

Metall-Kations durch **1a** gegen Wechselwirkungen mit dem Solvens wird auch anhand der Lebensdauer von $[\text{Eu-1a}]^{3+}$ in CH_3OH und CH_3OD deutlich. Wie auch nach Kalottenmodellen erwartet, zeigen diese Ergebnisse, daß das Metall-Ion im Macrocyclus von **1a** eingeschlossen und durch die beiden Seitenketten des Liganden eingekapselt werden kann. Höchstwahrscheinlich ist dieser Abschirmungseffekt auch in $[\text{Tb-1a}]^{3+}$ vorhanden, jedoch kann eine weitere Ursache für die praktisch gleiche Lebensdauer dieses Komplexes in CH_3OH und CH_3OD ein schneller Energierücktransfer vom Metall zum Liganden sein^[14].

Ein Vergleich der Lebensdauern von $[\text{Eu-1a}]^{3+}$ und $[\text{Eu-1b}]^{3+}$ in Methanol zeigt, daß das Metall-Ion von beiden Liganden annähernd gleich stark abgeschirmt wird. Die Lumineszenzquantenausbeute ist jedoch für $[\text{Eu-1b}]^{3+}$ weitaus geringer. Dieser Befund läßt sich erklären, wenn man in Betracht zieht, daß die zwei Methylsubstituenten in **1b** eine starke Annäherung der beiden bpy-“Schwenkarme” an das Metall-Ion verhindern. Dadurch wird die Effizienz des Energietransfers von den ligandenzentrierten zu den metallzentrierten angeregten Zustände reduziert. Diese Hypothese wird durch eine ligandenzentrierte Restphosphoreszenz ($\lambda_{\text{max}} = 470 \text{ nm}$, 77 K) für $[\text{Eu-1b}]^{3+}$ gestützt.

Für die höhere Lumineszenzquantenausbeute, die $[\text{Eu-1a}]^{3+}$ im Vergleich zu $[\text{Eu} \subset \text{bpy} \cdot \text{bpy} \cdot \text{bpy}]^{3+}$ in H_2O bei 300 K aufweist, kann die vorher erwähnte bessere Abschirmung des angeregten Metall-Ions durch **1a** gegen eine Wechselwirkung mit Solvensmolekülen nicht allein verantwortlich sein. Tatsächlich ist die Quantenausbeute um den Faktor 5 größer, die Lebensdauer dagegen nur um etwa den Faktor 2. Darüber hinaus ist die Quantenausbeute auch in D_2O größer, wo der Abschirmungseffekt keine Rolle spielt. Diese Ergebnisse zeigen, daß für $[\text{Eu-1a}]^{3+}$ die Effizienz des Energietransfers vom ligandenzentrierten zum lumineszierenden metallzentrierten Niveau größer ist (etwa um den Faktor 2). Für die analogen Tb^{3+} -Komplexe kann in dieser Hinsicht keine Schlußfolgerung gezogen werden, da direkt vergleichbare Daten fehlen, und ein Metall → Ligand-Energierücktransfer^[14] besteht.

Zusammenfassend läßt sich sagen, daß die Anwesenheit der vier bpy-Einheiten in den Eu^{3+} - und Tb^{3+} -Komplexen von **1a** einen sehr hohen molaren Absorptionskoeffizienten gewährleistet und einen ausgezeichneten Schutz gegen die desaktivierende Wirkung von Wasser auf den lumineszierenden angeregten Zustand bietet. Ferner ist in $[\text{Eu-1a}]^{3+}$ die Effizienz des Energietransfers vom Liganden zum Metall größer als in $[\text{Eu} \subset \text{bpy} \cdot \text{bpy} \cdot \text{bpy}]^{3+}$. Wegen oben genannter Gründe sind die Eu^{3+} - und Tb^{3+} -Komplexe von **1a** stark lumineszierende Spezies, die den früher untersuchten $[\text{Eu} \subset \text{bpy} \cdot \text{bpy}]$ -Cryptaten^[1-3, 8] überlegen sind. Infolgedessen ist $[\text{Eu-1a}]^{3+}$ sogar in wäßriger Lösung ein vielversprechender Lumineszenzmarker. Eine Funktionalisierung der bpy-Einheiten sollte eine Ankopplung dieses Komplexes an biologische Substrate ermöglichen.

