4.5 Äquiv.) Diiodethan in 5 ml Tetrahydrofuran in einer Portion zugesetzt (Gasentwicklung!). Nach 5 min entfernt man das Kältebad, läßt auf RT kommen und quencht mit ges. wäßr. Ammoniumchloridlösung. Man versetzt mit Wasser und Natriumthiosulfat und extrahiert mehrmals mit Diethylether. Nach Waschen der vereinigten organischen Phasen mit ges. NaCl-Lösung wird über Na_2SO_4 getrocknet, das Lösungsmittel i. Vak. entfernt und der Rückstand mittels Säulenchromatographie über Kieselgel mit dem Laufmittel Isohexan : Essigsäureethylester = 25:1 gereinigt.

Ausbeute	1.294 g (3.20 mmol, 80 %), gelbes Öl.
R_f	0.36 (Isohexan : Essigsäureethylester = 25:1).
IR	(KBr): $\tilde{\nu}$ = 2946 cm^{-1} (s), 2868 (s), 1691 (s), 1581 (s), 1545 (m), 1480 (s), 1385 (m), 1299 (s), 1274 (s), 1239 (s), 1202 (m), 1156 (w), 1119 (w), 1071 (w), 1021 (m), 997 (m), 925 (s), 883 (s), 832 (m), 718 (s), 689 (m), 659 (m), 602 (w), 577 (w).
^{1}H-NMR	(300 MHz, $CDCl_3$): δ = 1.07-1.13 (m, 18 H, 6 CH_3), 1.21-1.36 (m, 3 H, 3 Si-CH), 6.93 (ddd, ^3J = 8.6 Hz, ^4J = 2.3 Hz, ^5J = 0.8 Hz, 1 H, 5-H), 7.44 (d, ^4J = 2.3 Hz, 1 H, 3-H), 7.79 (d, ^3J = 8.6 Hz, 1 H, 6-H), 9.92 (d, ^5J = 0.8 Hz, 1 H, CHO).
^{13}C-NMR	(75 MHz, $CDCl_3$): δ = 12.73 (s, 3 Si-CH), 17.88 (s, 6 CH_3), 102.07 (C-2), 120.13 (aromat. CH), 128.89 (C-1), 131.54 (aromat. CH), 131.65 (aromat. CH), 161.82 (C-4), 194.46 (CHO).
EI-MS	*m/z* (%) = 405 (3) $[M+1]^+$, 404 (12) $[M]^+$, 362 (17), 361 (100) $[M–CH(CH_3)_2]^+$, 334 (5), 333 (28), 306 (7), 305 (54), 291 (18), 275 (8), 206 (3), 178 (4), 164 (4), 163 (4), 152 (5), 150 (3), 149 (3), 136 (3), 135 (4).
HR-EI-MS	ber. 404.0669, gef. 404.0662.

$C_{16}H_{25}IO_2Si$ (404.34).

2-Iod-4-(triisopropylsilyloxy)benzoesäure (**74**)

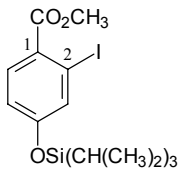


In Anlehnung an Lit.[272,273] werden 0.765 g (1.89 mmol) 2-Iod-4-(triisopropylsilyloxy)benzaldehyd (**73**), 38 ml *tert*-Butanol und 19 ml 2-Methyl-2-buten vereinigt. Man setzt 2.07 g (13.3 mmol, 7 Äquiv.) Natriumdihydrogenphosphat-Dihydrat gelöst in 4.8 ml Wasser zu. Unter kräftigem Rühren wird eine Lösung von 2.14 g Natriumchlorit (Gehalt 80 %, entspr. 1.71 g (18.9 mmol, 10 Äquiv.) $NaClO_2$) in 4.75 ml Wasser zugetropft. Nach 0.5 h Rühren wird mit Wasser versetzt und mehrmals mit Essigsäureethylester extrahiert. Man wäscht die vereinigten organischen Phasen 1 × mit Wasser, entfernt das Lösungsmittel, trocknet i. Vak., löst den Rückstand in Chloroform, filtriert und trocknet i. Vak.

Ausbeute	0.770 g (1.83 mmol, 97 %), farbloser Feststoff.
R_f	0.74 (Toluol : HCO_2H : HCO_2Et = 10:5:3).
^{1}H-NMR	(300 MHz, $CDCl_3$): δ = 1.08-1.14 (m, 18 H, 6 CH_3), 1.21-1.35 (m, 3 H, 3 Si-CH), 6.90 (dd, ^3J = 8.6 Hz, ^4J = 2.5 Hz, 1 H, 5-H), 7.59 (d, ^4J = 2.5 Hz, 1 H, 3-H), 7.98 (d, ^3J = 8.6 Hz, 1 H, 6-H).
^{13}C-NMR	(75 MHz, $CDCl_3$): δ = 12.72 (s, 3 Si-CH), 17.91 (s, 6 CH_3), 96.18 (C-2), 119.15 (aromat. CH), 124.88 (aromat. C), 133.70 (aromat. CH), 133.79 (aromat. CH), 160.04 (aromat. C), 170.80 (CO_2H).
EI-MS	*m/z* (%) = 420 (4) [M^+], 378 (6), 377 (29) [$M–CH(CH_3)_2]^+$, 349 (9), 321 (17), 307 (6), 294 (7), 252 (18), 251 (100), 224 (7), 223 (42), 209 (8), 207 (6), 196 (13), 195 (92), 181 (43), 165 (21), 151 (9), 137 (13), 135 (8), 128 (11), 121 (14), 89 (9), 75 (13).
HR-EI-MS	ber. 420.0618, gef. 420.0599.

$C_{16}H_{25}IO_3Si$ (420.36).

2-Iod-4-(triisopropylsilyloxy)benzoesäuremethylester (**47**)



Nach dem Verfahren von Lit.[274] werden 0.763 g (1.82 mmol) 2-Iod-4-(triisopropylsilyloxy)benzoesäure (**74**) in 3.5 ml Dimethylformamid gelöst, mit 0.34 ml (2.27 mmol, 1.25 Äquiv.) 1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undec-7-en (DBU) und 0.17 ml (2.72 mmol, 1.5 Äquiv.) Methyliodid versetzt und 3 h

gerührt. Zur Aufarbeitung extrahiert man nach Zusatz von Wasser mehrmals mit Diethylether, wäscht mit ges. NaCl-Lösung, trocknet über Na_2SO_4, entfernt das Lösungsmittel i. Vak. und chromatographiert über Kieselgel mit dem Eluenten Chloroform : Isohexan = 1:1.

Ausbeute 0.682 g (1.57 mmol, 86 %), farblose Flüssigkeit.

R_f 0.27 (Chloroform : Isohexan = 1:1),
0.86 (Toluol : HCO_2H : HCO_2Et = 10:5:3).

IR (KBr): $\tilde{\nu}$ = 2947 cm^{-1} (s), 2868 (s), 1732 (s), 1587 (s), 1548 (m), 1485 (s), 1464 (m), 1434 (m), 1384 (w), 1284 (s), 1251 (s), 1190 (w), 1112 (s), 1072 (w), 1028 (m), 1016 (w), 997 (w), 968 (w), 927 (s), 883 (m), 825 (w), 772 (m), 742 (m), 688 (m), 662 (m), 581 (w).

^{1}H-NMR (300 MHz, $CDCl_3$): δ = 1.06-1.13 (m, 18 H, 6 CH_3), 1.19-1.34 (m, 3 H, 3 Si-CH), 3.88 (s, 3 H, OCH_3), 6.86 (dd, ^3J = 8.6 Hz, ^4J = 2.4 Hz, 1 H, 5-H), 7.53 (d, ^4J = 2.4 Hz, 1 H, 3-H), 7.79 (d, ^3J = 8.6 Hz, 1 H, 6-H).

^{13}C-NMR (75 MHz, $CDCl_3$): δ = 12.70 (s, 3 Si-CH), 17.90 (s, 6 CH_3), 52.22 (CO_2CH_3), 95.43 (C-2), 119.08 (aromat. CH), 126.57 (C-1), 132.52 (aromat. CH), 133.16 (aromat. CH), 159.24 (C-4), 166.18 (CO_2CH_3).

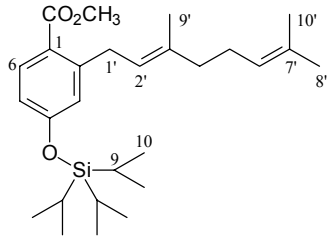
EI-MS *m/z* (%) = 435 (5) $[M+1]^+$, 434 (24) $[M]^+$, 403 (5), 392 (22), 391 (100) $[M–CH(CH_3)_2]^+$, 364 (6), 363 (33), 336 (7), 335 (52), 321 (17), 305 (5), 264 (5), 222 (3), 221 (3), 167 (5), 152 (5).

EA ber. C 47.01 H 6.27 I 29.21
gef. C 47.13 H 6.36 I 29.18

$C_{17}H_{27}IO_3Si$ (434.39).

2-Geranyl-4-(triisopropylsilyloxy)benzoesäuremethylester (**75**)

Nach AAV 8 werden 43.3 mg (0.200 mmol) Geranylbromid (**11**) mit **47** umgesetzt. Das Rohprodukt wird durch Säulenchromatographie an Kieselgel mit dem Eluenten Chloroform : Isohexan = 1:1 gereinigt.



Ausbeute 72.3 mg (0.163 mmol, 81 %[82]), farblose Flüssigkeit.

R_f 0.33 (Chloroform : Isohexan = 1:1).

IR (KBr): $\tilde{\nu}$ = 2946 cm^{-1} (s), 2868 (s), 1722 (s), 1601 (s), 1566 (m), 1495 (m), 1463 (m), 1434 (m), 1384 (w), 1298 (m), 1271 (m), 1249 (s), 1189 (m), 1165

(w), 1125 (s), 1081 (m), 990 (m), 970 (w), 921 (w), 883 (s), 838 (m), 800 (m), 779 (m), 688 (s).

^{1}H-NMR (600 MHz, $CDCl_3$): δ = 1.09-1.13 (m, 18 H, 10-H), 1.21-1.32 (m, 3 H, 9-H), 1.61 (s, 3 H, 10'-H), 1.69 (s, 3 H, 8'-H), 1.71 (s, 3 H, 9'-H), 2.06 (m, 2 H, 4'-H), 2.11 (m, 2 H, 5'-H), 3.72 (d, ^3J = 7.3 Hz, 2 H, 1'-H), 3.86 (s, 3 H, CO_2CH_3), 5.06-5.15 (m, 1 H, 6'-H), 5.32 (t, br., $^3J \approx$ 7.3 Hz, 1 H, 2'-H), 6.73 (dd, ^3J = 8.6 Hz, ^4J = 2.4 Hz, 1 H, 5-H), 6.81 (d, ^4J = 2.4 Hz, 1 H, 3-H), 7.84 (d, ^3J = 8.6 Hz, 1 H, 6-H).

^{13}C-NMR (75 MHz, $CDCl_3$): δ = 12.78 (s, C-9), 16.32 (C-9'), 17.73 (C-10'), 17.95 (s, C-10), 25.75 (C-8'), 26.86 (C-5'), 32.56 (C-1'), 39.85 (C-4'), 51.66 (CO_2CH_3), 117.15 (C-5), 121.37 (C-3), 122.00 (C-1), 122.58 (C-2'), 124.36 (C-6'), 131.47 (C-7'), 132.88 (C-6), 136.77 (C-3'), 146.12 (C-2), 159.51 (C-4), 167.83 (CO_2CH_3).[90]

EI-MS *m/z* (%) = 445 (16) $[M+1]^+$, 444 (46) $[M]^+$, 413 (15), 412 (23), 402 (28), 401 (92) $[M–CH(CH_3)_2]^+$, 385 (29), 376 (17), 375 (60) $[M–C_5H_9]^+$, 373 (12), 371 (10), 370 (35), 369 (100), 345 (13), 343 (23), 341 (29), 334 (15), 333 (46), 331 (13), 330 (14), 327 (13), 322 (18), 320 (18), 319 (25), 317 (12), 315 (12), 313 (15), 305 (11), 301 (12), 299 (11), 287 (15), 279 (18), 277 (11), 273 (11), 123 (20), 122 (12), 69 (16) $[C_5H_9]^+$, 59 (8), 41 (7) $[C_3H_5]^+$.

HR-EI-MS ber. 444.3060, gef. 444.3047.

EA

ber.	C 72.92	H 9.97
gef.	C 73.14	H 10.47

$C_{27}H_{44}O_3Si$ (444.73).

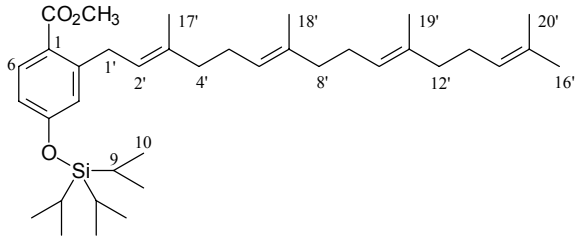
2-(*E*,*E*,*E*)-Geranylgeranyl-4-(triisopropylsilyloxy)benzoesäuremethylester (**77**, **77***)

(*E*,*E*,*E*)-Geranylgeranylbromid (**25** bzw. **25***) wird nach AAV 8 mit **47** umgesetzt. Das Rohprodukt wird mittels Säulenchromatographie an Kieselgel mit dem Eluenten Isohexan : Chloroform = 1:1 gereinigt.

Ausbeute 81 % (Ansatzgröße 0.4 mmol), farblose Flüssigkeit.

R_f 0.36 (Isohexan : Chloroform = 1:1).

*a) Daten der unmarkierten Verbindung: 2-(E,E,E)-Geranylgeranyl-4-(triisopropyl-silyloxy)benzoesäuremethylester (**77**)*



IR (KBr): $\tilde{\nu}$ = 2946 cm^{-1} (s), 2926 (s), 2868 (s), 1722 (ss), 1601 (s), 1566 (m), 1494 (m), 1463 (m), 1434 (s), 1384 (m), 1298 (s), 1249 (s), 1271 (ss), 1189 (m), 1124 (s), 1080 (m), 990 (s), 883 (s), 838 (s), 800 (m), 779 (m), 701 (m, sh), 688 (s), 664 (m), 650 (m, sh), 598 (w, br.), 451 (w).

^{1}H-NMR (300 MHz, $CDCl_3$): δ = 1.06-1.13 (m, 18 H, 10-H), 1.18-1.31 (m, 3 H, 9-H), 1.60 (s, 9 H, 18'-H, 19'-H, 20'-H), 1.68 (s, 3 H, 16'-H), 1.70 (s, 3 H, 17'-H), 1.93-2.17 (m, 12 H, 4'-H, 5'-H, 8'-H, 9'-H, 12'-H, 13'-H), 3.70 (d, ^3J = 7.2 Hz, 2 H, 1'-H), 3.85 (s, 3 H, CO_2CH_3), 5.06-5.17 (m, 3 H, 6'-H, 10'-H, 14'-H), 5.31 („tq“, ^3J = 7.3 Hz, ^4J = 1.2 Hz, 1 H, 2'-H), 6.71 (dd, ^3J = 8.5 Hz, ^4J = 2.5 Hz, 1 H, 5-H), 6.80 (d, ^4J = 2.5 Hz, 1 H, 3-H), 7.82 (d, ^3J = 8.5 Hz, 1 H, 6-H).

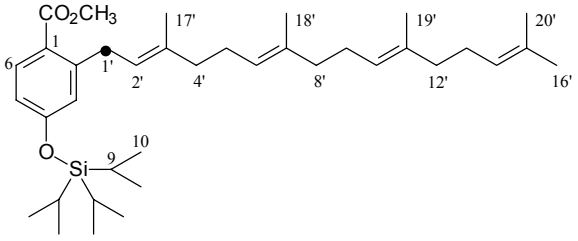
^{13}C-NMR (75 MHz, $CDCl_3$): δ = 12.78 (s, C-9), 16.07 (s, 2 CH_3, C-18', C-19'), 16.36 (C-17'), 17.75 (C-20'), 17.95 (s, C-10), 25.76 (C-16'), 26.73 (1 CH_2) / 26.87 (2 CH_2) (C-5', C-9', C-13'), 32.56 (C-1'), 39.79 / 39.81 / 39.89 (C-4', C-8', C-12'), 51.66 ($CO_2\mathit{C}H_3$), 117.16 (C-5), 121.36 (C-3), 121.99 (C-1), 122.53 (C-2'), 124.26 / 124.34 / 124.51 (C-6', C-10', C-14'), 131.29 (C-15'), 132.89 (C-6), 134.96 / 135.14 / 136.87 (C-3', C-7', C-11'), 146.11 (C-2), 159.51 (C-4), 167.82 ($\mathit{C}O_2CH_3$).

EI-MS *m/z* (%) = 581 (3.5) $[M+1]^+$, 580 (8) $[M]^+$, 537 (3) $[M–CH(CH_3)_2]^+$, 511 (5) $[M–C_5H_9]^+$, 479 (4), 443 (5), 411 (17), 376 (12), 375 (35), 369 (14), 343 (12), 333 (25), 315 (24), 273 (10), 259 (13), 135 (14), 121 (11), 109 (15), 95 (12), 81 (26) $[C_6H_9]^+$, 69 (100) $[C_5H_9]^+$, 41 (18) $[C_3H_5]^+$.

HR-EI-MS ber. 580.4312, gef. 580.4286.

$C_{37}H_{60}O_3Si$ (580.97).

*b) Daten der markierten Verbindung: 2-(E,E,E)-[1'-^{13}C]Geranylgeranyl-4-(tri-isopropylsilyloxy)benzoesäuremethyl-ester (**77***)*



^{1}H-NMR (300 MHz, $CDCl_3$): δ = 1.07-1.13 (m, 18 H, 10-H), 1.19-1.32 (m, 3 H, 9-H), 1.60 (s, 9 H, 18'-H, 19'-H, 20'-H), 1.68 (s, 3 H, 16'-H), 1.70 (s, 3 H, 17'-H),

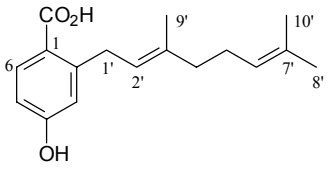
1.93-2.17 (m, 12 H, 4'-H, 5'-H, 8'-H, 9'-H, 12'-H, 13'-H), 3.70 (dd, $^{1}J_{CH}$ = 129 Hz, $^{3}J_{HH}$ = 7.2 Hz, 2 H, 1'-H), 3.85 (s, 3 H, CO_2CH_3), 5.06-5.17 (m, 3 H, 6'-H, 10'-H, 14'-H), 5.26-5.36 (m, 1 H, 2'-H), 6.71 (dd, $^{3}J_{HH}$ = 8.6 Hz, $^{4}J_{HH}$ = 2.5 Hz, 1 H, 5-H), 6.80 (dd, $^{3}J_{CH}$ = 4.7 Hz, $^{4}J_{HH}$ = 2.5 Hz, 1 H, 3-H), 7.83 (dd, $^{3}J_{HH}$ = 8.6 Hz, $^{4}J_{CH}$ = 0.7 Hz, 1 H, 6-H).

^{13}C-NMR (75 MHz, $CDCl_3$): δ = 12.78 (s, C-9), 16.07 (s, 2 CH_3, C-18', C-19'), 16.36 (d, $^{3}J_{CC}$ = 3.5 Hz, C-17'), 17.75 (C-20'), 17.95 (s, C-10), 25.76 (C-16'), 26.73 (1 CH_2) / 26.86 (2 CH_2) (C-5', C-9', C-13'), 32.56 (^{13}C-1'), 39.73-39.97 (m, C-4', C-8', C-12'), 51.65 ($CO_2\mathit{C}H_3$), 117.16 (C-5), 121.36 (C-3), 121.99 (C-1), 122.52 (d, $^{1}J_{CC}$ = 43.5 Hz, C-2'), 124.26 / 124.34 / 124.50 (C-6', C-10', C-14'), 131.28 (C-15'), 132.88 (C-6), 134.95 / 135.13 / 136.86 (C-3', C-7', C-11'), 146.10 (d, $^{1}J_{CC}$ = 41.7 Hz, C-2), 159.51 (d, $^{3}J_{CC}$ = 3.8 Hz, C-4), 167.82 ($\mathit{C}O_2CH_3$).

EI-MS *m/z* (%) = 582 (10) $[M+1]^+$, 581 (20) $[M]^+$, 538 (6), 512 (11) $[M–C_5H_9]^+$, 480 (11), 444 (21), 412 (45), 376 (67), 370 (37), 334 (56), 316 (52), 280 (19), 274 (19), 259 (27), 135 (27), 121 (23), 109 (29), 81 (38) $[C_6H_9]^+$, 69 (100) $[C_5H_9]^+$, 41 (31) $[C_3H_5]^+$.

$^{13}CC_{36}H_{60}O_3Si$ (581.96).

2-Geranyl-4-hydroxybenzoesäure (**76**)



Nach AAV 9 werden 50.5 mg (0.114 mmol) 2-Geranyl-4-(triisopropylsilyloxy)benzoesäuremethylester (**75**) entschützt. Die Reaktionszeit beträgt etwa 24 h. Die Reinigung erfolgt durch Säulenchromatographie an Kieselgel mit dem Laufmittel Chloroform : Methanol = 10:1. Die Fraktionsgröße ist relativ klein und die Länge der Säule relativ groß zu bemessen, um eine vollständige Abtrennung des Silylderivates zu gewährleisten.

Ausbeute 26.1 mg (0.095 mmol, 84 %), farblose, zähflüssige Masse.

R_f 0.20 (Chloroform : Methanol = 10:1),
0.63 (Toluol : HCO_2H : HCO_2Et = 10:5:3).[94]

IR (KBr): $\tilde{\nu}$ = 3237 cm^{-1} (s, br.), 2969 (s), 2918 (s), 2856 (s), 2658 (m), 2548 (m), 1682 (s), 1603 (s), 1575 (s), 1498 (w), 1446 (m), 1407 (m), 1382 (m),

[94] Der R_f-Wert der als Zwischenprodukt auftretenden freien Säure mit noch silylgeschützter Hydroxyfunktion beträgt 0.53 (Chloroform : Methanol = 10:1) bzw. 0.68 (Toluol : HCO_2H : HCO_2Et = 10:5:3).

1301 (s), 1236 (s), 1140 (m), 1076 (w), 968 (w), 931 (w), 871 (m), 831 (m), 784 (m), 704 (w), 613 (m).

^{1}H-NMR (300 MHz, $CDCl_3$): δ = 1.59 (s, 3 H, 10'-H), 1.68 (s, 3 H, 8'-H), 1.70 (s, 3 H, 9'-H), 2.02-2.17 (m, 4 H, 4'-H, 5'-H), 3.78 (d, ^3J = 7.2 Hz, 2 H, 1'-H), 5.06-5.15 (m, 1 H, 6'-H), 5.32 (t, br., $^3J \approx 7$ Hz, 1 H, 2'-H), 6.71 (dd, ^3J = 8.5 Hz, ^4J = 2.6 Hz, 1 H, 5-H), 6.77 (d, ^4J = 2.6 Hz, 1 H, 3-H), 8.01 (d, ^3J = 8.5 Hz, 1 H, 6-H).

^{13}C-NMR (75 MHz, $CDCl_3$): δ = 16.29 (C-9'), 17.78 (C-10'), 25.76 (C-8'), 26.72 (C-5'), 32.83 (C-1'), 39.83 (C-4'), 112.83 / 117.11 (C-3, C-5), 120.64 (C-1), 122.30 (C-2'), 124.34 (C-6'), 131.57 (C-7'), 134.56 (C-6), 137.05 (C-3'), 148.04 (C-2), 159.56 (C-4), 172.65 (CO_2H).

EI-MS *m/z* (%) = 275 (2) $[M+1]^+$, 274 (10) $[M]^+$, 259 (5), 231 (34), 213 (8), 205 (22) $[M–C_5H_9]^+$, 187 (39), 161 (75), 159 (61), 149 (49), 147 (24), 145 (33), 144 (22), 123 (100), 107 (29), 91 (19), 81 (8) $[C_6H_9]^+$, 77 (16), 69 (98) $[C_5H_9]^+$, 41 (83) $[C_3H_5]^+$.

HR-EI-MS ber. 274.1569, gef. 274.1572.

$C_{17}H_{22}O_3$ (274.36).

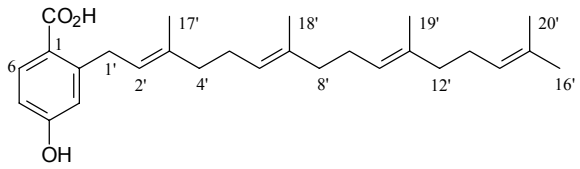
2-(*E*,*E*,*E*)-Geranylgeranyl-4-hydroxybenzoesäure (**3**, **3***)

77 bzw. **77*** wird nach AAV 9 entschützt. Die Reaktionszeit beträgt etwa 40 h. Das Rohprodukt wird durch Säulenchromatographie über Kieselgel mit dem Eluenten Chloroform : Methanol = 10:1 gereinigt. Die Länge der Säule ist dabei wie im Falle der analogen Geranylverbindung großzügig zu bemessen.

Ausbeute 93 % (Ansatzgröße 0.2 mmol), farblose, zähflüssige Masse.

R_f 0.38 (Chloroform : Methanol= 10:1),
0.67 (Toluol : HCO_2H : HCO_2Et = 10:5:3).[95]

*a) Daten der unmarkierten Verbindung: 2-(E,E,E)-Geranylgeranyl-4-hydroxybenzoesäure (**3**)*



[95] Der R_f-Wert der als Zwischenprodukt auftretenden freien Säure mit noch silylgeschützter Hydroxyfunktion beträgt 0.80 (Chloroform : Methanol = 10:1) bzw. 0.73 (Toluol : HCO_2H : HCO_2Et = 10:5:3).

IR (KBr): $\tilde{\nu}$ = 3187 cm^{-1} (s, br.), 2967 (s), 2919 (s), 2854 (s), 2655 (m), 2548 (m), 1684 (s), 1603 (s), 1576 (s), 1498 (w), 1445 (m), 1407 (m), 1383 (m), 1300 (m), 1236 (s), 1141 (m), 1078 (w), 968 (w), 931 (w), 863 (m), 833 (m), 784 (m), 703 (w), 613 (m).

^{1}H-NMR (300 MHz, $CDCl_3$): δ = 1.60 (s, 9 H, 18'-H, 19'-H, 20'-H), 1.68 (s, 3 H, 16'-H), 1.71 (s, 3 H, 17'-H), 1.92-2.18 (m, 12 H, 4'-H, 5'-H, 8'-H, 9'-H, 12'-H, 13'-H), 3.78 (d, ^3J = 7.2 Hz, 2 H, 1'-H), 5.06-5.17 (m, 3 H, 6'-H, 10'-H, 14'-H), 5.32 („tq“, ^3J = 7.2 Hz, ^4J = 1.2 Hz, 1 H, 2'-H), 6.70 (dd, ^3J = 8.5 Hz, ^4J = 2.5 Hz, 1 H, 5-H), 6.76 (d, ^4J = 2.5 Hz, 1 H, 3-H), 8.02 (d, ^3J = 8.5 Hz, 1 H, 6-H).

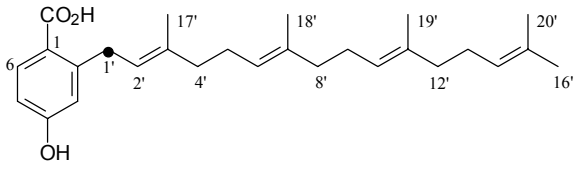
^{13}C-NMR (75 MHz, $CDCl_3$): δ = 16.07 / 16.11 (C-18', C-19'), 16.32 (C-17'), 17.75 (C-20'), 25.76 (C-16'), 26.69 (2 CH_2) / 26.83 (1 CH_2) (C-5', C-9', C-13'), 32.80 (C-1'), 39.76 / 39.78 / 39.87 (C-4', C-8', C-12'), 112.84 / 117.08 (C-3, C-5), 120.60 (C-1), 122.27 (C-2'), 124.21 / 124.35 / 124.51 (C-6', C-10', C-14'), 131.39 (C-15'), 134.56 (C-6), 135.08 / 135.19 / 137.09 (C-3', C-7', C-11'), 148.02 (C-2), 159.61 (C-4), 172.75 (CO_2H).

EI-MS *m/z* (%) = 410 (1) $[M]^+$, 366 (1), 341 (2) $[M–C_5H_9]^+$, 297 (3), 259 (4), 213 (5), 205 (7), 189 (4), 187 (7), 161 (21), 159 (17), 145 (11), 135 (10), 121 (13), 109 (10), 107 (26), 95 (13), 93 (13), 81 (39) $[C_6H_9]^+$, 69 (100) $[C_5H_9]^+$, 41 (32) $[C_3H_5]^+$.

HR-EI-MS ber. 410.2821, gef. 410.2831.

$C_{27}H_{38}O_3$ (410.60).

*b) Daten der markierten Verbindung: 2-(E,E,E)-[1-^{13}C]Geranylgeranyl-4-hydroxybenzoesäure (**3***)*



^{1}H-NMR (300 MHz, $CDCl_3$): δ = 1.60 (s, 9 H, 18'-H, 19'-H, 20'-H), 1.68 (s, 3 H, 16'-H), 1.71 (s, 3 H, 17'-H), 1.92-2.18 (m, 12 H, 4'-H, 5'-H, 8'-H, 9'-H, 12'-H, 13'-H), 3.78 (dd, $^1J_{CH}$ = 129 Hz, $^3J_{HH}$ = 7.1 Hz, 2 H, 1'-H), 5.06-5.18 (m, 3 H, 6'-H, 10'-H, 14'-H), 5.29-5.38 (m, 1 H, 2'-H), 6.71 (dd, $^3J_{HH}$ = 8.5 Hz, $^4J_{HH}$ = 2.5 Hz, 1 H, 5-H), 6.78 (dd, $^3J_{CH}$ = 4.4 Hz, $^4J_{HH}$ = 2.5 Hz, 1 H, 3-H), 8.01 (d, ^3J = 8.5 Hz, 1 H, 6-H).

^{13}C-NMR (75 MHz, $CDCl_3$): δ = 16.07 / 16.10 (C-18', C-19'), 16.31 (d, $^3J_{CC}$ = 3.2 Hz, C-17'), 17.74 (C-20'), 25.75 (C-16'), 26.70 (2 CH_2) / 26.82 (1 CH_2) (C-5', C-9', C-13'), 32.82 (^{13}C-1'), 39.75 / 39.78 (C-8', C-12'), 39.87 (d, $^3J_{CC}$ = 4.1 Hz, C-4'), 112.84 / 117.11 (C-3, C-5), 120.53 (C-1), 122.30 (d, $^1J_{CC}$ = 43.5 Hz, C-2'), 124.22 / 124.35 / 124.51 (C-6', C-10', C-14'), 131.38 (C-15'), 134.54

(C-6), 135.06 / 135.18 (C-7', C-11'), 137.03 (C-3'), 147.97 (d, $^{1}J_{CC}$ = 41.4 Hz, C-2), 159.70 (d, $^{3}J_{CC}$ = 3.5 Hz, C-4), 172.71 (CO_2H).

EI-MS *m/z* (%) = 411 (11) $[M]^+$, 298 (5), 259 (3), 256 (3), 214 (6), 189 (10), 162 (23), 161 (20), 160 (17), 148 (12), 147 (11), 146 (13), 137 (11), 136 (13), 135 (17), 123 (12), 121 (18), 108 (27), 107 (20), 95 (19), 93 (19), 81 (48) $[C_6H_9]^+$, 69 (100) $[C_5H_9]^+$.

$^{13}CC_{26}H_{38}O_3$ (411.59).

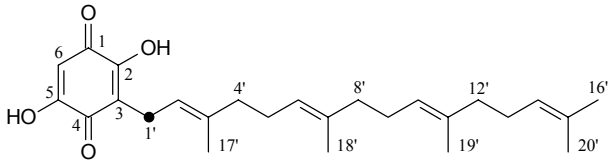
17.9 Bovichinon-4 (101*, 101**)

Die Herstellung von isotopenmarkiertem Bovichinon-4 erfolgt analog nach der Vorschrift von Jägers[33,34] durch Umsetzung von 2 Äquiv. 2,5-Dihydroxybenzo-1,4-chinon (2 Äquiv.) mit isotopenmarkiertem (*E*,*E*,*E*)-Geranylgeranylbromid (**25*** bzw. **25****) in Gegenwart von Triethylamin (1 Äquiv.). Das Rohprodukt wurde durch Säulenchromatographie an acetyliertem Polyamid und anschließend mittels HSCCC gereinigt (vgl. 21.3).

Ausbeute 11 bis 16 %,[96] orangefarbener Feststoff.

R_f schmiert über den Bereich 0.52-0.70 (Toluol : HCO_2H : HCO_2Et = 10:5:3), grauviolett, mit Ammoniakdampf blau bis violett.

