Peroxide als Pflanzeninhaltsstoffe, 6. Mitt.: [1]

Hydroperoxide aus den Blütenköpfchen der Römischen Kamille, *Anthemis Nobilis L.*

Gerhard Rücker+, Ralf Mayer und Kang Ro Lee[2]

Pharmazeutisches Institut der Universität Bonn, Kreuzbergweg 26, 5300 Bonn 1

Eingegangen am 11. Januar 1989

Aus dem Ethanolextrakt der Blütenköpfchen von *Anthemis nobilis L.* (syn. *Chamaemelum nobile L.*) wurden neben dem schon früher isolierten 1ß-Hydroperoxyisonobilin (7) sechs weitere Hydroperoxide (1-6) isoliert. Ihre Strukturen wurden durch spektroskopische Methoden aufgeklärt und in einigen Fällen durch Synthese gesichert. Die Peroxide 2 und 3 zeigen eine mittlere antibakterielle Wirkung.

Peroxides as Plant Constituents, VI: Hydroperoxides from the Blossoms of Roman Camomile *(Anthemis nobilis L., Asteraceae)*

From the ethanol extract of the blossoms of *Anthemis nobilis L.* (syn. *Chamaemelum nobile L.*), six new hydroperoxides (1 - 6) were isolated, besides the known 1ß-hydroperoxyisonobilin (7). The structures were elucidated by spectroscopic methods and in some cases ascertained by synthesis. Compounds 2 and 3 show a medium antibacterial activity.

Vor einiger Zeit berichteten wir über ein Sesquiterpenlacton-Hydroxyperoxid, 1ß-Hydroperoxyisonobilin (7), aus den Blütenköpfchen von *Anthemis nobilis L.*[3]. Weitere Untersuchung des Ethanolextraktes lieferte sechs neue Verbindungen (1 bis 6) mit positiven Reaktionen auf Peroxide[2].

Die physikalischen und spektroskopischen Daten (Tab. 1, 2) des Peroxids **1** zeigen das Vorliegen des trans-Pinocarveylhydroperoxids, das schon früher durch eine stereoselektiv verlaufende EN-Reaktion von $^1O_2$ und α-Pinen synthetisiert[4], als Naturstoff aber noch nicht beschrieben wurde.

Das MS des Peroxids **2** gab einen Molpeak bei m/z=200, entspr. der Summenformel $C_{10}H_{16}O_4$. Im IR-Spektrum liegen Esterbanden bei 1700 und 1150 cm^{-1} vor. Banden bei 3550 und 3360 cm^{-1} für OH-Valenzschwingungen und das Signal eines mit D_2O austauschbaren Protons im ^{1}H-NMR-Spektrum (Tab. 3) bei 9.60 ppm kennzeichnen eine Hydroperoxygruppe. Das ABX-System einer Vinylgruppe zeigt Signale bei δ_A=5.27, δ_B=5.30 und δ_X=6.01 ppm. Zwei Protonen bei δ_A=4.20 und δ_B=4.52 ppm bilden ein AB-System; eine Methylgruppe erscheint bei 1.33 ppm.^{1}H-NMR- und ^{13}C-NMR-Spektren (Tab. 3, 4) bestätigen das Vorliegen der Angelicasäure[5] als Ester-Komponente.

Damit sollte **2** die Konstitution des (Z)-2-Methyl-2-butensäure-(2-hydroperoxy-2-methyl-3-butenyl)esters besitzen.

Wie **2**, ergab auch das MS des Peroxids **3** einen Molpeak bei m/z=200. Das IR-Spektrum läßt Banden für eine Estergruppe bei 1705 und 1150 cm^{-1} und für Doppelbindungen bei 3080; 1630; 920 und 845 cm^{-1} sowie OH-Valenzschwingungen bei 3540 und 3410 cm^{-1} erkennen. Im^1 H-NMR-Spektrum (Tab. 3) weisen das Signal eines mit D_2O austauschbaren H bei 9.32 ppm und das Quartett eines H bei 4.61 ppm auf eine sekundäre Hydroperoxygruppe hin. Letzteres H koppelt lediglich mit einer Methylgruppe bei 1.28 ppm. Zwei H bei 4.62 ppm und 4.85 ppm bilden ein AB-System. Im olefinischen Bereich erscheinen zwei H bei 5.26 und 5.27 ppm. In den^{1}H- und^{13}C-NMR-Spektren (Tab. 3, 4) läßt sich wie in **2** die Angelicasäure als Ester-Komponente erkennen[5]. Diese Daten führen zur Struktur des (Z)-2-Methyl-2-butensäure-(3-hydroperoxy-2-methylidenbutyl)-esters. Die Struktur der racemischen Hydroperoxyde **2** und

