

DIE HYDROLYSE VON PHOSPHATEN UND PYROPHOSPHATEN EINIGER MONOTERPENALKOHOLE

MODELLREAKTIONEN ZUR BIOSYNTHESЕ DER MONOTERPENE

F. CRAMER und W. RITTERSDORF

Aus dem Institut für Organische Chemie der Techn. Hochschule Darmstadt und der Chemischen Abteilung des Max-Planck-Institutes für experimentelle Medizin/Göttingen

(Received in Summary 28 October 1966; accepted for publication 7 November 1966)

Zusammenfassung—Bei der sauren Hydrolyse der Phosphate und Pyrophosphate von Geraniol, Nerol, Linalool und α -Terpineol entstehen die meisten der in der Natur vorkommenden acyclischen und monocyclischen Monoterpenalkohole und -kohlenwasserstoffe. Die Hydrolyse kann daher als Modellreaktion für die Biosynthese der Monoterpene aus Geranylpyrophosphat oder dessen Isomeren angesehen werden.

Abstract—Acid hydrolysis of geranyl, neryl-, linaloyl and α -terpinylphosphates and -pyrophosphates results in the formation of naturally occurring acyclic and monocyclic monoterpene alcohols and hydrocarbons. The hydrolysis of these phosphate esters may be considered as a model reaction in the biosynthesis of monoterpenes from geranylpyrophosphate.

Die Monoesterpyrophosphate von Geraniol, Farnesol und Geranylgeraniol sind Zwischenprodukte in der Biosynthese isoprenoider Verbindungen.¹ Während ihre Rolle bei den kettenaufbauenden Schritten der Tri- und Tetraterpensynthese schon länger bewiesen ist, konnte man bis vor kurzem nur vermuten, dass diese Verbindungen die in der biogenetischen Isoprenregel² postulierten aliphatischen Grundkörper der Mono-, Sesqui- und Diterpene sind. Dies wurde kürzlich für die Diterpene durch Inkorporierung von ¹⁴C-Geranylgeranylpyrophosphat in die Gibberellinsäuren streng bewiesen.³ Für die Mono- und Sesquiterpene steht der strenge Beweis unseres Wissens noch aus. Ruzicka gibt ein Schema an, nach dem aus dem Geranylketon alle Gruppen der Monoterpene mit Hilfe bekannter Cyclisierungs- und Umlagerungsmechanismen abgeleitet werden können.³ Die strukturelle und konfigurative Ableitung der Sesquiterpene von den verschiedenen isomeren Farnesylketonen führte Hendrickson⁴ durch. Da, wie Eggerer⁵ zeigen konnte, die Hydrolyse von Geranylphosphat und -pyrophosphat, wie die anderer Allylester,⁶ nach dem S_N1-Mechanismus über das Geranylketon verläuft, kann man sie somit als Modellreaktion für die Biosynthese der Monoterpene auffassen. Nachdem die Phosphate und Pyrophosphate der Monoterpenalkohole leicht zugänglich geworden waren,⁷ konnten wir deren

¹ F. Lynen, *Angew. Chem.* 77, 929 (1965); K. Bloch, *Ibid.* 77, 944 (1965); daselbst weitere Literatur, eine gute Zusammenfassung gibt R. B. Clayton, *Quart. Revs* 19, 168, 201 (1965).

² L. Ruzicka, A. Eschenmoser und H. Heusser, *Experientia* 9, 357 (1953).