[1'-^{13}C]Bovichinon-4 (**101***)



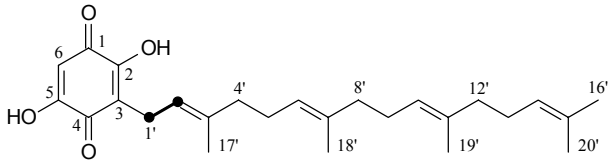
^{1}H-NMR (600 MHz, $CDCl_3$): δ = 1.57 (s, 3 H) / 1.58 (s, 3 H) / 1.59 (s, 3 H) (18'-H, 19'-H, 20'-H), 1.67 (s, 3 H, 16'-H), 1.73 (s, 3 H, 17'-H), 1.92-2.14 (m, 12 H, 4'-H, 5'-H, 8'-H, 9'-H, 12'-H, 13'-H), 3.15 (dd, $^{1}J_{CH}$ = 130 Hz, $^{3}J_{HH}$ = 7.0 Hz, 2 H, 1'-H), 5.02-5.18 (m, 4 H, 2'-H, 6'-H, 10'-H, 14'-H), 6.00 (s, 1 H, 6-H), 7.71 (s, br., 2 H, 2 OH).

^{13}C-NMR (151 MHz, $CDCl_3$): δ = 16.06 / 16.09 (C-18', C-19'), 16.24 (d, $^{3}J_{CC}$ = 4.1 Hz, C-17'), 17.75 (C-20'), 21.69 (^{13}C-1'), 25.78 (C-16'), 26.51 (C-5'), 26.60 / 26.82 (C-9', C-13'), 39.66-39.85 (m, C-4', C-8', C-12'), 102.28 (C-6), 116.07 (d, $^{1}J_{CC}$ = 44.1 Hz, C-3), 119.05 (d, $^{1}J_{CC}$ = 42.9 Hz, C-2'), 124.02 / 124.26 / 124.46 (C-6', C-10', C-14'), 131.36 (C-15'), 135.02 / 135.21 (C-7', C-11'), 137.68 (C-3').

[96] Bereits Lang-Fugmann[3] berichtet, daß die von Jägers mit 40 bis 50 %[33] bzw. 30 bis 40 %[34] angegebene Ausbeute nicht nachvollzogen werden konnte. Die von Lang-Fugmann bei der Synthese des Bovichinon-4 (**101**) erzielten Ausbeuten betragen 16 bis 24 %.

$^{13}CC_{25}H_{36}O_4$ (413.56).

[1',2'-$^{13}C_2$]Bovichinon-4 (**101****)



^{1}H-NMR (300 MHz, $CDCl_3$): δ = 1.56-1.61 (m, 9 H, 18'-H, 19'-H, 20'-H), 1.68 (s, 3 H, 16'-H), 1.74 (d, $^3J_{CH}$ = 5.1 Hz, 3 H, 17'-H), 1.91-2.12 (m, 12 H, 4'-H, 5'-H, 8'-H, 9'-H, 12'-H, 13'-H), 3.15 (ddd, $^1J_{CH}$ = 130 Hz, $^2J_{CH} \approx {}^3J_{HH} \approx$ 7.2 Hz, 2 H, 1'-H), 5.02-5.13 (m, 3 H, 6'-H, 10'-H, 14'-H), 5.13 (dm, $^1J_{CH} \approx$ 156 Hz, 1 H, 2'-H), 6.00 (s, 1 H, 6-H), 7.72 (s, br., 2 H, 2 OH).

^{13}C-NMR (75 MHz, $CDCl_3$): δ = 16.05 / 16.08 (C-18', C-19'), 16.18-16.28 (m, C-17'), 17.74 (C-20'), 21.68 (d, $^1J_{CC}$ = 43.0 Hz, ^{13}C-1'), 25.75 (C-16'), 26.52 (d, $^3J_{CC}$ = 3.0 Hz, C-5'), 26.71 / 26.83 (C-9', C-13'), 39.70-39.82 (m, C-4', C-8', C-12'), 102.31 (C-6), 116.12 (dd, $^1J_{CC}$ = 44.1 Hz, $^2J_{CC}$ = 4.0 Hz, C-3), 119.08 (d, $^1J_{CC}$ = 43.0 Hz, C-2'), 124.03 / 124.27 / 124.49 (C-6', C-10', C-14'), 131.31 (C-15'), 135.00 / 135.19 (C-7', C-11'), 137.64 (d, $^1J_{CC}$ = 74.3 Hz, C-3').

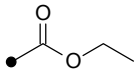
EI-MS *m/z* (%) = 416 (5) $[M+2]^+$, 415 (2) $[M+1]^+$, 414 (7) $[M]^+$, 345 (6) $[M–C_5H_9]^+$, 303 (3), 278 (5), 277 (7) $[M–C_5H_9–C_5H_8]^+$, 235 (14), 195 (46) $[^{13}C_2C_8H_9O_4]^+$, 156 (28), 155 (30), 137 (22), 136 (24), 135 (20), 123 (23), 121 (28), 109 (20), 107 (16), 95 (30), 93 (30), 81 (77) $[C_6H_9]^+$, 69 (100) $[C_5H_9]^+$, 55 (24), 53 (20), 41 (68) $[C_3H_5]^+$.

$^{13}C_2C_{24}H_{36}O_4$ (414.55).

18 Umsetzungen von γ-Pyron mit Nucleophilen

18.1 Synthese von 4-Hydroxy[1-^{13}C]benzoesäure (92*)

Ethyl[2-^{13}C]acetat (**9$^{\#}$**)



Nach dem in Kap. 16.1 beschriebenen Verfahren werden 1.48 g (17.9 mmol) Natrium[2-^{13}C]acetat (**8$^{\#}$**) umgesetzt.

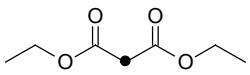
Ausbeute 1.35 g (mmol, 84 %), farblose Flüssigkeit.

^{1}H-NMR (300 MHz, $CDCl_3$): δ = 1.24 (t, $^{3}J_{HH}$ = 7.2 Hz, 3 H, OCH_2CH_3), 2.02 (d, $^{1}J_{CH}$ = 129 Hz, 3 H, $^{13}CH_3CO_2Et$), 4.10 (q, ^{4}J = 7.2 Hz, 2 H, OCH_2CH_3).

^{13}C-NMR (75 MHz, $CDCl_3$): δ = 14.25 (OCH_2CH_3), 21.10 ($^{13}CH_3CO_2Et$), 60.43 (OCH_2CH_3), 171.19 (d, $^{1}J_{CC}$ = 59.3 Hz, $^{13}CH_3CO_2Et$).

$^{13}CC_3H_8O_2$ (89.10).

[2-^{13}C]Malonsäurediethylester (**89***)



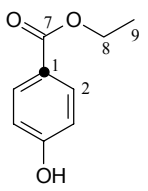
In Anlehnung an Lit.[304] werden in einem Schlenkkolben 5.8 ml (28 mmol, 2.5 Äquiv.) Hexamethyldisilazan in 15 ml abs. Tetrahydrofuran gelöst. Nach Kühlung auf 0°C werden langsam 2.1 Äquiv. einer Lösung von *n*-Butyllithium in Hexan zugegeben, anschließend rührt man 0.5 h bei RT. Nach Kühlen auf –78°C tropft man 1.00 g (11.2 mmol, 1 Äquiv.) Ethyl[2-^{13}C]acetat (**9$^{\#}$**) innerhalb 5 min mittels einer Spritze zu, rührt 20 min und versetzt innerhalb 5 min mit 1.07 ml (11.2 mmol, 1 Äquiv.) Chlorameisensäureethylester. Nach 1 h Rühren bei –78°C werden 5 ml 6 N HCl in einer Portion zugesetzt. Man läßt auf RT kommen, versetzt mit Wasser, säuert mit verd. Salzsäure auf pH 1 bis 2 an und extrahiert mehrmals mit Diethylether. Die vereinigten organischen Phasen werden mit 2 N HCl und Wasser gewaschen. Die vereinigten wäßrigen Waschfraktionen werden 1 × mit Diethylether extrahiert. Die vereinigten Extrakte werden mit ges. NaCl-Lösung gewaschen und über Na_2SO_4 getrocknet. Nach Filtration wird das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt. Zur Reinigung wird das Rohprodukt in einer Mikrodestillationsapparatur bei 90 mbar in eine gekühlte Vorlage destilliert. Die Hydrolyseprodukte

Trimethylsilanol bzw. Hexamethyldisiloxan sind flüchtiger als Malonsäurediethylester. Nach Beendigung der Destillation wird die Apparatur mit Diethylether gespült, die Lösung mit der Produktfraktion des Destillats vereinigt und das Lösungsmittel i. Vak. entfernt.

Ausbeute	1.66 g (10.3 mmol, 92 %), farblose Flüssigkeit.
Sdp.	123-125°C (90 mbar).
R_f	0.49 (Isohexan : Essigsäureethylester = 7:1), anzufärben mit Iod.
IR	(KBr): $\tilde{\nu}$ = 3465 cm^{-1} (br.), 2986, 2942, 1754, 1733, 1467, 1448, 1410, 1369, 1319, 1267, 1189, 1151, 1097, 1035, 949, 866, 844, 787, 666, 603.
^{1}H-NMR	(300 MHz, $CDCl_3$): δ = 1.27 (t, ^3J = 7.2 Hz, 6 H, 2 OCH_2CH$_3$), 3.34 (d, $^1J_{CH}$ = 132 Hz, 2 H, $^{13}CH_2$), 4.19 (q, ^3J = 7.2 Hz, 4 H, 2 OCH_2CH$_3$).
^{13}C-NMR	(75 MHz, $CDCl_3$): δ = 14.1 (2 OCH$_2$*C*H$_3$), 41.7 ($^{13}CH_2$), 61.5 (2 O*C*H$_2$CH$_3$), 166.7 (d, $^1J_{CC}$ = 59 Hz, 2 *C*O$_2$CH$_2$CH$_3$).
EI-MS	*m/z* (%) = 161 (3) $[M]^+$, 134 (40), 116 (100), 106 (7), 89 (52), 61 (31).

$^{13}CC_6H_{12}O_4$ (161.16).

4-Hydroxy[1-^{13}C]benzoesäureethylester (**91***)



In einem 100 ml-Einhalskolben werden 1.01 g (10.5 mmol, 1.05 Äquiv.) γ-Pyron (4*H*-Pyran-4-on, **90**) und 1.61 g (10.0 mmol, 1 Äquiv.) [2-^{13}C]Malonsäurediethylester (**89***) in 20 ml *tert*-Butylalkohol gelöst. Man bestückt den Kolben mit einem druckausgleichenden Tropftrichter, auf den ein Rückflußkühler[97] mit Silicagel- oder Calciumchlorid-gefülltem Trockenrohr aufgesetzt wird, und erhitzt in einem Ölbad der Temperatur 105°C zum Rückfluß. Über den Tropftrichter wird eine Lösung von 0.22 g (2.0 mmol, 0.2 Äquiv.) Kalium-*tert*-butylat in 20 ml *tert*-Butylalkohol tropfenweise innerhalb 20 min zugesetzt, wobei sich die Lösung rot färbt und trübt. Nach 15 h Refluxieren läßt man auf RT abkühlen und setzt Wasser sowie 5 ml 2 N HCl zu. Der Hauptanteil des Lösungsmittels wird i. Vak. entfernt. Anschließend extrahiert man mehrmals mit Diethylether, wäscht mit Wasser und ges. NaCl-Lösung, trocknet über Na_2SO_4 und entfernt das Lösungsmittel i. Vak. Das Rohprodukt wird durch Säulenchromatographie an Kieselgel mit dem Laufmittel Isohexan : Essigsäureethylester = 4:1 gereinigt.

[97] Wegen des relativ hohen Schmelzpunktes des Lösungsmittels wird der Rückflußkühler nicht direkt auf den Kolben, sondern auf den als Luftkühler wirkenden Tropftrichter aufgesetzt. So wird der Hauptteil des verdampfenden *tert*-Butylalkohols bereits am Tropftrichter zur Flüssigkeit kondensiert und ein Erstarren im wassergekühlten Rückflußkühler weitgehend vermieden.

Ausbeute 1.34 g (8.01 mmol, 80 %).

Schmp. 112-113°C

R_f 0.29 (Isohexan : Essigsäureethylester = 4:1).

IR (KBr): $\tilde{\nu}$ = 3218 cm^{-1} (br.), 1672, 1602, 1583, 1441, 1370, 1306, 1286, 1239, 1169, 1104, 1018, 847, 768, 723, 697, 618.

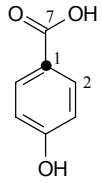
^{1}H-NMR (300 MHz, $CDCl_3$): δ = 1.39 (t, ^3J = 7.2 Hz, 3 H, 9-H), 4.36 (q, ^3J = 7.2 Hz, 2 H, 8-H), 6.50 (s, 1 H, OH), 6.85-6.93 (m, 2 H, 3-H, 5-H), 7.93-7.99 (m, 2 H, 2-H, 6-H).

^{13}C-NMR (75 MHz, $CDCl_3$): δ = 14.4 (C-9), 61.1 (C-8), 115.3 (d, $^2J_{CC}$ = 1.5 Hz, C-3, C-5), 122.7 (^{13}C-1), 132.0 (d, $^1J_{CC}$ = 60 Hz, C-2, C-6), 160.4 (d, $^3J_{CC}$ = 9.1 Hz, C-4), 167.2 (d, $^1J_{CC}$ = 77 Hz, C-7).

EI-MS *m/z* (%) = 167 (30) $[M]^+$, 139 (23), 122 (100), 94 (11), 83 (10).

$^{13}CC_8H_{10}O_3$ (167.17).

4-Hydroxy[1-^{13}C]benzoesäure (**92***)



In einem 25 ml-Einhalskolben werden 1.25 g (7.50 mmol) 4-Hydroxy[1-^{13}C]-benzoesäureethylester (**91***) mit 11 ml (22.5 mmol, 3 Äquiv.) 2 N NaOH versetzt. Nach 24 h Rühren bei RT wird mit 17 ml 2 N HCl angesäuert, wobei das Produkt ausfällt. Nach Zusatz von 10 ml Wasser wird mehrmals mit Diethylether extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden zweimal mit 1 N HCl gewaschen. Das Lösungsmittel wird entfernt und das Produkt anschließend i. Vak. getrocknet.

Ausbeute 1.02 g (7.34 mmol, 98 %), farbloser Feststoff.

Schmp. 212-213°C

IR (KBr): $\tilde{\nu}$ = 3394 cm^{-1} (br.), 2966, 2831, 2660, 2562, 1677, 1602, 1588, 1504, 1440, 1421, 1309, 1282, 1243, 1169, 1100, 933, 852, 766, 617, 548.

^{1}H-NMR (300 MHz, [D_6]DMSO): δ = 6.79-6.85 (m, 2 H, 3-H, 5-H), 7.76-7.82 (m, 2 H, 2-H, 6-H), 10.22 (s, br., 1 H, OH), 12.36 (s, br., 1 H, CO_2H).

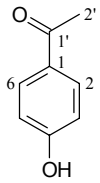
^{13}C-NMR (75 MHz, [D_6]DMSO): δ = 115.45 (C-3, C-5), 121.71 (C-1), 131.88 (C-2, C-6), 161.93 (C-4), 167.53 (C-7).

EI-MS *m/z* (%) = 140 (7) $[M+1]^+$, 139 (100) $[M]^+$, 122 (94), 94 (20), 66 (13).

$^{13}CC_6H_6O_3$ (139.11).

18.2 Weitere Syntheseprodukte (93, 97, 100)

4-Hydroxyacetophenon (**93**)



30 mg (0.3 mmol) Acetylaceton (**94**) und 32 mg (0.33 mmol) γ-Pyron (**90**) werden in 2 ml trockenem Tetrahydrofuran gelöst. Man gibt 49 µl (0.33 mmol) DBU zu und refluxiert über Nacht. Die klare, rotgelbe Lösung wird nach Abkühlen mit verd. Salzsäure angesäuert und mehrmals mit Diethylether extrahiert. Die nahezu farblose Diethyletherphase wird mit Wasser und ges. NaCl-Lösung gewaschen und über Na_2SO_4 getrocknet. Gereinigt wird durch Säulenchromatographie an Kieselgel (Isohexan : Essigsäureethylester = 5:2).

Ausbeute 20 mg (0.15 mmol, 49 %), farbloser Feststoff.

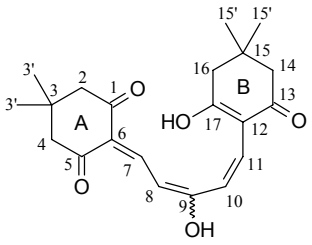
R_f 0.28 (Isohexan : Essigsäureethylester = 5:2).[98]

^{1}H-NMR (300 MHz, $CDCl_3$): δ = 2.59 (s, 3 H, 2'-H), 6.96 (d, ^3J = 8.9 Hz, 2 H, 3-H, 5-H), 7.91 (d, ^3J = 8.9 Hz, 2 H, 2-H, 6-H), 8.09 (s, br., 1 H, OH).

EI-MS *m/z* (%) = 137 (2) $[M+1]^+$, 136 (27) $[M]^+$, 121 (100) $[M–CH_3]^+$, 93 (24), 65 (23).

$C_8H_8O_2$ (136.15).

Produkt (**97**) der Reaktion von γ-Pyron mit Dimedon



32 mg (0.33 mmol) γ-Pyron (**90**) und 42 mg (0.3 mmol) Dimedon (**95**) wurden in 2 ml trockenem Tetrahydrofuran gelöst. Bei Raumtemperatur wurden 49 µl (0.33 mmol) DBU zugegeben, anschließend wurde über Nacht refluxiert. Nach Abkühlen und Ansäuern mit verd. Salzsäure wurde mehrmals mit Essigsäureethylester extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit Wasser und ges. NaCl-Lösung gewaschen und über Na_2SO_4 getrocknet. Nach Entfernen des Lösungsmittels i. Vak. wurde das Rohprodukt durch Säulenchromatographie an Kieselgel mit dem Laufmittel Isohexan : Essigsäureethylester = 1:1 gereinigt.

[98] Identifizierung erfolgte auch durch DC-Vergleich mit käuflicher authentischer Substanz.

Ausbeute 23 mg (64 µmol, 43 % bzgl. Dimedon), dunkelroter Feststoff.

R_f 0.36 (Isohexan : Essigsäureethylester = 1:1).

R_t 26.6 min (HPLC-System 1), 45.6 min (HPLC-System 2).

UV/VIS (Methanol) λ_{max} (lg ε) = 260 nm (6.874), 486 (7.360), 519 (7.356), 558 (7.070).

^{1}H-NMR (300 MHz, $CDCl_3$): δ = 1.05 (s, 6 H) / 1.14 (s, 6 H) (3'-H, 15'-H), 2.39 (s, 2 H) / 2.47 (s, 4 H) / 2.64 (s, ~0.33 H) / 2.73 (s, ~1.66 H) (2-H, 4-H, 14-H, 16-H), 6.49 (d, ^3J = 9.6 Hz, ~0.83 H) / 7.19 (d, ^3J = 9.6 Hz, ~0.83 H) (10-H, 11-H), 7.26 (d, ^3J = 13.3 Hz, ~0.83 H) / 8.28 (d, ^3J = 13.3 Hz, ~0.83 H) (7-H, 8-H).[99] Zusätzliche Dublettsignale: 7.59 (d, J = 14.2 Hz, ~0.17 H), 8.11 (d, J = 14.2 Hz, ~0.17 H). Weiteres, überlagertes Dublettpaar in der Region δ 7.15-7.30.

^{1}H-NMR (300 MHz, C_6D_6): δ = 0.52 (s, 6 H, 15'-H), 0.80 (s, 6 H, 3'-H), 1.59 (s, 2 H, 16-H), 1.86 (s, 2 H, 14-H), 2.36 (s, 2 H) / 2.37 (s, 2 H) (2-H, 4-H), 5.63 (d, ^3J = 9.6 Hz, ~0.83 H, 10-H), 6.84 (d, ^3J = 9.6 Hz, ~0.83 H, 11-H), 7.73 (d, ^3J = 13.3 Hz, ~0.83 H, 8-H), 8.82 (d, ^3J = 13.3 Hz, ~0.83 H, 7-H). Zusätzliche Dublettsignale: 6.45 (d, J = 10.0 Hz, ~0.17 H), 6.89 (d, J = 10.0 Hz, ~0.17 H), 8.20 (d, J = 13.8 Hz, ~0.17 H), 8.46 (d, J = 13.8 Hz, ~0.17 H).

^{13}C-NMR (75 MHz, $CDCl_3$): δ = 28.40 (s, 2 CH_3) / 28.62 (s, 2 CH_3) (C-3', C-15'), 30.30 / 32.54 (C-3, C-15), 41.59 (C-16), 50.47 (C-14), 52.28 / 53.90 (C-2, C-4), 104.86 (C-8), 115.03 (C-12), 120.91 (C-10), 123.87 (C-6), 129.26 (C-11), 143.02 (C-7), 164.72 (C-9), 171.58 (C-17), 193.28 (C-13), 198.03 / 199.18 (C-1, C-5).[99]

^{13}C-NMR (75 MHz, C_6D_6): δ = 27.66 (s, 2 CH_3, C-15'), 28.30 (s, 2 CH_3, C-3'), 29.92 (C-3), 31.28 (C-15), 40.17 (C-16), 50.04 (C-14), 52.31 / 53.99 (C-2, C-4), 105.10 (C-8), 114.66 (C-12), 120.54 (C-10), 124.68 (C-6), 128.50 (C-11), 142.08 (C-7), 164.30 (C-9), 170.88 (C-17), 191.96 (C-13), 196.85 / 198.27 (C-1, C-5).

EI-MS *m/z* (%) = 358 (2) $[M]^+$, 341 (23), 340 (100) $[M–H_2O]^+$, 325 (28) $[M–H_2O–CH_3]^+$, 298 (4), 297 (5), 256 (23), 243 (11), 241 (8), 228 (13), 214 (5), 216 (4), 203 (5), 200 (5), 190 (5), 193 (4), 158 (7), 130 (4), 102 (1), 83 (7), 55 (4), 43 (5).

$C_{21}H_{26}O_5$ (358.43).

Daneben wurde eine zweite, unbekannte Verbindung isoliert, deren spektroskopische Daten im folgenden angegeben werden.

[99] Zuordnungen für $CDCl_3$-Spektren analog zu den C_6D_6-Spektren. Zweidimensionale NMR-Experimente wurden nur mit C_6D_6 als Lösungsmittel durchgeführt.

R_f 0.37 (Isohexan : Essigsäureethylester = 1:1), farbloser Feststoff.

R_t 23.6 min (HPLC-System 1), 43.1 min (HPLC-System 2).

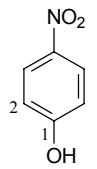
^{1}H-NMR (300 MHz, $CDCl_3$): δ = 0.88 (s, 3 H), 0.95 (s, 3 H), 0.99 (s, 3 H), 1.27 (s, 3 H), 2.19 / 2.20 / 2.21 (jew. s, zus. ~3 H), 2.27 (dd, *J* = 13.1 Hz, *J* = 2.3 Hz, ~0.7 H), 2.34 (d, *J* = 4.0 Hz, ~0.3 H), 2.39 (d, *J* = 4.0 Hz, ~0.7 H), 2.44 (dd, *J* = 13.3 Hz, *J* = 2.2 Hz, ~0.7 H), 2.45-2.50 (m, ~0.7 H), 2.53 („t“, br., *J* = 2.7 Hz, ~0.3 H), 2.71 (dt, *J* = 17.4 Hz, *J* = 2.3 Hz, 1 H), 2.96 (d, *J* = 13.2 Hz, 1 H), 3.18 (d, *J* = 13.2 Hz, 1 H), 3.31 (dd, *J* = 17.4 Hz, *J* = 4.2 Hz, 1 H), 4.03-4.10 (m, 1 H), 5.18-5.24 (m, 1 H).

^{13}C-NMR (75 MHz, $CDCl_3$): δ = 26.32 (CH/CH_3), 27.96 (CH/CH_3), 28.25 (CH/CH_3), 30.62 (CH/CH_3), 31.08 (C_{quart}), 32.41 (C_{quart}), 34.23 (CH/CH_3), 41.64 (CH_2), 42.33 (CH_2), 45.68 (CH_2), 50.12 (CH_2), 50.38 (CH_2), 51.62 (CH_2), 67.19 (C_{quart}), 73.74 (CH/CH_3), 108.98 (C_{quart}), 169.73 (C_{quart}), 195.65 (C_{quart}), 201.19 (C_{quart}), 204.44 (C_{quart}), 205.99 (C_{quart}).

EI-MS *m/z* (%) = 359 (17) $[M+1]^+$, 358 (73) $[M]^+$, 340 (11), 330 (16), 325 (8), 315 (7), 312 (8), 274 (14), 257 (25), 246 (18), 243 (39), 193 (100), 166 (23), 83 (29), 55 (9).

$C_{21}H_{26}O_5$ (358.43).

4-Nitrophenol (**100**)



Es wird die bei der Darstellung des 4-Hydroxy[1-^{13}C]benzoesäureethylesters beschriebene Apparatur verwendet. Zu einer refluxierenden Lösung von 0.634 g (6.60 mmol, 1.1 Äquiv.) γ-Pyron (**90**) und 0.366 g (6.00 mmol, 1 Äquiv.) Nitromethan (**99**) in 12 ml *tert*-Butylalkohol wird langsam eine Lösung von 0.741 g (6.60 mmol, 1.1 Äquiv.) Kalium-*tert*-butylat in 36 ml *tert*-Butylalkohol getropft. Nach 15 h Refluxieren läßt man auf RT abkühlen, säuert mit verd. an, entfernt den Hauptteil des Lösungsmittels i. Vak. und extrahiert mehrmals mit Diethylether. Die vereinigten organischen Phasen werden mit Wasser und ges. NaCl-Lösung gewaschen und über Na_2SO_4 getrocknet. Nach Entfernen des Lösungsmittels reinigt man mittels Säulenchromatographie über Kieselgel mit den Laufmittel Isohexan : Essigsäureethylester = 7:2.

Ausbeute 0.631 g (4.54 mmol, 75 %).

Schmp. 112-113.5°C

R_f 0.29 (Isohexan : Essigsäureethylester = 7:2).

^{1}H-NMR (300 MHz, [D$_6$]Aceton): δ = 7.01 (d, ^{3}J = 8.8 Hz, 2 H, 2-H, 6-H), 8.13 (d, ^{3}J = 8.8 Hz, 3-H, 5-H), 9.73 (s, 1 H, OH).

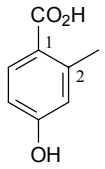
^{13}C-NMR (75 MHz, [D$_6$]Aceton): δ = 117.20 (C-2, C-6), 127.51, (C-3, C-5) 142.36 (C-4), 164.92 (C-1).

EI-MS *m/z* (%) = 140 (7) $[M+1]^+$, 139 (100) $[M]^+$, 123 (21) $[M–O]^+$, 109 (33) $[M–NO]^+$, 107 (12), 93 (17) $[M–NO_2]^+$, 81 (12), 65 (43), 63 (12), 53 (10), 52 (9).

$C_6H_5NO_3$ (139.11).

19 Synthese von 4-Hydroxy-2-methylbenzoesäure (125) und 4,5-Dihydroxy-2-methylbenzoesäure (127)

4-Hydroxy-2-methylbenzoesäure (**125**)



1.66 g (10 mmol) 4-Methoxy-2-methylbenzoesäure (**130**)[390] werden in 20 ml abs. Methylenchlorid suspendiert. Nach Kühlung auf 0°C werden 2.1 ml (5.5 mmol, 2.2 Äquiv.) Bortribromid zugegeben, worauf Lösung der Säure eintritt. Man läßt auf RT kommen und rührt mehrere Stunden. Bei 0°C wird vorsichtig durch Zusatz von Wasser gequencht. Nach Zusatz von Essigsäureethylester wird im Scheidetrichter kurz mit 2 N NaOH geschüttelt und unmittelbar danach mit verd. Salzsäure angesäuert. Es wird mehrfach mit Essigsäureethylester extrahiert. Nach Waschen der vereinigten organischen Phasen mit Wasser und ges. NaCl-Lösung sowie Trocknen über Na_2SO_4 wird das Lösungsmittel i. Vak. entfernt.

Ausbeute 1.36 g (8.93 mmol, 89 %), grauer Feststoff.

R_f 0.62 (Isohexan : Essigsäureethylester = 1:1),
0.44 (Toluol : HCO_2H : HCO_2Et = 10:5:3).

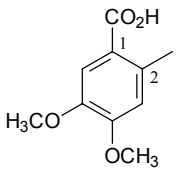
^{1}H-NMR (300 MHz, [D_6]Aceton): δ = 2.53 (s, 3 H, CH_3), 6.73 („dd“, $^3J \approx 9$ Hz, ^4J = 2.5 Hz, 1 H, 5-H), 6.75-6.76 (m, 1 H, 3-H), 7.91 („d“, $^3J \approx 9.1$ Hz, 1 H, 6-H), 8.92 (s, br., 1 H, OH).

^{13}C-NMR (75 MHz, [D_6]Aceton): δ = 22.33 (CH_3), 113.44 / 119.07 (C-3, C-5), 121.28 (C-1), 134.37 (C-6), 144.20 (C-2), 161.61 (C-4), 168.89 (CO_2H).

EI-MS *m/z* (%) = 153 (7) $[M+1]^+$, 152 (100) $[M]^+$, 135 (76) $[M–OH]^+$, 134 (54) $[M–H_2O]^+$, 107 (27), 106 (15), 77 (16), 51 (5).

$C_8H_8O_3$ (152.15).

4,5-Dimethoxy-2-methylbenzoesäure (**133**)



3.00 g (16.7 mmol) 4,5-Dimethoxy-2-methylbenzaldehyd (**132**)[391] werden nach der Methode von Lit.[390] mit Natriumchlorit oxidiert.

Ausbeute 3.03 g (15.4 mmol, 92.5 %), farbloser Feststoff.

Schmp. 143-144°C.

R_f 0.16 (Isohexan : Essigsäureethylester = 3:1).

^{1}H-NMR (300 MHz, $CDCl_3$): δ = 2.62 (s, 3 H, Ring-CH_3), 3.90 (s, 3 H) / 3.92 (s, 3 H) (2 OCH_3), 6.70 (s, 1 H) / 7.60 (s, 1 H) (ArH).

^{13}C-NMR (75 MHz, $CDCl_3$): δ = 22.14 (Ring-CH_3), 55.96 / 56.03 (2 OCH_3), 114.13 / 114.30 (C-3, C-6), 119.75 / 136.46 (C-1, C-2), 146.57 / 152.66 (C-4, C-5), 173.02 (CO_2H).

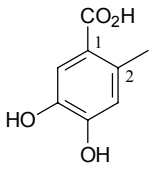
EI-MS *m/z* (%) = 197 (11) $[M+1]^+$, 196 (100) $[M]^+$, 181 (19) $[M–CH_3]^+$, 179 (5), 151 (7), 163 (3), 150 (7), 135 (16), 107 (5), 77 (4), 65 (4), 51 (2), 39 (4).

EA ber. C 61.22 H 6.16
gef. C 60.82 H 6.16

$C_{10}H_{12}O_4$ (196.20).

4,5-Dihydroxy-2-methylbenzoesäure (**127**)

1.57 g (8.00 mmol) 4,5-Dimethoxy-2-methylbenzoesäure (**133**) werden nach dem bei der Herstellung von 4-Hydroxy-2-methylbenzoesäure (**125**) beschriebenen Verfahren mit 3.2 Äquivalenten Bortribromid entschützt.



Ausbeute 1.24 g (7.37 mmol, 92 %).

R_f 0.33 (Isohexan : Essigsäureethylester = 1:1),
0.38 (Toluol : HCO_2H : HCO_2Et = 10:5:3).

^{1}H-NMR (300 MHz, [D_6]Aceton): δ = 2.45 (s, 3 H, CH_3), 6.72 (s, 1 H) / 7.53 (s, 1 H) (3-H, 6-H), 7.99 (s, br., 1 H, OH), 8.37 (s, br., 1 H, OH), 10.50 (s, br., 1 H, CO_2H).

^{13}C-NMR (75 MHz, [D_6]DMSO): δ = 21.27 (CH_3), 118.42 / 118.78 (C-3, C-6), 120.18 (C-1), 132.41 (C-2), 142.82 / 149.18 (C-4, C-5), 168.37 (CO_2H).

EI-MS *m/z* (%) = 168 (100) $[M]^+$, 151 (30) $[M–OH]^+$, 150 (17) $[M–H_2O]^+$, 123 (48), 12 (50), 77 (10), 51 (8), 43 (5).

$C_8H_8O_4$ (168.15).

20 Verpackung lipophiler Verbindungen in Cyclodextrine und Liposomen

20.1 Herstellung von Cyclodextrinkomplexen

Hydroxybenzoesäurederivate werden in einem passenden Gefäß stöchiometrisch 1:1 mit 2-Hydroxypropyl-β-cyclodextrin vermischt. Anschließend wird die dem Gewicht des Cyclodextrins ungefähr gleiche Menge an Wasser zugegeben und gerührt, wobei nach kurzer Zeit Lösung eintritt. Zur Solubilisierung von [1,2-$^{13}C_2$]Bovichinon-4 (**101****) sind ein größeres Verhältnis von Cyclodextrinderivat zum Gastmolekül und eine längere Rührzeit erforderlich (s. Kap. 5.1.5).

20.2 Liposomenpräparationen

Die Liposomen wurden nach der in Kap. 5.2.5 kurz beschriebenen Filmmethode hergestellt.