Tab. 1: ^{1}H-NMR-Daten und H, H-Korrelation von **1** (300 MHz, $CDCl_3$)

H	δ (ppm)	Korreliert mit	J(Hz)
1	2.49 t	H-5, 7a	$J_{1,5}$= $J_{1,7a}$= 5.5
3	4.62 d	H-4a, 4b	$J_{3,4a}$= 8.0, $J_{3,4b}$= 0
4a	2.24 ddd	H-3, 4b, 7a	$J_{4a,4b}$= 13.5, $J_{4a,7a}$= 2.2
4b	1.92 dd	H-4a, 5	$J_{4b,5}$= 4.0
5	1.96 ddd	H-1, 4b, 7a	$J_{5,7a}$= 5.5
7a	2.33 dddd	H-1, 4a, 5, 7b	$J_{7a,7b}$= 10.0
7b	1.50 d	H-7a	
8	1.28 s		
9	0.68 s		
10a	5.00 s	H-10b	$J_{10a,10b}$= 0
10b	5.12 s	H-10a	
OOH	8.00 br s		

Tab. 2: ^{13}C-NMR-Daten und C, H-Korrelation von **1** (75 MHz, $CDCl_3$)

C	δ (ppm)	Korreliert mit
1	50.4	H-1
2	148.3	
3	80.6	H-3
4	30.6	H-4a, 4b
5	39.2	H-5
6	41.1	
7	27.5	H-7a, 7b
8	25.9	H-8
9	21.9	H-9
10	115.0	H-10a, 10b

 ©VCH Verlagsgesellschaft mbH, D-6940 Weinheim, 1989 0365-6233/89/1111-0821 $ 02.50/0

Tab. 3: ^{1}H-NMR-Daten und H, H-Korrelationen: von **2**, **3**, **4** und **5** (300 MHz, $CDCl_3$)

H	δ (ppm) **2**	Korreliert mit H	δ (ppm) **3**	Korreliert mit H	δ (ppm) **4**	δ (ppm) **5**	Korreliert mit H
1a	4.20 d	1b	4.62 d	1b			
1b	4.52 d	1a	4.85 dd	1a, 5b			
2						4.59 q	3
3	6.01 dd	4a, 4b	4.61 q	4	5.00 qd	1.27 d	2
4a	5.27 dd	3, 4b	1.28 d	3	1.36 d		
4b	5.30 dd	3, 4a					
5a	1.33 s		5.26 d	5b	5.92 dd		
5b			5.27 d	5a	6.36 d		
1'a					3.95 d	4.75 dd	1'b, 4'a
1'b						4.55 dt	1'a, 4'a, 4'b
2'					2.00 sept		
3'	6.18 qq	4', 5'	6.13 qq	4', 5'	0.96 d	2.10 s	
4'a	2.05 dq	3', 5'	1.97 dq	3', 5'	0.96 d	5.25 sf*)	1'a, 1'b, 4'b
4'b						5.27 sf	1'b, 4'a
5'	1.91 t	3', 4'	1.91 t	3', 4'			
OOH	9.60 s		9.32 s		8.52 s	9.10 s	

*Singulett mit Feinstruktur

2: $J_{1a,1b}$=12.2, $J_{3,4a}$=11.5, $J_{3,4b}$=18.0, $J_{4a,4b}$=1, $J_{3',4'}$=7.2, $J_{3',5'}$=$J_{4',5'}$=1.5

3: $J_{1a,1b}$=14.0, $j_{1b,5b}$=1.5, $J_{3,4}$=7.0, $J_{5a,5b}$=1.5, $J_{3',4'}$=7.2, $J_{3',5'}$=$J_{4',5'}$=1.5

4: $J_{3,4}$=6,5, $J_{3,5a}$=1.2, $J_{5a,5b}$=1, $J_{1',2'}$=$J_{2',3'}$=$J_{2',4'}$=6.7

5: $J_{2,3}$=6.9, $J_{1'a,1'b}$=13.7,$J_{1'a,4'a}$=$J_{1'b,4'a}$=$J_{1'b,4'b}$=1.5

Tab. 4: ^{13}C-NMR-Daten und C,H-Korrelationen von **2**, **3**, **4** und **5** (75 MHz, $CDCl_3$)

