

Verunreinigung im Enzym, die das gebildete Dextran wieder abbaut, zu erklären. Bei der Untersuchung eines ähnlichen Systems der Reaktion von Lävansaccharase auf Saccharose, über die in einer späteren Arbeit berichtet werden wird, konnten wir einen solchen Effekt auf das Vorhandensein eines lävanspaltenden Enzyms zurückführen.

In diesem Zusammenhang soll darauf hingewiesen werden, daß für Studien über die Aufklärung von enzymatischen Reaktionen besonderer Wert auf

die Reinheit der Enzympräparation gelegt werden sollte, gleichgültig ob die Spezifität der Enzyme, die Kinetik der Reaktion oder die Reaktionsprodukte untersucht werden. Vielleicht dient in diesem Zusammenhang der Hinweis, daß wir die Enzympräparationen in der analytischen Ultrazentrifuge untersucht und die Sedimentationsaufnahme verschiedener Präparationen miteinander verglichen haben.

Herrn Prof. Dr. F. PATAT danken wir für sein förderndes Interesse an der Arbeit.

Über die Konstitution eines weiteren Plastochinons und seines Dimeren aus Kastanienblättern

Von HERBERT ECK und ACHIM TREBST

Aus dem Organisch-chemischen Institut der Technischen Hochschule München
(Z. Naturforschg. **18 b**, 446—451 [1963]; eingegangen am 13. März 1963)

Small amounts of plastoquinone-20 and the dimers of plastoquinone-20 and plastoquinone-45 have been isolated from chestnut tree leaves in addition to plastoquinone-45. Their structures have been investigated mainly by spectroscopic means. Dimerisation of pure plastoquinone-45 was brought about by irradiation with UV light.

KOFLER isolierte ein *p*-Benzochinon aus Pflanzen¹, das nach CRANE in den Chloroplasten lokalisiert ist^{2, 3} und Plastochinon genannt wurde⁴. Es wurde als 2,3-Dimethyl-solanosyl-*p*-benzochinon (hier als Plastochinon-45 bezeichnet) identifiziert^{5, 6} und seine Konstitution durch Synthese^{7, 8} bestätigt. CRANE^{2, 9} und BISHOP¹⁰ fanden erste Hinweise dafür, daß Plastochinon-45 im Elektronentransport der Photosynthese beteiligt ist. Diese Funktion wurde inzwischen durch zahlreiche Arbeiten bestätigt.

Bei der Aufarbeitung von Blättern zur Isolierung von Plastochinon-45 für photosynthetische Versuche

fanden wir¹¹, daß in Kastanienblättern weitere Plastochinone vorkommen, von denen wir eines als Plastochinon-20 angesprochen hatten (vorläufige Mitteilung in l. c.¹¹). CRANE beschrieb die Abtrennung eines weiteren Plastochinons aus Fichtennadeln⁴, das wahrscheinlich mit Plastochinon-50 identisch ist, und berichtete kürzlich über das Vorkommen mehrerer noch nicht identifizierter Benzochinone in Chloroplasten von Spinat¹².

Über die Konstitution einiger Plastochinon-Derivate aus Kastanienblättern soll jetzt ausführlich berichtet werden.

¹ M. KOFLER, in: Festschrift für E. C. BARELL, Seite 199, Basel 1946.

² F. L. CRANE u. R. L. LESTER, *Plant Physiol.* **33**, VII [1958]; F. L. CRANE, *Plant Physiol.* **34**, 128 [1959].

³ R. L. LESTER u. F. L. CRANE, *J. biol. Chemistry* **234**, 2169 [1959].

⁴ F. L. CRANE, in: „Quinones in Electrontransport“, J. & A. Churchill Ltd., London 1961.

⁵ N. R. TRENNER, B. H. ARISON, R. E. ERICKSON, C. H. SHUNK, D. E. WOLF u. K. FOLKERS, *J. Amer. chem. Soc.* **81**, 2026 [1959].

⁶ M. KOFLER, A. LANGEMANN, R. RÜEGG, L. H. CHOPARD-DITJEAN, A. RAYROUD u. O. ISLER, *Helv. chim. Acta* **XLII**, 1283 [1959].

⁷ M. KOFLER, A. LANGEMANN, R. RÜEGG, U. GLOOR, U. SCHWINTER, J. WÜRSCH, O. WISS u. O. ISLER, *Helv. chim. Acta* **XLII**, 2252 [1959].

⁸ C. H. SHUNK, R. E. ERICKSON, E. L. WONG u. K. FOLKERS, *J. Amer. chem. Soc.* **81**, 5000 [1959].