Folgende Zusammensetzung wurde in allen Fällen als Lipidmischung verwendet: 10 % (w/w) Biosynthesevorläufer, 74 % (w/w) Ei-Phosphatidylcholin, 15 % (w/w) Cholesterol, 1 % (w/w) DL-α-Tocopherol. Ei-Phosphatidylcholin („Lipoid E-PC“) wurde von der Firma Lipoid GmbH, Ludwigshafen, bezogen. 300 bis 600 mg Lipidmischung wurden in 50 ml- oder 100 ml-Rundkolben in Chloroform gelöst. Alle Schritte werden zur Vermeidung von Lipidperoxidation unter Schutzgas durchgeführt. Die Lösung wird am Rotationsverdampfer zu einem möglichst gleichmäßigen und dünnen Film eingeengt.[100] Nach Trocknen i. Vak. wird soviel 5-proz. wäßrige Glucoselösung zugegeben, daß eine 10 % (w/v) Lipid-in-Wasser-Suspension entsteht. Der Kolben wird am Rotationsverdampfer bei Raumdruck für mehrere Stunden (Schutz vor Licht durch Umwicklung mit Alufolie) bis zur vollständigen Suspension in Rotation versetzt. Es entsteht eine undurchsichtige, milchige Suspension (Abbildung 30), welche direkt an Fruchtkörper appliziert wird. Die Verfütterung erfolgte jeweils bevorzugt am Herstellungstag, sonst nach möglichst kurzer Lagerung im Kühlschrank.

Teilweise erfolgte vor der Applikation an Fruchtkörper Extrusion durch eine 400 nm-Membran. Dieselbe Suspension wurde jeweils fünfmal hintereinander extrudiert.

[100] Bei Verwendung größerer Kolben lassen sich dünnere und somit leichter suspendierbare Filme erzielen. Um aber mit dem relativ klein gewählten Volumen der wäßrigen Phase noch eine ausreichende Benetzung der Kolbenoberfläche zu erreichen mußte eine Kompromißlösung gewählt werden.

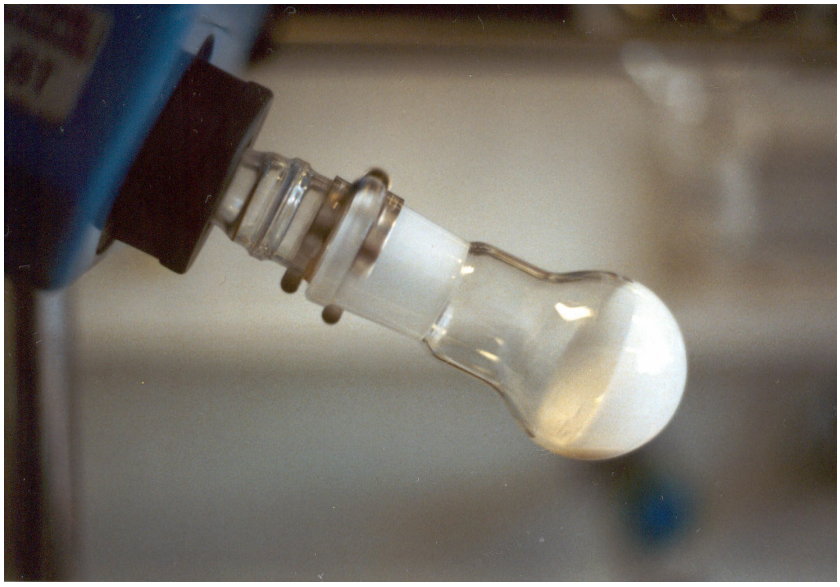


Abbildung 30. Im Laufe mehrerer Stunden entsteht bei Rotation des Kolbens eine milchige Suspension multilamellarer Vesikel.

21 Isolierung von Inhaltsstoffen aus *Suillus tridentinus*

21.1 Fundort

Suillus tridentinus wurde hauptsächlich in einem am südlichen Ortsausgang von Ehrwald, Österreich, angesiedelten großflächigen Lärchenwald gesammelt, daneben auch unter Lärchen am Reisberg bei Lippertshofen, Bayern (Nähe Wettstetten) (leg. M. Lang, det. N. Arnold, M. Lang).

21.2 Vorreinigung des Rohextraktes

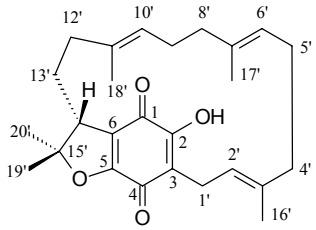
Wenn die Verarbeitung nicht umittelbar nach der Ernte erfolgt, werden die Fruchtkörper mit flüssigem Stickstoff behandelt und anschließend bei -18°C gelagert. Zur Aufarbeitung werden sie unter Zusatz von Essigsäureethylester in einem Mixer zerkleinert. Anschließend wird das Pilzmaterial auf einer Schüttelplatte über mehrere Tage hinweg mehrmals mit Essigsäureethylester extrahiert. Die vereinigten Extrakte werden i. Vak. vom Lösungsmittel befreit und anschließend durch eine kurze Chromatographiesäule über acetyliertes Polyamid mit dem Eluenten Essigsäureethylester vorgereinigt. Der so behandelte Rohextrakt wird in wenig *n*-Hexan aufgenommen und der Säulenchromatographie über acetyliertes Polyamid unterworfen. Als Eluenten dienen *n*-Hexan und Essigsäureethylester. Mit Hexan eluieren Tridentochinon, Desoxytridentochinon und andere lipophile Stoffe, mit Essigsäureethylester Bolegrevilol und weitere polare Substanzen.

21.3 Reinigung von Tridentochinon (102) und Desoxytridentochinon (116)

Die Trennung von Tridentochinon (**102**), Desoxytridentochinon (**116**) und weiteren lipophilen Stoffen erfolgt mittels High-Speed Countercurrent-Chromatographie (HSCCC). Als Trennsystem dient Hexan : Eisessig : Methanol = 4:1:1. Die Phase mit der höheren Dichte wird als stationäre, die mit der geringeren Dichte als mobile Phase verwendet. Die 325 ml-Säule wird zur Trennung von ca. 250 mg Rohsubstanz eingesetzt. Es wird 3 h bei 825 min^{-1} chromatographiert, wobei die Lipide mit der mobilen Phase herausextrahiert werden und das Tridentochinon in der stationären Phase etwa am Anfang des zweiten Drittels auf der Säule verbleibt.

Die beim abschließenden Spülen der Säule verdrängte stationäre Phase wird fraktioniert aufgefangen. Die intensiv roten tridentochinonhaltigen Fraktionen werden zusammengefaßt. Zur Abtrennung des Hauptteils der Essigsäure versetzt man mit Diethylether und wäscht mehrmals mit Wasser. Nach Entfernen des Lösungsmittels wird der i.d.R. reine Naturstoff i. Vak. getrocknet.

Tridentochinon (**102**)



Ausbeute ca. 1.3 Gew.-% bezogen auf getrocknetes Pilzmaterial bzw. etwa 15-30 mg / Fruchtkörper. Karminrotes, sehr zähflüssiges Öl; kann aus Isohexan kristallisiert werden.[101]

R_f 0.76 (Toluol : HCO_2H : HCO_2Et = 10:5:3), rotorange, mit Ammoniakdampf blau bis violett.

^{1}H-NMR (600 MHz, $CDCl_3$): δ = 1.38 (s, 3 H, 19'-H), 1.48 (s, 3 H, 18'-H), 1.52 (s, 3 H, 17'-H), 1.56 (s, 3 H, 20'-H), 1.70 (s, 3 H, 16'-H), 1.62-2.20 (m, 12 H, 4'-H, 5'-H, 8'-H, 9'-H, 12'-H, 13'-H), 3.02 (dd, ^2J = 13.8 Hz, ^3J = 8.1 Hz, 1 H, 1'-H), 3.06 („t“, ^3J = 4.9 Hz, 1 H, 14'-H), 3.18 (dd, ^2J = 13.8 Hz, ^3J = 7.4 Hz, 1 H, 1'-H), 4.88-4.92 (m, 1 H, 10'-H), 4.92-4.97 (m, 1 H, 6'-H), 5.16 („t“, ^3J = 7.4 Hz, 1 H, 2'-H), 7.25 (s, 1 H, OH).[102]

^{13}C-NMR (75 MHz, $CDCl_3$): δ = 15.69 (C-16'), 15.92 (C-18'), 16.67 (C-17'), 21.40 (C-1'), 22.21 (C-20'), 24.18 (C-5'), 24.51 (C-13'), 27.23 (C-9'), 29.56 (C-19'), 35.32 (C-12'), 38.89 (C-4'), 39.00 (C-8'), 48.11 (C-14'), 95.33 (C-15'), 116.45 (C-3), 118.44 (C-6), 120.68 (C-2'), 123.86 (C-6'), 125.94 (C-10'), 134.21 (C-11'), 135.21 (C-7'), 135.53 (C-3'), 152.69 (C-2), 159.76 (C-5), 179.60 (C-1), 180.39 (C-4).[102]

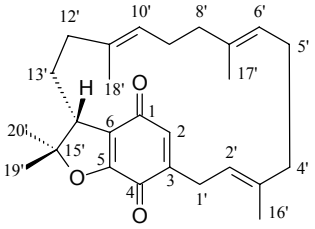
EI-MS *m/z* (%) = 414 (2) $[M+4]^+$, 413 (11) $[M+3]^+$, 412 (41) $[M+2]^+$, 411 (27) $[M+1]^+$, 410 (100) $[M]^+$, 395 (12) $[M–CH_3]^+$, 367 (7) $[395–C_2H_4]^+$, 329 (11) $[M–C_6H_9]^+$, 327 (7) $[C_{20}H_{23}O_4]^+$, 287 (7) $[M–C_9H_{15}]^+$, 261 (26) $[M–C_{11}H_{17}]^+$, 259 (20) $[261–H_2]^+$, 247 (12), 246 (10) $[C_{14}H_{14}O_4]^+$, 245 (15), 221 (9) $[M–C_{14}H_{21}]^+$, 220 (16) $[M–C_{14}H_{22}]^+$, 208 (27) $[329–C_9H_{13}]^+$, 207 (23) $[M–C_{15}H_{23}$, $209–H_2]^+$, 193 (10), 147 (5) $[M–C_{15}H_{19}O_4]^+$, 121 (11) $[M–C_{15}H_{17}O_4–C_2H_4]^+$, 119 (7) $[C_9H_{11}]^+$, 107 (7) $[C_8H_{11}]^+$, 105 (5) $[C_8H_9]^+$, 95 (5) $[C_7H_{11}]^+$, 93 (6)

[101] Für Schmelzpunkt, Drehwerte, UV und IR s. Lit.[355]
[102] Zuordnungen nach Lit.[5]

$[C_7H_9]^+$, 91 (7) $[C_7H_7]^+$, 81 (14) $[C_6H_9]^+$, 79 (9) $[C_6H_7]^+$, 77 (5) $[C_6H_5]^+$, 69 (4) $[C_5H_9]^+$, 67 (8) $[C_5H_7]^+$, 55 (6) $[C_4H_7]^+$, 53 (5) $[C_4H_5]^+$.[103]

$C_{26}H_{34}O_4$ (410.55).

Desoxytridentochinon (**116**)



Die Reinigung erfolgt wie für Tridentochinon beschrieben. Desoxytridentochinon (**116**) verbleibt bei der HSCC-Chromatographie in der stationären Phase im letzten Drittel der Säule. Die entsprechenden schwach gelben Fraktionen werden zusammengefaßt, mit Diethylether versetzt und mehrmals mit Wasser gewaschen. Nach Entfernen des Lösungsmittels wird der Rückstand i. Vak. getrocknet. Gegebenenfalls wird eine Reinigung durch Größenausschlußchromatographie über Sephadex LH-20 mit dem Eluenten Aceton angeschlossen.

Ausbeute ca. 1.5 mg aus 5 Fruchtkörpern bzw. ca. 0.01 Gew.-% bezogen auf getrocknetes Pilzmaterial, gelbe Substanz.

R_f 0.81 (Toluol : HCO_2H : HCO_2Et = 10:5:3), gelb, keine Farbänderung mit Ammoniakdampf.

^{1}H-NMR (600 MHz, $CDCl_3$): δ = 1.25 (s, 3 H) / 1.35 (s, 3 H) (19'-H, 20'-H), 1.46 (s, 3 H) / 1.55 (s, 3 H) (17'-H, 18'-H), 1.64 (s, 3 H, 16'-H), 1.76-1.89 (m, 4 H) / 1.94-2.18 (m, 8 H) (4'-H, 5'-H, 8'-H, 9'-H, 12'-H, 13'-H), 2.81 (dd, ^2J = 15 Hz, ^3J = 7.5 Hz, 1 H, 1'-H_A), 3.02 (t, ^3J = 5.5 Hz, 1 H, 14'-H), 3.37 (dd, ^2J = 15 Hz, ^3J = 7.5 Hz, 1 H, 1'-H_B), 4.82 („t“, $^3J \approx$ 6.3 Hz, 1 H) / 4.96 („t“, $^3J \approx$ 6.3 Hz, 1 H) (6'-H, 10'-H), 5.13 („t“, $^3J \approx$ 7.7 Hz, 1 H, 2'-H), 6.34 („q“, $^4J \approx$ 1.1 Hz, 1 H, 2-H).[104]

^{13}C-NMR (151 MHz, $CDCl_3$): δ = 15.70 / 16.19 / 16.29 (C-16', C-17', C-18'), 22.14 (C-1'), 24.29 / 25.26 / 27.38 / 27.49 / 29.26 (C-5', C-9', C-13', C-19', C-20'), 35.24 (C-12'), 38.92 / 39.06 (C-4', C-8'), 48.29 (C-14'), 94.07 (C-15'), 120.49 (C-2'$^{\#}$), 123.82 (C-6'$^{\#}$), 124.70 (C-6), 126.28 (C-10'$^{\#}$), 133.99 (C-2), 134.02 / 135.72 / 137.42 (C-3', C-7', C-11'), 145.41 (C-3), 156.46 (C-5), 180.57 / 185.57 (C-1, C-4).[105]

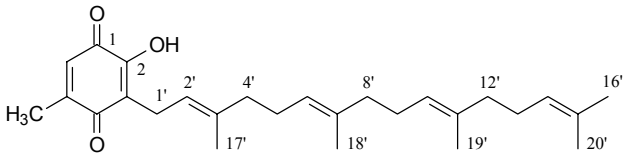
[103] Für eine genaue Diskussion der Massenspektren von Tridentochinon und Derivaten s. Lit.[370]
[104] Zuordnungen für 2'-H, 16'-H, 19'-H und 20'-H durch HH-COSY-NMR-Spektrum.
[105] Die Zuordnung der ^{13}C-NMR-Signale wurde durch Vergleich mit Daten des Tridentochinons und unter Zuhilfenahme von einfachen Inkrementrechnungen[400] erstellt und ist nicht weiter gesichert.

EI-MS *m/z* (%) = 397 (21) $[M+3]^+$, 396 (83) $[M+2]^+$, 395 (31) $[M+1]^+$, 394 (100) $[M]^+$, 379 (30) $[M–CH_3]^+$, 366 (8), 351 (8) $[379–C_2H_4]^+$, 313 (30) $[M–C_6H_9]^+$, 271 (17) $[M–C_9H_{15}]^+$, 259 (15), 257 (14), 245[106] (80) $[M–C_{11}H_{17}]^+$, 243 (38), 231 (40), 229 (28), 217 (22), 215 (25), 205 (20) $[M–C_{14}H_{21}]^+$, 203 (20) [245–C_3H_6, 205–2 H]$^+$, 201 (18) $[M–C_{11}H_{13}O_3]^+$, 192 (54) $[313–C_9H_{13}]^+$, 191 (62) [M–$C_{15}H_{23}$, 193–H_2]$^+$, 177 (45), 147 (14) $[M–C_{15}H_{19}O_3]^+$, 121 (19) [M–$C_{15}H_{17}O_3$–C_2H_4]$^+$, 119 (15) $[C_9H_{11}]^+$, 109 (13), 107 (16) $[C_8H_{11}]^+$, 105 (17) $[C_8H_9]^+$, 95 (15) $[C_7H_{11}]^+$, 93 (21) $[C_7H_9]^+$, 91 (27) $[C_7H_7]^+$, 81 (36) $[C_6H_9]^+$, 79 (24) $[C_6H_7]^+$, 77 (19) $[C_6H_5]^+$, 69 (21) $[C_5H_9]^+$, 67 (28) $[C_5H_7]^+$, 57 (20), 55 (35) $[C_4H_7]^+$, 53 (18) $[C_4H_5]^+$, 41 (47) $[C_3H_5]^+$.

GC/EI-MS: R_t = 12.65 min (Tprg. 1)

$C_{26}H_{34}O_3$ (394.55).

21.4 Isolierung von 3-Geranylgeranyl-2-hydroxy-5-methylbenzo-1,4-chinon (135)



3-Geranylgeranyl-2-hydroxy-5-methylbenzo-1,4-chinon (**135**) ist in nativen Fruchtkörpern von *S. tridentinus* nicht enthalten. Die Verbindung wird ausschließlich nach Verfütterung von 4-Hydroxy-2-methylbenzoesäure (**125**) oder 4,5-Dihydroxy-2-methylbenzoesäure (**127**) an *S. tridentinus* isoliert. Dazu wird die *n*-Hexanfraktion des über Polyamid-Säulenchromatographie vorgereinigten Rohextraktes wie bei der Reinigung des Tridentochinons (**102**) beschrieben mittels HSCC-Chromatographie weiter gereinigt. Es wird ausreichend lange (> 3 h) chromatographiert, bis 3-Geranylgeranyl-2-hydroxy-5-methylbenzo-1,4-chinon (**135**) mit der mobilen Phase eluiert. Die gelben Fraktionen werden zusammengefaßt, mit Diethylether versetzt und mehrmals mit Wasser gewaschen. Nach Entfernen des Lösungsmittels und Trocknung des Rückstandes i. Vak. wird zur weiteren Reinigung an Sephadex LH-20 chromatographiert (Eluent: Aceton).

Ausbeute ca. 0.5 mg aus fünf Fruchtkörpern nach Verfütterung von **125**,
2.0 mg aus vier Fruchtkörpern nach Verfütterung von **127**.

[106] Der Peak *m/z* = 245 kommt auch im MS des Tridentochinons vor, doch mit weitaus geringerer Intensität. Mit einer gewissen Wahrscheinlichkeit handelt es sich hier um $[M–C_{11}H_{17}]^+$ entsprechend *m/z* = 261 im Tridentochinon. Für alle MS-Zuordnungen im Desoxytridentochinon gilt: die Zuordnungen sind nicht bewiesen, sondern durch Vergleich mit Zuordnungen des Tridentochinons (Lit.[370]) erstellt worden.

R_f 0.87 (Toluol : HCO_2H : HCO_2Et = 10:5:3),
0.45 (Isohexan : Essigsäureethylester = 5:1), gelb, mit Ammoniakdampf blau bis violett.

UV/VIS (Methanol) $\lambda_{max.}$ (lg ε) = 207 (5.583), 264 (5.359), 411 (4.242).

^{1}H-NMR (600 MHz, $CDCl_3$): δ = 1.57 (s, 3 H) / 1.58 (s, 3 H) / 1.60 (s, 3 H) (18'-H, 19'-H, 20'-H), 1.68 (16'-H), 1.75 (17'-H), 1.92-2.14 (m, 12 H, 4'-H, 5'-H, 8'-H, 9'-H, 12'-H, 13'-H), 2.08 (s, 3 H, Ring-CH_3), 3.16 (d, ^3J = 7.1 Hz, 2 H, 1'-H), 5.05-5.15 (m, 4 H, 2'-H, 6'-H, 10'-H, 14'-H), 6.55 (q, $^4J \approx$ 1.4 Hz, 1 H, 6-H), 6.85 (s, br., 1 H, OH).

^{13}C-NMR (151 MHz, $CDCl_3$): δ = 16.10 (2 CH_3) / 16.28 (C-17', C-18', C-19'), 16.66 (Ring-CH_3), 17.78 (C-20'), 22.21 (C-1'), 25.79 (C-16'), 26.60 / 26.75 / 26.87 (C-5', C-9', C-13'), 39.75-39.97 (s, br., C-4', C-8', C-12'), 119.65 (C-2'), 120.66 (C-3), 124.14 / 124.32 / 124.51 (C-6', C-10', C-14'), 128.47 (C-6), 131.34 (C-15'), 135.00 / 135.14 / 137.28 (C-3', C-7', C-11'), 149.16 (C-5), 150.68 (C-2), 183.51 (C-1), 187.47 (C-4).

EI-MS *m/z* (%) = 410 (1) $[M]^+$, 257 (25), 231 (7), 191 (100), 153 (14), 121 (6), 81 (23) $[C_6H_9]^+$, 69 (80) $[C_5H_9]^+$.

HR-EI-MS ber. 410.2821, gef. 410.2808.

$C_{27}H_{38}O_3$ (410.60).

3-Geranylgeranyl-5-methyl-2-trimethylsilyloxybenzo-1,4-chinon

Die Silylierung (vgl. 15.1) erfolgte in kleiner Menge für die GC/MS-Untersuchung.

GC/EI-MS R_t = 13.83 min (Tprg. 1).
m/z (%) = 483 (4) $[M+1]^+$, 482 (11) $[M]^+$, 467 (5), 345 (10), 303 (11), 277 (23), 263 (100), 257 (59), 247 (36), 225 (19), 209 (24), 187 (12), 81 (17) $[C_6H_9]^+$, 73 (24), 69 (54) $[C_5H_9]^+$.

$C_{30}H_{46}SiO_3$ (482.78).

21.5 Verfütterungsexperimente mit *S. tridentinus*

3-[1'-^{13}C]Geranylgeranyl-4,5-dihydroxybenzoesäure (**2***) / Diethylether: 23. September 1998, Ehrwald.

6-[1'-^{13}C]Geranylgeranylbenzol-1,2,4-triol (**6***) / Diethylether: 27. Septemer 1998, Ehrwald.

1,2,4-Triacetoxy-6-[1'-^{13}C]geranylgeranylbenzol (**29***) / Diethylether: 16. Oktober 1998, Reisberg/Lippertshofen.

3-[1'-^{13}C]Geranylgeranyl-4-hydroxybenzoesäure (**1***) / Liposomen: 11. Oktober 2000, Ehrwald.

[1'-^{13}C]Geranylgeranylhydrochinon (**5***) / Liposomen: 1. Oktober 2000, Ehrwald.

3-[1'-^{13}C]Geranylgeranyl-4,5-dihydroxybenzoesäure (**2***) / Liposomen: 27. September, 28. September und 5. Oktober 2000, Ehrwald.

6-[1'-^{13}C]Geranylgeranylbenzol-1,2,4-triol (**6***) / Liposomen: 5. Oktober 2000, Ehrwald.

2-Fluor-4-hydroxybenzoesäure (**122**) / Sulfobutyl-β-cyclodextrin: 10 mg **122** / Fruchtkörper, 6. September 1999, Ehrwald.

2-Fluor-4,5-dihydroxybenzoesäure (**124**): Verfütterung an Watte-Submerskultur, 50 mg **124** / 250 ml Medium, Inkubationszeit 6 Monate. Medium: Moser B-Flüssigmedium. Aufarbeitung wie bei Fruchtkörpern beschrieben nach Abpressen des Wassers und Extraktion des Watte-Mycel-Kuchens.

4-Hydroxy-2-methylbenzoesäure (**125**) / 2-Hydroxypropyl-β-cyclodextrin: zwischen dem 25. September und 5. Oktober 2000, Ehrwald.

4,5-Dihydroxy-2-methylbenzoesäure (**127**) / 2-Hydroxypropyl-β-cyclodextrin: zwischen dem 19. und 28. September 2000, Ehrwald.

4-Hydroxy[1-^{13}C]benzoesäure (**92***) / 2-Hydroxypropyl-β-cyclodextrin: 13.10.1999, Ehrwald.

22 Isolierung von Inhaltsstoffen aus *Suillus bovinus*

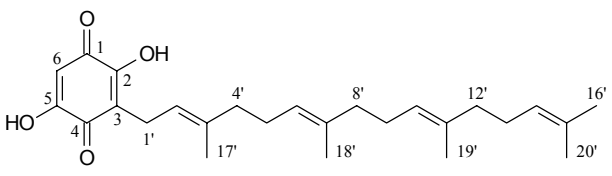
22.1 Fundort

Der bevorzugte Fundort von *Suillus bovinus* befindet sich in einem bei Offenstetten, Bayern (Nähe Abensberg) gelegenen Kiefernwald (leg. M. Lang, det. N. Arnold, M. Lang).

22.2 Vorreinigung des Rohextraktes

Wenn die Verarbeitung nicht unmittelbar nach der Ernte erfolgt, werden die Fruchtkörper mit flüssigem Stickstoff behandelt und anschließend bei -18°C gelagert. Zur Aufarbeitung werden sie unter Zusatz von Essigsäureethylester in einem Mixer zerkleinert und dann auf einer Schüttelplatte über mehrere Tage hinweg mehrmals mit Essigsäureethylester extrahiert. Die vereinigten Extrakte werden i. Vak. vom Lösungsmittel befreit und anschließend durch eine kurze Chromatographiesäule über acetyliertes Polyamid mit dem Eluenten Essigsäureethylester vorgereinigt. Der so behandelte Rohextrakt wird in wenig *n*-Hexan aufgenommen und über acetyliertes Polyamid chromatographiert. Als Eluenten dienen *n*-Hexan, Toluol und Essigsäureethylester. Mit Hexan eluiert die Hauptmenge des Bovichinon-4 (**101**) (gelbe Bande) zusammen mit weiteren lipophilen Stoffen, mit Toluol u.a. die Hauptmenge des Bovilacton-4,4 (**54**) (orangefarbene Bande). Ein kleiner Rest des Bovilactons eluiert mit Essigsäureethylester.

22.3 Reinigung von Bovichinon-4 (101)



Das in der Hexanfraktion aus der Polyamid-Säulenchromatographie enthaltene Bovichinon-4 (**101**) wird durch HSCC-Chromatographie gereinigt. Als Trennsystem dient *n*-Hexan : Eisessig : Methanol = 4:1:1. Die Phase mit der höheren Dichte wird als stationäre, die mit der geringeren Dichte als mobile Phase verwendet. Die 325 ml-Säule wird zur Reinigung von ca. 250 mg Roh-Bovichinon verwendet. Nach 3 h Chromatographieren bei 825 min^{-1} befindet sich der reine Naturstoff in der stationären Phase am Ende

des ersten Drittels der Säule. Die beim abschließenden Spülen der Säule verdrängte stationäre Phase wird fraktioniert, die gelben bovichinonhaltigen Fraktionen werden zusammengefaßt und zur Abtrennung des Hauptteils der Essigsäure mit Diethylether gegen Wasser ausgeschüttelt. Die Etherphase wird mehrmals mit Wasser gewaschen. Nach Entfernen des Lösungsmittels wird der Rückstand i. Vak. getrocknet.

Ausbeute etwa 15 mg / Fruchtkörper, orangefarbener Feststoff.[107]

R_f schmiert über den Bereich 0.52-0.70 (Toluol : HCO_2H : HCO_2Et = 10:5:3), grauviolett, mit Ammoniakdampf blau bis violett.

^{1}H-NMR (300 MHz, $CDCl_3$): δ = 1.56-1.61 (m, 9 H, 18'-H, 19'-H, 20'-H), 1.67 (s, 3 H, 16'-H), 1.74 (s, 3 H, 17'-H), 1.92-2.11 (m, 12 H, 4'-H, 5'-H, 8'-H, 9'-H, 12'-H, 13'-H), 3.16 (d, ^3J = 7.1 Hz, 2 H, 1'-H), 5.02-5.20 (m, 4 H, 2'-H, 6'-H, 10'-H, 14'-H), 6.00 (s, 1 H, 6-H), 7.69 (s, br., 2 H, 2 OH).

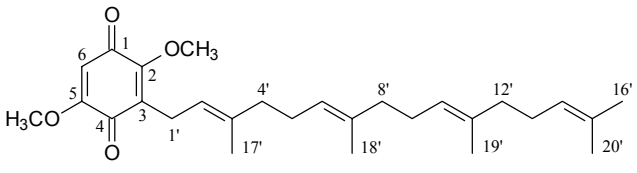
^{13}C-NMR (75 MHz, $CDCl_3$): δ = 16.06 / 16.09 (C-18', C-19'), 16.24 (C-17'), 17.75 (C-20'), 21.70 (C-1'), 25.76 (C-16'), 26.53 (C-5'), 26.71 / 26.84 (C-9', C-13'), 39.76 (2 CH_2) / 39.78 (C-4', C-8', C-12'), 102.30 (C-6), 116.12 (C-3), 119.08 (C-2'), 124.04 / 124.28 / 124.49 (C-6', C-10', C-14'), 131.32 (C-15'), 135.00 / 135.20 (C-7', C-11'), 137.68 (C-3').[108]

EI-MS *m/z* (%) = 414 (2) $[M+2]^+$, 413 (1) $[M+1]^+$, 412 (5) $[M]^+$, 410 (2), 343 (3) $[M–C_5H_9]^+$, 275 (3) $[M–C_5H_9–C_5H_8]^+$, 261 (4), 259 (8), 257 (5), 233 (8), 207 (5) $[M–C_5H_9–2×C_5H_8]^+$, 193 (19) $[C_{10}H_9O_4]^+$, 189 (9), 155 (12) $[C_7H_7O_4]^+$, 154 (11) $[C_7H_6O_4]^+$, 153 (10) $[C_7H_5O_4]^+$, 137 (8), 136 (10), 135 (11), 123 (10), 121 (18), 119 (10), 109 (10), 107 (11), 105 (8), 95 (14), 93 (17), 91 (12), 81 (44) $[C_6H_9]^+$, 69 (100) $[C_5H_9]^+$, 55 (12), 53 (9), 41 (31) $[C_3H_5]^+$.[109]

$C_{26}H_{36}O_4$ (412.57).

22.3.1 Bovichinon-4-dimethylether (146)

Die Methylierung von Bovichinon-4 (**101**) zu **146** erfolgt nach Lit.[392] Die vereinigten organischen Phasen wurden nicht wie dort angegeben mit NaOH,



[107] Für Schmp., IR-, UV- und MS-Daten s. Lit.[392]
[108] Aufgrund der bei RT raschen Tautomerie treten die Signale für C-1, C-2, C-4 und C-5 nicht in Erscheinung.
[109] Für die Interpretation der Ionen *m/z* = 193, 155, 154, 153 s. Lit.[392]

sondern mit Wasser und ges. NaCl-Lösung gewaschen. Die Reinigung erfolgt mittels Säulenchromatographie über Kieselgel mit dem Laufmittel Isohexan : Essigsäureethylester = 5:1.

Ausbeute 38 %, gelbes Öl.

R_f 0.37 (Isohexan : Essigsäureethylester = 5:1).

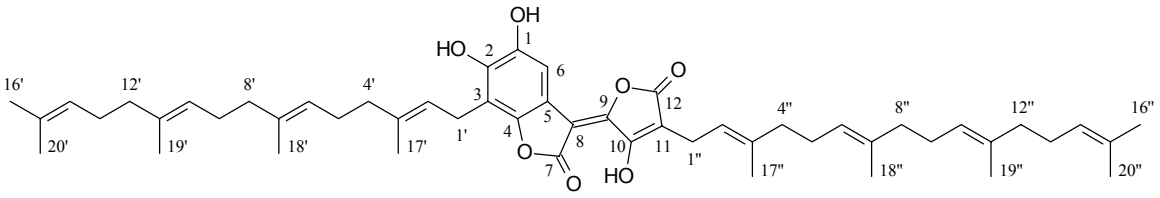
^{1}H-NMR (600 MHz, $CDCl_3$): δ = 1.57 (s, 3 H) / 1.58 (s, 3 H) / 1.59 (s, 3 H) (18'-H, 19'-H, 20'-H), 1.67 (s, 3 H, 16'-H), 1.73 (s, 3 H, 17'-H), 1.92-1.98 (m, 6 H) / 2.01-2.08 (m, 6 H) (4'-H, 5'-H, 8'-H, 9'-H, 12'-H, 13'-H), 3.14 (d, ^3J = 7.3 Hz, 2 H, 1'-H), 3.79 (s, 3 H, OCH_3), 4.05 (s, 3 H, OCH_3), 5.02-5.09 (m, 4 H, 2'-H, 6'-H, 10'-H, 14'-H), 5.72 (s, 1 H, 6-H).

^{13}C-NMR (151 MHz, $CDCl_3$): δ = 16.08 (2 CH_3) / 16.24 (C-17', C-18', C-19'), 17.75 (C-20'), 22.32 (C-1'), 25.76 (C-16'), 26.58 / 26.73 / 26.84 (C-5', C-9', C-13'), 39.80 (3 CH_2, C-4', C-8', C-12'), 56.44 (OCH_3), 61.38 (OCH_3), 105.45 (C-6), 119.77 (C-2'), 124.10 / 124.30 / 124.48 (C-6', C-10', C-14'), 129.60 (C-3), 131.33 (C-15'), 134.98 / 135.17 (C-7', C-11'), 137.34 (C-3'), 155.63 (C-2), 158.84 (C-5), 182.32 (C-4), 183.80 (C-1).[110]

EI-MS *m/z* (%) = 444 (9) $[M+4]^+$, 443 (33) $[M+3]^+$, 442 (57) $[M+2]^+$, 441 (12) $[M+1]^+$, 440 (19) $[M]^+$, 425 (2), 371 (2), 261 (13), 236 (14), 222 (33), 221 (74), 203 (16), 184 (19), 183 (46), 182 (29), 167 (17), 153 (9), 145 (10), 135 (11), 123 (10), 121 (13), 119 (12), 109 (11), 107 (11), 95 (12), 93 (15), 91 (12), 81 (33) $[C_6H_9]^+$, 69 (100) $[C_5H_9]^+$, 55 (11), 53 (11).

