

- [6] F. W. BERGSTROM & S. H. McALLISTER, J. Amer. chem. Soc. **52**, 2845 (1930).
 - [7] E. BERGMANN & W. ROSENTHAL, J. prakt. Chem. **135**, 267 (1932); W. VEER & ST. GOLDSCHMIDT, Rec. Trav. chim. Pays-Bas **65**, 793 (1946); R. BENKESER & D. HOLTON, J. Amer. chem. Soc. **73**, 5861 (1951).
 - [8] E. C. ASHBY, J. Amer. chem. Soc. **87**, 2509 (1965).
 - [9] S. J. STORFER & E. I. BECKER, J. org. Chemistry **27**, 1868 (1962); A. C. COPE, J. Amer. chem. Soc. **57**, 2238 (1935); H. O. HOUSE & D. D. TRAFICANTE, J. org. Chemistry **28**, 355 (1963).
 - [10] W. SCHLENK, Ber. deutsch. chem. Ges. **64** B, 734 (1931).
 - [11] W. V. EVANS & R. PEARSON, J. Amer. chem. Soc. **64**, 2865 (1942); R. STEWART & A. R. UBBELOHDE, J. chem. Soc. **1949**, 2649; W. ZEIL, Z. Elektrochem. **56**, 789 (1952).
 - [12] A. C. COPE, J. Amer. chem. Soc. **56**, 1578 (1934).
 - [13] R. KULLMANN, C. r. hebd. Séances Acad. Sci. **231**, 866 (1950); H. RHEINBOLDT, J. prakt. Chem. **149**, 30 (1937).
 - [14] H. GILMAN & G. C. GAINER, J. Amer. chem. Soc. **71**, 2327 (1949).
 - [15] G. E. COATES, «Composés organométalliques», p. 38, Dunod, Paris 1960.
 - [16] A. I. VOGEL, «Practical Organic Chemistry», p. 163, Longmans, Londres 1958.
 - [17] M. J. MILES, W. J. MESIMER & MAE ATKIN, Analyt. Chemistry **30**, 361 (1958).
 - [18] V. ZANNER & W. SCHMID, Chem. Ber. **90**, 2253 (1957).
-

173. Das biologische Verhalten von Fettsäuren mit Dreifachbindung

IV. Der Abbau der Crepissäure (9-Octadecen-12-insäure) im Tierkörper

von Karl Bernhard und Ekkehard Kaempf

Physiologisch-chemisches Institut der Universität Basel

(12. VII. 69)

Summary. Crepenynic acid (9-octadecen-12-ynoic acid) fed to rats as naturally occurring triglyceride is not incorporated into brain and liver lipids, and into the depot fat only to a small amount. As a metabolite the previously unknown 4-decynedioic acid was isolated from the urine.

In früheren Arbeiten [1] wurde gezeigt, dass Fettsäuren mit Dreifachbindung – natürliche Komponenten von Fetten und Ölen aus zahlreichen pflanzlichen Samen – im tierischen Organismus nicht völlig abgebaut werden, vielmehr zu zur Ausscheidung gelangenden Metaboliten führen.

Die 9-Octadecen-12-insäure $\text{CH}_3-(\text{CH}_2)_4-\text{C}\equiv\text{C}-\text{CH}_2-\text{CH}=\text{CH}-(\text{CH}_2)_7-\text{COOH}$ wurde 1964 von MIKOŁAJCZAK und Mit. [2] aus dem Samenöl von *Crepis foetida* (*Compositae*) isoliert und 1967 von BRADSHAW und Mit. [3] synthetisch hergestellt. Kürzlich bewiesen HAIGH und Mit. [4] ihre Biosynthese aus 1^{14}C -Ölsäure in *Crepis rubra*.