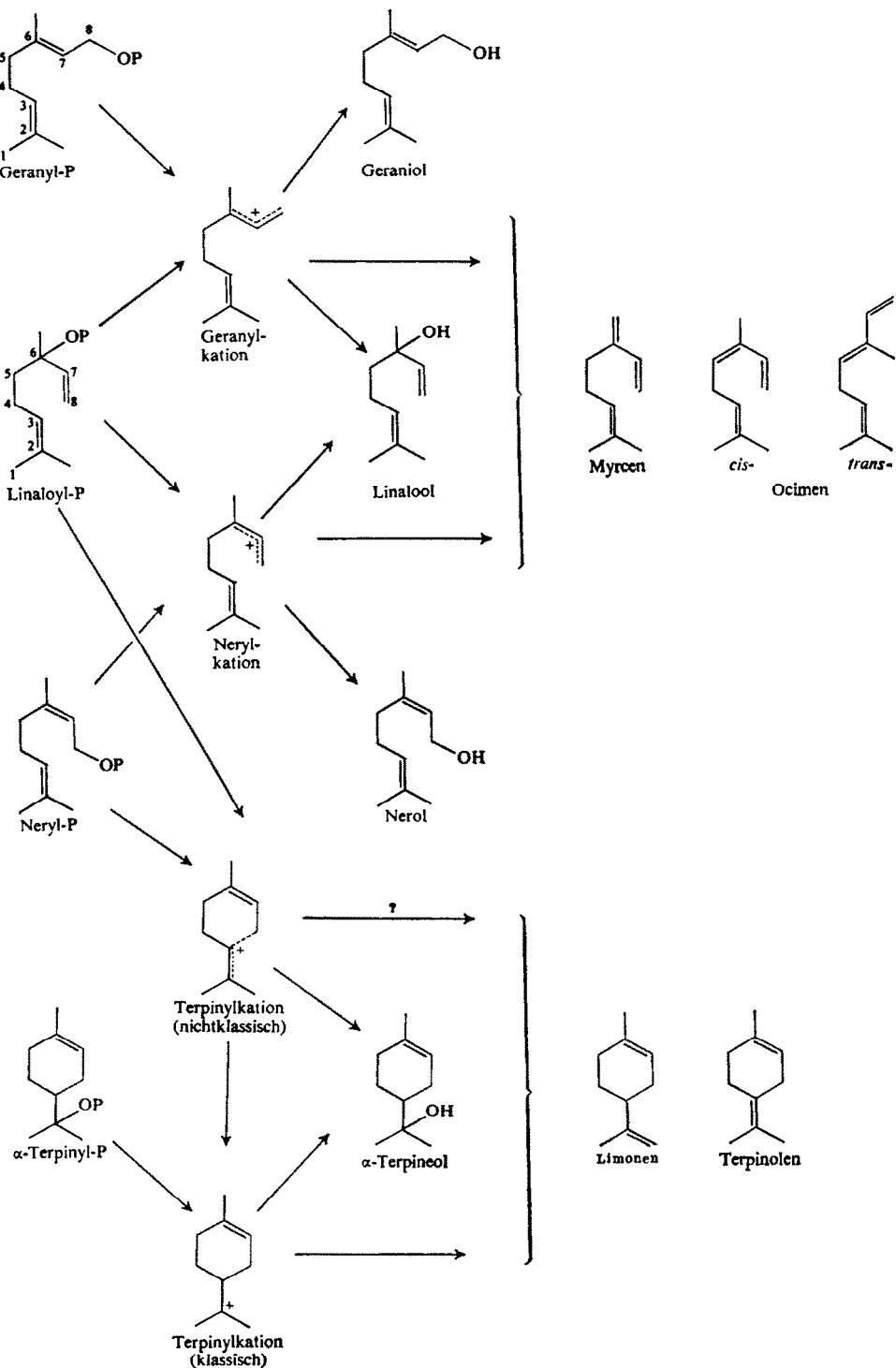
³ C. A. West, D. T. Dennis, C. D. Upper und F. Lew VI. *Int. Congr. Biochem. Abstr.* VII-161, New York (1964).

⁴ J. B. Hendrickson, *Tetrahedron* 7, 82 (1959).

⁵ H. Eggerer, *Chem. Ber.* 94, 174 (1961).

⁶ R. H. De Wolfe und W. G. Young, *Chem. Revs* 56, 753 (1956).

⁷ F. Cramer, W. Rittersdorf und W. Böhm, *Liebigs. Ann.* 654, 180 (1962).



Hydrolyse genauer studieren. Qualitative Angaben über Hydrolysenprodukte von Terpenylpyrophosphaten wurden mehrfach kurz in der Literatur erwähnt.⁸ Miller und Wood⁹ berichteten ferner über den Zerfall von Geranyl- und Neryl-diphenylphosphat in Äther. Ersteres lieferte Myrcen und Ocimen als Hauptprodukte, letzteres Limonen in 45%iger Ausbeute.