$C_{28}H_{40}O_4$ (440.62).

22.4 Reinigung von Bovilacton-4,4 (136)



Die Reinigung von Bovilacton-4,4 (**136**) aus der Toluol-Fraktion der Polyamid-Chromatographiesäule erfolgt mittels HSCC-Chromatographie. Als Trennsystem dient *n*-Hexan : Eisessig : Methanol = 4:1:1. Die Phase mit der höheren Dichte wird als stationäre, die mit der geringeren Dichte als mobile Phase verwendet. Die 230 ml-Säule wird bei 850 min^{-1} zur Trennung von ca. 60 mg Rohsubstanz eingesetzt. Bovilacton tritt als orangerote Lösung im

[110] Die Zuordnungen für C-2, C-3 und C-4 des Bovichinondimethylethers erfolgten nach Mühlbauer.[5]

Bereich von etwa 90-110 ml mit der mobilen Phase aus. Die entsprechenden Fraktionen werden zusammengefaßt, mit Diethylether versetzt und mehrmals mit Wasser gewaschen. Nach Entfernen des Lösungsmittels wird der Rückstand i. Vak. getrocknet.

Ausbeute etwa 1 mg / Fruchtkörper.[111]

R_f 0.80 (Toluol : HCO_2H : HCO_2Et = 10:5:3), orange, beim Stehen an Luft bald graubraun, mit Ammoniakdampf graubraun.

^{1}H-NMR (600 MHz, $CDCl_3$): δ = 1.57-1.61 (m, 18 H, 18'-H, 19'-H, 20'-H, 18''-H, 19''-H, 20''-H), 1.67 (s, 6 H, 16'-H, 16''-H), 1.74 (s, 3 H, 17''-H), 1.81 (s, 3 H, 17'-H), 1.92-2.13 (m, 24 H, 4'-H, 5'-H, 8'-H, 9'-H, 12'-H, 13'-H, 4''-H, 5''-H, 8''-H, 9''-H, 12''-H, 13''-H), 3.08 (d, ^3J = 7.1 Hz, 2 H, 1''-H), 3.45 (d, ^3J = 7.4 Hz, 2 H, 1'-H), 5.05-5.14 (m, 6 H, 6'-H, 10'-H, 14'-H, 6''-H, 10''-H, 14''-H), 5.25 („t“, ^3J ≈ 6.7 Hz, 1 H, 2''-H), 5.30 („t“, ^3J ≈ 6.6 Hz, 1 H, 2'-H), 6.15 (s, br., 1 H, OH), 7.29 (s, 1 H, 6-H), 11.73 (s, 1 H, OH).

^{13}C-NMR (151 MHz, $CDCl_3$): δ = 16.08 (2 CH_3) / 16.11 / 16.16 (C-18', C-19', C-18'', C-19''), 16.30 (C-17''), 16.38 (C-17'), 17.77 (2 CH_3, C-20', C-20''), 20.89 (C-1''), 23.10 (C-1'), 25.77 (2 CH_3, C-16', C-16''), 26.37 / 26.53 / 26.68 / 26.76 / 26.84 (2 CH_2) (C-5', C-9', C-13', C-5'', C-9'', C-13''), 39.70-39.84 (m, 6 CH_2, C-4', C-8', C-12', C-4'', C-8'', C-12''), 107.17 (C-8$^{\#}$), 107.70 (C-11), 109.04 (C-6), 112.50 (C-3$^{\#}$), 112.82 (C-5$^{\#}$), 118.06 (C-2''), 119.69 (C-2'), 123.63 / 123.99 / 124.22 / 124.30 / 124.48 / 124.51 (C-6', C-10', C-14', C-6'', C-10'', C-14''), 131.35 / 131.41 (C-15', C-15''), 135.01 / 135.14 / 135.31 / 135.78 (C-7', C-11', C-7'', C-11''), 138.36 (C-3''), 139.52 (C-3'), 141.54 (C-1), 146.21 (C-2), 147.23 (C-4), 150.76 (C-9), 161.53 (C-10), 167.83 (C-12), 173.33 (C-7).

EI-MS *m/z* (%) = 806 (0.15) $[M]^+$, 411 (1.1), 409 (1.5), 343 (2), 342 (2), 341 (3), 289 (3), 288 (3), 287 (5), 259 (5), 217 (6), 205 (7), 203 (5), 191 (9), 149 (10), 147 (9), 137 (11), 135 (20), 133 (9), 123 (16), 121 (23), 119 (13), 109 (23), 107 (21), 105 (16), 95 (25), 93 (27), 91 (20), 81 (57) $[C_6H_9]^+$, 69 (100) $[C_5H_9]^+$, 55 (16), 44 (33), 41 (11) $[C_3H_5]^+$.

$C_{52}H_{70}O_7$ (807.12).

[111] Für IR- und UV-Spektren s. Lit.[33]

22.5 Verfütterungsexperimente mit *S. bovinus*

2-[1'-^{13}C]Geranylgeranyl-4-hydroxybenzoesäure (**3***) / Liposomen: 28. September und 2. Oktober 2001.

[1'-^{13}C]Geranylgeranylhydrochinon (**5***) / Liposomen: 12. Oktober 2000.

2-[1'-^{13}C]Geranylgeranyl-3,4-dihydroxybenzoesäure (**4***) / Liposomen: 28. September und 2. Oktober 2001.

3-[1'-^{13}C]Geranylgeranylbenzol-1,2,4-triol (**7***) / Liposomen: 12. Oktober 2000.

[1',2'-$^{13}C_2$]Bovichinon-4 (**101****) zusammen mit 4-Hydroxy[1-^{13}C]benzoesäure (**92***) / 2-Hydroxypropyl-β-cyclodextrin: 12. Oktober 1999.

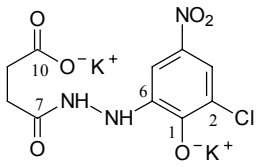
[1'-^{13}C]Bovichinon-4 (**101***) zusammen mit 4-Hydroxybenzoesäure (**92**) / Aceton: 14. Oktober 1999 (Ernte 18. Oktober 1999).

23 Isolierung, Synthese und Abbau von Stephanosporin

23.1 Fundort von *Stephanospora caroticolor*

Die untersuchten Exemplare von *Stephanospora caroticolor* (leg. I. Schwab, M. Lang, det. W. Steglich) wurden am 10. September 1999 in der Pupplinger Au, einem Mischwaldgebiet bei Wolfratshausen, Bayern, gesammelt.

23.2 Isolierung von Stephanosporin-Dikaliumsalz aus *Stephanospora caroticolor*



Die frisch gesammelten Fruchtkörper wurden unverzüglich und ohne Zerkleinerung mit Methanol extrahiert. Der Extrakt wurde sofort mittels Festphasenextraktion (RP18) vorgereinigt und daraufhin das Lösungsmittel i. Vak. entfernt. Der Rückstand wurde in 0.5 ml Methanol gelöst und mittels präparativer HPLC (System 3) gereinigt.

Ausbeute ca. 3 mg **163**-Dikaliumsalz aus zwei Fruchtkörpern (Frischgewicht ca. 3 g).

R_t 15.9 min (HPLC-System 3).

^{1}H-NMR (600 MHz, [D$_4$]Methanol): δ = 2.59 (m, 2 H, 9-H), 2.60 (m, 2 H, 8-H), 7.42 (d, ^4J = 3.0 Hz, 1 H, 5-H), 7.79 (d, ^4J = 3.0 Hz, 1 H, 3-H).

^{13}C-NMR (151 MHz, [D$_4$]Methanol): δ = 30.78 (C-9), 31.97 (C-8), 106.04 (C-5), 119.69 (C-3), 121.16 (C-2), 135.70 (C-4), 140.83 (C-6), 158.90 (C-1), 174.80 (C-7), 178.12 (C-10).

LC/(–)-ESI-MS *m/z* (%) = 304 (28) $[M–H]^-$ (^{37}Cl), 302 (100) $[M–H]^-$ (^{35}Cl).

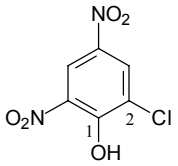
LC/(–)-ESI-MSMS (Mutterion: *m/z* = 302, 20 eV) *m/z* (%) = 302 (0.2) $[M–H]^-$, 266 (9) $[M–H–HCl]^-$, 202 (28) [2-Chlor-6-hydrazino-4-nitrophenol–H]$^-$, 186 (10), 156 (9) [2-Chlor-6-hydrazinophenol–H]$^-$, 154 (9), 116 (100) [Bernsteinsäuremonoamid–H]$^-$, 98 (16) [Succinimid–H]$^-$.

HR-(–)-ESI-MS gef. 302.0162, ber. 302.0179.

$C_{10}H_{10}ClN_3O_6$ (303.66) (protonierte Form).

23.3 Synthese von Stephanosporin (163)

2-Chlor-4,6-dinitrophenol (**165**)



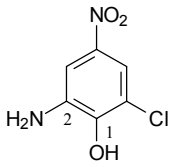
In einem Dreihalskolben mit zwei Schlauchanschlüssen, Rührfisch und Tropftrichter kühlt man 75 ml konz. (68 %) Salpetersäure auf 0°C und tropft unter Rühren 12.9 g (100 mmol) 2-Chlorphenol (**164**) zu. Jeder Tropfen verursacht wie von Faust[478],112 beschrieben Zischen und die Bildung nitroser Gase. Zu deren Vernichtung bläst man sie im Stickstoffstrom durch eine Waschflasche mit verd. Natronlauge. Nach Beendigung des Zutropfens wird das in Form eines gelben Feststoffes ausgefallene Produkt abfiltriert, mit kaltem Wasser gewaschen und i. Vak. getrocknet.

Ausbeute	17.1 g (78.2 mmol, 78 %), intensiv gelber Feststoff.
Schmp.	108-109°C (Lit.[478] 111°C).
R_f	0.83 (Toluol : HCO_2H : HCO_2Et = 10:5:3).
^{1}H-NMR	(300 MHz, $CDCl_3$): δ = 8.59 (d, ^4J = 2.6 Hz, 1 H), 8.99 (d, ^4J = 2.6 Hz, 1 H), 11.49 (s, 1 H, OH).
^{13}C-NMR	(75 MHz, $CDCl_3$): δ = 119.92 (C-3$^{\#}$), 126.39 (C-2), 131.65 (C-5$^{\#}$), 133.29 / 139.31 (C-4, C-6), 155.85 (C-1).
EI-MS	*m/z* (%) = 220 (37) $[M]^+$ (^{37}Cl), 218 (100) $[M]^+$ (^{35}Cl), 190 (11) $[M–NO]^+$ (^{37}Cl), 188 (34) $[M–NO]^+$ (^{35}Cl), 143 (10), 142 (10), 141 (30), 127 (12), 126 (21), 125 (25), 97 (13), 63 (16), 62 (25), 53 (15).
EA	ber. C 32.97 H 1.38 Cl 16.22 N 12.82 gef. C 32.92 H 1.53 Cl 15.94 N 12.81

$C_6H_3ClN_2O_5$ (218.55).

[112] Die Bezeichnungen in der Originalliteratur sind etwas verwirrend. Faust nahm damals – allerdings im Bewußtsein eines möglichen Fehlers – für 2-Chlorphenol die *meta*-Stellung der Substituenten an.[479] Infolgedessen bezeichnet er in Lit.[478] 2-Chlorphenol (**164**) als „Metachlorphenol“ und 2-Chlor-4,6-dinitrophenol (**165**) als „Metachlorparanitrometanitrophenol“. In einer „Berichtigung“ bezeichnet Faust das von Grieß[415],62 erstmals (in verunreinigter Form) dargestellte 2-Chlor-4,6-dinitrophenol als „Metachlordinitrophenol“.[480]

2-Amino-6-chlor-4-nitrophenol (**166**)

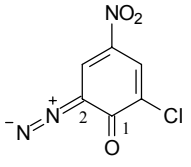


Nach Lit.[418] vereinigt man in einem Dreihalskolben mit KPG-Rührer und Thermometer 15.00 g (68.6 mmol, 218.5 Gew.-Teile) 2-Chlor-4,6-dinitrophenol (**165**), 34 ml (500 T) Wasser und 10 ml (136 T) 25-proz. wäßr. Ammoniaklösung und erwärmt das zähflüssige Gemisch auf 80°C. Innerhalb von 40 min tropft man 33.5 g (487.5 T) einer 35.4-proz. wäßrigen Natriumhydrogensulfidlösung (bestehend aus 17.4 g $NaHS{\cdot}H_2O$ (techn., 90 %) und 17 ml Wasser) zu. Anschließend werden 1.03 g (15 T) Natriumchlorid zugesetzt. Man kühlt im Wasserbad auf RT ab, wobei das verunreinigte Produkt ausfällt. Es wird abfiltriert, in 85 ml 2 N Salzsäure (entsprechend einem Gemisch aus 260 T 30 % HCl und 1000 T Wasser) für 20 min unter Rühren auf 80°C erwärmt und heiß filtriert. Man wäscht den Filterkuchen 2 × mit 10 ml 2 N HCl nach. Das Filtrat wird mit verd. Natronlauge auf einen pH-Wert von 3.5 eingestellt, wobei das Produkt ausfällt. Es wird abfiltriert, mit wenig Wasser gewaschen und i. Vak. getrocknet. Zur weiteren Reinigung kann in Diethylether gelöst und über Glaswolle filtriert werden.

Ausbeute	6.31 g (33.4 mmol, 48 %), roter Feststoff.
Schmp.	160-161°C (Lit.[415] 160°C).
UV/VIS	(Methanol) λ_{max} (lg ε) = 229 nm (4.030), 262 (4.054), 314 (3.598), 375 (3.519).
^{1}H-NMR	(300 MHz, [D$_6$]Aceton): δ = 7.31 (s, br., ~1 H, NH), 7.52 (d, ^4J = 2.6 Hz, 1 H), 7.55 (d, ^4J = 2.6 Hz, 1 H), 7.68 (s, br., ~1 H, NH).
^{13}C-NMR	(75 MHz, [D$_6$]Aceton): δ = 107.89 / 113.33 (C-3, C-5), 120.04 (C-6), 139.57 / 142.17 / 145.81 (C-1, C-2, C-4).
EI-MS	*m/z* (%) = 190 (53) $[M]^+$ (^{37}Cl), 188 (100) $[M]^+$ (^{35}Cl), 174 (4), 172 (13), 144 (25), 142 (82), 116 (15), 114 (55), 78 (31), 51 (29).

$C_6H_5ClN_2O_3$ (188.57).

6-Chlor-4-nitrobenzo-1,2-chinon-2-diazid (**167**)



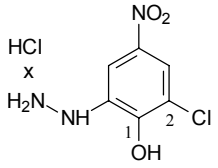
In einem Zweihalskolben mit Innenthermometer werden nach dem Verfahren von Lit.[419] 5.50 g (29.2 mmol) 2-Amino-6-chlor-4-nitrophenol (**166**) in 17.5 ml Methanol von 60°C gelöst. Unter Rühren werden 9 ml Eiswasser und 14.5 ml eiskalte konz. Salzsäure zugegeben, wobei eine kupferfarbene Suspension entsteht. Nach Kühlen auf 0°C wird langsam eine Lösung von

2.01 g (29.2 mmol) Natriumnitrit in 14.5 ml Wasser zugetropft, so daß die Temperatur der Lösung +5°C nicht überschreitet. Das ausgefallene Produkt wird abfiltriert, zwei- bis dreimal mit kaltem Wasser gewaschen und unter Lichtausschluß i. Vak. getrocknet.

Ausbeute	4.99 g (25.0 mmol, 85 %) gelber Feststoff, färbt sich an Licht schnell rot.
R_f	0.91 (Methylenchlorid : Aceton = 2:1), 0.43 (Toluol : HCO_2H : HCO_2Et = 10:5:3), zunächst gelb, nach kurzer Zeit dunkel, mit Ammoniakdampf tiefviolett.
Schmp.	Zers. ab ca. 100°C (lebhafte Verpuffung bei Erhitzen über 100°C[416]).
UV/VIS	(Methanol) λ_{max} (lg ε) = 266 nm (4.141), 330 (3.989), 401 (3.819).
IR	(KBr): $\tilde{\nu}$ = 3436 cm^{-1} (w, br.), 3096 (m), 2191 (s, $\nu_{N\equiv N}$), 1626 (s), 1609 (s), 1576 (s), 1541 (s), 1494 (m), 1398 (m), 1354 (s), 1325 (s), 1297 (m), 1173 (m), 1147 (s), 1064 (m), 1029 (m), 910 (m), 863 (m), 750 (s), 742 (s), 728 (s), 656 (m), 528 (w), 512 (w), 453 (w).
^{1}H-NMR	(600 MHz, [D_4]Methanol): δ = 8.40 (d, ^4J = 3.1 Hz, 1 H), 8.79 (d, ^4J = 3.1 Hz, 1 H).
^{13}C-NMR	(151 MHz, [D_4]Methanol): δ = 93.02 (C-2), 127.40 (C-3$^{\#}$), 131.02 (C-4†), 132.28 (C-5$^{\#}$), 134.11 (C-6†), 172.13 (C-1).
EI-MS	*m/z* (%) = 201 (23) $[M]^+$ (^{37}Cl), 199 (71) $[M]^+$ (^{35}Cl), 175 (32), 173 (100), 159 (7), 157 (20), 145 (27), 143 (91), 141 (27), 127 (29), 125 (31), 115 (28), 113 (72), 99 (73), 97 (72), 91 (31), 79 (33), 73 (29), 63 (51), 62 (98), 61 (51), 53 (41), 52 (27), 51 (23), 50 (21).
EA	ber. C 36.11 H 1.01 N 21.06 gef. C 36.12 H 1.18 N 20.76

$C_6H_2ClN_3O_3$ (199.55).

2-Chlor-6-hydrazino-4-nitrophenol-Hydrochlorid (**168**)



Zu einer Lösung von 2.99 g (15.0 mmol) 6-Chlor-4-nitrobenzo-1,2-chinon-2-diazid (**167**) in 15 ml Eisessig und 15 ml konz. Salzsäure wird nach Abkühlen auf 0°C langsam eine Lösung von 6.77 g (30.0 mmol, 2 Äquiv.) Zinn(II)-chlorid in 7 ml konz. Salzsäure getropft. Das ausgefallene Produkt wird abfiltriert, mehrmals mit halbkonz. Salzsäure sowie anschließend mehrmals mit Diethylether gewaschen und i. Vak. getrocknet.

Ausbeute 2.77 g (11.5 mmol, 77 %), graubrauner Feststoff.

Schmp. Zers. beim Erhitzen

UV/VIS (Methanol) λ_{max} (lg ε) = 231 (sh, 4.032), 270 (4.011), 307 (sh, 3.841), 384 (3.536).

IR (KBr): $\tilde{\nu}$ = 3378 cm^{-1} (ss), 3231 (s), 3102 (m), 2960 (s), 2726 (s), 1586 (s), 1533 (s), 1498 (m, sh), 1476 (m, sh), 1336 (ss), 1230 (s), 1164 (m), 1093 (m), 961 (m), 889 (m), 744 (m), 720 (m), 633 (w), 576 (w).

^{1}H-NMR (300 MHz, [D_4]Methanol): δ = 7.88 (d, ^4J = 2.6 Hz, 1 H), 8.00 (d, ^4J = 2.6 Hz, 1 H).

^{13}C-NMR (75 MHz, [D_4]Methanol): δ = 109.25 / 120.32 (C-3, C-5), 121.45 (C-2), 136.27 / 141.77 / 149.23 (C-1, C-4, C-6).

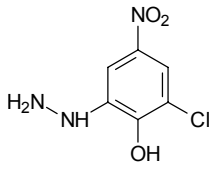
EI-MS *m/z* (%) = 205 (14) $[M–HCl]^+$ (^{37}Cl), 203 (47) $[M–HCl]^+$ (^{35}Cl), 190 (32) [2-Amino-6-chlor-4-nitrophenol]$^+$ (^{37}Cl), 189 (21), 188 (100) [2-Amino-6-chlor-4-nitrophenol]$^+$ (^{35}Cl), 187 (45), 175 (23), 173 (74), 144 (19), 143 (38), 142 (53), 114 (43), 99 (27), 91 (28), 78 (29), 63 (31), 51 (27).

EA

ber.	C 30.02	H 2.94	Cl 29.54	N 17.51
gef.	C 29.74	H 3.10	Cl 27.42	N 17.21

$C_6H_7Cl_2N_3O_3$ (240.05).

2-Chlor-6-hydrazino-4-nitrophenol (**170**)



Zu einer Lösung von 0.240 g (1.00 mmol) 2-Chlor-6-hydrazino-4-nitrophenol-Hydrochlorid (**168**) in 1.5 ml Methanol werden unter Schutzgas 125 µl (0.90 mmol) Triethylamin getropft. Jeder Tropfen verursacht kurze Rotfärbung, die aber sofort verschwindet. Der gelbe Niederschlag wird abfiltriert, 3 × mit jeweils 0.7 ml Methanol gewaschen und i. Vak. getrocknet.

Ausbeute 0.176 g (0.86 mmol, 96 % bzgl. NEt_3), gelber Feststoff.

Schmp. 108°C (Zers.).

UV/VIS (Methanol) λ_{max} (lg ε) = 231 (sh, 3.980), 266 (4.004), 311 (sh, 3.691), 387 (3.574).

^{1}H-NMR (200 MHz, [D_7]DMF, TMS): δ = 7.66 (d, ^4J = 2.8 Hz, 1 H), 7.69 (d, ^4J = 2.8 Hz, 1 H).

EI-MS *m/z* (%) = 205 (10) $[M]^+$ (^{37}Cl), 203 (32) $[M]^+$ (^{35}Cl), 190 (29) [2-Amino-6-chlor-4-nitrophenol]$^+$ (^{37}Cl), 189 (16), 188 (90) [2-Amino-6-chlor-4-nitrophe-

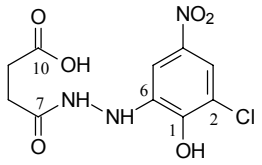
nol]$^+$ (^{35}Cl), 187 (31), 175 (32), 173 (100), 143 (47), 142 (47), 114 (37), 99 (38), 91 (32), 78 (22), 73 (22), 63 (34), 51 (24).

HR-EI-MS ber. 203.0098 (^{35}Cl), gef. 203.0070.

EA ber. C 35.40 H 2.97 Cl 17.41 N 20.64
gef. C 35.43 H 3.04 Cl 16.93 N 20.26

$C_6H_6ClN_3O_3$ (203.58).

Stephanosporin (**163**)



Unter kurzem Erwärmen löst man 0.330 g (3.30 mmol, 1.1 Äquiv.) Bernsteinsäureanhydrid in 7 ml Methanol und versetzt mit 0.720 g (3.00 mmol) 2-Chlor-6-hydrazino-4-nitrophenol-Hydrochlorid (**168**). Unter Rühren tropft man 0.46 ml (3.3 mmol, 1.1 Äquiv.) Triethylamin zu, säuert anschließend mit verd. Salzsäure an und gibt 15 ml Wasser zu. Nach einigen Stunden wird der goldgelbe Niederschlag abfiltriert, mehrmals mit Wasser gewaschen und i. Vak. getrocknet.

Ausbeute 0.638 g (2.10 mmol, 70 %), gelber Feststoff.

R_f 0.26 (Toluol : HCO_2H : HCO_2Et = 10:5:3).

Schmp. 191-194°C (Zers.).

UV/VIS (Methanol) λ_{max} (lg ε) = 225 (4.076), 258 (4.099), 311 (3.676), 351 (3.574).

IR (KBr): $\tilde{\nu}$ = 3354 cm^{-1} (s, br.), 3101 (m, sh), 2928 (m, sh), 1716 (s), 1658 (s), 1523 (s), 1432 (m), 1346 (s), 1230 (m), 1160 (w), 1078 (m), 978 (w), 878 (w), 745 (w).

^{1}H-NMR (300 MHz, [D$_4$]Methanol): δ = 2.56-2.72 (m, 4 H, 8-H, 9-H), 7.55 (d, ^4J = 2.5 Hz, 1 H, 5-H), 7.71 (d, ^4J = 2.5 Hz, 1 H, 3-H).

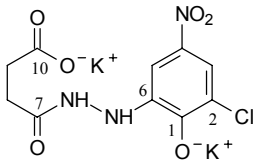
^{13}C-NMR (75 MHz, [D$_4$]Methanol): δ = 29.54 (C-9), 29.74 (C-8), 106.52 (C-5), 116.80 (C-3), 120.54 (C-2), 140.30 (C-6), 142.31 (C-4), 147.17 (C-1), 174.64 (C-7), 175.97 (C-10).

EI-MS *m/z* (%) = 305 (4) [M]$^+$ (^{37}Cl), 303 (13) [M]$^+$ (^{35}Cl), 287 (6), 285 (17), 259 (1), 257 (3), 205 (5) [2-Chlor-6-hydrazino-4-nitrophenol]$^+$ (^{37}Cl), 203 (17) [2-Chlor-6-hydrazino-4-nitrophenol]$^+$ (^{35}Cl), 190 (30), 188 (100), 175 (12), 174 (8), 173 (40), 172 (19), 160 (19), 158 (67), 145 (9), 144 (18), 143 (28), 142 (50), 114 (35), 99 (94), 56 (71), 44 (67), 43 (80).

EA	ber.	C 39.55	H 3.32	Cl 11.68	N 13.84
	gef.	C 39.55	H 3.31	Cl 11.47	N 13.70

$C_{10}H_{10}ClN_3O_6$ (303.66).

Stephanosporin (**163**)-Dikaliumsalz



Zu einer Lösung von 76 mg (0.25 mmol) Stephanosporin (**163**) in 1 ml trockenem Tetrahydrofuran werden tropfenweise 0.55 ml (0.55 mmol, 2.2 Äquiv.) einer 1 M Lösung von Kalium-*tert*-butylat in THF gegeben. Der dunkelrote Niederschlag wird abfiltriert, mehrmals mit THF und einmal mit Ethanol gewaschen und i. Vak. getrocknet.

Ausbeute 86 mg (0.23 mmol, 90 %), dunkelroter Feststoff.

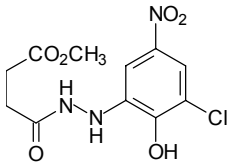
^{1}H-NMR (600 MHz, [D$_4$]Methanol): δ = 2.49-2.52 (m, 2 H), 2.54-2.57 (m, 2 H), 7.37 (d, ^4J = 3.0 Hz, 1 H, 5-H), 7.82 (d, ^4J = 3.0 Hz, 1 H, 3-H).[113]

^{13}C-NMR (151 MHz, [D$_4$]Methanol): δ = 31.99 (C-9), 34.33 (C-10), 105.90 (C-5), 120.80 (C-3), 133.07 (C-4), 141.11 (C-6), 163.51 (C-1), 175.26 (C-7), 180.72 (C-10).[113]

LC/(–)-ESI-MS und LC/(–)-ESI-MSMS sind identisch mit den Spektren des Naturstoffes.

$C_{10}H_8ClK_2N_3O_6$ (379.84).

Stephanosporin-Methylester (**171**)



Zu einer auf 0°C gekühlten Lösung von 81 mg (0.40 mmol) 2-Chlor-6-hydrazino-4-nitrophenol (**170**) in 0.75 ml trockenem Dimethylformamid tropft man unter Schutzgas eine Lösung von 63 mg (0.42 mmol) Bernsteinsäuremethylesterchlorid in 0.2 ml DMF. Man läßt auf RT kommen und setzt 5 ml Wasser und einige Tropfen 2 N Salzsäure zu. Beim Stehenlassen über Nacht bei RT fällt das Produkt aus. Man filtriert ab, wäscht mehrmals mit Wasser und trocknet i. Vak.

Ausbeute 68 mg (0.21 mmol, 53 %), gelber Feststoff.

[113] Da das synthetische Dikaliumsalz im Unterschied zum Naturstoff vollständig deprotoniert vorliegt, treten geringfügige Abweichungen der Signalverschiebungen auf.

R_f 0.70 (Chloroform : Methanol = 5:1 + wenig HOAc).

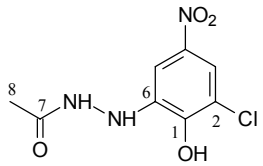
^{1}H-NMR (300 MHz, [D$_4$]Methanol): δ = 2.58-2.64 (m, 2 H), 2.67-2.75 (m, 2 H), 3.70 (s, 3 H), 7.49 (d, ^4J = 2.8 Hz, 1 H), 7.76 (d, 4J = 2.8 Hz, 1 H).

EI-MS *m/z* (%) = 319 (2) $[M]^+$ (^{37}Cl), 317 (4) $[M]^+$ (^{35}Cl), 287 (1) $[M–CH_4O]^+$ (^{37}Cl), 285 (3) $[M-CH_4O]^+$ (^{35}Cl), 190 (34), 188 (100), 144 (16), 142 (50), 130 (11), 116 (11), 115 (24), 114 (36), 99 (69), 78 (21), 56 (43).

HR-EI-MS ber. 317.0415, gef. 317.0433.

$C_{11}H_{12}ClN_3O_6$ (317.69).

1-Acetyl-2-(3-chlor-2-hydroxy-5-nitrophenyl)hydrazin (**169**)



Zu einer Lösung von 0.120 g (0.50 mmol) 2-Chlor-6-hydrazino-4-nitrophenol-Hydrochlorid (**168**) und 52µl (0.55 mmol) Acetanhydrid in 0.75 ml Methanol tropft man 77µl (0.55 mmol) Triethylamin. Anschließend setzt man 2 ml 0.5 N Salzsäure und 4 ml Wasser zu, filtriert den gebildeten Niederschlag ab, wäscht mit wenig Wasser und trocknet i. Vak.

Ausbeute 0.104 g (0.42 mmol, 84 %), gelber Feststoff.

IR (KBr): $\tilde{\nu}$ = 3368 cm^{-1} (s, br.), 1670 (s), 1614 (m), 1584 (m), 1526 (s), 1493 (s), 1435 (m), 1350 (s), 1230 (m), 1176 (m), 1158 (m), 1082 (w), 1002 (w), 981 (w), 870 (m), 746 (m).

^{1}H-NMR (200 MHz, [D$_4$]Methanol): δ = 2.06 (s, 3 H, 8-H), 7.46 (d, ^4J = 2.6 Hz) / 7.74 (d, ^4J = 2.6 Hz) (3-H, 5-H).

^{13}C-NMR (75 MHz, [D$_6$]DMSO): δ = 20.75 (C-8), 104.76 / 115.12 (C-3, C-5), 119.74 (C-2), 139.95 / 140.53 / 145.80 (C-1, C-4, C-6), 169.28 (C-7).

EI-MS *m/z* (%) = 247 (10) $[M]^+$ (^{37}Cl), 245 (33) $[M]^+$ (^{35}Cl), 205 (18) $[M–C_2H_2O]^+$ (^{37}Cl), 203 (60) $[M–C_2H_2O]^+$ (^{35}Cl), 190 (8), 189 (11), 188 (29), 187 (32), 175 (6), 173 (19), 160 (10), 158 (39), 145 (7), 143 (23), 129 (15), 114 (15), 94 (16), 79 (14), 78 (15), 59 (57), 44 (67), 43 (100) $[C_2H_3O]^+$.

HR-EI-MS ber. 245.0203, gef. 245.0206.

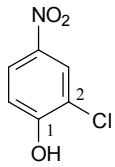
$C_8H_8ClN_3O_4$ (245.62).

23.4 Experimente zum Abbau von Stephanosporin (163)

Nachweise von 2-Chlor-4-nitrophenol (**162**) und 6-Chlor-4-nitrobenzo-1,2-chinon-2-diazid (**167**)

Die in Kap. 13.2.1 geschilderten Oxidationsversuche wurden in kleinen Ansätzen ohne Schutzgas bei RT durchgeführt. Eine Lösung des Oxidationsmittels (MnO_2 als Feststoff) wurde jeweils zu einer gerührten Lösung von Stephanosporin im selben Lösungsmittel gegeben. Wenn nicht anders angegeben, wurden 3 Äquivalente (bzgl. der übertragenen Elektronen) des Oxidationsmittels verwendet. Die Umsetzungen wurden bei Stephanosporin-Konzentrationen von 10 bis 50 mM durchgeführt. Die Auswertung erfolgte ca. 5 min nach der Zugabe dünnschichtchromatographisch anhand von Vergleichssubstanzen. Für R_f-Werte vgl. die Angaben bei den jeweiligen Substanzen. **167** kann durch das charakteristisches Färbungsverhalten auf dem Chromatogramm eindeutig identifiziert werden. Da bei der Oxidation mit NBS keine störenden paramagnetischen Ionen beteiligt sind, wurde diese im NMR-Rohr in [D_4]Methanol durchgeführt und das Chinondiazid **167** auch auf diese Weise eindeutig identifiziert.