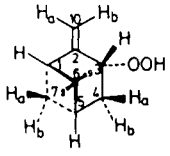
C	δ (ppm) **2**	Korreliert mit H	δ (ppm) **3**	Korreliert mit H	δ (ppm) **4**	δ (ppm) **5**	Korreliert mit H
1	64.8	1a, 1b	62.3	1a, 1b	165.9	171.3	
2	83.5		143.9		140.7	82.8	2
3	137.5	3	82.9	3	79.5	17.1	3
4	116.5	4a, 4b	17.2	4	18.6		
5	19.9	5	115.6	5a, 5b	125.1		
1'	169.4		168.0		71.0	62.8	1'a, 1'b
2'	127.2		127.3		27.8	143.5	
3'	140.3	3'	139.4	3'	19.1	20.9	3'
4'	15.9	4'	15.9	4'	19.1	115.9	4'a, 4'b
5'	20.5	5'	20.5	5'			

3 wurde durch EN-Reaktion von **8** mit $^1O_2$ gesichert, bei der u. a. beide Verbindungen als Racemate gebildet werden[2].

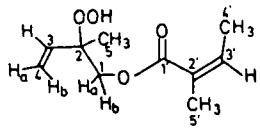
Das IR-Spektrum des Peroxids **4** zeigt Banden bei 3550 und 3410 cm^{-1} für OH-Valenzschwingungen und bei 1630 bzw. 955 cm^{-1} für eine endständige olefinische Methylengruppe, außerdem Esterbanden bei 1710 und 1170 cm^{-1}. Im ^{1}H-NMR-Spektrum (Tab. 3) sind das Signal bei 5.00 ppm und das Singulett eines mit D_2O austauschbaren H bei 8.52 ppm Hinweise auf ein sekundäres Hydroperoxid. Eine Doppelbande bei 1380 cm^{-1} im IR-Spektrum und zwei chemisch äquivalente Methylgruppen im ^{1}H-NMR-Spektrum bei 0.96 ppm sowie ein Septett bei 2.00 ppm weisen auf eine Isopropylgruppe hin. Eine dritte Methylgruppe erscheint bei 1.36 ppm. Im olefinischen Bereich des ^{1}H-NMR-Spektrums liegen die Signale zweier H bei 5.92 und 6.36 ppm. Die hieraus abgeleitete Struktur des 3-Hydroperoxy-2-methyliden-buttersäureisobutylesters wurde durch EN-Synthese aus (E)-2-Methyl-2-butensäureisobutylester (**9**) mit $^1O_2$ bestätigt, die überwiegend zu **4** verläuft.

Aus den IR-Banden und ^{1}H-NMR-Signalen des Peroxids **5** (Tab. 3) lassen sich eine endständige olefinische Methylengruppe, eine Esterfunktion und ein sekundäres Hydroperoxid erkennen. Im ^{1} H-NMR-Spektrum bilden zwei H bei 4.55 und 4.75 ppm ein AB-System. Zwei Methylgruppen erscheinen bei 1.27 und 2.10 ppm. Damit besitzt **5** offenbar die Struktur des 2-Hydroperoxypropionsäure-(2-methyl-2-propenyl)-esters.

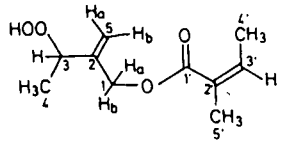
Aus dem CI-MS (Isobutan) des Hydroperoxids **6** ergab sich $M^{+\cdot}$ bei m/z=360 für eine Summenformel $C_{20}H_{24}O_6$. Banden für OH-Valenzschwingungen bei 3540 und 3310 cm^{-1} im IR-Spektrum und ein mit D_2O austauschbares H im ^{1}H-NMR-Spektrum (Tab. 5) bei 7.97 ppm kennzeichnen eine Hydroperoxygruppe. Die IR-Bande bei 1775 cm^{-1} weist auf ein α-Methylen-γ-lacton, Banden bei 1715 und