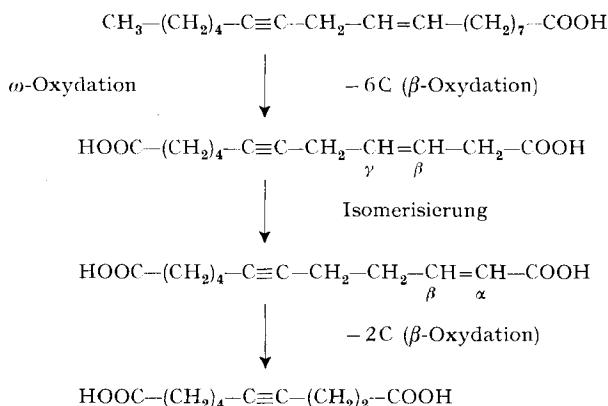
Die Frage nach dem Verhalten der Crepissäure im Stoffwechsel schien uns unter verschiedenen Aspekten interessant. Diese Säure ist strukturell verwandt mit der Linolsäure (*cis-cis*-9,12-Octadecadiensäure), von der BERNHARD & SCHÖNHEIMER [5] zeigten, dass sie im Tierkörper nicht aufgebaut werden kann.

Wir haben daher an Ratten Samen von *Crepis rubra* und daraus erhaltenes Öl verfüttert. Nachdem es keine weitere Acetylenfettsäure enthält, konnte auf eine Isolierung der Crepissäure verzichtet und ihre leicht mögliche Autoxydation vermieden werden.

Die Crepissäure war in den Leber- und den Gehirnlipiden nicht, im Depotfett nur in geringen Mengen auffindbar. Eine Speicherung, im Ausmass wie sie bei Stearol-, Behenol- oder Taririnsäure – alles Säuren mit Dreifachbindung – beobachtet wurde, trat bei der verabreichten Dosis nicht ein. Linolsäure wird bekanntlich sehr reichlich in den Fettdepots zurückgehalten bei einer langen Verweilzeit (Halbwertszeit bei der Ratte ca. 60–70 Tage) [6]. Eine Dreifachbindung statt einer Doppelbindung in Stellung 12 bewirkt demnach in dieser Hinsicht ein ausgesprochen anderes Verhalten.

Aus dem Harne isolierten wir in einer Ausbeute von 3% durch Hochvakuum-Destillation, präparative Gas-Chromatographie und Säulenchromatographie einen Metaboliten.

Auf Grund von C-, H-Bestimmungen, Hydrierungen, Infrarot-, Kernresonanz- und Massen-Spektren, ferner der Ergebnisse der oxydativen Spaltung liegt eine Dicarbonsäure mit Dreifachbindung vor und zwar die noch nicht beschriebene *4-Decin-disäure*. Ihre Entstehung lässt sich folgendermassen erklären: Nach eintretender β -Oxydation, die zu einer Kettenverkürzung um 6 C-Atome führt, d.h. 3-Dodecen-6-insäure liefert, erfolgt durch eine Isomerase [7] eine Verschiebung der Doppelbindung in α - β -Stellung. Diese 2-Dodecen-6-insäure gibt durch nochmalige β -Oxydation 4-Decinsäure, welche durch Methyloxydation in Stellung 10 in die Dicarbonsäure, d.h. die aufgefundene 4-Decindisäure übergeht. Es lässt sich nicht entscheiden, ob mit Beginn der β -Oxydation auch die ω -Oxydation zum Zuge kommt entsprechend folgender Formulierung:



Die Hauptmenge der angebotenen Fettsäure mit Dreifachbindung wird in Analogie zur Stearol-, Behenol- und Taririn-Säure abgebaut. Auch die der Linolsäure strukturähnliche Crepisäure liefert einen Metaboliten in Form einer Dicarbonsäure mit erhaltenener Dreifachbindung. Letztere hat demnach einen entscheidenden Einfluss auf den Abbau, indem sie die von der COOH-Gruppe aus beginnende β -Oxydation hemmt. Wahrscheinlich liegt nicht eine sterische Hinderung vor, da ja die Dreifachbindung im Bereich von 4 C-Atomen eine Streckung der Alkankette der Fettsäuremolekel bewirkt. Der von der Dreifachbindung ausgehende Einfluss lässt sich eher durch ihren elektrophilen Charakter erklären. Es entsteht als Auswegsreaktion durch Methyloxydation eine zweite Carboxylgruppe, ohne dass aber die β -Oxydation von dieser Seite weiterschreiten würde. Ob der gesamte Abbau über diese Stufe verläuft und die

zur Ausscheidung gelangende Dicarbonsäure nur einen Teil des schwer oxydierbaren Metaboliten, der in der Hauptsache aber doch abgebaut wird, darstellt, lässt sich nicht entscheiden. Es besteht auch die Möglichkeit, dass durch die partiell gehemmte β -Oxydation nur ein Teil der Moleküle ω -oxydiert wird und als Dicarbonsäure im Harn erscheint.