Abbau des Stephanosporins (**163**) zu 2-Chlor-4-nitrophenol (**162**)



10.6 mg (35 µmol) Stephanosporin (**163**) werden in 0.7 ml Methanol gelöst. Unter Rühren wird eine Lösung von 59.8 mg (109 µmol, 3.1 Äquiv.) Cer(IV)-ammoniumnitrat schnell zugegeben. Nach 5 min Rühren wird mit Wasser und wenigen Tropfen verd. Salzsäure versetzt, mit Essigsäureethylester extrahiert, mit Wasser gewaschen und i. Vak. vom Lösungsmittel befreit. Die Reinigung erfolgt mittels Größenausschlußchromatographie an Sephadex LH-20 mit dem Eluenten Methanol. Eindeutige Identifizierung erfolgte durch Vergleich mit der käuflichen Verbindung.

Ausbeute	4.7 mg (27 µmol, 77 %), gelber Feststoff.
R_f	0.58 (Toluol : HCO_2H : HCO_2Et = 10:5:3), 0.88 (Methylenchlorid : Aceton = 2:1).
^{1}H-NMR	(200 MHz, [D_4]Methanol): δ = 7.05 (d, ^3J = 9.0 Hz, 1 H, 6-H), 8.10 (dd, ^3J = 9.0 Hz, ^4J = 2.8 Hz, 1 H, 5-H), 8.28 (d, ^4J = 2.8 Hz, 1 H, 3-H).

$C_6H_4ClNO_3$ (173.56).

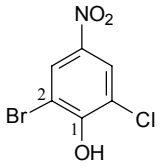
Nachweis des beim Abbau freigesetzten Succinanhydrides

1.2 mg (3.8 µmol) Stephanosporin (**163**) werden in 0.2 ml Tetrahydrofuran gelöst. 6.2 mg (11.4 µmol, 3 Äquiv.) Cer(IV)-ammoniumnitrat werden als Feststoff zugegeben. Die Lösung wurde direkt in das GC eingespritzt.

GC/EI-MS R_t = 8.24 min (Tprg. 2, Säule 2). Zum Vergleich 2-Chlor-4-nitrophenol: R_t = 15.03 min.
m/z (%) = 100 (3) $[M]^+$, 56 (100) $[M–CO_2]^+$, 44 (25), 42 (11).

$C_4H_4O_3$ (100.07).

2-Brom-6-chlor-4-nitrophenol (**180**)



10.6 mg (35 µmol) Stephanosporin (**163**) werden in 0.3 ml Methanol gelöst. Nach Zugabe von 0.9 ml Bromtrichlormethan wird sofort (noch vor Einsetzen der Niederschlagsbildung) unter Rühren eine Lösung von 57.6 mg (105 µmol, 3 Äquiv.) Cer(IV)-ammoniumnitrat in 0.15 ml Methanol zugesetzt. Nach 5 min Rühren wird mit Wasser und wenigen Tropfen verd. HCl versetzt und mit Essigsäureethylester extrahiert. Nach Waschen mit Wasser und Entfernen des Lösungsmittels i. Vak. wird durch Größenausschlußchromatographie an Sephadex LH-20 mit dem Eluenten Methanol gereinigt.

Ausbeute 5.2 mg (20.6 µmol, 59 %), gelbe Substanz.

R_f 0.73 (Toluol : HCO_2H : HCO_2Et = 10:5:3).

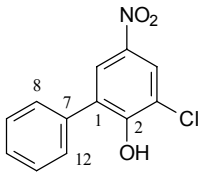
^{1}H-NMR (300 MHz, [D_4]Methanol): δ = 8.27 (d, ^4J = 2.8 Hz, 1 H, ArH), 8.37 (d, ^4J = 2.8 Hz, 1 H, ArH).

^{13}C-NMR (75 MHz, [D_4]Methanol): δ = 112.00 (C-2), 122.78 (C-6), 125.95 / 128.56 (C-3, C-5), 141.71 (C-4), 157.74 (C-1).

EI-MS *m/z* (%) = 255 (24) $[M]^+$ (^{37}Cl, ^{81}Br), 254 (11), 253 (100) $[M]^+$ (^{35}Cl, ^{81}Br u. ^{37}Cl, ^{79}Br), 252 (9), 251 (77) $[M]^+$ (^{35}Cl, ^{79}Br), 225 (11) $[M–NO]^+$ (^{37}Cl, ^{81}Br), 224 (6), 223 (43) $[M–NO]^+$ (^{35}Cl, ^{81}Br u. ^{37}Cl, ^{79}Br), 222 (5), 221 (34) $[M–NO]^+$ (^{35}Cl, ^{79}Br), 207 (9), 205 (7), 187 (5), 185 (5), 179 (11), 177 (9), 173 (8).

$C_6H_3BrClNO_3$ (252.45).

3-Chlor-5-nitro-1,1'-biphenyl-2-ol (**181**)



10.6 mg (35 µmol) Stephanosporin (**163**) werden in 0.3 ml Methanol gelöst. Nach Zugabe von 1.1 ml Benzol wird schnell (noch vor Einsetzen der Niederschlagsbildung) unter Rühren eine Lösung von 59.8 mg (109 µmol, 3.1 Äquiv.) Cer(IV)-ammoniumnitrat in 0.1 ml Methanol zugesetzt. Nach 5 min wird mit Wasser und wenigen Tropfen verd. Salzsäure versetzt und mit Essigsäureethylester extrahiert. Nach Waschen mit Wasser und Entfernen des Lösungsmittels i. Vak. erfolgt die Reinigung durch Größenausschlußchromatographie an Sephadex LH-20 mit dem Eluenten Aceton.

Ausbeute 1.8 mg (7.2 µmol, 20 %), gelbe Substanz.

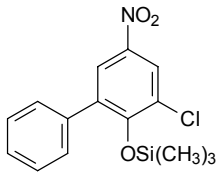
R_f 0.77 (Toluol : HCO_2H : HCO_2Et = 10:5:3).

^{1}H-NMR (200 MHz, [D_4]Methanol): δ = 7.34-7.50 (m, 3 H) / 7.56-7.62 (m, 2 H) (8-H bis 12-H), 8.07 (d, ^4J = 2.8 Hz, 1 H) / 8.24 (d, ^4J = 2.8 Hz, 1 H) (4-H, 6-H).

EI-MS *m/z* (%) = 252 (14) $[M+1]^+$(^{37}Cl), 251 (37) $[M]^+$ (^{37}Cl), 250 (44) $[M+1]^+$ (^{35}Cl), 249 (100) $[M]^+$(^{35}Cl), 221 (6) $[M–NO]^+$ (^{37}Cl), 219 (10) $[M–NO]^+$ (^{35}Cl), 175 (14), 173 (22), 168 (30), 139 (62), 99 (12), 63 (17).

$C_{12}H_8ClNO_3$ (249.65).

3-Chlor-2-trimethylsilyloxy-5-nitro-1,1'-biphenyl



Eine kleine Probe **181** wird silyliert (vgl. 15.1).

GC/EI-MS R_t = 23.16 min (Tprg. 2, Säule 2). Zum Vergleich 2-Chlor-1-trimethylsilyloxy-4-nitrobenzol: R_t = 16.75 min.
m/z (%) = 323 (10) $[M]^+$ (^{37}Cl), 321 (28) $[M]^+$ (^{35}Cl), 308 (43) $[M–CH_3]^+$ (^{37}Cl), 306 (100) $[M–CH_3]^+$ (^{35}Cl), 262 (6), 260 (16), 247 (4), 245 (11), 224 (5), 165 (8), 139 (11), 93 (13), 73 (23) $[Si(CH_3)_3]^+$, 45 (4).

$C_{15}H_{16}ClNO_3Si$ (321.84).

23.5 Biologische Aktivität von Stephanosporin und Derivaten

Antibiotische Aktivität im Agardiffusionsassay: Kulturplatten mit den Testkeimen wurden mit getränkten Discs (∅ 6 mm) belegt. Konzentration der Substanzen: 100 µg/ml. Bakterien: Nutrient broth (Difco) mit 2 % Agar, Inkubation bei 37°C. Pilze: YMG-Medium (4 g/l Hefeextrakt, 10 g/l Malzextrakt, 4 g/l Glucose, 20 g/l Agar), Inkubation bei 27°C. Angegeben ist der Hemmhofdurchmesser in mm. i: unvollständiger Hemmhof, -: keine Hemmzone.

	Stephanosporin (**163**)	**163**-Dikaliumsalz	Acetat **169**	Methylester **171**	2-Chlor-4-nitrophenol (**162**)
Bacillus subtilis	27	26	26	26	14
Bacillus brevis	31	33	40	31	22
Micrococcus luteus	21	13	23	14	-
Enterobacter dissolvens	-	-	-	-	14
Mucor miehei	19i	13i	20	-	38
Paecilomyces varioti	-	-	-	-	16
Penicillium notatum	-	-	-	-	22
Nematospora coryli	24	23	13	13	35

Cytotoxische Aktivität: gegen Colo 320-Zellen (Human colon adenocarcinoma DSMZ ACC 144) und L1210-Zellen (Mouse lymphocytic leukemia ATCC CCL219) für **163**, **163**-Dikaliumsalz, **169** und **171** keine cyctotoxische Aktivität bis zu Konzentrationen von 100 µg/ml. Wachstumsbedingungen: Die Zellen wurden in RPMI 1640-Medium (Gibco 52400-025) kultiviert, welches 10 % fetal calf serum (Gibco), 100 µg/ml Streptomycinsulfat und 65 µg/ml Penicillin G enthielt. Die Testsubstanzen wurden in Methanol oder Ethanol gelöst und in Mikrotiterplatten jeweils zu 200 µl Zellsuspension (4 bis $5 \cdot 10^4$ Zellen/ml) gegeben. Die Inkubation erfolgte bei 37°C in einer feuchten Atmosphäre mit 5 % CO_2-Gehalt. Zellwachstum und Lyse wurden drei Tage lang im Abstand von 24 h beobachtet.

Anhang

24 Abkürzungen

● ★	Symbole für ^{13}C-Isotopenanreicherungen
AAS	Atomabsorptionsspektroskopie
abs.	absolut
Ac	Acetyl
Anm.	Anmeldung (Patent), Anmerkung
Äquiv.	Äquivalent(e)
Ar	Aryl, Aren
aromat.	aromatisch
ber.	berechnet
Bu	Butyl
c	Konzentration
ca.	circa
CAN	Cer(IV)-ammoniumnitrat
COSY	correlated spectroscopy
Δ	Erhitzen
dba	Dibenzylidenaceton (1,5-Diphenyl-1,4-pentadien-3-on)
DBU	1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undec-7-en
DC	Dünnschichtchromatographie
DEPT	distortionless enhancement by polarisation transfer
det.	determinavit (bestimmt hat)
DMF	Dimethylformamid
DMSO	Dimethylsulfoxid
EA	Elementaranalyse
EEDQ	*N*-Ethoxycarbonyl-2-ethoxy-1,2-dihydrochinolin
EI	Elektronenstoßionisation
Et	Ethyl
eV	Elektronvolt
GC	Gaschromatographie
gef.	gefunden
ges.	gesättigt
Gew.	Gewicht
h	Stunde(n)
Hal	Halogen
Hex	Hexyl
HMBC	heteronuclear multiple bond connectivity
HMDS	Hexamethyldisilazan
HMPT	Hexamethylphosphorsäuretriamid
HMQC	heteronuclear multiple quantum connectivity
HPL(C)	high pressure liquid (chromatography)
HR	high resolution
Hrsg.	Herausgeber
HSCCC	high-speed countercurrent chromatography
i.d.R.	in der Regel
i. Ggw.	in Gegenwart

IR	Infrarot, Infrarotspektrum, Infrarotspektroskopie
i. Vak.	im Vakuum
K	Kelvin
k.A.	keine Angaben
konz.	konzentriert
LDA	Lithium-bis(trimethylsilyl)amid
leg.	legit (gesammelt hat)
Lit.	Literatur
LTMDA	*N*-Lithium-*N*,*N*',*N*'-trimethylethylendiamid
LUV	large unilamellar vesicles
µ	mikro ($\cdot 10^{-6}$)
m	milli ($\cdot 10^{-3}$), Meter
M	molar (mol/l)
M	Molekül(ion)
Me	Methyl
min	Minute(n)
MLV	multilamellar vesicles
MOM	Methoxymethyl
MS	Massenspektrum, Massenspektrometrie
MSTFA	*N*-Methyl-*N*-(trifluorsilyl)-trifluoracetamid
Mult.	Multiplizität
n	normal
N	normal (Konzentrationsangabe)
NBS	*N*-Bromsuccinimid
NMR	nuclear magnetic resonance
Nu	Nucleophil
NOESY	nuclear Overhauser effect spectroscopy
PCS	photon correlation spectroscopy
Pent	Pentyl
Ph	Phenyl
proz.	prozentig
Py	Pyridin
quant.	quantitativ
Rb.	Reaktionsbedingungen
RP	reversed phase
RT	Raumtemperatur
R_f	ratio to front
R_t	Retentionszeit
S.	*Suillus*
St.	*Stephanospora*
Schmp.	Schmelzpunkt
Sdp.	Siedepunkt
SUV	small unilamellar vesicles
t	tertiär
T	Gewichtsteil(e)
TBDMS	*t*-Butyldimethylsilyl
Tf	Triflat (Trifluormethansulfonylrest)
THF	Tetrahydrofuran
THP	Tetrahydropyranyl
TIPS	Triisopropylsilyl
TMEDA	*N*,*N*,*N*',*N*'-Tetramethylethylendiamin

TMS	Tetramethylsilan, Trimethylsilyl-
Tprg.	Temperaturprogramm
Ts	Tosyl
UV	Ultraviolett
Vak.	Vakuum
verd.	verdünnt
Vis	visible
Vol.	Volumen
wäßr.	wäßrig
w/v	Gewicht/Volumen
w/w	Gewicht/Gewicht
Zers.	(unter) Zersetzung

IR-Spektroskopie

br.	breit
m	mittel
s	stark
sh	Schulter
ss	sehr stark

NMR-Spektroskopie

br.	breit
d	Dublett
dd	Dublett von Dubletts
ddd	Dublett vom Dublett von Dubletts
dt	Dublett vom Triplett
dq	Dublett vom Quartett
dm	Dublett vom Multiplett
J	Kopplungskonstante
q	Quartett
m	Multiplett
s	Singulett
t	Triplett
td	Triplett vom Dublett
#, †	austauschbare Zuordnungen

25 Literatur

[1] M. Luckner, "Secondary Metabolism in Microorganisms, Plants, and Animals", 3. Aufl., Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, London, Paris, Tokyo, Hong Kong, **1990**, S. 62 ff (Methoden der Stoffwechseluntersuchung).

[2] T. J. Simpson, "Application of Isotopic Methods to Secondary Metabolic Pathways", in *Topics in Current Chemistry*, Vol. 195: "Biosynthesis - Polyketides and Vitamins" (Bd.-Hrsg.: F. J. Leeper, J. C. Vederas), Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, London, Paris, Tokyo, Hong Kong, **1997**, S. 1-48 (Methoden der Stoffwechseluntersuchung), S. 27 ff (der Fluorsubstituent als Label).

[3] S. Lang-Fugmann, "Untersuchungen zur Synthese und Biosynthese prenylierter Chinone in Höheren Pilzen", *Dissertation*, Rheinische Friedrich-Wilhelms-Universität, Bonn, **1987**.

[4] J. Beyer, "Untersuchungen zur Biosynthese von Tridentochinon und verwandten Pilzmetaboliten", *Dissertation*, Ludwig-Maximilians-Universität, München, **1995**.

[5] A. Mühlbauer, "Untersuchungen zur Biosynthese des Pilzfarbstoffes Tridentochinon und verwandter Meroterpenoide", *Dissertation*, Ludwig-Maximilians-Universität, München, **1998**.

[6] L. Wessjohann, B. Sontag, M.-A. Dessoy, "Enzymatic C-C Coupling: The Development of Aromatic Prenylation for Organic Synthesis", in *Bioorganic Chemistry* (Hrsg.: U. Diederichsen, T. K. Lindhorst, B. Westermann, L. A. Wessjohann), Wiley-VCH, **1999**, S. 79-88.

[7] N. J. McCorkindale, R. L. Baxter, "4-Methyl- and 7-Methylphthalan-1-one Derivatives of Mycophenolic Acid", *Tetrahedron* **1981**, *37*, 2131-2136.

[8] R. D. H. Murray, Z. D. Jorge, "Claisen Rearrangements - XII. Synthesis of the Coumarins, 5-Methoxyseselin, Trachyphylin, Coumurrayin and Xanthoxyletin", *Tetrahedron* **1984**, *40*, 3129-3132.

[9] Y. Tezuka, L. Ji, H. Hirano, M. Ueda, K. Nagashima, T. Kikuchi, "Studies on the Constituents of Orchidaceous Plants. IX.", *Chem. Pharm. Bull.* **1990**, *38*, 629-635.

[10] B. C. Pearce, R. A. Parker, M. E. Deason, A. A. Qureshi, J. J. K. Wright, "Hypocholesterolemic Activity of Synthetic and Natural Tocotrienols", *J. Med. Chem.* **1992**, *35*, 3595-3606.

[11] L. Crombie, W. M. L. Crombie, "Natural Products of Thailand High Δ^1-THC-Strain *Cannabis*. The Bibenzyl-spiran-dihydrophenanthrene Group: Relations with Cannabinoids and Canniflavones", *J. Chem. Soc., Perkin Trans. I* **1982**, 1455-1466.

[12] L. Crombie, S. V. Jamieson, "Dihydrostilbenes of Cannabis. Synthesis of Canniprene", *J. Chem. Soc., Perkin Trans. I* **1982**, 1467-1475.

[13] C. D. Snyder, H. Rapoport, "Synthesis of Menaquinones", *J. Am. Chem. Soc.* **1974**, *96*, 8046-8054.

[14] IUPAC-IUB, "Prenol Nomenclature, Recommendations 1986", *Eur. J. Biochem.* **1987**, *167*, 181-184.

[15] IUPAC-IUB, "Nomenclature of Quinones with Isoprenoid Side-Chains, Recommendations 1973", *Eur. J. Biochem.* **1975**, *53*, 15-18.

[16] Römpp Encyclopedia *Natural Products* (Hrsg.: W. Steglich, B. Fugmann, S. Lang-Fugmann), Georg-Thieme-Verlag, **2000**, S. 83 (Begriff der Biochinone), S. 413 u. 446 (Pilzgeruchsstoff).

[17] L. Claisen, F. Kremers, F. Roth, E. Tietze, "Über C-Alkylierung (Kernalkylierung) von Phenolen", *Justus Liebigs Ann. Chem.* **1925**, *442*, 210-245.

[18] S. B. Binkley, L. C. Cheney, W. F. Holcomb, R. W. McKee, S. A. Thayer, D. W. MacCorquodale, E. A. Doisy, "The Constitution and Synthesis of Vitamin K_1", *J. Am. Chem. Soc.* **1939**, *61*, 2558-2559.

[19] H. J. Almquist, A. A. Klose, "Synthetic and Natural Antihemorrhagic Compounds", *J. Am. Chem. Soc.* **1939**, *61*, 2557-2558.

[20] A. A. Klose, H. J. Almquist, "Synthesis of Vitamin K_1", *J. Biol. Chem.* **1940**, *132*, 469-470.

[21] L. F. Fieser, W. P. Campbell, E. M. Fry, M. D. Gates, Jr., "Synthetic Approach to Vitamin K_1", *J. Am. Chem. Soc.* **1939**, *61*, 2559-2559.

[22] O. Isler (Hoffmann-La Roche), "Process for Producing Condensation Products of 1,4-Naphthohydroquinones", US 2325681, **1943** (Anm. in der Schweiz **1939**); *Chem. Abstr.* **1944**, *38*, 1077^4.

[23] A. Rüttimann, "Recent Advances in the Synthesis of K-Vitamins", *Chimia* **1986**, *40*, 290-306.

[24] D. W. MacCorquodale, L. C. Cheney, S. B. Binkley, W. F. Holcomb, R. W. McKee, S. A. Thayer, E. A. Doisy, "The Constitution and Synthesis of Vitamin K", *J. Biol. Chem.* **1939**, *131*, 357-370.

[25] I. Tabushi, H. Sugimoto, A. Yazaki (Wakunaga Pharmaceutical Co., Ltd., Osaka, Japan), "Verfahren zur Herstellung von Vitamin K_1 und Vitamin K_2", DE 2907864, **1979**; *Chem. Abstr.* **1980**, *92*, 42164m.

[26] S. Bouzbouz, B. Kirschleger, "Total Synthesis of 2-Tetraprenylbenzoquinol and -benzoquinone", *Synthesis* **1994**, 714-718.

[27] S. Bouzbouz, B. Kirschleger, J. Villieras, "Synthèse totale de polyisoprénylquinones et hydroquinones", *Bull. Soc. Chim. Fr.* **1997**, *134*, 67-83.

[28] E. A. Kaczka, C. H. Shunk, J. W. Richter, F. J. Wolf, M. M. Gasser, K. Folkers, "Novobiocin. III. Cyclonovobioic Acid, a Methyl Glycoside, and Other Reaction Products", *J. Am. Chem. Soc.* **1956**, *78*, 4125-4127.

[29] H. Inouye, S. Ueda, K. Inoue, H. Matsumura, "Biosynthesis of Shikonin in Callus Cultures of *Lithospermum erythrorhizon*", *Phytochemistry* **1979**, *18*, 1301-1308.

[30] S. B. Blunt, T.-B. Chen, D. F. Wiemer, "Prenylated Benzoic Acids from *Rapanea myricoides*", *J. Nat. Prod.* **1998**, *61*, 1400-1403.

[31] G. D. Daves, Jr., H. W. Moore, D. E. Schwab, R. K. Olsen, J. J. Wilczynski, K. Folkers, "Synthesis of 2-Multiprenylphenols and 2-Multiprenyl-6-methoxyphenols, Biosynthetic Precursors of the Ubiquinones", *J. Org. Chem.* **1967**, *32*, 1414-1417.

[32] E. M. Treadwell, S. C. Cermak, D. F. Wiemer, "Synthesis of Schweinfurthin C, a Geranylated Stilbene from *Macaranga schweinfurthii*", *J. Org. Chem.* **1999**, *64*, 8718-8723.

[33] E. Jägers, "Untersuchungen zur Konstitution und Synthese polyprenylierter Chinone und Phenole", *Dissertation*, Rheinische Friedrich-Wilhelms-Universität, Bonn, **1981**.

[34] M. Gill, W. Steglich, "Pigments of Fungi (Macromycetes)", in *Fortschritte der Chemie organischer Naturstoffe*, Bd. 51 (Hrsg.: L. Zechmeister (Gründer), W. Herz, H. Grisebach, G. W. Kirby, C. Tamm), Springer-Verlag, Wien, New York, **1987**, S. 9 u. 11 (Umlagerung v. Grevillin B zu D), S. 14 (Thelephorsre. in *S. tridentinus*), S. 32 ff (Pulvinsäurederivate), S. 50 (Biosynthese der Pulvinsäuren), S. 100 (Bovichinonsynthese), S. 102 (Rhizopogon), S. 104 (Keten-Zwischenstufe bei der Bovilactonsynthese), S. 238-242 (*A. xanthoderma*).

[35] M. Murayama, E. Seto, T. Okubo, I. Morita, I. Dobashi, M. Maehara, "Synthetic Studies on Suberosin and Osthol", *Chem. Pharm. Bull.* **1972**, *20*, 741-746.

[36] C. Huang, Z. Zhang, Y. Li, "Total Synthesis of (*R*,*S*)-Sophoraflavanone C", *J. Nat. Prod.* **1998**, *61*, 1283-1285.

[37] J. Hlubucek, E. Ritchie, W. C. Taylor, "Synthesis of *o*-Isopentenylphenols", *Aust. J. Chem.* **1971**, *24*, 2355-2363.

[38] L. F. Fieser, "Synthesis of 2-Methyl-3-phytyl-1,4-naphthoquinone", *J. Am. Chem. Soc.* **1939**, *61*, 2559-2561.

[39] P. Karrer, H. Fritzsche, B. H. Ringier, H. Salomon, "α-Tocopherol", *Helv. Chim. Acta* **1938**, *21*, 520-525.

[40] L. F. Fieser, "Identity of Synthetic 2-Methyl-3-phytyl-1,4-naphthoquinone and Vitamin K_1", *J. Am. Chem. Soc.* **1939**, *61*, 2561-2561.

[41] L. F. Fieser, "Convenient Procedures for the Preparation of Antihemorrhagic Compounds", *J. Biol. Chem.* **1940**, *133*, 391-396.

[42] M. Tishler, L. F. Fieser, N. L. Wendler, "Nature of the By-product in the Synthesis of Vitamin K_1", *J. Am. Chem. Soc.* **1940**, *62*, 1982-1991.

[43] E. Jägers, V. Pasupathy, A. Hovenbitzer, W. Steglich, "Suillin, ein charakteristischer Inhaltsstoff von Röhrlingen der Gattung *Suillus* (Boletales)", *Z. Naturforsch.* **1986**, *41b*, 645-648.

[44] R. Hirschmann, R. Miller, N. L. Wendler, "The Synthesis of Vitamin K_1", *J. Am. Chem. Soc.* **1954**, *76*, 4592-4594.

[45] R. A. Morton, U. Gloor, O. Schindler, G. M. Wilson, L. H. Chopard-dit-Jean, F. W. Hemming, O. Isler, W. M. F. Leat, J. F. Pennock, R. Rüegg, U. Schwieter, O. Wiss, "Die Struktur des Ubichinons aus Schweineherzen", *Helv. Chim. Acta* **1958**, *41*, 2343-2357.

[46] R. E. Erickson, C. H. Shunk, N. R. Trenner, B. H. Arison, K. Folkers, "Coenzyme Q. XI. The Structure of Solanesol", *J. Am. Chem. Soc.* **1959**, *81*, 4999-5000.

[47] R. Rüegg, U. Gloor, R. N. Goel, G. Ryser, O. Wiss, O. Isler, "Synthese von Ubichinon(45) und Ubichinon(50)", *Helv. Chim. Acta* **1959**, *42*, 2616-2621.

[48] M. Kofler, A. Langemann, R. Rüegg, U. Gloor, U. Schwieter, J. Würsch, O. Wiss, O. Isler, "Struktur und Partialsynthese des pflanzlichen Chinons mit isoprenoider Seitenkette", *Helv. Chim. Acta* **1959**, *42*, 2252-2254.

[49] U. Gloor, O. Isler, R. A. Morton, R. Rüegg, O. Wiss, "Die Struktur des Ubichinons aus Hefe", *Helv. Chim. Acta* **1958**, *41*, 2357-2362.

[50] C. H. Shunk, B. O. Linn, E. L. Wong, P. E. Wittreich, F. M. Robinson, K. Folkers, "Coenzyme Q. II. Synthesis of 6-Farnesyl- and 6-Phytyl-Derivatives of 2,3-Dimethoxy-5-methylbenzoquinone and Related Analogs", *J. Am. Chem. Soc.* **1958**, *80*, 4753-4753.

[51] C. H. Shunk, R. E. Erickson, E. L. Wong, K. Folkers, "Coenzyme Q. X. Synthesis of Coenzyme Q_9, 2,3-Dimethyl-5-solanesylbenzoquinone (Q-254), and a Vitamin K Analog", *J. Am. Chem. Soc.* **1959**, *81*, 5000-5000.

[52] O. Isler, K. Doebel, "Synthesen in der Vitamin-K-Reihe I. Über totalsynthetisches Vitamin K_1", *Helv. Chim. Acta* **1954**, *37*, 225-233.

[53] H. Lindlar (Hoffmann-La Roche), "Verfahren zur Herstellung von Kondensationsprodukten", CH 320582, **1957** (Anm. **1953**); *Chem. Abstr.*: kein Eintrag.

[54] L. M. Jackman, R. Rüegg, G. Ryser, C. von Planta, U. Gloor, H. Mayer, P. Schudel, M. Kofler, O. Isler, "Totalsynthese und Stereochemie von *trans*- und *cis*-(*7'R*,*11'R*)-Phyllochinon und verwandten Verbindungen", *Helv. Chim. Acta* **1965**, *48*, 1332-1349.

[55] H. Sugihara, M. Sasaki, Y. Kawamatsu, "Synthese von Chinonen mit neuen Kondensationsmitteln", *Lieb. Ann. Chem.* **1972**, *763*, 121-127.

[56] R. Mechoulam, B. Yagen, "Stereoselective Cyclizations of Cannabinoid 1,5 Dienes", *Tetrahedron Lett.* **1969**, 5349-5352.

[57] L. Jurd, K. Stevens, G. Manners, "Biogenetic-Type Syntheses of *o*-Isopentenylphenols", *Tetrahedron Lett.* **1971**, *25*, 2275-2278.

[58] G. Manners, L. Jurd, K. Stevens, "Biogenetic-Type Syntheses of Isoprenoid and Diisoprenoid Derivatives of Orcinol", *Tetrahedron* **1972**, *28*, 2949-2959.

[59] B. Liu, L. Gu, J. Zhang, "Synthesis of Plastoquinone Derivatives with Different Structures of the Side Chain", *Recl. Trav. Chim. Pays-Bas* **1991**, *110*, 104-110.

[60] H. Inouye, K. Tokura, S. Tobita, "Zur Struktur des Pirolatins", *Chem. Ber.* **1968**, *101*, 4057-4065.

[61] G. Cimino, S. De Stefano, L. Minale, "Polyprenyl Derivatives from the Sponge *Ircinia spinosula*: 2-Polyprenylbenzoquinones, 2-Polyprenylbenzoquinols, prenylated Furans and C-31 Difuranoterpene", *Tetrahedron* **1972**, *28*, 1315-1324.

[62] W. Steck, "New Synthesis of Columbianetin and Related Coumarins", *Can. J. Chem.* **1971**, *49*, 1197-1201.

[63] H. W. Moore, K. Folkers, "New Method for Structural Assignments of Hydroxy Analogs of Coenzyme Q", *J. Am. Chem. Soc.* **1966**, *88*, 564-567.

[64] S. Imamoto, S. Senoh, "Two New Metabolites, 2-Nonaprenylphenol and 2-Nonaprenyl-3-methyl-6-methoxy-1,4-benzoquinone, from *Pseudomanas ovalis*", *Tetrahedron Lett.* **1967**, 1237-1240.

[65] R. J. Barkovich, A. Shtanko, J. A. Shepherd, P. T. Lee, D. C. Myles, A. Tzagoloff, C. F. Clarke, "Characterization of the *COQ5* Gene from *Saccharomyces cerevisiae*", *J. Biol. Chem.* **1997**, *272*, 9182-9188.

[66] W. W. Poon, R. J. Barkovich, A. Y. Hsu, A. Frankel, P. T. Lee, J. N. Shepherd, D. C. Myles, C. F. Clarke, "Yeast and Rat Coq3 and *Escherichia coli* UbiG Polypeptides Catalyze Both *O*-Methyltransferase Steps in Coenzyme Q Biosynthesis", *J. Biol. Chem.* **1999**, *274*, 21665-21672.

[67] K. L. Stevens, L. Jurd, G. Manners, "Transformations of Geraniol in Aqueous Acid Solutions", *Tetrahedron* **1972**, *28*, 1939-1944.

[68] H. Eto, C. Eguchi, "A Novel Solvent Effect in the Practical Synthesis of Ubiquinone-10", *Chem. Lett.* **1988**, 1597-1600.

[69] M. Watanabe, K. Okamoto, I. Imada, H. Morimoto, "Ubiquinone and Related Compounds. XXXI. Synthesis of Urinary Metabolites of Ubiquinone, Phylloquinone, α-Tocopherol and Their Related Compounds", *Chem. Pharm. Bull.* **1978**, *26*, 774-783.

[70] M. Schmid, F. Gerber, G. Hirth, "Stereoselektive Totalsynthese von natürlichem Phytol und Phytolderivaten und deren Verwendung zur Herstellung von natürlichem Vitamin K_1", *Helv. Chim. Acta* **1982**, *65*, 684-702.

[71] S. Araki, S. Manabe, Y. Butsugan, "An Efficient Regio- and Stereospecific Alkenylation of Phenolic Ethers by Prenyl and Geranyl Diisopropyl Phosphates", *Chem. Lett.* **1982**, 797-800.

[72] I. Tabushi, K. Fujita, H. Kawakubo, "One-Step Preparation of Vitamin K_1 or K_2 Analogues by Cyclodextrin Inclusion Catalysis", *J. Am. Chem. Soc.* **1977**, *99*, 6456-6457.

[73] I. Tabushi, K. Yamamura, K. Fujita, H. Kawakubo, "Specific Inclusion Catalysis by β-Cyclodextrin in the One-Step Preparation of Vitamin K_1 or K_2 Analogues", *J. Am. Chem. Soc.* **1979**, *101*, 1019-1026.

[74] I. Tabushi, Y. Kuroda, K. Fujita, H. Kawakubo, "Cyclodextrin as a Ligase-Oxidase Model. Specific Allylation-Oxidation of Hydroquinone Derivatives Included by β-Cyclodextrin", *Tetrahedron Lett.* **1978**, *24*, 2083-2086.

[75] K.-H. Glüsenkamp, G. Büchi, "C-Prenylation of Phenols Promoted by Aluminium Oxide Surfaces", *J. Org. Chem.* **1986**, *51*, 4481-4483.

[76] F. Bigi, G. Casiraghi, G. Casnati, G. Sartori, "Unusual Friedel-Crafts Reactions; I. Exclusive *ortho*-Allylation of Phenols", *Synthesis* **1981**, 310-312.