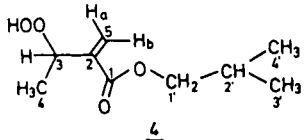
1



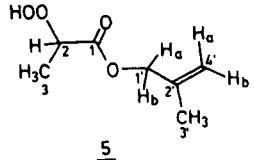
2



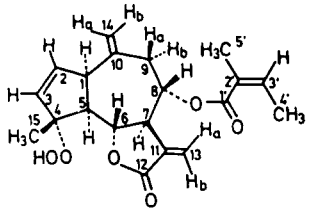
3



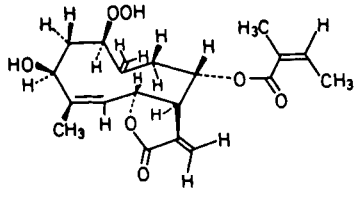
4



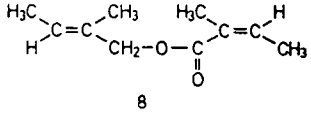
5



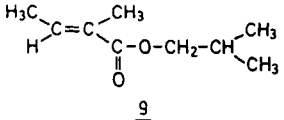
6



7



8



9

1215 cm^{-1} auf eine Estergruppe hin. Weitere Banden bei 3020; 1640; 955; 920 und 840 cm^{-1} lassen eine Exomethylengruppe sowie eine trisubstituierte Doppelbindung erkennen. Die Signale bei 5.80 und 6.30 ppm sind der Exomethylengruppe des α-Methylen-γ-lactons, die Signale bei 3.30 und 4.22 ppm den H des Lactonringes zuzuordnen. Das Signal bei δ_X=5.03 ppm bildet ein ABX-System mit den Methylenprotonen bei δ_A =2.15 ppm und δ_B=3.07 ppm. Bei 4.88 und 5.12 ppm erscheinen Signale einer zweiten Exomethylengruppe. Die vicinale Kopplungskonstante ^3J= 5.7 Hz zweier olefinischer H bei 5.75 und 5.97 ppm sowie die ^{13}C, ^1H-Kopplungskonstanten von Protonen bei 3.61 ppm (^{13}C: δ= 51.8D) $^1J(^{13}C, ^1H)$=132 Hz und 2.97 ppm (^{13}C: δ=49.4D) $^1J(^{13}C, ^1H)$=134 Hz kennzeichnen einen Cyclopenten-Ring[6),7)], wie er z.B. im Sesquiterpenlacton Hymenopappolid vorliegt[8)]. Eine Methylgruppe bei 1.39 ppm könnte an das Peroxy-C gebunden sein, da sie bei relativ tiefem Feld als Singulett erscheint. In den ^1H- und ^{13}C-NMR-Spektren (Tab. 5, 6) läßt sich als Ester-Komponente die Angelicasäure erkennen[5)]. Da die chemischen Verschiebungen und die Kopplungskonstanten der Sequenz C1-C5-C6-C7-C11-C13 in nahezu vollständiger Übereinstimmung mit denen des Hymenopappolids stehen[8)], sollten in Substanz **6** wie in Hymenopappolid eine 1α, 5α-cis Konfiguration und ein 6 α, 7ß-trans-annelierter Lactonring vorliegen. Eine aus Modellbetrachtungen erkennbare H-Brücke zwischen einer 4ß-orientierten Hydroperoxygruppe und dem Sauerstoff des Lactonrings konnte IR-spektroskopisch nicht nachgewiesen werden. Vielmehr lassen Modellbetrachtungen die Tieffeldverschiebungen von H-1 und H-5 sowie das gegenüber einem 4ß-hydroxylierten Guaianolid[9)] bei höherem Feld erscheinende Signal von H-6 auf eine 4α-Stellung der OOH-Gruppe zurückführen. Aus den Verschiebungswerten von H-6, H-7 und H-9 sowie aus der relativ großen trans-diaxialen Kopplungskonstanten von H-7 und H-8 kann auf eine 8α-Stellung der Ester-Gruppe geschlossen werden. Das wird auch durch die cis-diaxiale Kopplungskonstante ($J_{8,9a}$=10.5) bzw. die axial-equatoriale Kopplungskonstante ($J_{8,9b}$=5.7 Hz) bestätigt. Für Substanz **6** wird die Kurzbezeichnung „4α-Hydroperoxyromanolid" vorgeschlagen. Guaianolide wurden bisher noch nicht aus *A. nobilis* isoliert.

Die isolierten Peroxide konnten durch eine Untersuchung frischen Pflanzenmaterials als Naturstoffe identifiziert werden. Insgesamt bildet *A. nobilis* im Verlauf der Vegetationsperiode maximal 10 Peroxide, von denen 7 identifiziert wurden. Anzahl und Gehalt der Verbindungen nehmen bis zur Blütezeit zu und dann wieder ab. Bis auf das

Tab. 5: ^{1}H-NMR-Daten und H, H-Korrelation von **6** (300 MHz, $CDCl_3$)