Eingegangen am 26. September 1990 [Z 4205]

CAS-Registry-Nummern:

$[\text{Eu-1a}] \text{Cl}_3$, 131457-98-2; $[\text{Tb-1a}] \text{Cl}_3$, 131457-99-3; $[\text{Eu-1b}] \text{Cl}_3$, 131458-00-9.

- [1] B. Alpha, J.-M. Lehn, G. Mathis, *Angew. Chem.* 99 (1987) 269; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 26 (1987) 266.
- [2] B. Alpha, V. Balzani, J.-M. Lehn, S. Perathoner, N. Sabbatini, *Angew. Chem.* 99 (1987) 1310; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 26 (1987) 1266.
- [3] N. Sabbatini, S. Perathoner, V. Balzani, B. Alpha, J.-M. Lehn in V. Balzani (Hrsg.): *Supramolecular Photochemistry*, Reidel, Dordrecht, Niederlande 1987, S. 187.
- [4] G. Blasse, G. J. Dirkens, N. Sabbatini, S. Perathoner, J.-M. Lehn, B. Alpha *J. Phys. Chem.* 92 (1988) 2419.

- [5] F. Nicolò, D. Plancherel, G. Chapuis, J. C. Bünzli, *Inorg. Chem.* 27 (1988) 3518.
- [6] M. Pietraszkiewicz, S. Pappalardo, P. Finocchiaro, A. Mamo, J. Karpuk *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* 1989, 1907.
- [7] J.-M. Lehn, M. Pietraszkiewicz, J. Karpuk, *Helv. Chim. Acta* 73 (1990) 106.
- [8] B. Alpha, R. Ballardini, V. Balzani, J.-M. Lehn, S. Perathoner, N. Sabbatini, *Photochem. Photobiol.* 52 (1990) 299.
- [9] R. C. Holz, S. L. Klakamp, C. A. Chang, W. DeW. Horrocks, Jr., *Inorg. Chem.* 29 (1990) 2651.
- [10] N. Sabbatini, M. Guardigli, A. Mecati, V. Balzani, R. Ungaro, E. Ghidini, A. Casnati, A. Pochini, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* 1990, 878.
- [11] R. Ziessel, J.-M. Lehn, *Helv. Chim. Acta* 73 (1990) 1149.
- [12] FAB-Massenspektrometrie (Nitrobenzylalkohol-Matrix): m/z $[\text{Eu-1a}] \text{Cl}_3 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$: 953.0 $[\text{M-Cl}]^0$, 918.1 $[\text{M-2 Cl}]^0$, 882.2 $[\text{M-3 Cl}]^0$; $[\text{Tb-1a}] \text{Cl}_3 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$: 959.1 $[\text{M-Cl}]^0$, 924.1 $[\text{M-2 Cl}]^0$, 888.2 $[\text{M-3 Cl-H}]^0$; $[\text{Eu-1b}] \text{Cl}_3 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$: 981.0 $[\text{M-Cl}]^0$, 946.1 $[\text{M-2 Cl}]^0$, 911.2 $[\text{M-3 Cl}]^0$.
- [13] W. DeW. Horrocks, Jr., D. R. Sudnick, *Acc. Chem. Res.* 14 (1981) 384.
- [14] Für eine vollständige Diskussion des Energietransfers in Tb^{3+} -bpy-Komplexen siehe [8].
- [15] B. Alpha, E. Anklam, R. Deschenaux, J.-M. Lehn, M. Pietraszkiewicz, *Helv. Chim. Acta* 71 (1988) 1042.