[77] T. Yoshizawa, H. Toyofuku, K. Tachibana, T. Kuroda, "Regioselective Polyprenyl Rearrangement of Polyprenyl 2,3,4,5-Tetrasubstituted Phenyl Ethers Promoted by Boron Trifluoride", *Chem. Lett.* **1982**, 1131-1134.

[78] F. X. Talamás, D. B. Smith, A. Cervantes, F. Franco, S. T. Cutler, D. G. Loughhead, D. J. Morgans, Jr., R. J. Weikert, "The Florisil® Catalyzed [1,3]-Sigmatropic Shift of Allyl Phenyl Ethers - An Entryway Into Novel Mycophenolic Acid Analogues", *Tetrahedron Lett.* **1997**, 4725-4728.

[79] R. Schmid, S. Antoulas, A. Rüttimann, M. Schmid, M. Vecchi, H. Weiser, "Synthesis of All Four Stereoisomers of (*E*)-Vitamin K_1 (Phylloquinone), Analysis of Their Diastereoisomeric and Enantiomeric Purities and Determination of Their Biopotencies", *Helv. Chim. Acta* **1990**, *73*, 1276-1299.

[80] W. G. Dauben, J. M. Cogen, V. Behar, "Clay Catalyzed Rearrangement of Substituted Allyl Phenyl Ethers: Synthesis of ortho-Allyl Phenols, Chromans and Coumarans", *Tetrahedron Lett.* **1990**, *31*, 3241-3244.

[81] E. J. Corey, L. I. Wu, "Enantioselective Total Synthesis of Miroestrol", *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, *115*, 9327-9328.

[82] R. M. Magid, E. C. Nieh, R. D. Gandour, "The Coupling Reaction of Phenyllithium with Allylic Chlorides. The Influence of Methyl Substituents on the Distribution of Products", *J. Org. Chem.* **1971**, *36*, 2099-2105.

[83] L. Syper, K. Kloc, J. Mlochowski, "Synthesis of Ubiquinone and Menaquinone Analogues by Oxidative Demethylation of Alkenylhydroquinone Ethers with Argentic Oxide or Ceric Ammonium Nitrate in the Presence of 2,4,6-Pyridine-Tricarboxylic Acid", *Tetrahedron* **1980**, *36*, 123-129.

[84] E. Keinan, D. Eren, "Total Synthesis of Linear Polyprenoids. 2. Improved Preparation of the Aromatic Nucleus of Ubiquinone", *J. Org. Chem.* **1987**, *52*, 3872-3875.

[85] K. Terashima, Y. Takaya, M. Niwa, "Powerful Antioxidative Agents Based on Garcinoic Acid from *Garcinia Kola*", *Bioorg. Med. Chem.* **2002**, *10*, 1619-1625.

[86] E. J. Corey, D. Floyd, B. H. Lipshutz, "(3-Methyl-3-methoxy-1-butynyl)copper, a Useful Reagent for the Generation of Mixed Cuprates", *J. Org. Chem.* **1978**, *43*, 3418-3421.

[87] H. Saimoto, J. Ueda, H. Sashiwa, Y. Shigemasa, T. Hiyama, "A General Approach for the Synthesis of Phenolic Natural Products. Facile Syntheses of Grifolin and Colletochlorins B and D", *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1994**, *67*, 1178-1185.

[88] L. A. Paquette (Hrsg.), "Encyclopedia of Reagents for Organic Synthesis", John Wiley & Sons, **1995**, S. 1325; S. 1957-1960.

[89] D. K. Johnson, J. Donohoe, J. Kang, "Dilithium Tetrachlorocuprate Catalyzed Coupling of Allylmagnesium Bromide with α,ω-Dihaloalkanes", *Synth. Commun.* **1994**, *24*, 1557-1564 u. zit. Lit.

[90] M. Bogenstätter, A. Limberg, L. E. Overman, A. L. Tomasi, "Enantioselective Total Synthesis of the Kinesin Motor Protein Inhibitor Adociasulfate 1", *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121*, 12206-12207.

[91] Y. Fujita, M. Ishiguro, T. Onishi, T. Nishida, "A New Efficient Method for the Preparation of Sulfone-Functionalized Prenylhydroquinones", *Synthesis* **1981**, 469-471.

[92] S. Terao, K. Kato, M. Shiraishi, H. Morimoto, "Synthesis of Ubiquinones. 2. An Efficient Preparation of Ubiquinone-10", *J. Org. Chem.* **1979**, *44*, 868-869.

[93] J.-E. Bäckvall, E. S. M. Persson, A. Bombrun, "Regiocontrol in Copper-Catalyzed Cross Coupling of Allylic Chlorides with Aryl Grignard Reagents", *J. Org. Chem.* **1994**, *59*, 4126-4130.

[94] B. Figadère, X. Franck, "S_N2 Versus S_N2'", in *Handbook of Grignard Reagents* (Hrsg.: G. S. Silverman, P. E. Rakita) (Chemical Industries, Vol. 64), Marcel Dekker, Inc., New York, Basel, Hong Kong, **1996**, S. 455-496.

[95] S. Suzuki, M. Shiono, Y. Fujita, "Grignard Coupling Reactions of (*Z*)-Trisubstituted Allylic Acetates with Retention of the Double Bond Stereo- and Regiochemistry", *Synthesis* **1983**, 804-806.

[96] R. C. Haley, J. A. Miller, H. C. S. Wood, "Phosphate Esters. Part II. The Formation of Monoterpene Hydrocarbons from Geranyl and Neryl Phosphates", *J. Chem. Soc. (C)* **1969**, 264-268.

[97] S. Araki, T. Sato, Y. Butsugan, "Regio- and Stereo-Specific Allylation of Grignard Reagents Using Allylic Phosphates", *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1982**, 285-286.

[98] S. Araki, T. Sato, H. Miyagawa, Y. Butsugan, "Convenient Synthesis of Vitamin K and Coenzyme Q by Coupling of Grignard Reagents with Allylic Phosphate", *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1984**, *57*, 3523-3525.

[99] M. F. Mechelke, D. F. Wiemer, "Preparation of Aromatic Farnesol Analogues via a Cu(I)-Mediated Grignard Coupling of THP Ethers", *Tetrahedron Lett.* **1998**, *39*, 783-786.

[100] M. Mechelke, D. F. Wiemer, "Synthesis of Farnesol Analogues through Cu(I)-Mediated Displacements of Allylic THP Ethers by Grignard Reagents", *J. Org. Chem.* **1999**, *64*, 4821-4829.

[101] K. Sato, O. Miyamoto, S. Inoue, T. Yamamoto, Y. Hirasawa, "An Efficient Stereoselective Synthesis of Co-enzyme Q10", *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1982**, 153-154.

[102] K. Mori, K. Sato, "A General Synthetic Method for Prenylated Phenols of Microbial Origin", *Tetrahedron* **1982**, *38*, 1221-1225.

[103] K. Mori, T. Fujioka, "Synthesis of (±)-Ascofuranone", *Tetrahedron Lett.* **1983**, *24*, 1547-1548.

[104] K. Mori, T. Fujitoka, "Synthesis of (±)-Ascochlorin, (±)-Ascofuranone and LL-Z1272α", *Tetrahedron* **1984**, *40*, 2711-2720.

[105] K. Mori, S. Takechi, "Synthesis of the Natural Enantiomers of Ascochlorin, Ascofuranone and Ascofuranol", *Tetrahedron* **1985**, *41*, 3049-3062.

[106] B. L. Chenard, M. J. Manning, P. W. Raynolds, J. D. Swenton, "Organocopper Chemistry of Quinone Bisketals. Application to the Synthesis of Isoprenoid Quinone Systems", *J. Org. Chem.* **1980**, *45*, 378-384.

[107] A. Rüttimann, P. Lorenz, "Ein neuer synthetischer Zugang zu Ubichinonen", *Helv. Chim. Acta* **1990**, *73*, 790-796.

[108] W. B. S. van Liemt, W. F. Steggerda, R. Esmeijer, J. Lugtenburg, "Synthesis and Spectroscopic Characterisation of ^{13}C-Labelled Ubiquinone-0 and Ubiquinone-10", *Recl. Trav. Chim. Pays-Bas* **1994**, *113*, 153-161.

[109] A. Merz, M. Rauschel, "Synthesis of Crown Ethers Related to Ubiquinones", *Synthesis* **1993**, 797-802.

[110] P. Ballester, M. Capó, X. Garcías, J. M. Saá, "Synthesis of Prenylated Quinones by the Oxydative Degradation Approach. Birch vs Vinylogous Birch Hydrogenolysis (BIHY vs VIBIHY) in Controlling $^{2}\Delta$ Stereochemistry of the Prenyl Chain", *J. Org. Chem.* **1993**, *58*, 328-334.

[111] X. Garcías, P. Ballester, M. Capó, J. Saá, "$^{2}\Delta$-Stereocontrolled Entry to (*E*)- or (*Z*)-Prenyl Aromatics and Quinones. Synthesis of Menaquinone-4", *J. Org. Chem.* **1994**, *59*, 5093-5096.

[112] D. A. Hutchison, K. R. Beck, R. A. Benkeser, J. B. Grutzner, "Concerning the Structure of Allylic Grignard Reagents", *J. Am. Chem. Soc.* **1973**, *95*, 7075-7082.

[113] A. Yanagisawa, S. Habaue, H. Yamamoto, "Direct Insertion of Alkali (Alkaline-Earth) Metals into Allylic Carbon-Halogen Bonds Avoiding Stereorandomization", *J. Am. Chem. Soc.* **1991**, *113*, 5893-5895.

[114] G. L. Kad, A. Khurana, V. Singh, J. Singh, "Microwave-Assisted Efficient Synthesis of Alliodorin and (±)-Curcuhydroquinone", *J. Chem. Res. (S)* **1999**, 164-165.

[115] D. A. Evans, J. M. Hoffman, "Regiospecific Quinone Isoprenylation. Examples of Remarkably Facile [3,3] Sigmatropic Processes", *J. Am. Chem. Soc.* **1976**, *98*, 1983-1984.

[116] E. J. Corey, M. F. Semmelhack, "Organonickel Compounds as Reagents for Selective Carbon-Carbon Bond Formation between Unlike Groups", *J. Am. Chem. Soc.* **1967**, *89*, 2755-2757.

[117] K. Sato, S. Inoue, K. Saito, "New Synthesis of Vitamin K", *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1972**, 953-953.

[118] K. Sato, S. Inoue, K. Saito, "A New Synthesis of Vitamin K *via* π-Allylnickel Intermediates", *J. Chem. Soc., Perkin Trans. I* **1973**, 2289-2293.

[119] K. Sato, S. Inoue, R. Yamaguchi, "A New Synthesis of Coenzyme Q_1", *J. Org. Chem.* **1972**, *37*, 1889-1892.

[120] S. Inoue, R. Yamaguchi, K. Saito, K. Sato, "The Synthesis of Coenzyme Q", *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1974**, *47*, 3098-3101.

[121] S. Inoue, K. Saito, K. Kato, S. Nozaki, K. Sato, "Selective Synthesis of Monomethyltocols *via* η-Allylnickel Complexes", *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **1974**, 2097-2101.

[122] L. S. Hegedus, E. L. Waterman, J. Catlin, "Reactions of π-Allylnickel Bromide Complexes with Conjugated Systems. I. Reaction with Quinones. The Synthesis of Coenzyme Q_1 and Plastoquinone-1", *J. Am. Chem. Soc.* **1972**, *94*, 7155-7157.

[123] L. S. Hegedus, B. R. Evans, D. E. Korte, E. L. Waterman, K. Sjöberg, "Reactions of π-Allylnickel Bromide Complexes with Quinones. Synthesis of Isoprenoid Quinones", *J. Am. Chem. Soc.* **1976**, *98*, 3901-3909.

[124] K. Maruyama, Y. Naruta, "Allylation of Quinones with Allyltin Reagents. New Synthesis of Coenzyme Q_1 and Plastoquinone-1", *J. Org. Chem.* **1978**, *43*, 3796-3798.

[125] K. Mori, M. Waku, M. Sakakibara, "Synthesis of Arnebinol, an Ansa-Type Prenylated Phenol with Effects Inhibitory to Prostaglandin Biosynthesis", *Tetrahedron* **1985**, *41*, 2825-2830.

[126] Y. Naruta, "Regio- and Stereoselective Synthesis of Coenzymes Q_n (n = 2-10), Vitamin K, and Related Polyprenylquinones", *J. Org. Chem.* **1980**, *45*, 4097-4104.

[127] Y. Naruta, K. Maruyama, "Ubiquinone-1", *Org. Synth.* **1993**, *71*, 125-131.

[128] Y. Naruta, K. Maruyama, "Regio- and Stereocontrolled Polyprenylation of Quinones. A New Synthetic Method of Coenzyme Q_2, Q_3, Q_9, and Q_{10}", *Chem. Lett.* **1979**, 885-888.

[129] E. Sabin, C. Boullais, "Synthesis of (2'*Z*,6'*E*) and (2'*E*,6'*E*)-[1'-^{13}C] Ubiquinone 3 by means of (2*E*,6*E*) and (2*Z*,6*E*)-[1-^{13}C] Farnesyltrimethyltin Reagents", *J. Labelled Cpd. Radiopharm.* **1998**, *41*, 899-909.

[130] C. Boullais, C. Rannou, E. Réveillère, C. Mioskowski, "Synthesis of [3-D_3]-, [3-^{13}C]-, and [1,2-$^{13}C_2$]Propynes and Their Use for the Synthesis of [5-D_3-Methyl]-, [5-^{13}C-Methyl]-, and [5,6-$^{13}C_2$-2,5-Cyclohexadienyl]ubiquinones 3", *Eur. J. Org. Chem.* **2000**, 723-727.

[131] Y. Naruta, K. Maruyama, "Regio- and Stereocontrolled Polyprenylation of Quinones. A New Synthetic Method of Vitamin K Series", *Chem. Lett.* **1979**, 881-884.

[132] Y. Naruta, "Allyation of Quinones with Allyltin Reagents", *J. Am. Chem. Soc.* **1980**, *102*, 3774-3783.

[133] A. Takuwa, O. Soga, T. Mishima, "Stereochemistry in the Reactions of (*Z*)- and (*E*)-Allyltributylstannyl Reagents with Quinones", *J. Org. Chem.* **1987**, *52*, 1261-1265.

[134] A. Takuwa, Y. Naruta, O. Soga, K. Maruyama, "Reactions of 1,2-Naphthoquinones with Allyltrialkyltins", *J. Org. Chem.* **1984**, *49*, 1857-1864.

[135] S. Araki, N. Katsumura, Y. Butsugan, "Allylation of Quinones by Allylic Indium Reagents", *J. Organomet. Chem.* **1991**, *415*, 7-24.

[136] J. P. Godschalx, J. K. Stille, "Cross-Coupling Reaction of Allyl Bromides with Organotin Reagents Catalyzed by Zinc Chloride", *Tetrahedron Lett.* **1983**, *24*, 1905-1908.

[137] N. A. Bumagin, I. G. Bumagina, A. N. Kashin, I. P. Beletskaya, *Zh. Obshch. Khim.* **1982**, *52*, 714-714; engl. Übers.: "Allyldemetalation of Organotin Compounds Catalyzed by π-Allylchloropalladium Dimer", *J. Gen. Chem. USSR* **1982**, *52*, 621-621.

[138] F. K. Sheffy, J. K. Stille, "Palladium-Catalyzed Cross-Coupling of Allyl Halides with Organotins", *J. Am. Chem. Soc.* **1983**, *105*, 7173-7175.

[139] F. K. Sheffy, J. P. Godschalx, J. K. Stille, "Palladium-Catalyzed Cross Coupling of Allyl Halides with Organotin Reagents: A Method of Joining Highly Functionalized Partners Regioselectively and Stereospecifically", *J. Am. Chem. Soc.* **1984**, *106*, 4833-4840.

[140] L. Del Valle, J. K. Stille, L. S. Hegedus, "Palladium-Catalyzed Coupling of Allylic Acetates with Aryl- and Vinylstannanes", *J. Org. Chem.* **1990**, *55*, 3019-3023.

[141] K. Mori, S. Takanashi, "Synthesis of Lurlene", *Tetrahedron Lett.* **1996**, *37*, 1821-1824.

[142] S. Takanashi, K. Mori, "Synthesis of Lurlenic Acid and Lurlenol", *Lieb. Ann. Chem./Recl.* **1997**, 825-838.

[143] A. M. Castaño, A. M. Echavarren, "Palladium-Catalyzed Cross-Coupling Reaction of Allyl Carbonates with Organostannanes", *Tetrahedron Lett.* **1996**, *37*, 6587-6590.

[144] D. R. Tueting, A. M. Echavarren, J. K. Stille, "Palladium Catalyzed Coupling of Organostannanes with Vinyl Epoxides", *Tetrahedron* **1989**, *45*, 979-992.

[145] L. S. Liebeskind, B. S. Foster, "Stannylquinones. Synthesis and Utilization as Quinone Carbanion Synthetic Equivalents", *J. Am. Chem. Soc.* **1990**, *112*, 8612-8613.

[146] M. Kosugi, K. Sasazawa, Y. Shimizu, T. Migita, "Reactions of Allyltin Compounds III. Allylation of Aromatic Halides with Allyltributyltin in the Presence of Tetrakis(triphenylphosphine)palladium(0)", *Chem. Lett.* **1977**, 301-302.

[147] J. A. Shepherd, W. W. Poon, D. C. Myles, C. F. Clarke, "The Biosynthesis of Ubiquinone: Synthesis and Enzymatic Modification of Biosynthetic Precursors", *Tetrahedron Lett.* **1996**, *37*, 2395-2398.

[148] A. Y. Hsu, W. W. Poon, J. A. Shepherd, D. C. Myles, C. F. Clarke, "Complementation of *coq3* Mutant Yeast by Mitochondrial Targeting of the *Escherichia coli* UbiG Polypeptide: Evidence that UbiG Catalyzes both *O*-Methylation Steps in Ubiquinone Biosynthesis", *Biochemistry* **1996**, *35*, 9797-9806.

[149] Y.-S. Jung, B.-Y. Joe, C.-M. Seong, N.-S. Park, "Synthesis of Ubiquinones Utilizing Pd(0)-Catalyzed Stille Coupling", *Bull. Korean Chem. Soc.* **2000**, *21*, 463-464.

[150] P. A. Plé, A. Hamon, G. Jones, "A Convergent Synthesis of Mycophenolic Acid", *Tetrahedron* **1997**, *53*, 3395-3400.

[151] L. Claisen, "Über Umlagerung von Phenol-allyläthern in *C*-Allyl-phenole", *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1912**, *45*, 3157-3166.

[152] L. Claisen, E. Tietze, "Über den Mechanismus der Umlagerung der Phenol-allyläther", *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1925**, *58*, 275-281.

[153] R. D. H. Murray, M. M. Ballantyne, K. P. Mathai, "A Method to Introduce a 3,3-Dimethylallyl Unit ortho to a Phenol", *Tetrahedron Lett.* **1970**, 243-244.

[154] R. D. H. Murray, M. M. Ballantyne, K. P. Mathai, "Claisen Rearrangements - III. Convenient Synthesis of the Coumarins, Osthenol, Demethylsuberosin and Coumurrayin", *Tetrahedron* **1971**, *27*, 1247-1251.

[155] H.-H. Lee, "Synthesis of the Mangostins", *J. Chem. Soc., Perkin Trans. I* **1981**, 3205-3213.

[156] J. Salvá, F. Rodriguez Luis, E. Pando, G. M. Massanet, R. Hernández Galán, "Synthesis of C-8 Prenylated and Angular 3-(1',1'-Dimethylallyl)coumarins", *Heterocycles* **1990**, *31*, 255-258.

[157] N. Cairns, L. M. Harwood, D. P. Astles, "Application of the Lewis Acid-Catalysed Claisen Rearrangement of 4'-(1,1-Dimethylallyloxy)coumarates to the Synthesis of Demethylsuberosin", *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1986**, 750-751.

[158] R. D. H. Murray, M. M. Ballantyne, T. C. Hogg, P. H. McCabe, "Claisen Rearrangements - VI. Synthesis of the Coumarins, Sesibiricin and Toddaculin", *Tetrahedron* **1975**, *31*, 2960-2965.

[159] L. Heide, M. Tabata, "Enzyme Activities in Cell-Free Extracts of Shikonin-Producing *Lithospermum erythrorhizon* Cell Suspension Cultures", *Phytochemistry* **1987**, *26*, 1645-1650.

[160] L. Wessjohann, B. Sontag, "Prenylierung von Benzoesäurederivaten, katalysiert durch eine Transferase aus *Escherichia-coli*-Überproduzenten: Verfahrensentwicklung und Substratspezifität", *Angew. Chem.* **1996**, *108*, 1821-1823; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1996**, *35*, 1697-1699.

[161] L. Wessjohann, B. Sontag, "Entwicklung einer enzymatischen C-C-Verknüpfung: Die Prenylierung von Aromaten", *GIT Labor-Fachzeitschrift* **1998**, *42*, 229-230.

[162] J. Hibino, S. Matsubara, Y. Morizawa, K. Oshima, "Regioselective Stannylmetalation of Acetylenes in the Presence of Transition-Metal Catalyst", *Tetrahedron Lett.* **1984**, *25*, 2151-2154.

[163] E. Negishi, H. Matsushita, N. Okukado, "Highly Selective Synthesis of Allylated Arenes and Diarylmethanes via Palladium-Catalyzed Cross Coupling Involving Benzylic Derivatives", *Tetrahedron Lett.* **1981**, *22*, 2715-2718.

[164] B. H. Lipshutz, G. Bulow, R. F. Lowe, K. L. Stevens, "A Novel Route to Coenzyme Q_n", *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118*, 5512-5513.

[165] B. H. Lipshutz, S.-K. Kim, P. Mollard, K. L. Stevens, "An Expedious Route to CoQ_n, Vitamins K_1 and K_2, and Related Allylated *para*-Quinones Utilizing Ni(0) Catalysis", *Tetrahedron* **1998**, *54*, 1241-1253.

[166] B. H. Lipshutz, G. Bulow, F. Fernandez-Lazaro, S.-K. Kim, R. Lowe, P. Mollard, K. L. Stevens, "A Convergent Approach to Coenzyme Q", *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121*, 11664-11673.

[167] E. Negishi, S.-Y. Liou, C. Xu, S. Huo, "A Novel, Highly Selective, and General Methodology for the Synthesis of 1,5-Diene-Containing Oligoisoprenoids of all Possible Geometrical Combinations Exemplified by an Iterative and Convergent Synthesis of Coenzyme Q", *Org. Lett.* **2002**, *4*, 261-264.

[168] S. Ohta, A. Nozaki, N. Ohashi, M. Matsukawa, M. Okamoto, "A Total Synthesis of Grifolin", *Chem. Pharm. Bull.* **1988**, *36*, 2239-2243.

[169] G. Sartori, G. Casiraghi, L. Bolzoni, G. Casnati, "General Synthesis of 2*H*-Benzo[*b*]pyrans (Chrom-3-enes) from Metal Phenoxides and α,β-Unsaturated Carbonyl Compounds", *J. Org. Chem.* **1979**, *44*, 803-805.

[170] J. O. Asgill, L. Crombie, D. A. Whiting, "Chromenylation of 2-Naphthol and Alkylhydroquinones", *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1978**, 59-60.

[171] S. E. N. Mohamed, P. Thomas, D. A. Whiting, "A New Synthesis for *o*-Prenyl Phenols", *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1983**, 738-739.

[172] S. E. N. Mohamed, P. Thomas, D. A. Whiting, "Synthesis of the Phytoalexin (±)-Phaseolin: 3-Phenylthiochromans as Masked 2*H*-Chromenes and *o*-Prenyl Phenols", *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **1987**, 431-437.

[173] E. Keinan, D. Eren, "Total Synthesis of Polyprenoid Natural Products via Pd(0)-Catalyzed Oligomerizations", *Pure Appl. Chem.* **1988**, *60*, 89-98.

[174] D. Eren, E. Keinan, "Total Synthesis of Linear Polyprenoids. 3. Syntheses of Ubiquinones via Palladium-Catalyzed Oligomerization of Monoterpene Monomers", *J. Am. Chem. Soc.* **1988**, *110*, 4356-4362.

[175] A. Yanagisawa, N. Nomura, Y. Noritake, H. Yamamoto, "Highly S_N2'-, (*E*)-, and Antiselective Alkylation of Allylic Phosphates. Facile Synthesis of Coenzyme Q_{10}", *Synthesis* **1991**, 1130-1136.

[176] J. F. Biellmann, J. B. Ducep, "Synthese du Squalene par Couplage Queue a Queue", *Tetrahedron Lett.* **1969**, *42*, 3707-3710.

[177] J. F. Biellmann, J. B. Ducep, "Synthèse du Squalène et D'Analogues", *Tetrahedron* **1971**, *27*, 5861-5872.

[178] L. J. Altman, L. Ash, S. Marson, "A New, Highly Stereoselective Synthesis of all *trans*-Geranylgeraniol", *Synthesis* **1974**, 129-131.

[179] S. Terao, K. Kato, M. Shiraishi, H. Morimoto, "Synthesis of Ubiquinones. Elongation of the Heptaprenyl Side-Chain in Ubiquinone-7", *J. Chem. Soc., Perkin Trans. I* **1978**, 1101-1110.

[180] Y. Masaki, K. Hashimoto, K. Kaji, "Syntheses of Ubiquinone-10, Phylloquinone, and Menaquinone-4 by a Chain-Extending Method Utilizing Terminally Functionalized Isoprenoidhydroquinones", *Chem. Pharm. Bull.* **1984**, *32*, 3959-3967.

[181] A. B. Veselovskii, A. M. Moiseenkov, T. M. Filippova, E. A. Obol'nikova, G. I. Samokhvalov, *Izv. Akad. Nauk. SSSR, Ser. Khim.* **1988**, 695-701; engl. Übers.: "C5-Homologation of Ubiquinone-9 to Ubiquinone-10 Using Sulfur-Containing Synthons", *Bull. Acad. Sci. USSR, Div. Chem. Sci.* **1988**, *37*, 594-599.

[182] M. Mohri, H. Kinoshita, K. Inomata, H. Kotake, H. Takagaki, K. Yamazaki, "Palladium-Catalyzed Regio- and Stereoselective Reduction of Allylic Compounds with $LiHBEt_3$. Application to the Synthesis of Co-enzyme Q_{10}", *Chem. Lett.* **1986**, 1177-1180.

[183] Y. Fujita, M. Ishiguro, T. Onishi, T. Nishida, "A New Efficient and Stereoselective Synthesis of Ubiquinone-10", *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1982**, *55*, 1325-1326.

[184] S. Takanashi, K. Mori, "Synthesis of the Analogues of Lurlenic Acid with Modification in the Side-Chain or in the Aromatic Nucleus: Summary of the Structure-Activity Relationships", *Eur. J. Org. Chem.* **1998**, 43-55.

[185] K. H. Dötz, I. Pruskil, J. Mühlemeier, "Carbonyl(carben)-Komplex-induzierte Synthese von Vitaminen der K_1- und K_2-Reihe", *Chem. Ber.* **1982**, *115*, 1278-1285.

[186] J. Mulzer, H.-J. Altenbach, M. Braun, K. Krohn, H.-U. Reissig, "Organic Synthesis Highlights", VCH, **1991**, S. 186-191.

[187] K. H. Dötz, W. Kuhn, "Eine Carben-Komplex-Route zu Vitamin E", *Angew. Chem.* **1983**, *95*, 750-751.

[188] L. D. Foland, O. H. W. Decker, H. W. Moore, "Synthesis of Isoarnebifuranone, Nanaomycin, and Deoxyfrenolicin. Structure Elucidation of Arnebifuranone", *J. Am. Chem. Soc.* **1989**, *111*, 989-995.

[189] H. Xie, Y. Shao, J. M. Becker, F. Naider, R. A. Gibbs, "Synthesis and Biological Evaluation of the Geometric Farnesylated Analogues of the a-Factor Mating Peptide of *Saccharomyces cerevisiae*", *J. Org. Chem.* **2000**, *65*, 8552-8563.

[190] C. A. Boicelli, C. Ramponi, E. Casali, L. Masotti, "Ubiquinones: Stereochemistry and Biological Implications", *Membr. Biochem.* **1981**, *4*, 105-118.

[191] A. S. Shashkov, N. Y. Grigor'eva, I. M. Avrutov, A. V. Semenovskii, V. N. Odinokov, V. K. Ignatyuk, G. A. Tolstikov, *Izv. Akad. Nauk SSSR, Ser. Khim.* **1979**, 388-391; engl. Übers.: "Determination of the Configuration of Acyclic Isoprenoids by ^{13}C NMR Spectroscopy", *Bull. Acad. Sci. USSR, Div. Chem. Sci.* **1979**, *28*, 359-362.

[192] Y. Tanaka, H. Sato, A. Kageyu, "Structural Characterization of Polyprenols by ^{13}C-N.M.R. Spectroscopy: Signal Assignments of Polyprenol Homologues", *Polymer* **1982**, *23 (Suppl.)*, 1087-1090.

[193] G. L. Lange, M. Lee, "^{13}C NMR Determination of the Configuration of Methyl-Substituted Double Bonds in Medium- and Large-Ring Terpenoids", *Mag. Reson. Chem.* **1986**, *24*, 656-658.

[194] Y. Tanaka, "Structural Characterization of Naturally Occuring *cis*-Polyisoprenes", in *NMR and Macromolecules*, ACS Symposium Series, Bd. 247 (Hrsg.: J. C. Randall), American Chemical Society, Washington DC, **1984**, S. 233-244.

[195] Y. Tanaka, M. Takagi, "Structural Characterization of Ficaprenol-11 by ^{13}C Nuclear Magnetic Resonance", *Biochem. J.* **1979**, *183*, 163-165.

[196] Y. Tanaka, H. Sato, A. Kegeyu, T. Tomita, "Determination of Arrangement of Isoprene Units in Pig Liver Dolichol by ^{13}C-N.M.R. Spectroscopy", *Biochem. J.* **1987**, *243*, 481-485.

[197] L. Ruzicka, G. Firmenich, "Synthese des aliphatischen Diterpenalkohols Geranyl-geraniol", *Helv. Chim. Acta* **1939**, *22*, 392-396.

[198] S. Klinge, M. Demuth, "An Improved Procedure for the Preparation of all-*trans*-Geranylgeraniol", *Synlett* **1993**, 783-784.

[199] K. Sato, S. Inoue, A. Onishi, N. Uchida, N. Minowa, "Stereoselective Synthesis of Solanesol and all-*trans*-Decaprenol", *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **1981**, 761-769.

[200] E. J. Corey, W.-C. Shieh, "A Simple Synthetic Process for the Elaboration of Oligoprenols", *Tetrahedron Lett.* **1992**, *33*, 6435-6438.

[201] A. Yanagisawa, H. Hibino, S. Habaue, Y. Hisada, H. Yamamoto, "Highly Selective Homocoupling Reaction of Allylic Halides Using Barium Metal", *J. Org. Chem.* **1992**, *57*, 6386-6387.

[202] B. M. Trost, L. Weber, "A New Approach for the Stereocontrolled Synthesis of Acyclic Terpenes", *J. Org. Chem.* **1975**, *40*, 3617-3619.

[203] S. Bouzbouz, B. Kirschleger, "Synthesis of Pure *trans*,*trans*,*trans*-Geranylgeraniol", *Synlett* **1994**, 763-764.

[204] K. Eis, H.-G. Schmalz, "Synthesis of (*E*,*E*,*E*)-[1,2,3,4-$^{13}C_4$]Geranylgeraniol", *Synthesis* **1997**, 202-206.

[205] Y. Mu, R. A. Gibbs, "Coupling of Isoprenoid Triflates with Organoboron Nucleophiles: Synthesis of all-*trans*-Geranylgeraniol", *Tetrahedron Lett.* **1995**, *36*, 5669-5672.

[206] C. Graebe, "Ueber Esterbildung mittelst Dimethylsulfat", *Justus Liebigs Ann. Chem.* **1905**, *340*, 244-249.

[207] E. Leete, J. A. Bjorklund, M. M. Couladis, S. H. Kim, "Late Intermediates in the Biosynthesis of Cocaine", *J. Am. Chem. Soc.* **1991**, *113*, 9286-9292.

[208] J. M. Dolence, C. D. Poulter, "Synthesis of Analogs of Farnesyl Diphosphate", *Tetrahedron* **1996**, *52*, 119-130.

[209] E. H. Axelrod, G. M. Milne, E. E. van Tamelen, "A General 1,5-Diene Synthesis Involving Overall Allyl Alcohol Coupling", *J. Am. Chem. Soc.* **1970**, *92*, 2139-2141.

[210] S. Nicklin, M. W. Robson, "Organotins: Toxicology and Biological Effects", *Appl. Organomet. Chem.* **1988**, *2*, 487-508.

[211] J. K. Stille, "Palladium-katalysierte Kupplungsreaktionen organischer Elektrophile mit Organozinn-Verbindungen", *Angew. Chem.* **1986**, *98*, 504-519.

[212] H. Azizian, C. Eaborn, A. Pidcock, "Synthesis of Organotrialkylstannanes. The Reaction Between Organic Halides and Hexaalkyldistannanes in the Presence of Palladium Complexes", *J. Organomet. Chem.* **1981**, *215*, 49-58.