In dieser Arbeit soll zunächst über die Hydrolyse der Phosphate und Pyrophosphate von Geraniol, Nerol, Linalool und α -Terpineol berichtet werden. Auf den detaillierten Mechanismus wird in den beiden folgenden Arbeiten^{10,11} eingegangen. Die oben erwähnten Verbindungen wurden in Schwefelsäure bei Zimmertemperatur hydrolysiert und die flüchtigen Hydrolysenprodukte kapillargaschromatographisch analysiert. Die Ergebnisse sind in Tab. 1 und 2 dargestellt, Abb. 1 zeigt das Reaktionsschema. Unter Berücksichtigung der in^{10,11} gewonnenen Einsichten kann man zusammenfassen:

Die qualitative und quantitative Zusammensetzung der Hydrolysenprodukte von Terpenylphosphaten einer seits und -pyrophosphaten anderer seits unterscheiden sich nur unwesentlich. Die als Zwischenprodukte auftretenden Allylkationen sind konfigurationsstabil, durch Wasseranlagerung oder Protonenabspaltung entstehen aus ihnen alle häufiger in der Natur vorkommenden regulären acyclischen Monoterpenalkohole und -kohlenwasserstoffe. (Tab. 1 und 2.) Die Cyclisierung erfolgt durch nucleophile Verdrängung der Phosphatgruppe durch die 2,3-Doppelbindung. Es entsteht dabei intermedial ein Terpinylkation (vgl. Abb. 1), das verschieden ist von dem aus α -Terpinylphosphat entstandenen Kation, sich aber zum Teil in dieses umlagert. Aus beiden entstehen die monocyclischen Verbindungen α -Terpineol sowie Limonen und Terponolen. Im Falle des Linaloylphosphates ist die Cyclisierung sterooselektiv, aus optisch aktivem Ausgangsprodukt entsteht teilweise optisch aktives α -Terpineol. Terpinen-4-ol und die Terpinene sind Sekundärprodukte,¹² das zu ihnen führende Zwischenprodukt, das Terpinen-4-ylkation, entsteht entweder durch

TABELLE 1. PRODUKTE DER SAUREN HYDROLYSE VON TERPENPHOSPHATEN-UND-PYROPHOSPHATEN IN PROZENT

Ausgangsverbindungen	Kohlenwasserstoffe	Hydrolyseprodukte				
		Linalool	Terpinen-4-ol	α -Terpineol	Nerol	Geraniol
Geranyl-P	3·4	76·3		1·5	0·3	18·5
Geranyl-PP	1·7	77·7		2·6	0·9	17·1
Neryl-P	4·9	26·6	0·5	61·5	6·0	0·5
Neryl-PP	3·0	23·8	0·4	67·5	4·8	0·5
Linaloyl-P	3·3	63·4	0·1	17·7	3·9	11·6
Linaloyl-PP	2·3	59·7	0·4	23·0	3·3	11·3
α -Terpinyl-P	18·4		0·9	80·7		
α -Terpinyl-PP	18·9		1·0	80·1		

⁸ z.B.: F. Lynen und U. Henning, *Angew. Chem.* **72**, 820 (1960); DeW. S. Goodman und G. Popjak, *J. Lipid Res.* **1**, 286 (1961); D. G. Anderson und J. W. Porter, *Arch. Biochem. Biophysics* **97**, 509 (1962).

⁹ J. A. Miller und H. C. S. Wood, *Angew. Chem.* **76**, 301 (1964); *Int. Ed.* **3**, 310 (1964).

¹⁰ W. Rittersdorf und F. Cramer, *Tetrahedron* **23**, 3023 (1967).

¹¹ W. Rittersdorf und F. Cramer, *Tetrahedron* to be published.

¹² Als Hauptprodukt entstehen diese Verbindungen bei der Hydrolyse von Terpinen-4-ylphosphat. (W. Rittersdorf, unveröffentlichte Versuche).