Experimentelles. – 1. Die Lipide aus Samen von *Crepis rubra* (THOMPSON & MORGAN, Ipswich/England) (13,6% des Samengewichts) erhielten wir durch Extraktion. Die gas-chromatographische Analyse der nach Umesterung gewonnenen Methylester ergab in Übereinstimmung mit HAIGH u. Mitarb. [4] folgende Fettsäurezusammensetzung:

Säure	16:0	18:0	18:1	18:2	Crepissäure
%	5,3	1,9	3,9	34,3	53,7

2. *Tierversuche*: 5 Ratten mit einem mittleren Anfangsgewicht von 388 g erhielten im Verlaufe von 23 Tagen 259 g fein zerkleinerten *Crepis*-Samen einem normalen Futter beigemischt oder 400 mg Crepissäure pro kg Körpergewicht und Tag (mittleres Endgewicht 418 g). Die Resorption betrug auf Grund der Analyse der Faeceslipide 78,6%. In einem weiteren Versuch erhielten 10 Ratten während 5 Tagen mit dem normalen Futter insgesamt 10,4 g *Crepis*-Öl. Es wurde gut vertragen. Störungen konnten nicht beobachtet werden.

Aus Leber-, Gehirn- und Fettdepots extrahierten wir die Gesamtlipide. Nach Umesterung wurde ihre Fettsäurezusammensetzung gas-chromatographisch bestimmt, wobei nur im Depotfett geringe Mengen Crepissäure (0,95%) nachweisbar waren.

3. *Harnaufarbeitung*: 2,5 l Rattenharn wurden mit NaOH leicht alkalisch gemacht (pH = 8), über Hyflo filtriert und nach Ansäuern mit konz. Salzsäure 24 Std. im Röhrenextraktor mit Äther extrahiert. Den Extrakt (6,6 g) lösten wir in 600 ml Äther, wobei sich in der Kälte 800 mg Hippursäure ausschieden. Der Rückstand (5,8 g) wurde mit methanolischer BF_3 -Lösung (12-proz.) verestert. Das Estergemisch (2,6 g), im Kugelrohr bei 0,1 Torr destilliert, ergab 2 Fraktionen. Aus Fraktion I (Sdp. 60–70°) resultierten durch präparative Gas-Chromatographie 150 mg, aus Fraktion II (Sdp. 70–100°) durch Säulenchromatographie (Kieselgel-Dichloräthan) 194 mg Metabolit. Ausbeute: 2,94 Mol-%.

4. *Identifizierung des Metaboliten*: 70 mg des als Dimethylester vorliegenden Metaboliten verseiften wir durch einständiges Kochen unter Rückfluss mit 25 ml 0,5 n KOH in Äthanol. Wir erhielten 62 mg Dicarbonsäure; nach zweimaligem Umkristallisieren aus Benzol Smp. 134–136° (korrig.).

Elementaranalyse des Dimethylesters:



Hydrierung: 100 ml Methylester, in 30 ml Eisessig gelöst und mit PtO_2 als Katalysator hydriert, lieferten quantitativ Sebacinsäure-dimethylester; die daraus durch Versiegung erhaltene Sebacinsäure wurde gas-chromatographisch und durch Smp. und Misch-Smp. identifiziert. Bei der Mikrohydrierung in Eisessig mit PtO_2 nahmen 5,604 mg Metabolitester 1,13 ml H_2 auf, d. h. 2,04 Mol H_2 pro Mol Metabolit.

Permanganat-Perjodat-Oxydation [8]: In 40 ml H_2O und 10 ml *t*-Butanol wurden 43 mg Dicarbonsäure, 520 mg Natriummetaperjodat, 10 mg Kaliumpermanganat, 400 mg Kaliumcarbonat gelöst und 17 Std. bei Zimmertemperatur gerührt. Anschliessend wurde mit 2 n H_2SO_4 angesäuert, mit Natriumpyrosulfit bis zum Verschwinden der braunen Farbe und dann mit KOH bis zu stark alkalischer Reaktion versetzt und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Den Rückstand säuersten wir mit konz. HCl an und extrahierten kontinuierlich mit Äther. Den Extrakt veresterten wir mit methanolischer 5-proz. Salzsäure. Die gas-chromatographische Analyse des Estergemisches ergab 31,5% Bernsteinsäure und 60,8% Adipinsäure neben 7,7% nicht identifizierten Verbindungen.