Synthese von 2,3-Epoxy-2,3-dihydro-2,3-dimethylbenzo[b]furan, dem vermutlich ultimalen Mutagen von Benzofurandioxetanen**

Von Waldemar Adam*, Lazaros Hadjiarapoglou, Thomas Mosandl, Chantu R. Saha-Möller und Dieter Wild

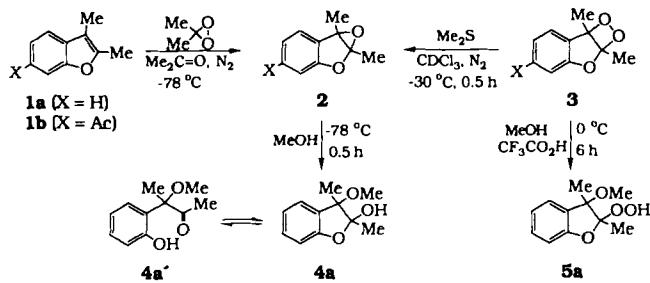
Furane können mit Oxygenasen zu Epoxiden metabolisiert werden^[11] und diese ihrerseits gentoxisch wirken. Ein bekanntes Beispiel ist das stark mutagene und cancerogene Aflatoxin B₁, ein 2,3-Dihydrofuran-Derivat, dessen durch metabolische Aktivierung entstandenes Epoxid DNA alkaliert. Dieses wurde vor kurzem auf unabhängigem Weg synthetisiert und als wirksames Mutagen nachgewiesen^[21]. Da 2,3-Dimethylbenzo[b]furan als Geschmacksstoff Lebensmitteln zugesetzt wird^[3], interessierten wir uns für die mögliche DNA-schädigende Wirkung des entsprechenden Epoxids. Im Gegensatz zu den relativ stabilen 2,3-Dihydrofuranepoxiden^[2, 4] wurden bis zu diesem Zeitpunkt Furaneoxide weder beobachtet noch isoliert; Epoxidierung auch bei tiefen Temperaturen ergab lediglich äußerst komplexe Produktgemische^[5]. Hier berichten wir über die Synthese der ersten Benzofuranepoxide **2** auf zwei unabhängigen Wegen (Schema 1): Epoxidierung der Benzofurane **1** mit Dimethyldioxiran und Desoxygenierung des Benzofurandioxetans **3a** mit Dimethylsulfid. Außerdem vermuten wir, daß es sich bei den Benzofuranepoxiden **2** um diejenigen Verbindungen handelt, welche für die hohe Mutagenität der Benzofurandioxetane **3** – die ersten mutagenen Dioxetane – in *Salmonella typhimurium* Stamm TA100 verantwortlich sind^[6]. Wir meinen, daß eine in-situ-Desoxygenierung polycyclischer Dioxetane von Arenen- und Heteroarenen unter Bildung reaktiver Epoxide einen signifikanten Beitrag zur DNA-Schädigung leisten kann^[7].

Bei der Reaktion einer 0.22 M Lösung des Benzofurans **1a** mit stöchiometrischen Mengen einer 0.05 M Lösung von

[*] Prof. Dr. W. Adam, Dr. L. Hadjiarapoglou, Dr. T. Mosandl, Dr. C. R. Saha-Möller
Institut für Organische Chemie der Universität
Am Hubland, W-8700 Würzburg
Dr. D. Wild
Institut für Toxikologie der Universität Würzburg

[**] Diese Arbeit wurde von der Deutschen Forschungsgemeinschaft (SFB 172 „Molekulare Mechanismen kanzerogener Primärveränderungen“) und der Wilhelm-Sander-Stiftung gefördert.

[D₆]Dimethyldioxiran in [D₆]Aceton bei -78 °C^[18] wurde ¹³C-NMR-spektroskopisch nach 0.5 h ein Verschwinden der Olefinsignale von **1a** bei δ = 109.7 (s) und 150.3 (s) zugunsten der charakteristischen Epoxidsignale für **2a** bei δ = 66.9 (s) und 95.1 (s) beobachtet. Analoge Resultate wurden bei der Umsetzung des Benzofurans **1b** mit Dimethyldioxiran zum Epoxid **2b** erzielt [¹³C-NMR ([D₆]Aceton): δ = 66.5 (s, C-3), 95.9 (s, C-2)]. Das Epoxid **2a** wurde auch bei der Behandlung einer 0.337 M Lösung des Benzofurandioxetans **3a** mit stöchiometrischen Mengen einer 0.337 M Lösung von Dimethylsulfid in CDCl₃ bei -30 °C erhalten^[19]. Erwärmen der Epoxid-Lösungen über 0 °C führte zu völliger Zersetzung innerhalb 0.5 h.