[213] R. L. Shriner, P. McCutchan, "Preparation of some Methylated Gallic Acids", *J. Am. Chem. Soc.* **1929**, *51*, 2193-2195.

[214] G. W. Kabalka, N. K. Reddy, C. Narayana, "Sodium Percarbonate: A Convenient Reagent for the Dakin Reaction", *Tetrahedron Lett.* **1992**, *33*, 865-866.

[215] B. E. Cross, L. J. Zammitt, "Pigments of *Gnomonia erythrostoma*", *Tetrahedron* **1976**, *32*, 1587-1590.

[216] Review: M. V. Bhatt, S. U. Kulkarni, "Cleavage of Ethers", *Synthesis* **1983**, 249-282.

[217] G. Höfle, W. Steglich, H. Vorbrüggen, "4-Dialkylaminopyridine als hochwirksame Acylierungskatalysatoren", *Angew. Chem.* **1978**, *90*, 602-615.

[218] A. N. Kashin, I. G. Bumagina, N. A. Bumagin, V. N. Bakunin, I. P. Beletskaya, *Zh. Org. Khim.* **1981**, *17*, 905-911; engl. Übers.: "Formation of Tin-Carbon Bond in Reactions of Hexymethyldistannane with Organic Halides, Catalyzed by Palladium Complexes", *J. Org. Chem. USSR* **1981**, *17*, 789-794.

[219] H. Gilman, J. R. Thirtle, "Dibenzofuran. XXI.", *J. Am. Chem. Soc.* **1944**, *66*, 858-859.

[220] V. Prey, "Die Spaltung von Phenoläthern mit Pyridinhydrochlorid", *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1941**, *74*, 1219-1225.

[221] M. V. Bhatt, J. R. Babu, "Aluminium Iodide - a Highly Regioselective Ether-Cleaving Agent with Novel Cleavage Pattern", *Tetrahedron Lett.* **1984**, *25*, 3497-3500.

[222] S. Andersson, "An Improvement of the Aluminium Iodide Method for Ether Cleavage: Catalysis by Quarternary Ammonium Iodides", *Synthesis* **1985**, 437-439.

[223] J. E. Leibner, J. Jacobus, "Facile Product Isolation from Organostannane Reductions of Organic Halides", *J. Org. Chem.* **1979**, *44*, 449-450.

[224] E. Fouquet, M. Pereyre, J.-C. Rayez, M.-T. Rayez, T. Roulet, "Monoallylstannanes, Reagents for Allylic Radical Transfer", *C. R. Acad. Sci. Paris, Chimie* **2001**, 641-648.

[225] E. Fouquet, M. Pereyre, A. L. Rodriguez, T. Roulet, "Synthesis of Monoorganotins and Use as Versatile Reagents for Organic Synthesis", *Bull. Soc. Chim. Fr.* **1997**, *134*, 959-967.

[226] E. Fouquet, M. Pereyre, A. L. Rodriguez, "New Monoorganostannanes as Efficient Reagents for Palladium-Catalyzed Coupling Reactions", *J. Org. Chem.* **1997**, *62*, 5242-5243.

[227] W. Steglich, L. Zechlin, "Synthesis of Fomentariol. A New Method for the Synthesis of Cinnamyl Alcohols", *Chem. Ber.* **1978**, *111*, 3939-3948.

[228] M. R. Winkle, R. C. Ronald, "Regioselective Metalation Reactions of Some Substituted (Methoxymethoxy)arenes", *J. Org. Chem.* **1982**, *47*, 2101-2108.

[229] R. C. Ronald, M. R. Winkle, "Regioselective Metalations of (Methoxymethoxy)arenes", *Tetrahedron Lett.* **1983**, *39*, 2031-2042.

[230] T. Eicher, K. Tiefensee, R. Dönig, R. Pick, "Synthesen von prenylierten Bibenzyl-Derivaten", *Synthesis* **1991**, 98-102.

[231] T. Fukai, T. Nomura, "Revised Structures of Albanins D and E, Geranylated Flavons from *Morus alba*", *Heterocycles* **1991**, *32*, 499-510.

[232] Y. Wang, W. Tan, W. Z. Li, Y. Li, "A Facile Synthetic Approach to Prenylated Flavanones", *J. Nat. Prod.* **2001**, *64*, 196-199.

[233] T. W. Bentley, G. Llewellyn, J. A. McAlister, "S_N2 Mechanism for Alcoholysis, Aminolysis, and Hydrolysis of Acetyl Chloride", *J. Org. Chem.* **1996**, *61*, 7927-7932.

[234] S. Maeda, H. Masuda, T. Tokoroyama, "Studies on the Preparation of Bioactive Lignans by Oxidative Coupling Reaction. IV", *Chem. Pharm. Bull.* **1995**, *43*, 84-90.

[235] G. Stork, T. Takahashi, "Chiral Synthesis of Prostaglandins", *J. Am. Chem. Soc.* **1977**, *99*, 1275-1276.

[236] J. P. Yardley, H. Fletcher 3rd, "Introduction of the Methoxymethyl Ether Protecting Group", *Synthesis* **1976**, 244-244.

[237] J. S. Amato, S. Karady, M. Sletzinger, L. M. Weinstock, "A New Preparation of Chloromethyl Methyl Ether Free of Bis(chloromethyl) Ether", *Synthesis* **1979**, 970-971.

[238] R. J. Linderman, M. Jaber, B. D. Griedel, "A Simple and Cost Effective Synthesis of Chloromethyl Methyl Ether", *J. Org. Chem.* **1994**, *59*, 6499-6500.

[239] T. W. Greene, P. G. M. Wuts, "Protective Groups in Organic Synthesis", Third Edition, J. Wiley & Sons, **1999**.

[240] P. J. Kocienski, "Protecting Groups", Corrected Edition, Georg Thieme-Verlag, **2000**.

[241] D. Waldmüller, M. Braun, A. Steigel, "2-Trimethylsiloxy-1,3-dioxolanes: A Novel Protective Group for Carboxylic Acids", *Synlett* **1991**, 160-162.

[242] A. B. Charette, P. Chua, "A New Method for the Conversion of Secondary and Tertiary Amides to Bridged Orthoesters", *Tetrahedron Lett.* **1997**, *38*, 8499-8502.

[243] P. Knochel, R. D. Singer, "Preparation and Reactions of Polyfunctional Organozinc Reagents in Organic Synthesis", *Chem. Rev.* **1993**, *93*, 2117-2188.

[244] H. Matsushita, E. Negishi, "Palladium-Catalyzed Stereo- and Regiospecific Coupling of Allylic Derivatives with Alkenyl- and Arylmetals", *J. Am. Chem. Soc.* **1981**, *103*, 2882-2884.

[245] L. Boymond, M. Rottländer, G. Cahiez, P. Knochel, "Darstellung hochfunktionalisierter Grignard-Reagentien durch eine Iod-Magnesium-Austauschreaktion", *Angew. Chem.* **1998**, *110*, 1801-1803; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1998**, *37*, 1701-1703.

[246] L. Bérillon, A. Leprêtre, A. Turck, N. Plé, G. Quéguiner, G. Cahiez, P. Knochel, "Preparation of Highly Functionalized Pyridylmagnesium Reagents for the Synthesis of Polyfunctional Pyridines", *Synlett* **1998**, 1359-1360.

[247] M. Abarbri, J. Thibonnet, L. Bérillon, F. Dehmel, M. Rottländer, P. Knochel, "Preparation of New Polyfunctional Magnesiated Heterocycles Using a Chlorine-, Bromine-, or Iodine-Magnesium Exchange", *J. Org. Chem.* **2000**, *65*, 4618-4634.

[248] M. Abarbri, F. Dehmel, P. Knochel, "Bromine-Magnesium-Exchange as a General Tool for the Preparation of Polyfunctional Aryl and Heteroaryl Magnesium-Reagents", *Tetrahedron Lett.* **1999**, *40*, 7449-7453.

[249] M. Rottländer, L. Boymond, L. Bérillon, A. Leprêtre, G. Varchi, S. Avolio, H. Laaziri, G. Quéguiner, A. Ricci, G. Cahiez, P. Knochel, "New Polyfunctional Magnesium Reagents for Organic Synthesis", *Chem. Eur. J.* **2000**, *6*, 767-770.

[250] M. Rottländer, L. Boymond, G. Cahiez, P. Knochel, "Stereoselective Preparation of Functionalized Alkenylmagnesium Reagents via an Iodine-Magnesium Exchange Reaction", *J. Org. Chem.* **1999**, *64*, 1080-1081.

[251] J. Thibonnet, P. Knochel, "Preparation of Functionalized Alkenylmagnesium Bromides via a Bromine-Magnesium Exchange", *Tetrahedron Lett.* **2000**, *41*, 3319-3322.

[252] M. Tamura, J. Kochi, "Coupling of Grignard Reagents with Organic Halides", *Synthesis* **1971**, 303-305.

[253] G. Fouquet, M. Schlosser, "Bessere CC-Verknüpfungen durch kontrollierte Kupfer-Katalyse", *Angew. Chem.* **1974**, *86*, 50-51.

[254] M. Schlosser, H. Bossert, "The 'two-fold Reaction' Benchmark Applied to the Copper Catalyzed Assembling of 1,ω-Difunctional Hydrocarbon Chains", *Tetrahedron* **1991**, *47*, 6287-6292.

[255] W. U. Malik, J. S. Tyagi, "Nature of Complex Ion in Solid and Solution Phases: Copper(I) Halides-Lithium Halides-Water and Copper(I) Halides-Lithium Halides-Methanol", *Indian J. Chem.* **1981**, *20A*, 1208-1209; *Chem. Abstr.* **1982**, *96*, 169657 n.

[256] M. Miyashita, A. Yoshikoshi, P. A. Grieco, "Pyridinium *p*-Toluenesulfonate. A Mild and Efficient Catalyst for the Tetrahydropyranylation of Alcohols", *J. Org. Chem.* **1977**, *42*, 3772-3774.

[257] T. Kometani, D. S. Watt, T. Ji, "Iodination of Phenols Using Chloramine T and Sodium Iodide", *Tetrahedron Lett.* **1985**, *26*, 2043-2046.

[258] G. Brieger, "Synthetic Transformation of Natural Products. I", *J. Am. Chem. Soc.* **1963**, *85*, 3783-3784.

[259] M. Julia, P. Roy, "Selective Reduction of the Distant Double Bond(s) in Geranyl, Farnesyl and Geranyl Geranyl Derivatives", *Tetrahedron* **1986**, *42*, 4991-5002.

[260] S. Hanessian, D. Delorme, Y. Dufresen, "Mild Cleavage of Methoxymethyl (MOM) Ethers with Trimethylsilyl Bromide", *Tetrahedron Lett.* **1984**, *25*, 2515-2518.

[261] F. Bohlmann, J. Jakupovic, R. M. King, H. Robinson, "Chromones and Flavans from *Marshallia obovata*", *Phytochemistry* **1980**, *19*, 1815-1820.

[262] S. Tahara, J. L. Ingham, S. Nakahara, J. Mizutani, J. B. Harborne, "Fungitoxic Dihydrofuranoisoflavones and Related Compounds", *Phytochemistry* **1984**, *23*, 1889-1900.

[263] S. Huneck, C. Zdero, F. Bohlmann, "Seco-Guaianolides and Other Constituents from *Artemisia* Species", *Phytochemistry* **1986**, *25*, 883-889.

[264] S. Yamada, D. Morizono, K. Yamamoto, "Mild Oxidation of Aldehydes to the Corresponding Carboxylic Acids and Esters: Alkaline Iodine Oxidation Revisited", *Tetrahedron Lett.* **1992**, *33*, 4329-4332.

[265] E. J. Corey, N. W. Gilman, B. E. Ganem, "New Methods for the Oxidation of Aldehydes to Carboxylic Acids and Esters", *J. Am. Chem. Soc.* **1968**, *90*, 5616-5617.

[266] D. L. Comins, J. D. Brown, "Ortho Metalation Directed by α-Amino Alkoxides", *J. Org. Chem.* **1984**, *49*, 1078-1083.

[267] D. L. Comins, "The Synthetic Utility of α-Amino Alkoxides", *Synlett* **1992**, 615-625.

[268] S. K. Chaudhary, O. Hernandez, "4-Dimethylaminopyridine: An Efficient and Selective Catalyst for the Silylation of Alcohols", *Tetrahedron Lett.* **1979**, *2*, 99-102.

[269] B. O. Lindgren, T. Nilsson, "Preparation of Carboxylic Acids (Including Hydroxylated Benzaldehydes) by Oxidation with Chlorite", *Acta Chem. Scand.* **1973**, *27*, 888-890.

[270] E. Dalcanale, "Selective Oxidation of Aldehydes to Carboxylic Acids with Sodium Chlorite-Hydrogen Peroxide", *J. Org. Chem.* **1986**, *51*, 567-569.

[271] A. Raach, O. Reiser, "Sodium Chlorite-Hydrogen Peroxide - A Mild and Selective Reagent for the Oxidation of Aldehydes to Carboxylic Acids", *J. Prakt. Chem.* **2000**, *342*, 605-608.

[272] S. B. Bal, W. E. Childers, Jr., H. W. Pinnick, "Oxidation of α,β-unsaturated Aldehydes", *Tetrahedron* **1981**, *37*, 2091-2096.

[273] R. L. Halcomb, S. H. Boyer, M. D. Wittman, S. H. Olson, D. J. Denhart, K. K. C. Liu, S. J. Danishefsky, "Studies Related to the Carbohydrate Sectors of Esperamicin and Calicheamicin", *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, *117*, 5720-5749.

[274] N. Ono, T. Yamada, T. Saito, K. Tanaka, A. Kaji, "A Convenient Procedure for Esterification of Carboxylic Acids", *Bull. Chem. Soc. Japan* **1978**, *51*, 2401-2404.

[275] A. Maxwell, D. Rampersad, "Novel Prenylated Hydroxybenzoic Acid Derivatives from *Piper saltuum*", *J. Nat. Prod.* **1989**, *52*, 614-618.

[276] K. Yazaki, H. Fukui, M. Tabata, "Isolation of the Intermediates and Related Metabolites of Shikonin Biosynthesis from *Lithospermum erythrorhizon* Cell Cultures", *Chem. Pharm. Bull.* **1986**, *34*, 2290-2293.

[277] S. A. Ampofo, V. Roussis, D. F. Wiemer, "New Prenylated Phenolics from *Piper auritum*", *Phytochemistry* **1987**, *26*, 2367-2370.

[278] T. Wada, Y. Hayashi, H. Shibata, "Asiaticusin A and B, Novel Prenylated Phenolics from *Boletinus asiaticus* and *B. paluster* (Boletaceae) Fungi", *Biosci. Biotech. Biochem.* **1996**, *60*, 120-121.

[279] B. Sontag, N. Arnold, W. Steglich, T. Anke, "Montadial, a Cytotoxic Metabolite from *Bondarzewia montana*", *J. Nat. Prod.* **1999**, *62*, 1425-1426.

[280] N. Ermel, *Dissertation*, Ludwig-Maximilians-Universität, München, in Vorbereitung.

[281] B. Chen, K. Kawazoe, Y. Takaishi, G. Honda, M. Itoh, Y. Takeda, O. K. Kodzhimatov, O. Ashurmetov, "Prenylated Benzoic Acid Derivatives from *Ferula kuhistanica*", *J. Nat. Prod.* **2000**, *63*, 362-365.

[282] L. Zechlin, M. Wolf, W. Steglich, T. Anke, "Cristatsäure, ein modifiziertes Farnesylphenol aus Fruchtkörpern von *Albatrellus cristatus*", *Justus Liebigs Ann. Chem.* **1981**, 2099-2105.

[283] Y. Shoyama, H. Hirano, H. Makino, N. Umekita, I. Nishioka, "Cannabis. X", *Chem. Pharm. Bull.* **1977**, *25*, 2306-2311.

[284] R. Mechoulam, Y. Gaoni, "Hashish. IV. Isolation and Structure of Annabinolic, Cannabidiolic, and Cannabigerolic Acids", *Tetrahedron* **1965**, *21*, 1223-1229.

[285] F. Taura, S. Morimoto, Y. Shoyama, "Cannabinerolic Acid, a Cannabinoid from *Cannabis sativa*", *Phytochemistry* **1995**, *39*, 457-458.

[286] F. Bohlmann, E. Hoffmann, "Cannabigerol-ähnliche Verbindungen aus *Helichrysum umbraculigerum*", *Phytochemistry* **1979**, *18*, 1371-1374.

[287] L. A. Mitscher, Y. H. Park, A. Al-Shamma, P. B. Hudson, T. Haas, "Amorfrutin A and B, Bibenzyl Antimicrobial Agents from *Amorpha fruticosa*", *Phytochemistry* **1981**, *20*, 781-785.

[288] Ein großer Teil der Arbeiten wurde bereits veröffentlicht: M. Lang, S. Lang-Fugmann, W. Steglich, "4-Hydroxy[1-^{13}C]benzoic Acid", *Org. Synth.* **2001**, *78*, 113-122.

[289] T. Sabalitschka, "Rolle der p-Hydroxybenzoesäure in Pflanzen und Tieren", *Arzneim. Forsch.* **1969**, *19*, 1315-1317.

[290] H. Cho, J. M. Beale, C. Graff, U. Mocek, A. Nakagawa, S. Omura, H. G. Floss, "Studies on the Biosynthesis of the Antibiotic Reductiomycin in *Streptomyces xanthochromogenus*", *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, *115*, 12296-12304.

[291] M. H. Zenk, "Einbau von *p*-Hydroxybenzoesäure in die Hydrochinonkomponente des Arbutins in *Bergenia crassifolia*", *Z. Naturforsch.* **1964**, *19b*, 856-857.

[292] U. Hanefeld, H. G. Floss, H. Laatsch, "Biosynthesis of the Marine Antibiotic Pentabromopseudilin. 1. The Benzene Ring", *J. Org. Chem.* **1994**, *59*, 3604-3608.

[293] V. Grignard, G. Vignon, "Sur le dimagnésien du dibromopentane-1-5", *Compt. Rend. Hebd. Seances Acad. Sci.* **1907**, *144*, 1358-1360.

[294] L. F. Boas, R. D. Gillard, P. R. Mitchell, "Mechanism of the Oxidative Degradation of Coordinated Salicylate", *Transition Met. Chem.* **1977**, *2*, 80-83 u. zit. Lit.

[295] U. Drehmann, U. Pürschel, H. Wauschkun, "Über die Darstellung von dreifach ringmarkiertem Tyrosin-1,2,6-^{14}C", *J. Prakt. Chem.* **1961**, *4. Reihe, Bd. 14*, 122-126.

[296] V. Viswanatha, V. J. Hruby, "Synthesis of [3',5'-$^{13}C_2$]Tyrosine and its Use in the Synthesis of Specifically Labeled Tyrosine Analogues", *J. Org. Chem.* **1979**, *44*, 2892-2896.

[297] J. E. Baldwin, S. B. Harjinder, J. Chondrogianni, P. T. Gallagher, A. A. Taha, A. Taylor, V. Thaller, "Synthesis of [^{15}N]-, [1-^{13}C]-, [*ring*-1,2-$^{13}C_2$]-, and [*ring*-3,4,5-$^{13}C_3$]-Labelled DL-Tyrosine", *J. Chem. Res. (S)* **1984**, 176-177; *J. Chem. Res. (M)*, **1984**, 1815-1835.

[298] T. E. Walker, C. Matheny, C. B. Storm, H. Hayden, "An Efficient Chemomicrobiological Synthesis of Stable Isotope-Labeled L-Tyrosine and L-Phenylalanine", *J. Org. Chem.* **1986**, *51*, 1175-1179.

[299] S. Danishefsky, T. Kitahara, "A Useful Diene for the Diels-Alder Reaction", *J. Am. Chem. Soc.* **1974**, *96*, 7807-7808.

[300] R. Müller, A. Wagener, K. Schmidt, E. Leistner, "Microbial Production of Specifically Ring-^{13}C-Labelled 4-Hydroxybenzoic Acid", *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **1995**, *43*, 985-988.

[301] R. B. Woodward, *private Mitteilung*, zitiert in: E. D. Bergmann, D. Ginsburg, R. Pappo, *Org. React.* **1959**, *10*, S. 219-220 und S. 334.

[302] J. Beyer, S. Lang-Fugmann, A. Mühlbauer, W. Steglich, "A Convenient Synthesis of 4-Hydroxy[1-^{13}C]benzoic Acid and Related Ring-Labelled Phenolic Compounds", *Synthesis* **1998**, 1047-1051.

[303] C. De Souza, Y. Hajikarimian, P. W. Sheldrake, "A Convenient Method for the Preparation of Pyran-4-one", *Synth. Commun.* **1992**, *22*, 755-759.

[304] M. E. Mueller, E. Leete, "A Facile One-Step Synthesis of Diethyl [2-^{13}C]Malonate form Ethyl [2-^{13}C]Acetate", *J. Org. Chem.* **1981**, *46*, 3151-3152.

[305] G. A. Ropp, "Preparation of Ethyl Acetate-1-C^{14} and *n*-Butyl Acetate-2-C^{14} Using Alkyl Phosphates", *J. Am. Chem. Soc.* **1950**, *72*, 2299-2299.

[306] R. S. Bodine, M. Hylarides, G. H. Daub, D. L. VanderJagt, "Carbon-13-Labeled Benzo[a]pyrene and Derivatives", *J. Org. Chem.* **1978**, *43*, 4025-4028.

[307] G. D'Alessandro, G. Sleiter, "The Synthesis of Pyrrole Derivatives Labelled with ^{13}C in Selected Positions: Improved Procedures", *J. Labelled Comp. Radiopharm.* **1980**, *17*, 813-824.

[308] H. Sedlmaier, F. Müller, P. J. Keller, A. Bacher, "Enzymatic Synthesis of Riboflavin and FMN Specifically Labeled with ^{13}C in the Xylene Ring", *Z. Naturforsch.* **1987**, *42c*, 425-429.

[309] R. Willstätter, R. Pummerer, "Zur Kenntniss des Pyrons", *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1905**, *38*, 1461-1472.

[310] W. Borsche, I. Bonacker, "Über die Aufspaltung des γ-Pyrons durch Anilin und über N-Phenyl-γ-pyridon", *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1921**, *54*, 2678-2686.

[311] W. Bauer, U. Müller-Westerhoff, "Reactions of 3-substituted Pentacyanines with Cyclopentadienide and Cyclononatetraenide Anions", *Tetrahedron Lett.* **1972**, 1021-1024.

[312] H.-G. Löhr, F. Vögtle, "Neue Chromoionophore mit Azulen-Bausteinen", *Chem. Ber.* **1985**, *118*, 905-913.

[313] A. Yogev, Y. Mazur, "The Keto-Enol Equilibrium in 1,3-Cyclohexanediones", *J. Org. Chem.* **1967**, *32*, 2162-2166.

[314] P. Khare, R. C. Gupta, "NMR Study of Dimedone", *Acta Phys. Pol.* **1981**, *A60*, 473-476.

[315] R. J. Cremlyn, A. G. Osborne, J. F. Warmsley, "NMR Spectral Studies of Dimedone-Aldehyde Adducts Part 1. ^{1}H and ^{13}C Spectral Studies of Dimedone", *Spectrochim. Acta Part A* **1996**, *52*, 1423-1432.

[316] N. Acton, A. Brossi, D. L. Newton, M. B. Sporn, "Potential Prophylactic Antitumor Activity of Retinylidene 1,3-Diketones", *J. Med. Chem.* **1980**, *23*, 805-809.

[317] N. Acton, A. Brossi, "Oxidation Products of Retinylidene Dimedone", *Helv. Chim. Acta* **1980**, *63*, 1391-1395.

[318] M. L. Bolte, W. D. Crow, S. Yoshida, "Plant Growth Regulators in *Eucalyptus grandis*. V", *Aust. J. Chem.* **1982**, *35*, 1421-1429.

[319] W. Kantlehner, M. Vettel, H. Lehmann, K. Edelmann, R. Stieglitz, "Push-Pull-Butadiene und Heterocyclen aus CH_2-aciden Verbindungen und Orthoamiden von Alkincarbonsäuren", *J. Prakt. Chem.* **1998**, *340*, 408-423.

[320] R. J. Cremlyn, A. G. Osborne, J. F. Warmsley, "NMR Spectral Studies of Dimedone-Aldehyde Adducts. Part 2. ^{1}H and ^{13}C NMR Studies of the Adducts", *Spectrochim. Acta Part A* **1996**, *52*, 1433-1454.

[321] G. Wenz, "Cyclodextrine als Bausteine supramolekularer Strukturen und Funktionseinheiten", *Angew. Chem.* **1994**, *106*, 851-870.

[322] J. Szejtli, "Introduction and General Overview of Cyclodextrin Chemistry", *Chem. Rev.* **1998**, *98*, 1743-1753.

[323] K. Uekama, F. Hirayama, T. Irie, "Cyclodextrin Drug Carrier Systems", *Chem. Rev.* **1998**, *98*, 2045-2076.

[324] D. O. Thompson, "Cyclodextrins - Enabling Excipients: Their Present and Future Use in Pharmaceuticals", *Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems* **1997**, *14*, 1-104.

[325] L. Szente, "Preparation of Cyclodextrin Complexes", in *Comprehensive Supramolecular Chemistry* (Hrsg.: J. L. Atwood, J. E. D. Davies, D. D. MacNicol, F. Vögtle, J.-M. Lehn), Vol. 3, *Cyclodextrins* (Hrsg. Vol. 3: J. Szejtli, T. Osa), Pergamon, **1996**, S. 243-252.

[326] A. R. Hedges, "Industrial Applications of Cyclodextrins", *Chem. Rev.* **1998**, *98*, 2035-2044.

[327] H. Hashimoto, "Cyclodextrins in Foods, Cosmetics, and Toiletries", in *Comprehensive Supramolecular Chemistry* (Hrsg.: J. L. Atwood, J. E. D. Davies, D. D. MacNicol, F. Vögtle, J.-M. Lehn), Vol. 3, *Cyclodextrins* (Hrsg. Vol. 3: J. Szejtli, T. Osa), Pergamon, **1996**, S. 483-502.

[328] T. Nagai, H. Ueda, "Aspects of Drug Formulation with Cyclodextrins", in *Comprehensive Supramolecular Chemistry* (Hrsg.: J. L. Atwood, J. E. D. Davies, D. D. MacNicol, F. Vögtle, J.-M. Lehn), Vol. 3, *Cyclodextrins* (Hrsg. Vol. 3: J. Szejtli, T. Osa), Pergamon, **1996**, S. 441-450.

[329] M. Komiyama, H. Shigekawa, "Cyclodextrins as Enzyme Models", in *Comprehensive Supramolecular Chemistry* (Hrsg.: J. L. Atwood, J. E. D. Davies, D. D. MacNicol, F. Vögtle, J.-M. Lehn), Vol. 3, *Cyclodextrins* (Hrsg. Vol. 3: J. Szejtli, T. Osa), Pergamon, **1996**, S. 401-422.

[330] R. Breslow, S. D. Dong, "Biomimetic Reactions Catalyzed by Cyclodextrins and Their Derivatives", *Chem. Rev.* **1998**, *98*, 1997-2011.

[331] K. Takahashi, "Organic Reactions Mediated by Cyclodextrins", *Chem. Rev.* **1998**, *98*, 2013-2033.

[332] J. Szejtli, "Chemistry, Physical and Biological Properties of Cyclodextrins", in *Comprehensive Supramolecular Chemistry* (Hrsg.: J. L. Atwood, J. E. D. Davies, D. D. MacNicol, F. Vögtle, J.-M. Lehn), Vol. 3, *Cyclodextrins* (Hrsg. Vol. 3: J. Szejtli, T. Osa), Pergamon, **1996**, S. 5-40.

[333] K. Uekama, T. Irie, "Pharmaceutical Use of Cyclodextrins in Various Drug Formulations", in *Comprehensive Supramolecular Chemistry* (Hrsg.: J. L. Atwood, J. E. D. Davies, D. D. MacNicol, F. Vögtle, J.-M. Lehn), Vol. 3, *Cyclodextrins* (Hrsg. Vol. 3: J. Szejtli, T. Osa), Pergamon, **1996**, S. 451-481.

[334] A. R. Khan, P. Forgo, K. J. Stine, V. T. D'Souza, "Methods for Selective Modifications of Cyclodextrins", *Chem. Rev.* **1998**, *98*, 1977-1996.

[335] L. Jicsinszky, É. Fenyvesi, H. Hashimoto, A. Ueno, "Cyclodextrin Derivatives", in *Comprehensive Supramolecular Chemistry* (Hrsg.: J. L. Atwood, J. E. D. Davies, D. D. MacNicol, F. Vögtle, J.-M. Lehn), Vol. 3, *Cyclodextrins* (Hrsg. Vol. 3: J. Szejtli, T. Osa), Pergamon, **1996**, S. 57-188.

[336] L. Szente, J. Szejtli, "Highly Soluble Cyclodextrin Derivatives: Chemistry, Properties, and Trends in Development", *Advanced Drug Delivery Reviews* **1999**, *36*, 17-28.

[337] J. Pitha (United States Dept. of Health and Human Services), "Pharmaceutical Preparations Containing Cyclodextrin Derivatives", US 4727064, **1988**; *Chem. Abstr.* **1989**, *110*, P179558c.

[338] J. Pitha, J. Milecki, H. Fales, L. Pannell, K. Uekama, "Hydroxypropyl-β-cyclodextrin: Preparation and Characterization; Effects on Solubility of Drugs", *Int. J. Pharm.* **1986**, *29*, 73-82.

[339] C. T. Rao, J. Pitha, B. Lindberg, J. Lindberg, "Distribution of Substituents in *O*-(2-Hydroxypropyl) Derivatives of Cyclomalto-Oligosaccharides (Cyclodextrins): Influence of Increasing Substitution, of the Base Used in the Preparation, and of Macrocyclic Size", *Carbohydr. Res.* **1992**, *223*, 99-107.

[340] J. Pitha, J. Pitha, "Amorphous Water-Soluble Derivatives of Cyclodextrins: Nontoxic Dissolution Enhancing Excipients", *J. Pharm. Sci.* **1985**, *74*, 987-990.

[341] V. Stella, R. Rajewski (University of Kansas, USA), "Derivatives of Cyclodextrins Exhibiting Enhanced Aqueous Solubility and the Use Thereof", US 5134127, **1992** bzw. WO 91/11172, **1991** (bzgl. Herstellung der Cyclodextrinderivate inhaltsgleich); Chem. Abstr. **1991**, *115*, 189787u.

[342] P. A. Ongley, "Solubility and Chromatography of Hydroxybenzoic Acids", *J. Chem. Soc.* **1954**, 3634-3635.

[343] J. Cohen, J. L. Lach, "Interaction of Pharmaceuticals with Schardinger Dextrins I", *J. Pharm. Sci.* **1963**, *52*, 132-136.

[344] D. Voet, J. G. Voet, "Biochemie", Hrsg. d. dt. Übers.: A. Maelicke, W. Müller-Esterl, 1. korr. Nachdruck der 1. Aufl., VCH, Weinheim, New York, Basel, Cambridge, Tokyo, **1994**, S. 273 ff (Micellen und Doppelschichten), S. 276 (physiolog. Phasenübergangstemperatur, Rolle des Cholesterols).

[345] R. R. C. New (Hrsg.), "Liposomes: a Practical Approach", IRL Press, Oxford, New York, Tokyo, **1990**, S. 19 (Stoffmengenverhältnis Cholesterol : Phospholipid), S. 23 ff (Klassifizierung von Liposomen, Begriff der IUV), S. 37 ff (Filmmethode), S. 49 ff (French Press), S. 52 ff (Membranextrusion), S. 98 (30 % (w/v) als sehr hohe Konzentration von Lipid im wäßrigen Medium), S. 100 (α-Tocopherol als Antioxidans), S. 103 (sterile Liposomen), S. 221 ff (Interaktion von Liposomen mit Zellen).

[346] D. Arndt, I. Fichtner, "Liposomen: Darstellung - Eigenschaften - Anwendung", Akademie-Verlag, Berlin, **1986**, S. 11 (Phospholipide aus Naturstoffen), S. 17 (Hydratisierung von Lipidfilmen muß oberhalb T_m erfolgen), S. 17 ff (Klassifizierung von Liposomen), S. 19 (Ultraschall zur Verkleinerung von MLV), S. 23 (Sterilisation von Liposomen durch γ-Strahlung), S. 33 ff (Interaktion von Liposomen mit Zellen).

[347] T. Kunitake, "Synthetic Bilayer Membranes: Molecular Design and Molecular Organization", in *Comprehensive Supramolecular Chemistry* (Hrsg.: J. L. Atwood, J. E. D. Davies, D. D. MacNicol, F. Vögtle, J.-M. Lehn), Vol. 9, *Templating, Self-Assembly, and Self-Organization* (Hrsg. Vol. 9: J.-P. Sauvage, M. W. Hosseini), Pergamon, **1996**, S. 351-406.

[348] K.-H. Frömming, "Delivery of Drugs from Drug Products", in *Comprehensive Supramolecular Chemistry* (Hrsg.: J. L. Atwood, J. E. D. Davies, D. D. MacNicol, F. Vögtle, J.-M. Lehn), Vol. 10, *Supramolecular Technology* (Hrsg. Vol. 10: D. N. Reinhoudt), Pergamon, **1996**.