*Massenspektrum*¹⁾: (Modell MS 9 von A.E.I., Manchester). Beim Dimethylester lag die höchste Spalte bei m/e 226, was dessen Summenformel $\text{C}_{12}\text{H}_{18}\text{O}_4$ bestätigt.

¹⁾ Wir sind den Herren Dres CHOPARD, ENGLERT und VETTER von den Laboratorien der F. HOFFMANN-LA ROCHE & Co. AG, Basel, für die Messung der Spektren zu Dank verpflichtet.

Infrarot-Spektrum: Es zeigte keine C-Schwingungen der Dreifachbindung, was aber bei gleich oder ähnlich substituierten Acetylenen der Fall ist [9].

NMR.-Spektrum: Es wurde aufgenommen in CDCl_3 mit Tetramethylsilan als interner Bezugssubstanz. In der Tabelle sind die beobachteten chemischen Verschiebungen für den Dimethylester angeführt, wodurch die aus chemischen Daten aufgestellte Strukturformel bestätigt wird.

NMR.-Spektrum des Dimethylesters der Metaboliten

Zuordnung	ppm	Protonenzahl
2 CH_2 (C-7 und C-8)	1,42–1,8	4
CH_2 (C-6)	2,15	2
CH_2 (C-9)	2,33	2
2 CH_2 (C-2 und C-3)	2,48	4
2 OCH_3	3,67 und 3,69	6

Gas-Chromatographie: Analytisch: mit einem Gas-Chromatographen Typ 801 von PERKIN-ELMER; Säulenfüllung: Hyflo mit 20% Äthylenglycol-Bernsteinsäure-Polyester. Präparativ: Automatisch-präparativer Gas-Chromatograph Typ F 21 von PERKIN-ELMER, gleiche Säulenfüllung.

Für diese Untersuchungen standen uns Mittel der HANS-BUSS-Stiftung zur Verfügung.

LITERATURVERZEICHNIS

- [1] H. WAGNER, G. RITZEL & K. BERNHARD, Helv. 49, 436 (1966); K. BERNHARD, K. YEKUNDI & H. R. GREUB, Helv. 50, 713 (1967); K. BERNHARD, K. YEKUNDI & E. KAEMPF, Helv. 51, 373 (1968).
- [2] K. L. MIKOŁAJCZAK, C. R. SMITH, JR., M. O. BAGBY & J. A. WOLFF, J. org. Chemistry 29, 318 (1964).
- [3] R. W. BRADSHAW, A. C. DAY, E. R. H. JONES, C. B. PAGE & V. THALLER, Chem. Commun. 1967, 1055.
- [4] W. G. HAIGH, L. J. MORRIS & A. T. JAMES, Lipids 3, 307 (1968).
- [5] K. BERNHARD & R. SCHÖNHEIMER, J. biol. Chemistry 133, 713 (1940).
- [6] H. WAGNER, E. SEELIG & K. BERNHARD, Z. physiol. Chem. 313, 235 (1958).
- [7] W. STOFFEL, Naturwiss. 53, 622 (1966).
- [8] E. v. RUDLOFF, Canad. J. Chemistry 34, 1413 (1956).
- [9] R. L. SHRINER, R. C. FUSON & D. Y. CURTIN, «The Systematic Identification of Organic Compounds», 4th Edit., p. 173, John Wiley & Sons Inc., New York/London 1960.

174. Photoelektronenspektroskopische Bestimmung der Wechselwirkung zwischen nicht-konjugierten Doppelbindungen [1]

Vorläufige Mitteilung¹⁾

von P. BISCHOF, J. A. HASHMALL, E. HEILBRONNER und V. HORNUNG

Physikalisch-chemisches Institut der Universität Basel

(12. VII. 69)

Summary. The interaction between the two non-conjugated π -bonds in 1,4-cyclohexadiene, norbornadiene and bicyclo[2.2.2]octadiene has been determined by photoelectron spectroscopy to be 1.0, 0.8₅ and 0.6 eV respectively.

¹⁾ Eine ausführliche Mitteilung soll in dieser Zeitschrift erscheinen.