H	δ (ppm)	Korrelation mit	J (Hz)
1	3.61 br d	H-2,3,5,14a	$J_{1,2}$=2.6, $J_{1,3}$=1.7 $J_{1,5}$=9.7, $J_{1,14a}$=0.7
2	5.75 dd	H-1,3	$J_{2,3}$=5.7
3	5.97 dd	H-1,2	
5	2.97 dd	H-1,6	$J_{5,6}$=11.3
6	4.22 dd	H-5,7	$J_{6,7}$=8.5
7	3.30 dddd	H-6,8,13a,13b	$J_{7,8}$=10.5, $J_{7,13a}$=3.0 $J_{7,13b}$=3.3
8	5.03 td	H-7,9a, 9b	$J_{8,9a}$=10.5, $J_{8,9b}$=5.7
9a	2.15 dd	H-8,9b	$J_{9a,9b}$=12.3
9b	3.07 dd	H-8,9a	
13a	5.80 d	H-7,13b	$J_{13a,13b}$=0
13b	6.30 d	H-7,13a	
14a	4.88 sf	H-1,14b	$J_{14a,14b}$=0
14b	5.12 sf	H-14a	
15	1.39 s		
3'	6.19 qq	H-4', 5'	$J_{3',4'}$=7.2, $J_{3',5'}$=1.5
4'	2.03 dq	H-3',5'	$J_{4',5'}$=1.5
5'	1.95t	H-3',4'	
OOH	7.97 s		

Tab. 6: ^{13}C-NMR-Daten und C,H-Korrelation von **6** (75 MHz, $CDCl_3$)

C	δ (ppm)	^{1}J (C,H) (Hz)	Korreliert mit
1	51.8 D	132	H-1
2	133.2 D	166	H-2
3	137.0 D	166	H-3
4	95.7 S		
5	49.4 D	133	H-5
6	77.9 D	150	H-6
7	47.6 D	134	H-7
8	73.7 D	150	H-8
9	44.7 T	130	H-9a, 9b
10	141.2 S		
11	135.7 S		
12	169.5 S		
13	125.1 T	162	H-13a, 13b
14	117.1 T	157	H-14a,14b
15	20.3 Q	127	H-15
1'	166.5 S		
2'	126.9 S		
3'	140.1 D	152	H-3'
4'	15.9 Q	127	H-4'
5'	20.6 Q	127	H-5'

Hydroperoxid **5** sind alle Verbindungen Allylhydroperoxide, deren Bildung durch EN-Reaktion möglich ist.

Die Hydroperoxide **1**, **2**, **3**, **4** und **7** wurden nach der Bouillon-Verdünnungsmethode[10] auf antibakterielle Eigenschaften untersucht. Den MHK-Werten (Tab. 7) zufolge haben die Substanzen eine geringere Wirkung auf die untersuchten Mikroorganismen als die Vergleichssubstanzen Ampicillin und Gentamicin. Jedoch kann insbesondere den Verbindungen **2** und **3** eine mittlere antibakterielle Wirkung zugeordnet werden.

Herrn Prof. Dr. *B. Wiedemann* und Herrn Dr. *P. Heisig*, Abteilung für Medizinische Mikrobiologie für Pharmazeuten der Universität Bonn, danken wir für die Hilfe bei der mikrobiologischen Untersuchung.

Herrn Dr. *G. Eckhardt*, Zentralanalytik der Chemischen Institute der Universität Bonn, danken wir für die Aufnahme der hochaufgelösten Massenspektren, Herrn Dr. *H. Brzezinka*, Institut für Rechtsmedizin der Universität Bonn, für die Aufnahme des CI-Massenspektrums.

Herr *Kang Ro Lee* dankt der Konrad-Adenauer-Stiftung für ein Stipendium.

Tab. 7: MHK-Werte (μg/ml) von **1**, **2**, **3**, **4** und **7**

	1	**2**	**3**	**4**	**7**	Ampicillin	Gentamicin
Escherichia coli ATCC +25922	>1024	256	512	512	2048	16	1
Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853	>1024	512	128	1024	2048	>64	2
Enterococcus faecalis ATCC 29212	512	512	256	256	2048	2	32
Staphylococcus aureus ATTC 25923	512	256	256	64	1024	0.5	0.5
Staphylococcus aureus ATCC 29213	512	256	256	128	1024	0.13	1

+Americantype Tissue and Cell Culture

Experimenteller Teil

Schmp. unkorr.; UV: Perkin-Elmer 550S; IR: Perkin Elmer 298; NMR: Varian XL300; EI-MS:Kratos MS50; DCI-MS: Finnigan/MAT 212/188; Polarimeter: Perkin-Elmer 241; MPLC: Säulen 92 x 4.9 cm und 92 x 2.6 cm (Fa. Büchi), Pumpe B 682 (Fa. Büchi); Lobar-Chromatographie: Duramat-Dosierpumpe (Fa. Chemie u. Filter, Heidelberg); DC: Fertigplatten Kieselgel 60 F_{254}. Schichtdicke 0,25 mm (Merck).