[349] D. D. Lasic, "Liposomes: from Physics to Applications", Elsevier, Amsterdam, London, New York, Tokyo, **1993**, S. 63 ff (Herstellung von Liposomen), S. 74 ff (Extrusion), S. 76 (French Press), S. 277 ff (Interaktion von Liposomen mit Zellen).

[350] M. Flück, "Welcher Pilz ist das?", Franckh-Kosmos Verlags-GmbH & Co., Stuttgart, **1995**.

[351] J. Breitenbach, F. Kränzlin, "Pilze der Schweiz", Bd. 3, *Röhrlinge und Blätterpilze*, Verlag Mykologia, Luzern, **1991**.

[352] Die Abbildung wurde der Website "Il fungi nel Trentino, Gruppo Micologico Giacomo Bresadola di Trento" entnommen: http://www.natura.cr-surfing.net/funghi/sk_5905.htm, 4. Februar 2002.

[353] H. Besl, "Die Pigmente der Lärchenröhrlinge *Suillus grevillei* (Klotzsch) Sing. und *Suillus tridentinus* (Bres.) Sing.", *Dissertation*, Technische Universität, München, **1971**.

[354] V. Pasupathy, "Tridentochinon, ein [13](3,6)Benzofuranophan aus *Suillus tridentinus* (Boletales)", *Dissertation*, Technische Universität, Berlin, **1975**.

[355] H. Besl, H.-J. Hecht, P. Luger, V. Pasupathy, W. Steglich, "Tridentochinon, ein [13](3,6)Benzofuranophan aus *Suillus tridentinus* (Boletales)", *Chem. Ber.* **1975**, *108*, 3675-3691.

[356] M. V. Gill, "Pigments of Fungi (Macromycetes)", *Nat. Prod. Rep.* **1999**, *16*, 301-317.

[357] W. Steglich, H. Besl, A. Prox, "Zur Struktur der Grevilline", *Tetrahedron Lett.* **1972**, 4895-4898.

[358] H. Besl, A. Bresinsky, "Chemosystematics of *Suillaceae* and *Gomphidiaceae* (Suborder *Suillineae*)", *Pl. Syst. Evol.* **1997**, *206*, 223-242.

[359] H. M. Schmidt, "Vergleichende Untersuchungen über das Vorkommen von Farbstoffen in Höheren Pilzen der Ordnungen *Boletales* und *Gastromycetes*", *Dissertation*, Rheinische Friedrich-Wilhelms-Universität, Bonn, **1990**.

[360] A. Bresinsky, "Zur Frage der taxonomischen Relevanz chemischer Merkmale bei Höheren Pilzen", *Bull. Soc. Linn. Lyon, numéro spécial* **1974**, 61-84.

[361] C. Tringali, M. Piattelli, "Antimicrobial Tetraprenylphenols from *Suillus granulatus*", *J. Nat. Prod.* **1989**, *52*, 941-947.

[362] T. Hayashi, A. Kanetoshi, M. Ikura, H. Shirahama, "Bolegrevilol, a New Lipid Peroxidation Inhibitor from the Edible Mushroom *Suillus grevillei*", *Chem. Pharm. Bull.* **1989**, *37*, 1424-1425.

[363] U. Weiss, J. M. Edwards, "The Biosynthesis of Aromatic Compounds", J. Wiley & Sons, New York, Chichester, Brisbane, Toronto, **1980**, S. 251-259 u. zit. Lit. (direkte Umwandlung von Chorisminsäure in 4-Hydroxybenzoesäure).

[364] W. Steglich, "Biologically Active Compounds from Higher Fungi", *Pure Appl. Chem.* **1981**, *53*, 1233-1240.

[365] Review: C. F. Clarke, "New Advances in Coenzyme Q Biosynthesis", *Protoplasma* **2000**, *213*, 134-147.

[366] Review: R. Meganathan, "Biosynthesis of Menaquinone (Vitamin K_2) and Ubiquinone (Coemzyme Q): A Perspective on Enzymatic Mechanisms", *Vitam. Horm.* **2001**, *61*, 173-218.

[367] Review: R. Meganathan, "Ubiquinone Biosynthesis in Microorganisms", *FEMS Microbiol. Lett.* **2001**, *203*, 131-139.

[368] A. M. D. Nambudiri, D. Brockman, S. S. Alam, H. Rudney, "Alternate Routs for Ubiquinone Biosynthesis in Rats", *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **1977**, *76*, 282-288.

[369] R. v. Ardenne, W. Steglich, "1,2,4-Trihydroxybenzol, ein charakteristischer Inhaltsstoff von *Gomphidius* (Boletales)", *Z. Naturforsch.* **1974**, *29c*, 446-446.

[370] H. Schwarz, V. Pasupathy, W. Steglich, "Massenspektrometrische Untersuchung polyisoprenoider Ansabenzochinone", *Org. Mass Spectrom.* **1976**, *11*, 472-478.

[371] E. I. Heiba, R. M. Dessau, "Oxidation by Metal Salts. XI. The Formation of Dihydrofuranes", *J. Org. Chem.* **1974**, *39*, 3456-3457.

[372] W. J. De Klein, "Reactions with Manganese (III) Acetate", in "Organic Syntheses by Oxidation with Metal Compounds" (Hrsg.: W. J. Mijs, C. R. H. I. De Jonge), Plenum Press, New York, London, **1986**, S. 261-314, S. 283 ff u. zit. Lit.

[373] M. G. Vinogradov, T. M. Fedorova, G. I. Nikishin, *Zh. Org. Khim.* **1976**, *12*, 1175-1180; engl. Übers.: "Manganese(III) Acetate-Initiated Radical Reactions of Carbonyl Compounds. IX. Reaction of Acetylacetone with Olefins", *J. Org. Chem. USSR* **1976**, *12*, 1183-1187.

[374] B. B. Snider, L. Han, C. Xie, "Synthesis of 2,3-Dihydrobenzofurans by $Mn(OAc)_3$-Based Oxidative Cycloaddition of 1-Cyclohexenones with Alkenes", *J. Org. Chem.* **1997**, *62*, 6978-6984, S. 6982 oben rechts.

[375] K. Kobayashi, M. Mori, T. Uneda, O. Morikawa, H. Konishi, "Ceric Ammonium Nitrate Mediated Cycloaddition of Hydroxyquinones with Alkenes for the One-Step Construction of Furoquinone Derivatives", *Chem. Lett.* **1996**, 451-452.

[376] K. Kobayashi, T. Uneda, K. Tanaka, M. Mori, H. Tanaka, O. Morikawa, H. Konishi, "One-Step Synthesis of Naphthofurandione, Benzofurandione, and Phenalenofuranone Derivatives by the CAN-Mediated Cycloaddition", *Bull. Chem. Soc. Japan* **1998**, *71*, 1691-1697.

[377] V. Nair, J. Mathew, "Facile Synthesis of Dihydrofurans by the Cerium(IV) Ammonium Nitrate Mediated Oxidative Addition of 1,3-Dicarbonyl Compounds to Cyclic and Acyclic Alkenes. Relative Superiority over the Manganese(III) Acetate Mediated Process", *J. Chem. Soc., Perkin Trans. I* **1995**, 187-188.

[378] K. Kobayashi, K. Sakashita, H. Akamatsu, K. Tanaka, M. Uchida, T. Uneda, T. Kitamura, O. Morikawa, H. Konishi, "CAN-Mediated Formation of Furopyranones and Furoquinolinones", *Heterocycles* **1999**, *51*, 2881-2892.

[379] Y. R. Lee, B. S. Kim, D. H. Kim, "Ceric Ammonium Nitrate (CAN)-Mediated Oxidative Cycloaddition of 1,3-Dicarbonyls to Conjugated Compounds", *Tetrahedron* **2000**, *56*, 8845-8853.

[380] V. Nair, P. M. Treesa, D. Maliakal, N. P. Rath, "CAN Mediated Oxidative Addition of 2-Hydroxynaphthoquinone to Dienes: a Facile Synthesis of Naphthofurandiones", *Tetrahedron* **2001**, *57*, 7705-7710.

[381] A. Bresinsky, W. Steglich, "*Rhizopogon pumilionus* als Produzent des Ansachinons Rhizopogon", *Z. Mykol.* **1989**, *55*, 169-174.

[382] M. Lang, "Rhizopogon, ein Ansachinon aus dem Wurzeltrüffel *Rhizopogon pumilionus*", *Diplomarbeit*, Ludwig-Maximilians-Universität, München, **1997**.

[383] K. Kobayashi, Y. Kanno, H. Suginome, "New One-Step General Synthesis of Benzofuran-4,7-diones by the Regioselective (3+2) Photoaddition of 2-Hydroxy-1,4-benzoquinones with Various Alkenes", *J. Chem. Soc., Perkin Trans. I* **1993**, 1449-1452.

[384] K. Kobayashi, H. Shimizu, A. Sasaki, H. Suginome, "New One-Step General Synthesis of Naphtho[2,3-*b*]furan-4,9-diones and Their 2,3-Dihydro Derivatives by the Regioselective [3+2] Photoaddition of 2-Hydroxy-1,4-naphthoquinones with Various Alkynes and Alkenes", *J. Org. Chem.* **1993**, *58*, 4614-4618.

[385] P. Spiteller, "Biosynthese und Strukturaufklärung von Sekundärmetaboliten aus Pilzen, Pflanzen und Flechten", *Dissertation*, Ludwig-Maximilians-Universität, München, **2001**.

[386] G. W. Gray, C. Hogg, D. Lacey, "The Synthesis and Liquid Crystal Properties of some Laterally Fluorinated trans-Cyclohexane-1-carboxylate and Benzoate Esters", *Mol. Cryst. Liq. Cryst.* **1981**, *67*, 1-23.

[387] D. C. Furlano, K. L. Kirk, "An Improved Synthesis of 4-Fluoroveratrole. Efficient Route to 6-Fluoroveratraldehyde and 6-Fluoro-D,L-DOPA", *J. Org. Chem.* **1986**, *51*, 4073-4075.

[388] J. Nie, K. L. Kirk, "Synthesis of Fluoro- and Polyfluoro-veratraldehydes by Electrophilic Fluorination", *J. Fluorine Chem.* **1995**, *74*, 297-301.

[389] H. B. Stegmann, G. Deuschle, P. Schuler, "Synthesis and EPR Investigations of Fluorocatecholamines", *J. Chem. Soc., Perkin Trans. II* **1994**, 547-555.

[390] F. M. Hauser, S. R. Ellenberger, "Regiospecific Oxidation of Methyl Groups in Dimethylanisoles", *Synthesis* **1987**, 723-724.

[391] C. C. Kanakam, N. S. Mani, G. S. R. S. Rao, "Novel Synthesis of the 6-Aryl-2,4-dimethoxybenzoates Alternariol and Trimethylaltenusin", *J. Chem. Soc., Perkin Trans. I* **1990**, 2233-2237.

[392] P. C. Beaumont, R. L. Edwards, "Constituents of The Higher Fungi. Part IX. Bovinone, 2,5-Dihydroxy-3-geranylgeranyl-1,4-benzoquinone from *Boletus* (*Suillus*) *bovinus* (Linn. ex Fr.) Kuntze", *J. Chem. Soc. C* **1969**, 2398-2403.

[393] P. C. Beaumont, R. L. Edwards, "Constituents of The Higher Fungi. Part XI.", *J. Chem. Soc. C* **1971**, 2582-2585.

[394] K. Minami, K. Asawa, M. Sawada, "The Structure of Amitenone", *Tetrahedron Lett.* **1968**, 5076-5070.

[395] K. Shirata, T. Kato, M. Niwano, "Selective Suppression of the Mitogenic Response of Murine Lymphocytes by Suillin from *Suillus bovinus*", *Mycologia* **1995**, *87*, 360-361.

[396] P. C. Beaumont, R. L. Edwards, G. C. Elsworthy, "Constituents of The Higher Fungi. Part VIII.", *J. Chem. Soc. C* **1968**, 2968-2974.

[397] A. Bresinsky, P. Orendi, "Chromatographische Analyse von Farbmerkmalen der Boletales und anderer Makromyzeten auf Dünnschichten", *Z. Pilzk.* **1970**, *36*, 135-169.

[398] M. Fischer, M. Jarosch, M. Binder, H. Besl, "Zur Systematik der *Boletales*: *Suillus* und verwandte Gattungen", *Z. Mykol.* **1997**, *63*, 173-188.

[399] S. Rapior, C. Marion, Y. Pélissier, J.-M. Bessière, "Volatile Composition of Fourteen Species of Fresh Wild Mushrooms (Boletales)", *J. Essent. Oil Res.* **1997**, *9*, 231-234.

[400] M. Hesse, H. Meier, B. Zeeh, "Spektroskopische Methoden in der Organischen Chemie", 5. Aufl., Georg-Thieme-Verlag, Stuttgart, New York, **1995**, S. 159 ff (^{13}C-NMR-Inkrementsystem).

[401] A. Mühlbauer, J. Beyer, W. Steglich, "The Biosynthesis of the Fungal Meroterpenoids Boviquinone-3 and -4 Follows Two Different Pathways", *Tetrahedron Lett.* **1998**, *39*, 5167-5170.

[402] E. Jägers, W. Steglich, "Polyamid-katalysierte Dimerisierung von 2,5-Dihydroxybenzochinonen zu 4-Ylidentetronsäuren, ein Modell für die Biosynthese des Bovilactons-4,4", *Angew. Chem.* **1981**, *93*, 1105-1105.

[403] R. Brückner, "The Synthesis of γ-Alkylidenebutenolides", *Curr. Org. Chem.* **2001**, *5*, 679-718.

[404] T. Posternak, R. Huguenin, W. Alcalay, "Transpositions d'hydroxyquinones II. Produits de transposition de l'hydroxy-2-ditoluquinone-4,4' et de l'hydroxy-2-diméthoxy-4,4'-diquinone", *Helv. Chim. Acta* **1956**, *39*, 1564-1579.

[405] M. Rüth, ""Synthese und Biosynthese von Farbstoffen und anderen Sekundärmetaboliten aus Höheren Pilzen", *Dissertation*, Ludwig-Maximilians-Universität, München, **2000**.".

[406] W. S. G. Maass, A. C. Neish, "Lichen Substances. II. Biosynthesis of Calycin and Pulvinic Dilactone by the Lichen, *Pseudocyphellaria crocata*", *Can. J. Bot.* **1967**, *45*, 59-72.

[407] F. Kiuchi, H. Takashima, Y. Tsuda, "Dimerization of 2,5-Dihydroxybenzoquinones in Water", *Chem. Pharm. Bull.* **1998**, *46*, 1229-1234.

[408] F. Kiuchi, N. Suzuki, Y. Fukumoto, Y. Goto, M. Mitsui, Y. Tsuda, "Chemical Transformation of Embelin through Dimerization During Preparation of a Decoction", *Chem. Pharm. Bull.* **1998**, *46*, 1225-1228.

[409] E. Jägers, B. Steffan, R. v. Ardenne, W. Steglich, "Stoffwechselprodukte des 1,2,4-Trihydroxybenzols aus Fruchtkörpern von *Gomphidius maculatus* und *G. glutinosus* (Boletales)", *Z. Naturforsch.* **1981**, *36c*, 488-489.

[410] Die Arbeiten wurden bereits veröffentlicht: M. Lang, P. Spiteller, V. Hellwig, W. Steglich, "Stephanosporin, ein 'spurloser' Vorläufer von 2-Chlor-4-nitrophenol im Bauchpilz *Stephanospora caroticolor*", *Angew. Chem.* **2001**, *113*, 1749-1751; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **2001**, *40*, 1704-1705.

[411] J. Breitenbach, F. Kränzlin, "Pilze der Schweiz", Bd. 2, Nichtblätterpilze, Verlag Mykologia, Luzern, **1986**.

[412] B. Fugmann, "Neue niedermolekulare Naturstoffe aus Höheren Pilzen (Basidiomyceten) - Isolierung, Strukturaufklärung und Synthese", *Dissertation*, Rheinische Friedrich-Wilhelms-Universität, Bonn, **1985**.

[413] J. Klein, "Neue Methoden zur Synthese monocyclischer 3H-Azepine", *Dissertation*, Rheinische Friedrich-Wilhelms-Universität, Bonn, **1989**.

[414] V. Hellwig, "Isolierung, Strukturaufklärung und chemotaxonomische Untersuchungen von Sekundärmetaboliten aus Pilzen", *Dissertation*, Ludwig-Maximilians-Universität, München, **1999**.

[415] P. Griess, "Ueber zwei neue Abkömmlinge der Phenylsäure", *Justus Liebigs Ann. Chem.* **1859**, *109*, 286-295.

[416] P. Griess, "Ueber eine neue Klasse organischer Verbindungen, welche Wasserstoff durch Stickstoff vertreten enthalten", *Justus Liebigs Ann. Chem.* **1860**, *113*, 201-217.

[417] O. Krätz, "Das Portrait: Peter Griess (1829-1888)", *Chem. U. Zeit* **1976**, *10*, 42-47.

[418] K. Linhart, A. Friedrich (Bayer AG), "Verfahren zur Herstellung von Aminonitrophenolen", DE 2614825, **1976**; *Chem. Abstr.* **1978**, *88*, 22374u.

[419] W. Ried, M. Butz, "Umsetzung von *o*-Chinondiaziden mit Methylen-aktiven Verbindungen", *Justus Liebigs Ann. Chem.* **1968**, *716*, 190-197.

[420] P. Griess, "Vorläufige Notiz über die Einwirkung von salpetriger Säure auf Amidnitro- und Aminitrophenylsäure", *Justus Liebigs Ann. Chem.* **1858**, *106*, 123-125.

[421] E. Enders, "Methoden zur Herstellung und Umwandlung von Arylhydrazinen und Arylhydrazonen", in *Methoden Org. Chem. (Houben-Weyl)*, 4. Aufl., Bd. 10/2, **1967**, S. 177ff (Herst. v. Arylhydrazinen allg.), S. 201ff ($SnCl_2$ als Reduktionsm.), S. 357f (Arylhydrazine u. Carbonsäureanhydride).

[422] R. M. Hann, C. S. Hudson, "The Preparation of Lactones from the Phenylhydrazides of the Acids of the Sugar Group", *J. Am. Chem. Soc.* **1934**, *56*, 957-958.

[423] R. B. Kelly, "Phenylhydrazide as a Protective Group in Peptide Synthesis", *J. Org. Chem.* **1963**, *28*, 453-456.

[424] R. B. Kelly, G. R. Umbreit, W. F. Liggett, "The Oxidation of Phenylhydrazides to Carboxylic Acids with Manganese Dioxide. II. By-Products", *J. Org. Chem.* **1964**, *29*, 1273-1275.

[425] G. H. Müller, H. Waldmann, "The Phenyl Hydrazide as an Enzyme-Labile Protecting Group - Oxidative Cleavage with Mushroom Tyrosinase", *Tetrahedron Lett.* **1999**, *40*, 3549-3552 u. zit. Lit.

[426] H. B. Milne, W. Kilday, "Peptide Synthesis *via* Oxidation of N-Acetyl-α-amino Acid Phenylhydrazides", *J. Org. Chem.* **1965**, *30*, 64-66.

[427] F. Stieber, U. Grether, H. Waldmann, "Ein oxidationslabiler 'spurloser' Anker für die Festphasensynthese", *Angew. Chem.* **1999**, *111*, 1142-1145; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1999**, *38*, 1073-1077.

[428] Review: S. Bräse, S. Dahmen, "Traceless Linkers - Only Disappearing Links in Solid-Phase Organic Synthesis?", *Chem. Eur. J.* **2000**, *6*, 1899-1905.

[429] R. Pütter, "Methoden zur Herstellung und Umwandlung sonstiger Arylazoverbindungen", in *Methoden Org. Chem. (Houben-Weyl)*, 4. Aufl., Bd. 10/3, **1965**, S. 616-621 (*N*-Acyl-*N'*-aryl-diimine).

[430] R. A. Clement, "Cyclic Diacyl Diimides", *J. Org. Chem.* **1962**, *27*, 1115-1118. Für eine Anwendung der Bleiacetat-Oxidation auf ein 1-Acyl-2-arylhydrazin s. H. Blaschke, E. Brunn, R. Huisgen, W. Mack, *Chem. Ber.* **1972**, *105*, 2841-2853, S. 2853.

[431] W. R. Bowman, J. A. Forshaw, K. P. Hall, J. P. Kitchin, A. W. Mott, "Reduction of Ag(I) by 1-Acyl-2-arylhydrazines: Mechanism of Photographic Infectious Development", *Tetrahedron* **1996**, *52*, 3961-3972.

[432] J. P. Kitchin, K. P. Hall, A. W. Mott, C. Marchesano, R. Bowman, "Hydrazine-Promoted Infectious Development of Silver Halide - An Improved Process", *J. Imaging Tech.* **1989**, *15*, 282-284.

[433] E. M. Kosower, T. Miyadera, "Probable Mechanism of Action of Diazene Antibiotics", *J. Med. Chem.* **1972**, *15*, 307-312.

[434] K. S. Burmistrov, N. V. Toropin, S. I. Burmistrov, T. V. Gosteminskaya, V. I. Savich, S. S. Artemchenko, N. V. Baranova, *Zh. Org. Khim.* **1993**, *29*, 735-742; engl. Übers.: "Tautomerism of 1,4-Benzoquinone Benzoylhydrazones", *Russian J. Org. Chem.* **1993**, *29*, 614-619.

[435] R. Kileci-Ksoll, "Zur Reaktion von Acylhydrazinen mit Chinonen", *Diplomarbeit*, Rheinische Friedrich-Wilhelms-Universität, Bonn, **1985**.

[436] R. Bhandari, T. Eguchi, A. Sekine, Y. Ohashi, K. Kakinuma, "Structure of NG-061, a Novel Potentiator of Nerve Growth Factor (NGF) Isolated from *Penicillium miniluteum* F-4627", *J. Antibiot.* **1999**, *52*, 231-234.

[437] R. Kileci-Ksoll, "Untersuchungen über die Inhaltsstoffe von Champignon-Arten und die Schäffer'sche Kreuzungsreaktion", *Dissertation*, Rheinische Friedrich-Wilhelms-Universität, Bonn, **1989**.

[438] E. M. Kosower, "Monosubstituted Diazenes (Diimides). Surprising Intermediates", *Acc. Chem. Res.* **1971**, *4*, 193-198.

[439] J. Nicholson, S. G. Cohen, "Phenyldiimide. III. Ferric Ion Catalyzed Formation of Free Radicals in Heterolysis of Azo Compounds", *J. Am. Chem. Soc.* **1966**, *88*, 2247-2252.

[440] P. C. Huang, E. M. Kosower, "Diazenes. III. Properties of Phenyldiazene", *J. Am. Chem. Soc.* **1968**, *90*, 2367-2376.

[441] E. M. Kosower, P. C. Huang, T. Tsuji, "Diazenes. V. Aryldiazenes", *J. Am. Chem. Soc.* **1969**, *91*, 2325-2329.

[442] R. V. Hoffman, A. Kumar, "Oxidation of Hydrazine Derivatives with Arylsulfonyl Peroxides", *J. Org. Chem.* **1984**, *49*, 4014-4017.

[443] M. R. Smith III, G. L. Hillhouse, "Reactions of Terminal Alkynes with *cis*-Phenyldiazene", *J. Am. Chem. Soc.* **1989**, *111*, 3764-3765.

[444] M. Polster, *Arch. Exp. Veterinärmed.* **1967**, *21*, 299-305; *Chem. Abstr.* **1968**, *68*, 19912z.

[445] S. Dahl, "Prevention of Microbiological Deterioration of Leather", *J. Am. Leather Chem. Assoc.* **1956**, *51*, 103-118; *Chem. Abstr.* **1956**, *50*, 16152b.

[446] S. Dahl, A. M. Kaplan, "Laboratory and Field-Exposure Studies of Leather Fungicides", *J. Am. Leather Chem. Assoc.* **1956**, *51*, 118-136; *Chem. Abstr.* **1956**, *50*, 16152d.

[447] S. Dahl, A. M. Kaplan, "Leather Fungicides", *J. Am. Leather Chem. Assoc.* **1958**, *53*, 103-118; *Chem. Abstr.* **1958**, *52*, 19206e.

[448] W. A. Sexton, F. L. Sharp (ICI), "Treatment of Seeds and Tubers", GB 568949, **1945**; *Chem. Abstr.* **1947**, *41*, 4272a.

[449] G. Truffaut, I. Pastac, "Produits herbicides, fongicides, insecticides, assurant la protection des récoltes", FR 895038, **1944**; *Chem. Abstr.* **1953**, *47*, 4034c.

[450] E. Kühle, E. Klauke, P.-E. Frohberger (Bayer AG), "Fungizide Mittel", DE 2712434, **1977**; *Chem. Abstr.* **1979**, *90*, 1684w.

[451] E. L. Wang, W. Hamada, Y. Okami, H. Umezawa, "A New Antibiotic, Spinamycin", *J. Antibiot. Ser. A* **1966**, *19*, 216-221.

[452] H. Naganawa, T. Takita, K. Maeda, H. Umezawa, "The Structure of Spinamycin", *J. Antibiot.* **1968**, *21*, 241-242.

[453] T. Kinoshita, S. Minato, "Structural Studies on Anthglutin, an Inhibitor of γ-Glutamyl Transpeptidase, from *Penicillium Oxalicum*", *Bull. Chem. Soc. Japan* **1978**, *51*, 3282-3285.

[454] S. Minato, "Isolation of Anthglutin, an Inhibitor of γ-Glutamyl Transpeptidase from *Penicillum oxalicum*", *Arch. Biochem. Biophys.* **1979**, *192*, 235-240.

[455] B. Levenberg, "Isolation and Structure of Agaritine, a γ-Glutamyl-Substituted Arylhydrazine Derivative from *Agaricaceae*", *J. Biol. Chem.* **1964**, *239*, 2267-2273 u. zit. Lit.

[456] R. B. Kelly, E. G. Daniels, J. W. Hinman, "Agaritine: Isolation, Degradation, and Synthesis", *J. Org. Chem.* **1962**, *27*, 3229-3231.

[457] R. Doyle, B. Levenberg, "Structures of Several Unusual α-Amino Acids from Basidiomycetes", *Federation Proceedings* **1967**, *26*, 453-453 (51st Annual Meeting, Abstract Nr. 1093).

[458] A. J. Chulia, J. Bernillon, J. Favre-Bonvin, M. Kaouadji, N. Arpin, "Isolation of β-*N*-(γ-Glutamyl)-4-formylphenylhydrazine (Agaritinal) from *Agaricus campestris*", *Phytochemistry* **1988**, *27*, 929-930.

[459] Y. Chauhan, D. Nagel, M. Gross, R. Cerny, B. Toth, "Isolation of N^2-[γ-L-(+)-Glutamyl]-4-carboxyphenylhydrazine in the Cultivated Mushroom *Agaricus bisporus*", *J. Agric. Food Chem.* **1985**, *33*, 817-820.

[460] B. Levenberg, "An Aromatic Diazonium Compound in the Mushroom *Agaricus bisporus*", *Biochim. Biophys. Acta* **1962**, *63*, 212-214.

[461] A. E. Ross, D. L. Nagel, B. Toth, "Evidence for the Occurrence and Formation of Diazonium Ions in the *Agaricus bisporus* Mushroom and its Extracts", *J. Agric. Food Chem.* **1982**, *30*, 521-525.

[462] B. Toth, "Mushroom Toxins and Cancer", *Int. J. Oncol.* **1995**, *6*, 137-145 (Review).

[463] S. Hilbig, T. Andries, W. Steglich, T. Anke, "Zur Chemie und antibiotischen Aktivität des Carbolegerlings (*Agaricus xanthoderma*)", *Angew. Chem.* **1985**, *97*, 1063-1064.

[464] S. Hilbig, "Zur Chemie des Karbolegerlings (*Agaricus xanthoderma* Gen.) und anderer Champignonarten", *Dissertation*, Rheinische Friedrich-Wilhelms-Universität, Bonn, **1986**.

[465] M. Gill, R. J. Strauch, "Constituents of *Agaricus xanthodermus* Genevier: The First Naturally Endogenous Azo Compound and Toxic Phenolic Metabolites", *Z. Naturforsch.* **1984**, *39c*, 1027-1029.

[466] K. Dornberger, W. Ihn, W. Schade, D. Tresselt, A. Zureck, L. Radics, "Evidence for the Occurrence of the 4-Hydroxybenzenediazonium Ion in the Extracts of *Agaricus xanthodermus* Genevier (Agaricales)", *Tetrahedron Lett.* **1986**, *27*, 559-560.

[467] H. E. Gottlieb, V. Kotlyar, A. Nudelman, "NMR Chemical Shifts of Common Laboratory Solvents as Trace Impurities", *J. Org. Chem.* **1997**, *62*, 7512-7515.

[468] W. C. Still, M. Kahn, A. Mitra, "Rapid Chromatographic Technique for Preparative Separations with Moderate Resolution", *J. Org. Chem.* **1978**, *43*, 2923-2925.

[469] W. G. Kofron, L. M. Baclawski, "A Convenient Method for Estimation of Alkyllithium Concentrations", *J. Org. Chem.* **1976**, *41*, 1879-1880.

[470] E. Juaristi, A. Martínez-Richa, A. García-Rivera, J. S. Cruz-Sánchez, "Use of 4-Biphenylmethanol, 4-Biphenylacetic Acid, and 4-Biphenylcarboxylic Acid/Triphenylmethane as Indicators in the Titration of Lithium Alkyls. Study of the Dianion of 4-Biphenylmethanol", *J. Org. Chem.* **1983**, *48*, 2603-2606.

[471] A. M. Schwartz, "Peroxide Reactions", *Chem. Eng. News* **1978**, *56*, 88-88.

[472] S. N. Huckin, L. Weiler, "Alkylation of Dianions of β-Keto Esters", *J. Am. Chem. Soc.* **1974**, *96*, 1082-1087.

[473] F.-W. Sum, L. Weiler, "Stereoselective Synthesis of β-Substituted α,β-Unsaturated Esters by Dialkylcuprate Coupling to the Enol Phosphate of β-Keto Esters", *Can. J. Chem.* **1979**, *57*, 1431-1441.

[474] R. Takagi, A. Sasaoka, H. Nishitani, S. Kojima, Y. Hiraga, K. Ohkata, "Stereoselective Syntheses of (+)-Rhopaloic Acid and (–)-*ent*- and (±)-*rac*-Rhopaloic Acid A", *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **1998**, 925-934.

[475] S. C. Watson, J. F. Eastham, "Colored Indicators for Simple Direct Titration of Magnesium and Lithium Reagents", *J. Organomet. Chem.* **1967**, *9*, 165-168.

[476] *Gmelins Handbuch der Anorganischen Chemie*, 8. Aufl., Kupfer, Teil B, Lieferung 1, System-Nr. 60, Verlag Chemie, Weinheim/Bergstr., **1958**, S. 207.

[477] R. L. Edwards, D. V. Wilson, "Constituents of Higher Fungi. Part II. The Synthesis of Hispidin", *J. Chem. Soc.* **1961**, 5003-5004.

[478] A. Faust, H. Müller, "Ueber Metachlorphenol und dessen Nitroderivate", *Justus Liebigs Ann. Chem.* **1874**, *173*, 303-317.

[479] A. Faust, "Ueber die Constitution der Chlorphenole, der Chlornitrophenole und der Nitrophenole", *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1873**, *6*, 132-136.

[480] A. Faust, "Berichtigung früherer Angaben über Chlornitrophenole", *Justus Liebigs Ann. Chem.* **1874**, *173*, 317-318.

Lebenslauf

Name:	Martin Lang
geboren:	am 31. August 1972 in Weilheim/Obb.
Familienstand:	verheiratet mit der Kunsthistorikerin Zita Lang, geb. Knolmayer; eine Tochter

Schulen

September 1978 - August 1982	Grundschule am Hardt, Weilheim
September 1982 - Juli 1991	Gymnasium Weilheim
10. Juli 1991	Abitur

Zivildienst

August 1991 - Oktober 1992	Lebenshilfe für geistig Behinderte, Kreisvereinigung Starnberg e.V.

Studium

November 1992 - Dezember 1997	Studium der Chemie an der Universität München
11. Mai 1995	Diplomvorprüfung Wahlpflichtfach im Hauptstudium: Biochemie
15. Mai 1997	Mündliche Diplomhauptprüfung
Juni 1997 - Dezember 1997	Diplomarbeit bei Prof. Dr. W. Steglich, Ludwig-Maximilians-Universität München: „Rhizopogon, ein Ansachinon aus dem Latschen-Wurzeltrüffel *Rhizopogon pumilionus*“
29. Dezember 1997	Diplomhauptprüfung

Promotion

Januar 1998 - Oktober 2001	Experimentelle Arbeiten zur Dissertation bei Prof. Dr. W. Steglich, Ludwig-Maximilians-Universität München: „Biosynthese und Synthese von Sekundärmetaboliten aus den Pilzen *Suillus tridentinus*, *Suillus bovinus* und *Stephanospora caroticolor*“

Tätigkeiten

Juli 1997 - Dezember 1997	Wissenschaftliche Hilfskraft
Februar 1998 - Mai 2002	Wissenschaftlicher Angestellter
Januar 2000 - Mai 2002	Mitglied des Sonderforschungsbereiches 369 der Deutschen Forschungsgemeinschaft: „Molekulare und bioorganische Grundlagen des Sekundärstoffwechsels – Schlüsselschritte der Biosynthese von Pilzinhaltsstoffen“