Schema 1.

Die chemische Reaktivität des Epoxids **2a** zeigte sich in der Bildung des Addukts **4a** (Schema 1); 0.5 h nach Zugabe von Methanol bei -78 °C war vollständiger Umsatz feststellbar. Das Halbacetal **4a** wurde in 95% Ausbeute als *cis*/*trans*-Gemisch isoliert; es liegt im Gleichgewicht mit dem Hydroxyketon **4a'** vor (**4a**:**4a'** = 87:13)^[10]. Unter den gleichen Bedingungen war das Dioxetan **3a** gegenüber Methanol stabil; nur in Gegenwart katalytischer Mengen an CF₃COOH bildete sich innerhalb 6 h bei ca. 0 °C das Hydroperoxid **5a**^[10] (Schema 1). Vergleichbare Reaktivitätsunterschiede wurden auch gegenüber Wasser als Nucleophil beobachtet.

Diese chemischen Transformationen illustrieren den labilen Charakter der neuartigen Benzofuranepoxide **2** und insbesondere ihre hohe Alkylierungstendenz. Erwartungsgemäß erwiesen sie sich auch als mutagen im *Salmonella typhimurium* Stamm TA100; dieser ist ein Indikatorstamm hauptsächlich für Alkylantien- und UV²⁶⁰-induzierte Mutationen. Inkubation der *Salmonella*-Bakterien mit dem Epoxid **2a** (0.1–1.0 mM während 0.5 h) führte zu einem linearen, dosisabhängigen Anstieg der Revertanten; dieser ergab eine spezifische mutagene Aktivität von ca. 1800 Revertanten pro μ mol. Wurde die acetonische Lösung des Epoxids **2a** vor der Zugabe zu den Bakterien mit wäßrigem Phosphatpuffer versetzt, war eine deutliche Abnahme der Mutagenität mit zunehmender Vorbehandlungszeit feststellbar. Offensichtlich wurde im wäßrigen Medium der größte Teil des Benzofuranepoxids **2a** vor Erreichen der DNA hydrolysiert.

In diesem Zusammenhang ist es erwähnenswert, daß die Benzofurandioxetane **3** ebenfalls mutagen sind^[16]. Im Ames-Test^[11] nach dem Präinkubationsverfahren (*Salmonella typhimurium* Stamm TA100) induzierte das Dioxetan **3a** ca. 117 000 und das Dioxetan **3b** ca. 370 000 Revertanten pro μ mol; damit sind sie die ersten mutagenen Verbindungen dieser Klasse. Da im Stamm TA2638 für diese Dioxetane keine Mutagenität nachweisbar war, scheinen die hervorgerufenen DNA-Schäden nicht auf aktive Sauerstoffspezies

zurückzuführen zu sein, die allgemein bei der Untersuchung der Gentoxizität von Peroxiden berücksichtigt werden müssen^[12]. Außerdem war der Schaden in Stamm TA100 mit Weißlicht nicht photoreaktivierbar; die beobachtete Mutagenität dieser Dioxetane beruht also nicht auf der Erzeugung von Pyrimidin-Dimeren (Photocycloadditionen)^[12, 13], die im Stamm TA100 grundsätzlich auch erkennbar wären.

Aufgrund ihrer qualitativ ähnlichen mutagenen Wirkungsweise halten wir die Benzofuranepoxide **2** für die ulti- malen Mutagene der Benzofurandioxetane **3**. Da die nucleophile Addition von Methanol an das Dioxetan **3a** der Säurekatalyse bedarf und, verglichen mit der an Epoxid **2a**, relativ langsam verläuft (Schema 1), ist es unwahrscheinlich, daß die Dioxetane **3** selbst DNA alkylieren. Die Möglichkeit, die Dioxetane **3** in situ mit Sulfiden effizient zu entsprechenden Epoxiden **2** zu desoxygenieren, eröffnet jedoch einen plausiblen, chemischen Zugang zu reaktiven Epoxiden. So konnte auch in einem Modellexperiment gezeigt werden, daß mit einer wäßrigen Lösung von L-Methionin, einer essentiellen Aminosäure, eine quantitative Desoxygenierung des Dioxetans **3a** zum Epoxid **2a** bei ca. 0 °C erreicht wird; dies konnte durch Isolierung des Hydrolyseprodukts 2,3-Dihydro-2,3-dimethylbenzo[b]furan-2,3-diol^[10] in einer Ausbeute von 90% bestätigt werden. Demzufolge sind derartige Desoxygenierungen von Dioxetanen in Epoxide mit biologisch relevanten Sulfiden auch in zellulären Systemen vorstellbar.