Pflanzenmaterial und Extraktion

1 kg Flos Chamomillae romanae tot., bezogen 1986 von der Fa. Paul Müggenburg, Hamburg, und 2 kg, bezogen 1987 von der Fa. Petereit & Co. GmbH, Elmshorn, wurden mit Hilfe eines Ultraturrax mit 30 l Ethanol extrahiert. Nach Eindampfen erhielt man 238 g (7.9%) Rohextrakt. Wiederholte MPLC (Kieselgel 60, 0.06-0.2 mm, Petrolether/Essigester 65+35) gab vier Fraktionen (Petrolether/Essigester 65+35); I:R_f 0.68-0.86, 10.4 g; II:R_f 0.54-0.68, 4.1 g; III:R_f 0.45-0.54, 8.0 g; IV:R_f 0.18-0.40, 18.4 g. MPLC von 5g Fraktion I (Petrolether/Essigester 9+1) gab drei Subfraktionen (Petrolether/Essigester 9+1); Ia:R_f 0.30-0.38, 320 mg; Ib:R_f 0.20-0.30, 110 mg; Ic:R_f 0.12-0.20, 240 mg.

trans-Pinocarveylhydroperoxid (**1**)

a) 180 mg Subfraktion Ia wurden sc (Labor A-Säule, Merck, Hexan/Aceton 94+6) gereinigt. Die Fraktionen mit R_f 0.25 (Hexan/Aceton 94+6) gab nach Eindampfen 34 mg (0.053 %, bezogen auf den Ethanol-Extrakt).

b) In einer Bestrahlungsapparatur (Fa. Deme, Bornheim-Roisdorf bei Bonn) mit Natriumhochdruckbrenner (250 W) wurden 0.5 g (3.67 mmol) α-Pinen in 500 ml Dichlormethan mit einer Lösung von 50 mg Bengalrosa in 25 ml CH_3OH versetzt und 5h unter Kühlung auf 0° mit O_2 begast. Die Lösung wurde vorsichtig eingeengt und das Bengalrosa sc an 37 g Kieselgel (Säule 27 x 2.2 cm) mit Petrolether/Essigester (7+3) entfernt: 0.42 g (84%). 200 mg des gereinigten Reaktionsproduktes wurden sc getrennt (Labor A-Säule, Merck, Hexan/Aceton 94+6); Fraktionen mit R_f 0.25 (Hexan/Aceton 94+6) gaben nach Eindampfen 90 mg (42%) **1** als leicht flüchtiges, farbloses Öl. -$[\alpha]_D^{20}$= -38.2° ($CHCl_3$, c=0.67) (Lit. 4 $[\alpha]_D^{20}$= -42.37). - IR(CCl_4,): 3550m; 3510 w; 3080 w; 1643 m; 910 s cm^{-1}. -^{1}H-NMR (300 MHz): Tab. 1. - ^{13}C-NMR (75 MHz): Tab. 2. - MS:m/z (%) = 152 ($M^{+\cdot}$ - 0;3%)$^+$, 151 ($M^{+\cdot}$ -OH;4)$^+$, 150 ($M^{+\cdot}$ - H_2O; 32)$^{+\cdot}$, 136 ($M^{+\cdot}$ - O_2;5)$^{+\cdot}$, 135 ($M^{+\cdot}$ - OOH; 48)$^+$, 134 ($M^{+\cdot}$ - H_2O_2, 21)$^{+\cdot}$.

(Z)-2-Methyl-2-buttersäure-(2-hydroperoxy-2-methyl-3-butenyl)ester(**2**)

a) Die Subfraktion Ib wurde sc (Labor A-Säule, Merck, Hexan/Aceton 92+8), getrennt. Fraktionen mit R_f 0.21 (Hexan/Aceton 92+8) wurden eingedampft: 32 mg (0.028 % bezogen auf den Ethanol-Extrakt).

b) 0.2 g (1.19 mmol) **8** wurden in 500 ml CH_2Cl_2 und 25 ml CH_3OH mit 50 mg Bengalrosa 1 h bei 0°C, wie unter **1** (Methode b) beschrieben, photooxidiert und aufgearbeitet. Man erhielt 120 mg Rohprodukt, das sc (Lobar A-Säule, Merck, Hexan/Aceton 9+1) getrennt wurde. Die Fraktionen mit R_f 0.22 (Hexan/Aceton 9+1) gaben nach Eindampfen 24 mg (12%) **2**, als leicht flüchtiges, farbloses Öl. - IR (CCl_4): 3550 w; 3360 vs; 3090 w; 1700 vs; 1642 m; 1150 vs; 985 m; 930 m; 845 m cm^{-1}. -^{1}H-NMR (300 MHz): Tab.3. -^{13}C-NMR (75 MHz): Tab.4 -MS: m/z (%) = 200 ($M^{+\cdot}$, 0.6 %, 184 ($M^{+\cdot}$ - O;2)$^+$, 183 ($M^{+\cdot}$ -OH, 12)$^+$, 168 ($M^{+\cdot}$ -O_2;7)$^{+\cdot}$ 167 ($M^{+\cdot}$-OOH; 28)$^+$, 166 ($M^{+\cdot}$ -H_2O_2;5)$^{+\cdot}$.