TABELLE 2. ZUSAMMENSETZUNG DER KOHLENWASSERSTOFF-FRÄKTION BEI DER SAUREN HYDROLYSE VON TERPENPHOSPHATEN UND PYROPHOSPHATEN IN %

Auggangsverbindungen	Hydrolyseprodukte					
		Myrcen	cis-Ocimen	trans-Ocimen	Limonen	Terpinolen
Geranyl-P	37	21	32	6	2	
Geranyl-PP	18	29	44	4	5	
Neryl-P	9	2	5	45	35	4
Neryl-PP	3	1	3	44	46	3
Linaloyl-P	20	15	30	18	16	1
Linaloyl-PP	23	15	31	15	14	2
α -Terpinyl-P				56	42	2
α -Terpinyl-PP				64	35	1

Die Werte beziehen sich auf die Kohlenwasserstoff-Werte in Tab. 1 = 100%

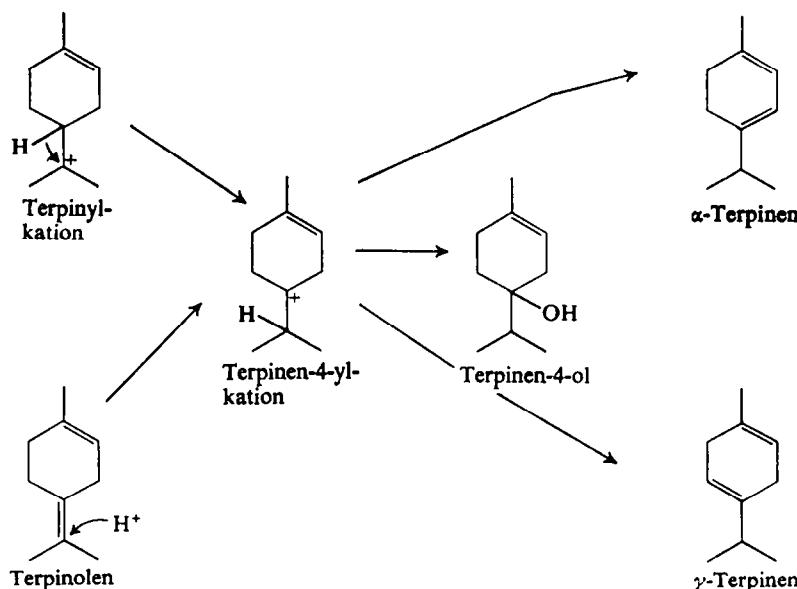


ABB. 2. Reaktionsschema der Bildung von Terpinen-4-ol und Terpinenen

Hydridverschiebung aus dem Terpinylkation oder durch Protonenanlagerung an Terpinolen¹³ (Abb. 2). Die in der Natur verbreiteten Phellandrene konnten nicht aufgefunden werden. Bicyclen konnten nicht mit Sicherheit nachgewiesen werden.¹⁴ Ausgeschlossen werden konnte die Anwesenheit von α - und β -Pinen, Camphen, Sabinen, Δ 3- und Δ 4-Caren sowie von Borneol und Isoborneol.

Für die Bildung von Bicyclen sind zwei ionische Mechanismen denkbar: Die

¹³ O. Wallach, *Liebigs Ann.* 275, 103 (1893).

¹⁴ siehe auch S. Geyer, W. Zieger und R. Mayer, *Z. Chem. Leipzig* 6, 138 (1966).

anchimere Cyclisierung des Terpinen-4-ylkations oder dessen 1,3- bzw. 1,4-Eliminierung. Solvolysen von Δ^3 -Cyclohexenylmethylverbindungen, darunter α -Terpinyltosylat wurden schon mehrfach untersucht,^{15,16} anchimere Cyclisierung, das heisst Bildung von Bicyclen, konnte dabei nicht festgestellt werden, im Gegensatz zu den Verhältnissen beim Δ^3 -Cyclohexenyläthyl-¹⁷ und beim Δ^3 -Cycloheptenylmethyl-System.¹⁸ 1,3 bzw. 1,4-Eliminierungen sind in solvolytischen Systemen (wei dem unseren) nicht bekannt, dazu bedarf es sogenannter "heisser" Kationen, wei sie bei der Desaminierung und der Deoxydation entstehen.¹⁸

In der Natur dürften die bicyclischen Monoterpene durch den Eliminierungsmechanismus entstehen. Sandermann inkorporierte markierte Mevalonsäure in α -Pinen¹⁹ und Thujon,²⁰ die Isotopenverteilung in diesen Produkten deutet auf eine 1,4- bzw. 1,3-Eliminierung hin.