Die Schlußfolgerung, daß auch Dioxetane als Vorstufen für mutagene Epoxide zu betrachten sind, ist sicherlich eine provokative Hypothese, die in der Mutageneseforschung bis jetzt noch nicht in Betracht gezogen wurde. Diese Behauptung stützt sich jedoch auf mehrere Fakten: die äußerst labilen Benzofuranepoxide **2** konnten erstmals isoliert und charakterisiert werden; die Benzofurandioxetane **3** wurden mit Sulfiden quantitativ zu den Epoxiden **2** desoxygeniert; schließlich wurde für beide Verbindungsklassen qualitativ ähnliche mutagene Aktivität in *Salmonella typhimurium* Stamm TA100 nachgewiesen. Wir vermuten, daß diesem neuartigen Mechanismus allgemeine Bedeutung zukommt, indem auch polycyclische Arene, wie Benz[a]pyren, oder polycyclische Heteroarene wie Furocumarine, über Dioxetan-Zwischenstufen zu reaktiven Epoxiden oxygeniert werden. So wurden auch schon Dioxetane mit der Mutagenität von Benz[a]pyren in Zusammenhang gebracht^[17a, b], aber die Möglichkeit, Dioxetane als Vorstufen der entsprechenden Epoxide zu betrachten, analog der Sequenz **1** → **3** → **2** (Schema 1), wurde bisher nicht berücksichtigt.

Eingegangen am 8. Oktober 1990 [Z 4233]

CAS-Registry-Nummern:

1a, 3782-00-1; **1b**, 1642-79-1; **2a**, 131588-87-9; **2b**, 131588-88-0; **3a**, 33973-15-8; **4a**, 131588-89-1; **4a'**, 131588-90-4; **5a**, 131588-91-5.

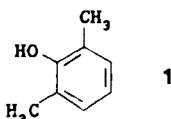
- [1] B. W. Jennings, J. C. Hurley, S. K. Reeder, A. Holian, P. Lee, C. N. Caughalan, R. D. Larsen, *J. Org. Chem.* **41** (1976) 407.
- [2] S. W. Baertschi, K. D. Raney, M. P. Stone, T. M. Harris, *J. Am. Chem. Soc.* **110** (1988) 7929.
- [3] B. L. Oser, R. A. Ford, *Food. Technol.* **32** (1978) 60.
- [4] L. Troisi, L. Cassidei, L. Lopez, R. Mello, R. Curci, *Tetrahedron Lett.* **30** (1989) 123.
- [5] a) V. Ravindranath, L. T. Burk, M. R. Boyd, *Science (Washington D.C.)* **224** (1984) 884; b) L. O. Ruzo, J. E. Casida, I. Holden, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1985**, 1642; *J. Agric. Food Chem.* **33** (1985) 622; c) K. Manfredi, S. B. Gingerich, P. W. Jennings, *J. Org. Chem.* **50** (1985) 535.
- [6] W. Adam, A. Beinhauer, T. Mosandl, C. Saha-Möller, F. Vargas, B. Epe, E. Müller, D. Schiffmann, D. Wild, *Environ. Health Perspect.* **88** (1990) 89.
- [7] a) J. L. Seed, K. G. Specht, T. A. Dahl, W. R. Midden, *Photochem. Photobiol.* **50** (1989) 625; b) A. Thompson, J. R. Lever, K. A. Canella, K. Miura, G. H. Posner, H. H. Seliger, *J. Am. Chem. Soc.* **108** (1986) 4498; c) K. Yoshikawa, N. Mori, S. Sakakibara, N. Mizuno, P.-S. Song, *Photochem. Photobiol.* **29** (1979) 1127.