(E)-2-Methyl-2-butensäure-(E)-2-methyl-2-butenylester (**8**)[14]

Durch Veresterung von 0.5 g Angelicasäure [11] mit 0.5 g (E)-2-Methyl-2-butenol[12] in Gegenwart von 4.5 ml Trifluoracetanhydrid[13]: 0.2g (21%).

(Z)-2-Methyl-2-butensäure-(3-hydroperoxy-2-methylidenbutyl)ester(**3**)

a) Die Subfraktion Ic wurde sc (zwei hintereinandergeschaltete Lobar A-Säulen, Merck, Hexan/Aceton 85+15) getrennt. Fraktionen mit Rf 0.21 (Hexan/Aceton 85+15)) wurden eingedampft: 23 mg (0.02 %, bezogen auf den Ethanol-Extrakt).

b) Wie **2**, Methode b. Die Fraktionen mit Rf 0.17 (Hexan/Aceton 9+1) gaben 20 mg (10 %) **3**, als leicht flüchtiges, farbloses Öl. - IR(CCl_4):3540 m; 3410 s; 3080 w; 1705 vs; 1630 , m; 1150 vs; 920 m; 845 m cm^{-1}.- ^{1}H-NMR (300 MHz): Tab. 3. -^{13}C-NMR (75 MHz): Tab. 4. - MS: m/z (%) = 200 (M^+; 0.02 %), 183 ($M^{+\cdot}$ - OH; 3) $^+$, 182 ($M^{+\cdot}$ - H_2O; 7)$^{+\cdot}$, 168 ($M^{+\cdot}$ - O_2; 3)$^{+\cdot}$, 167 ($M^{+\cdot}$ - OOH; 8)$^+$, 166 ($M^{+\cdot}$ - H_2O_2, 10)$^{+\cdot}$.

3-Hydroperoxy-2-methylidenbuttersäureisobutylester (**4**)

a) Wie **3**, Methode a. Fraktionen mit Rf 0.23 (Hexan/Aceton 85+15) wurden eingedampft: 8 mg (0.007 % bezogen auf den Ethanol-Extrakt).

b) 0.28 g (1.79 mmol) **9** wurden in 500 ml CH_2Cl_2 und 25 ml CH_3OH in Gegenwart von 50 mg Bengalrosa, wie unter **1** (Methode b) beschrieben, 5 h bei 0°C photooxidiert und aufgearbeitet. 150 mg Rohprodukt wurden sc (Lobar A-Säule, Merck, Hexan/Aceton 9+1)getrennt. Die Fraktionen mit Rf 0.19 (Hexan/Aceton 9+1) gaben nach Eindampfen 30 mg (10%) **4**, als farbloses, flüchtiges Öl. - IR (CCl_4): 3550m; 3410 w; 1710 s; 1630 w; 1170 m; 955 m cm^{-1}. - ^{1}H-NMR (300 MHz): Tab. 3. - ^{13}C-NMR (75 MHz): Tab. 4.

(E)-2-Methyl-2-butensäureeisobutylester (**9**)[14]

Durch Veresterung von 0.5 g Tiglinsäure mit 0.5 mg Isobutanol in Gegenwart von 4.5 ml Trifluoracetanhydrid[13] und sc Trennung des Reaktionsproduktes (Säule 59 cm x 3.6 cm, Kieselgel, Petrolether/Essigester 98+2). Eindampfen der Fraktionen mit Rf 0.59 (Petrolether/Essigester 98+2) gab ein farbloses, flüchtiges Öl: 0.3 g (38%). -^{1}H-NMR (300 MHz): δ (ppm) = 6.85 (qq, 6.9, 1.2 Hz, 1H, H-3), 3.90 (d, 6.9 Hz, 2 H, H-1'), 1.96 (m, 6.9 Hz, 1 H, H-2'), 1.82 (t, 1.2 Hz, 3H, H-5), 1.78 (dq, 6.9, 1.2 Hz, 3H, H-4), 0.95 (dq, 6.9, 1.2 Hz, 6H, H-3' u. 4'). - ^{13} C-NMR (75 MHz): δ (ppm) = 168.1, 136.8, 128.7, 70.4, 27.8, 19.1, 14.2, 11.9.