Die Konfigurationsstabilität der Allylkationen, das heisst die Tatsache, dass aus Geranylphosphat nur die acyclischen Verbindungen und aus Neryl- und Linaloylphosphat in beträchtlicher Menge die cyclischen Verbindungen entstehen, legt den Schluss nahe, dass Geranylphosphat nicht das einzige C_{10} -Zwischenprodukt der Terpenbiosynthese ist. Zwar ist die ausschliessliche biosynthetische Wirksamkeit der trans-Isomeren (Geranylpyrophosphat, *trans-trans*-Farnesylpyrophosphat und all-*trans*-Geranylgeranylpyrophosphat) sowie der *trans*-Charakter des Kettenaufbaues hinlänglich bewiesen,²¹ jedoch nur in Systemen, für die die *trans*-Konfiguration obligatorisch ist (Squalen, Triterpene, Carotinoide). Vermutlich ist Linaloylpyrophosphat der gemeinsame Vorläufer der Monoterpene, es liefert Acyclen und Monocyclen, es kann optisch aktiv auftreten und vermag diese Aktivität auch an die Monocyclen weiterzugeben. Das analoge Sesquiterpen Nerolidylpyrophosphat wurde von Popjack²² bei der Squalenbiosynthese nachgewiesen.

Zusammenfassend kann man sagen: Die saure Hydrolyse der Terpenylphosphate und -pyrophosphate ist ein chemisches Modell für die Biosynthese der acyclischen und monocyclischen Monoterpenkohlenwasserstoffe und -alkohole, nicht dagegen für die Biosynthese der Bicyclen. Das Modell gestattet keinen Hinweis auf die ausschliessliche biosynthetische Wirksamkeit der Terpenylpyrophosphate²³ im Gegensatz zu den Phosphaten. Andere Terpenylderivate, die nach dem S_N1 -Mechanismus zerfallen, wären daher als Modellsubstanzen ähnlich geeignet gewesen. In der Tat ist die

¹⁵ G. LeNy, *C.R. hebh. Seances Acad. Sci.* **251**, 1526 (1960).

¹⁶ C. F. Wilcox und S. S. Chibber, *J. Org. Chem.* **27**, 2332 (1962), R. S. Bly und H. L. Dryden, *Chem. & Ind.* **1959**, 1287.

¹⁷ S. Winstein und P. Carter, *J. Am. Chem. Soc.* **83**, 4485 (1961); W. Herz und G. Caple, *ibid.* **84**, 3517 (1962).

¹⁸ P. S. Skell und I. Starer, *J. Am. Chem. Soc.* **82**, 2971 (1960); **84**, 3962 (1962); P. S. Skell und R. J. Maxwell, *Ibid.* **84**, 3963 (1962); M. S. Silver, *Ibid.* **82**, 2971 (1960).

¹⁹ W. Sandermann und W. Schwers, *Tetrahedron Letters* **257** (1962).

²⁰ W. Sandermann und W. Schwers, *Tetrahedron Letters* **259** (1962), siehe aber neuere Versuche von D. V. Banthorpe und K. W. Turnbull *Chem. Comms.* **177** (1966), die in der Thujanreihe auf die anchimere Cyclisierung hindeuten.

²¹ z.B.: G. Popjak, *Biochem. J.* **96**, 1P (1965); T. W. Goodwin, *Ibid.* **96**, 2P (1965); H. H. Rees, E. I. Mercer und T. W. Goodwin, *Ibid.* **96**, 30P (1965); A. A. Kandutsch, H. Paulus, E. Levin und K. Bloch, *J. Biol. Chem.* **239**, 2506 (1964).

²² G. Popjak, *Tetrahedron Letters* No. 19, 19 (1959).

²³ F. Lynen, B. W. Agranoff, H. Eggerer, U. Henning und E. M. Mösllein, *Angew. Chem.* **71**, 657 (1959).

Zusammensetzung der Hydrolysenprodukte von Geranyl- und Nerylbromid²⁴ sehr ähnlich der aus Geranyl- und Nerylphosphat, wenn man von einer etwas grösseren Eliminierungstendenz absieht. Neben der Tatsache, dass die Pyrophosphate in der Natur gefunden wurden, sind es vor allem praktische Gründe, die die Terpenylphosphate und -pyrophosphate für Hydrolysestudien als geeignet erscheinen lassen: Sie sind einfach rein und vor allen Dingen isomerenfrei darzustellen, sie sind in Substanz und in neutraler wässriger Lösung haltbar und die Hydrolyse kann auf Grund der guten Wasserlöslichkeit in homogener Phase durchgeführt werden.