- [8] a) W. Adam, R. Curci, J. O. Edwards, *Acc. Chem. Res.* 22 (1989) 205; b) R. W. Murray, *Chem. Rev.* 89 (1989) 1187; c) R. Curci in A. L. Baumstark (Hrsg.): *Advances in Oxygenated Processes*, Vol. 2, JAI Press, Greenwich, NC, USA 1990, Kapitel 1.
 - [9] D. R. Berdahl, H. H. Wasserman, *Isr. J. Chem.* 23 (1983) 409.
 - [10] Alle neuen Verbindungen wurden vollständig charakterisiert (IR, ^1H - und ^{13}C -NMR, MS, Elementaranalyse).
 - [11] D. M. Maron, B. N. Ames, *Mutat. Res.* 113 (1983) 173.
 - [12] W. Adam, A. Beinhauer, B. Epe, R. Fuchs, A. Griesbeck, H. Hauer, P. Mützel, L. Nassi, D. Schiffmann, D. Wild in T. Friedberg, F. Oesch (Hrsg.): *Primary Changes and Control Factors in Carcinogenesis*, Deutscher Fachschriften-Verlag, Wiesbaden 1986, S. 64.
 - [13] a) G. Cilento, W. Adam, *Photochem. Photobiol.* 48 (1988) 361; b) A. A. Lamola, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 43 (1971) 893; c) J. W. Lown, R. R. Koganty, K. R. Kopecky, *Photobiochem. Photobiophys.* 12 (1986) 295.

Das Diels-Alder-Dimer von 6-Hydroxy-2,6-dimethylcyclohexa-2,4-dienon, ein ungewöhnlicher Metabolit beim bakteriellen Abbau von 2,6-Xylenol **

Von *Helmut Kneifel, Carmen Poszich-Buscher, Susanne Rittich und Eberhard Breitmaier**

Die Wege des mikrobiellen Abbaus der meisten Phenole, die z. B. in den mit Altlasten verseuchten Böden ehemaliger Kokereien vorkommen, sind gut bekannt^[1]. Lediglich 2,6-Xylenol **1** galt lange als biologisch nicht abbaubar; erst 1987 wurde ein möglicher Abbauweg vorgeschlagen^[2, 3]. Die Besonderheit von **1** im Vergleich zu anderen Phenolen ist, daß seine beiden zur OH-Gruppe *ortho*-ständigen Methyl-Gruppen die *ortho*-Hydroxylierung des aromatischen Rings blockieren.



Ein volliger Abbau von 2,6-Xylenol **1** über eine Hydroxylierung in 3- oder 4-Stellung mit nachfolgender Ringspaltung gelingt mit einer Mischkultur, die neben Pseudomonaden weitere noch nicht abschließend identifizierte Bakterien enthält. Vermehrt man jedoch diese Mischkultur über einen längeren Zeitraum auf einem Mischsubstrat aus Kresol-Isomeren und Phenol und setzt während der logarithmischen Wachstumsphase bei hoher Biomasse-Konzentration **1** als alleinige C- und Energiequelle zu, so reichert sich im Kulturmedium neben den Oxidationsprodukten 2,6-Dimethylhydrochinon, 2,6-Dimethyl-1,4-benzochinon und 2-Hydroxy-3,5-dimethyl-1,4-benzochinon ein neues Stoffwechselprodukt an. Dieser dead-end-Metabolit lässt sich mit Essigsäureethylester extrahieren und durch präparative reversed-phase HPLC reinigen (Kapazitätsfaktor k' = 2.8 bei HPLC an ODS-1 mit Acetonitril/0.1 proz. wässriger Phosphorsäure 35/65 als Elutionsmittel). Das Produkt absorbiert stark im UV ($\lambda_{\text{max}} = 242, 308 \text{ nm}$, $\lg \epsilon_{\text{max}} = 3.84, 2.38$); das GC-MS-