⁹ F. L. CRANE, B. EHRLICH u. L. P. KEGEL, *Biochem. biophys. Res. Commun.* **3**, 37 [1960].

¹⁰ N. I. BISHOP, *Proc. nat. Acad. Sci. USA* **45**, 1696 [1959]; N. I. BISHOP, in: „Quinones in Electrontransport“, J. & A. Churchill Ltd., London 1961.

¹¹ H. ECK, Dissertation München 1962; A. TREBST u. H. ECK, *Proc. Royal Soc. London, Ser. B* **157**, 355 [1963].

¹² L. P. KEGEL, M. D. HENNINGER u. F. L. CRANE, *Biochem. biophys. Res. Commun.* **8**, 294 [1962]; R. A. DILLEY, L. P. KEGEL u. F. L. CRANE, *Plant Physiol.* **37**, XL [1962].

Ergebnisse und Diskussion

Aus Blättern der weißen Roßkastanie wurden nach Petroläther-Extraktion und Dünnschichtchromatographie mit Benzol (oder Petroläther + 4% Methanol) zwei Chinon-Fractionen gewonnen. Die Fraktion mit R_f -Wert von 0,84 (in Benzol) war nach Schmelzpunkt, C-H-Analyse und spektroskopischen Eigenschaften mit Plastochinon-45 identisch.

Die zweite, nicht kristallisierte Chinon-Fraktion mit R_f -Wert von 0,05 (mit Benzol als Fließmittel) zeigte folgende Eigenschaften:

Sie hatte ein UV-Maximum bei 255–256 $m\mu$ und bei 330 $m\mu$ und ein Minimum bei 227 $m\mu$ (in Äthanol). Nach Reduktion mit NaBH_4 verschwand das Maximum bei 255 $m\mu$, und ein neues Maximum trat bei 290 $m\mu$ auf. Dieses Verhalten spricht für das Vorliegen eines trialkyl-substituierten *p*-Benzochinons und entspricht dem des Plastochinons-45^{4, 10, 13}. Der R_f -Wert der Fraktion von 0,6–0,8 in paraffin-gesättigtem Äthanol auf paraffinierten Kieselgel G-Platten¹⁴ im Vergleich mit analogen Substanzen zeigte, daß die Länge der isoprenoiden Seitenkette kürzer als die des Plastochinons-45 (mit R_f -Wert von 0,06, s. Tab. 4) ist. Aus den Inkrementen der Abnahme der R_f -Werte mit der Kettenlänge läßt sich abschätzen, daß das Plastochinon der 2. Chinon-Fraktion etwa 20 C-Atome in der Seitenkette hat.

IR-Spektrum und Ergebnisse einer Mikrohydrierung der 2. Chinon-Fraktion schlossen aus, daß es im γ -Tokopherylshinon mit einer gesättigten Seitenkette ist und schienen die Annahme zu bestätigen, daß es sich um ein Plastochinon-20 handle.

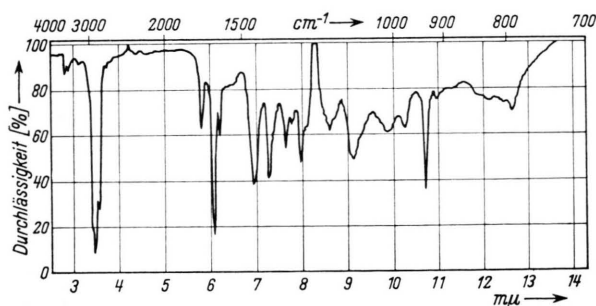


Abb. 1. IR-Spektrum von der 2. Chinon-Fraktion aus Kastanienblättern (als Film).

Das IR-Spektrum zeigt Abb. 1. Es ist im wesentlichen mit dem IR-Spektrum von Plastochinon-45 identisch⁶. Im Vergleich zu dessen Spektrum ist die Doppelbande bei 980 und 1025 cm^{-1} nach kleineren Wellen-

zahlen verschoben. Bei 1730 cm^{-1} tritt eine weitere Bande auf, die auch beim unsubstituierten *p*-Benzochinon und bei synthetischem Plastochinon-15 zu finden ist, nicht aber bei Plastochinon-45.

Die bei der Mikrohydrierung der 2. Chinon-Fraktion aufgenommenen Mengen Wasserstoff sind in Tab. 1 angegeben. Berechnet auf ein Mol.-Gew. von 408 für die 2. Chinon-Fraktion (Plastochinon-20) ergab sich eine H_2 -Aufnahme von 5 μ Molen, also von 4 Doppelbindungen in der Seitenkette.