EXPERIMENTELLER TEIL

Ausgangsmaterialien. Geraniol ("Meranol"), Nerol und Linalool waren Produkte der Firma A. Boake, Roberts & Co., London, ihre Verunreinigungen an Isomeren lagen unter ca. 2%. α -Terpineol (Schuchardt) wurde durch mehrfache Kristallisation aus der Schmelze gaschromatographisch rein gewonnen. *p*-Chlorbenzylisothiuroniumchlorid wurde nach²⁵ dargestellt.

Darstellung der Terpenylphosphate und -pyrophosphate. Die in früher beschriebene Vorschrift²⁶ wurde modifiziert, da die Abtrennung der Monoesterphosphate mit Methanol nicht immer streng reproduzierbar war. Es wurde anstelle von S-Benzylisothiuroniumchlorid die entsprechende *p*-Chlorverbindung zur Fällung der Monoesterpyrophosphate verwendet.²⁵ Die *p*-Chlorisothiuroniumsalze haben eine bessere Kristallisationstendenz, sie sind wesentlich schwerer löslich in Alkoholen und daher etwas schwieriger umzukristallisieren. Die Ausbeuten der modifizierten Vorschrift sind etwa die gleichen wie die der ursprünglichen.

Allgemeine Vorschrift für die Phosphorylierung von Geraniol, Nerol und α -Terpineol. 25 ml einer Lösung von 19.6 g Phosphorsäure (krist., Fluka), 40.4 g Triäthylamin und 2 ml Wasser in 250 ml Acetonitril (Merck, reinst) wurden bei Zimmertemperatur unter Rühren zu einer Mischung von 4.6 g Terpenalkohol und 9 g Trichloracetonitril im Verlaufe von 2–3 Stunden zugetropft. Die Reaktionslösung wurde noch einige Zeit weitergerührt, dann i. Vak. eingedampft, mit 50 ml absolutem Äthanol aufgenommen und etwas erwärmt. Danach wurde, zuletzt unter Kühlung, mit Ammoniakgas gesättigt. Nach dem Auffüllen mit Aceton auf ca. 200 ml wurde der hygroskopische Niederschlag möglichst unter Feuchtigkeitsausschluss abgesaugt und mit Aceton gewaschen. Der Niederschlag wurde nun nicht wie in²⁷ beschrieben, mit Methanol digeriert, sondern in 20 ml Wasser gelöst, mit 5 ml Cyclohexylamin versetzt und solange gekocht, bis kein Ammoniak mehr entwich. Beim Erkalten fiel das Bis-cyclohexylammoniumsalz des Monoesterphosphates aus, das abfiltriert und aus cyclohexylaminhaltigem Wasser umkristallisiert wurde.

Das Filtrat wurde zur Trockene eingedampft und noch einige Zeit auf dem Wasserbad i. Vak. erhitzt, um überschüssiges Cyclohexylamin zu vertreiben. Danach wurde der Rückstand in 10 ml Wasser aufgenommen und etwa zurückbleibendes Monocyclohexylammoniumsalz des Monoesterphosphats abfiltriert. Die Lösung wurde mit 10 ml 2n Essigsäure angesäuert, sofort mit einer kalten, übersättigten Lösung von 2 g *p*-Chlorbenzylisothiuroniumchlorid in 10 ml 2 n Essigsäure versetzt und kräftig durchgeschüttelt. (Die übersättigte Lösung wurde durch Lösen des Isothiuroniumchlorides in heißer Essigsäure und schnelles Abkühlen hergestellt. Beginnende Kristallisation störte nicht.) Der Niederschlag wurde je nach Beschaffenheit abgesaugt oder abdekantiert, mit etwas Wasser gewaschen und im Vakuumexsikkator über KOH und P₂O₅ getrocknet. Umkristallisation aus Methanol (bei glasigen Produkten eventuell aus Äthanol) lieferte Monoesterpyrophosphat als Bis-isothiuroniumsalz. Das Salz kristallisierte manchmal erst nach längerem Stehen im Kühlschrank und Reiben mit einem scharfkantigen Glasstab aus.