[*] Prof. Dr. E. Breitmaier

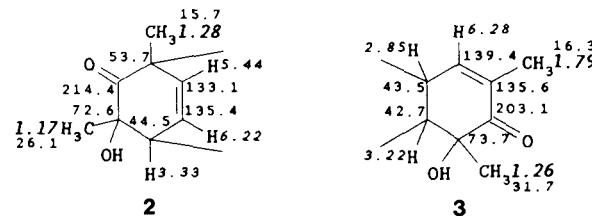
Institut für Organische Chemie und Biochemie der Universität
Gerhard-Domagk-Straße 1, W-5300 Bonn 1

Prof. Dr. H. Kneifel, Dipl.-Biol. C. Poszich-Buscher, Dipl.-Biol. S. Rittich
Institut für Biotechnologie 3, Forschungszentrum Jülich
Postfach 1913, W-5170 Jülich

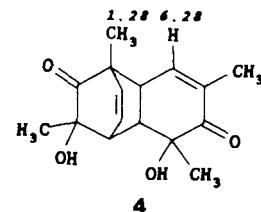
[**] Diese Arbeit wurde vom Bundesminister für Forschung und Technologie und von der Firma Biodetox, Ahnsen, gefördert.

Spektrum des Trimethylsilyl-Derivates zeigt Peaks bei m/z 210 (M^+), 195, 180, 167, 75 und 73(100%).

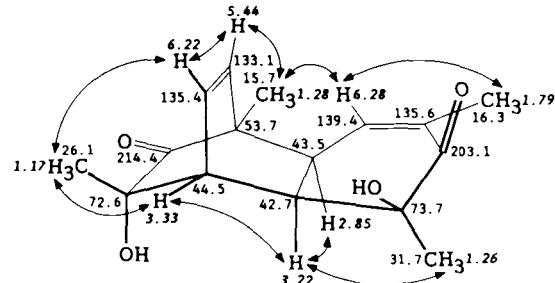
Die Strukturaufklärung gelang mit 2 mg Substanz durch ^1H - und ^{13}C -NMR-Methoden. Das ^{13}C -NMR-Spektrum des Metaboliten zeigt 16 Signale, obwohl aus dem Massenspektrum des Trimethylsilyl-Derivates $\text{C}_8\text{H}_{10}\text{O}_2$ als Metabolit-Summenformel folgte. Aus H,H-COSY-, C,H-COSY- und C,H-COLOC-Experimenten können die Teilstrukturen 2 und 3 abgelesen werden ($\delta(^1\text{H})$ kursiv, $\delta(^{13}\text{C})$ steil in den Formeln).



Die Verknüpfung der Fragmente 2 und 3 ist auf zwei Arten möglich; verwirklicht ist die Konstitution 4, wie aus den



NOE-Differenzspektren folgt, die einen starken NOE zwischen den Methyl-Protonen von **2** bei $\delta = 1.28$ und dem Alken-Proton von **3** bei $\delta = 6.28$ zeigen (Schema 1).



Schema 1. NMR-spektroskopische Charakterisierung des 2,6-Xylenol-Oxidationsprodukts **4**. Die Pfeile verknüpfen die H-Atome, zwischen denen ein NOE auftritt

Aus einem NOE zwischen dem Alken-Proton von **2** bei $\delta = 6.22$ und den Methyl-Protonen von **2** bei $\delta = 1.17$ ergibt sich als relative Konfiguration der zugehörigen Methyl-Gruppe *exo*. Die *exo*-Verknüpfung der Sechsringe folgt vor allem aus dem NOE zwischen den Methyl-Protonen von **3** bei $\delta = 1.26$ und dem Brückenkopf-Proton von **3** bei $\delta = 3.22$ sowie dem Fehlen von Effekten zwischen den Alkenyl-Protonenpaar mit $\delta = 5.44/6.22$ (**2**) und dem Brückenkopf-Protonenpaar mit $\delta = 2.85/3.22$ (**3**). Auch die zu der in Schema 1 gezeigten Struktur spiegelbildliche Struktur wäre möglich, da NMR-spektroskopisch Enantiomere in der Regel nicht unterschieden werden. Daß im Massenspektrum kein **4** entsprechender Peak auftritt, ist durch die Retro-Diels-Alder-Reaktion von **4** in der GC-MS-Apparatur zu erklären.