2-Hydroperoxypropionsäure-2-methyl-2-propenylester (**5**)

Die Fraktion II wurde durch MPLC (Petrolether/Essigester 8+2) und danach über eine Lobar A-Säule (Merck, Hexan/Aceton 77+23) getrennt. Die Fraktionen mit Rf 0.26 (Petrolether/Essigester 8+2) gaben nach Eindampfen ein flüchtiges, farbloses Öl: 10 mg (0.004 %, bezogen auf den Ethanol-Extrakt). - IR (CCl_4): 3550 w; 3410 m; 3080 w; 1735 vs; 1650 w; 1230 vs; 920 s cm^{-1} - ^{1}H-NMR (300 MHz): Tab. 3. -^{13}C-NMR (75 MHz): Tab.4.

8α-Angelyloxy-4α-hydroperoxy-1α, 5α H-guaia-2,10(14), 11(13)-trien-12, 6α-olid (4α-Hydroperoxyromanolid) (**6**)

Die Fraktion III wurde durch MPLC (Petrolether/Essigester 7+3) und danach über zwei hintereinandergeschaltete Lobar A-Säulen (Merck, Isopropylchlorid/Aceton 95+5) getrennt. Die Fraktionen mit Rf 0.20 (Isopropylchlorid/Aceton 95+5) gaben nach Eindampfen weiße Nadeln: 20 mg (0.008 % bezogen auf den Ethanol-Extrakt), Schmp. 130-133°C (Ether/Hexan 7+3). - UV (MeOH): λmax(logε) = 208 nm (4.46). - IR (CCl_4): 3540 w; 3300 m; 3060 w; 3020 w; 1775 s; 1715 s; 1640 m; 1215 s; 955 m; 920 m; 840 m cm^{-1} . - ^{1}H-NMR (300 MHz): Tab. 5. -^{13} C-NMR (75 MHz): Tab. 6. - CI-MS (Isobutan): m/z 361 (M+H)$^+$, 346 (M+H-CH_3)$^+$, 345 (M+H-O)$^{+\cdot}$, 329 (M+H-O_2)$^+$, 327 (M+H-H_2O_2)$^+$, 261 (M+H-HOOC-C(CH_3)=$CHCH_3$)$^+$.

1β-Hydroperoxyisonobilin (**7**)

Die Fraktion IV wurde durch MPLC (Petrolether/Essigester 65+35) und danach an einer Lobar B-Säule (Merck, Dichlormethan/Aceton 9+1) getrennt. Die Fraktionen mit Rf 0.21 (Dichlormethan/Aceton 9+1) gaben nach Eindampfen weiße Kristalle: 20 mg (0.08 % bezogen auf den Ethanol-Extrakt), Schmp. 112 °C (Ether), (Lit.[3] 110 °C). - Spektroskopische Daten vgl. Lit. [3].

Literatur

1 5. Mitt.: G. Rücker und A. Olbrich, Tetrahedron Letters *29*, 4703 (1988).
2 Aus der Dissertation, K. R. Lee, Universität Bonn, 1989.
3 R. Mayer und G. Rücker, Arch. Pharm. (Weinheim) *320*, 318 (1987).
4 G. O. Schenck, H. Eggert und W. Denk, Liebigs Ann. Chem. *584*, 177 (1953); C. W. Jefford, A. F. Boschung, R. M. Moriarty, C. G. Rimbault und M. H. Laffer, Helv. Chim. Acta *56*, 2649 (1973); H. Kropf und B. Kasper, Liebigs Ann. Chem. *1975*, 2232.
5 P. Joseph-Nathan, J. R. Wesener und H. Günther, Org. Mag. Res. *22*, 190 (1984).
6 H. Günther, NMR-Spektroskopie, S. 109, G. Thieme Verlag, Stuttgart 1983.
7 E. Breitmaier und W. Voelter, Carbon-13 NMR-Spectroscopy, S. 139, VCH Verlagsgesellschaft mbH, Weinheim 1987.
8 F. Bohlmann, C. Zdero und B. L. Turner, Phytochemistry *23*, 1055 (1984).
9 C. Zdero, F. Bohlmann und R. Scott, Phytochemistry *26*, 1999 (1987).
10 National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS)-Subcommittee on Antimicrobial Susceptibility Tests. 1982. Tentative Standart Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Test for Bacteria which Grow Aerobically. Approved Standart M7-T. Villanova, Pa.
11 R. E. Buckles und G.V. Mock, J. Org. Chem. *15*, 680 (1950).
12 L. F. Hatch und P. R. Noyes, J. Am. Chem. Soc. *79*, 345 (1957).
13 R. C. Parish und L. M. Stock, J. Org. Chem. *30*, 927 (1965).
14 I. Klimes und D. Lamparsky, Perfum. Flavor *9*, 1 (1984); C. A. *102*, 137 568 (1985).

[Ph601]