α -Terpinylphosphat (Cyclohexylammoniumsalz). Die erhaltene Verbindung war ein Gemisch der Mono- und Biscyclohexylammoniumsalze. Durch Trocken bei 60° in der Trockenpistole über P₂O₅ wurde reines Monocyclohexylammoniumsalz erhalten.²⁸ (C₆H₁₁N)C₁₀H₁₁O₄P (333.4) Ber: C, 57.64; H, 9.67; N, 4.20; P, 9.29. Gef: C, 57.44; H, 9.51; N, 4.28; P, 9.42%).

*α -Terpinylpyrophosphat (*p*-Chlorisothiuroniumsalz)* (C₆H₁₁ClN₂S)·C₁₀H₁₁O₄P₂ (715.6) Ber: C, 43.64; H, 5.35; N, 7.83; P, 8.66. Gef: C, 43.50; H, 5.36; N, 7.80; P, 8.39%).

²⁴ F. Porsch und H. Farnow, *Dragoco Berichte* 7, 167 (1960).

²⁵ R. G. Harvey und E. V. Jensen, *J. Org. Chem.* 28, 470 (1963).

²⁶ vgl. J. G. Moffat und H. G. Khorana, *J. Am. Chem. Soc.* 79, 3741 (1957).

Linaloylphosphat (vgl. die vorstehende Vorschrift). Der Niederschlag der gesamten Ammoniumsalze wurde in 10 ml heissem Wasser gelöst und mit einigen Tropfen conc. Ammoniak versetzt. Das ausfallende Bisammoniumsalz von Linaloylphosphat wurde abfiltriert, mit etwas conc. Ammoniak gewaschen und aus ammoniakalischem Wasser umkristallisiert.

Im Filtrat wurde nach dem Verkochen des Ammoniaks die Isothiuroniumfällung wie oben beschrieben vorgenommen.

Papierchromatographie. Papier: Schleicher & Schüll, 2043b. Laufmittel: Isopropanol:conc. Ammoniak:Wasser = 7:1:2

Terpenyl-	-phosphat	-pyrophosphat
Geranyl-	0·67	0·58
Neryl-	0·67	0·58
Linaloyl-	0·62	0·54
α -Terpinyl-	0·58	0·49

Saure Hydrolyse der Terpenylphosphate und -pyrophosphate. Die Benzylisothiuroniumsalze bzw. Chlorobenzylisothiuroniumsalze der Pyrophosphate wurden zunächst in die Ammoniumsalze überführt durch Lösen in wenig Dimethylsulfoxid, Verdünnen mit Methanol und Einleiten von Ammoniak. (Bei den Benzylisothiuroniumsalzen ist das DMSO entbehrlich, da sich diese Salze bereits gut in Methanol lösen). Die ausgefallenen Ammoniumsalze wurden abfiltriert, mit wenig Aceton gewaschen

TABELLE 3

Retentionssindizes:	eigene Werte			Literaturwerte		
	I_{150}^P	I_{150}^A	I_{150}^A	I_{150}^A	I_{150}^A	Ref.
Nachgewiesene Verbindungen:						
Myrcen	1180	982	986	982	985	33
cis-Ocimen	1247	1033	1035	1032	1035	33
trans-Ocimen	1269	1045	1049	1046	1049	33
Limonen	1247	1060		1067	1082	30
Terpinolen	1323	1114	1127	1119	1134	30
α -Terpinen	1225	1042	1060	1047	1062	30
γ -Terpinen	1286	1072	1099	1091	1103	30
Linalool	1545	1075	1078		1076	31, 32
Terpinen-4-ol	1619	1199	1217		1223	31, 32
α -Terpinol	1701	1213	1226		1233	31, 32
Nerol	1800	1193	1198		1192	31
Geraniol	1845	1215	1217		1210	31
ausgeschlossene Verbindungen						
α -Pinen	1072	963		968	985	30
β -Pinen	1165	1016		1022	1043	30
Camphen	1123	988		994	1015	30
Sabinen	1163	992				
Δ^3 -Caren	1195	1039				
Δ^4 -Caren	1175	1023				
Isoborneol	1680	1184				
Borneol	1709	1194			1212	32

I_{150}^A = Retentionsindex auf der apolaren Phase Apiezon L bei 150°.

I_{150}^P = Retentionsindex auf der polaren Phase Polyäthylenglykol 20 000 bei 150°.

Die Retentionsindizes wurden nach der angegebenen Formel (29, 30) oder durch graphische Interpolation auf halblogarithmischem Papier ermittelt.

und ohne weitere Reinigung zur Hydrolysereaktion verwendet. Die Cyclohexylammoniumsalze bzw. Ammoniumsalze der Monoesterphosphate wurden direkt in die Hydrolyse eingesetzt. Ca. 0.12 mM Phosphat oder Pyrophosphat wurden in 1 ml Wasser evtl. unter Erhitzen gelöst, mit 2-5 ml Pentan überschichtet, mit 5 ml 1 n Schwefelsäure versetzt und in einem auf 20° thermostatisierten Mantelgefäß 15 Min. lang mit einem Vibrator geschüttelt. Danach wurde mit festem Natriumbicarbonat gesättigt, und zweimal mit je 5 ml Pentan ausgeschüttelt. Im Falle der Cyclohexylammoniumsalze wurden die vereinigten Pentaphasen noch mit 1 n Schwefelsäure und anschliessend mit Bicarbonatlösung ausgeschüttelt, um die letzten Spuren Cyclohexylamin zu entfernen. Nach dem Trocknen mit Natriumsulfat wurde das Pentan abgedampft und der Rückstand gaschromatographisch analysiert.

Gaschromatographie. Die Analysen wurden mit dem Fraktometer 116E der Firma Bodenseewerk Perkin-Elmer an Golaysäulen (50 m, 0.25 mm i. Durchmesser, Stahl) durchgeführt. Trägergas: N₂; Flammenionisationsdetektor; Digitalintegrator D 2. Die Golay-Säulen wurden belegt mittels Durchdrücken einer 8-proz. Lösung der stationären Phase in Methylchlorid mit Stickstoff von ca. 5 atü.²⁷

Quantitative Analyse. Das Gemisch der Alkohole wurde an Polyäthylenglykol 20 000 bei 150° und 175° getrennt. Druck: 2.8 und 2.5 atü. Die Kohlenwasserstoffe wurden dabei gemeinsam bestimmt. Ihre Einzelbestimmung erfolgte an Polypropylenglykol Ucon LB 550X bei 82° und 2.0 atü. Der stoffspezifische Korrekturfaktor zwischen Kohlenwasserstoffen und Alkoholen wurde nach der Ongkiehong'schen Formel²⁸ zu 0.88 ermittelt, das heisst, der Integratorwert der Kohlenwasserstoffe mußte mit 0.88 multipliziert werden. Die Genauigkeit liegt bei etwa ±5% (relativ), sie kann bei großen Werten besser, bei kleinen Werten schlechter sein.

Qualitative Analyse. Die einzelnen Peaks wurden durch direkten Vergleich mit authentischen Referenz-Substanzen an den zwei verschiedenen polaren Phasen Polyäthylenglykol 20 000 und Apiezon L identifiziert. Ferner wurden die Retentionsindizes an beiden Phasen ermittelt^{29,30} und zum Teil mit Literaturwerten³⁰⁻³² verglichen.

Die Ergebnisse sind in Tabelle 3 zusammengefasst.

Diese Arbeit wurde von der Deutschen Forschungsgemeinschaft unterstützt.

Wir danken der Firma W. Biesterfeld & Co. für die Überlassung von Geraniol, Nerol und Linalool und Herrn Dr. G. Raupp vom Bodenseewerk Perkin-Elmer, Ingenieurbüro Frankfurt/M. für Referenzsubstanzen für die Gaschromatographie.

²⁷ vgl. z.B. S. R. Lipsky, R. A. Landowne und J. E. Lovelock *Analyt. Chem.* **31**, 852 (1959).

²⁸ L. Ongkiehong, Dissertation Eindhoven 1960, zitiert nach: R. Kaiser, *Chromatographie in der Gasphase*, Bd. 3, S. 134. Bibliographisches Institut, Mannheim (1962).

²⁹ E. sz. Kováts, *Helv. Chim. Acta* **41**, 1915 (1958).

³⁰ E. sz. Kováts, *Z. Analyt. Chem.* **181**, 351 (1961).

³¹ E. Kugler und E. sz. Kováts, *Helv. Chim. Acta* **46**, 1480 (1963).

³² E. sz. Kováts, *Helv. Chim. Acta* **46**, 2705 (1963).

³³ G. Ohloff, J. Seibl und E. sz. Kováts, *Liebigs Ann.* **675**, 83 (1964).