Das Protonenresonanz-Spektrum der 2. Chinon-Fraktion war in der Lage der Hauptsignale identisch mit dem des Plastochinons-45^{5, 15}. Aus der Intensität des Signals bei 4,98 ppm ergab sich jedoch eine Seitenkette mit nur 4 Doppelbindungen, wie sie in einem Plastochinon-20 vorliegen sollte. Spektrum (zusätzliche Signale) und Intensität deuten aber daraufhin, daß das Plastochinon-20 mit weiteren Substanzen verunreinigt war.

Das Protonenresonanz-Spektrum einer frisch chromatographierten Probe der 2. Chinon-Fraktion zeigte folgende Signale: 1 H bei 6,3; 4,3 H bei 4,98; 1,6 H bei 2,98; 20 H bei 1,95; 18 H bei 1,53 und 6–7 H zwischen 0,75 und 1,15 ppm. Die Zahl der Protonen wurde aus der Intensität des Signals bei 6,3 ppm = 1 gesetzt berechnet.

Daß die 2. Chinon-Fraktion nicht einheitlich war, wurde sicher nach Bestimmung des Mol.-Gew. (nach der Methode der isothermen Destillation), das mit 600 für ein Plastochinon-20 zu hoch war und zudem mit längerer Aufbewahrungszeit anstieg. Bei den Verunreinigungen mußte es sich um Zersetzungsprodukte eines Plastochinons handeln, die höheres Mol.-Gew. hatten, wegen der annähernden Übereinstimmung der UV, IR und NMR-Spektren in ihrer Konstitution aber nicht wesentlich von der eines Plastochinons verschieden sein konnten.

Es ergab sich der Verdacht, daß die langsame Veränderung der als Plastochinon-20 angesprochenen 2. Chinon-Fraktion durch Licht verursacht wurde. Dies bestätigte sich, als durch Bestrahlung mit UV-Licht von reinem Plastochinon-45 und anschließende Dünnschichtchromatographie mindestens zwei chinonhaltige Zonen auftraten, von der eine mit Benzol als Fließmittel einen mit der aus Kastanienblättern isolierten 2. Chinon-Fraktion identischen R_f -Wert von 0,05 hatte (Dimeres a in Tab. 4). Ein

¹³ O. ISLER, R. RÜEGG, A. LANGEMANN, P. SCHUDEL, G. RYSER u. J. WÜRSCH, in: „Quinones in Electrontransport“, J. & A. Churchill Ltd., London 1961.

¹⁴ A. WINTERSTEIN, A. STUDER u. R. RÜEGG, Chem. Ber. **83**, 2951 [1960].

¹⁵ C. v. PLANTA, E. BILLETER u. M. KOFLER, Helv. chim. Acta **XLII**, 1278 [1959].

	Einwaage [mg]	angenom. Mol.-Gew.	μ Mole Substanz	μ Mole H ₂ aufgenom.	Zahl der Doppelbindungen in der Seitenkette (1 μ Mol H ₂ zur Hydrierung des Chinonteils bereits abgezogen)	
					berechnet	gefunden
Plastochinon-45	0,90	749	1,2	12,3	9	9,02
2. Chinon-Fraktion (Hauptmenge Plasto- chinon-20)	0,57	408	1,4	6,4	4	3,57
	1,13		2,8	13,0		3,65 _s
Ubichinon-50	0,43	863	0,5	5,55	10	10,10
	0,64		0,74	8,2		9,95

Tab. 1. Mikrohydrierung der 2. Chinon-Fraktion im Vergleich zu reinem Plastochinon-45 und Ubichinon-50.

weiteres Chinon blieb am Start zurück (Dimeres b). Das UV-Spektrum einer durch UV-Belichtung aus Plastochinon-45 entstandenen Substanz zeigt Abb. 2. Im Gegensatz zum UV-Spektrum von Plastochinon-45 ist die Extinktion des Maximums bei 255 m μ kleiner und es ist zusätzliche Absorption bei kürzeren Wellenlängen eingetreten. Die spezifische Absorption bei 255 m μ ist auf fast den halben Wert gegenüber Plastochinon-45 abgesunken, so daß sich für die durch UV-Licht entstandene Verbindung ein Mol.-Gew. von etwa 1400 berechnet, also doppeltes Mol.-Gew. von Plastochinon-45 (s. auch Tab. 2). Auch eine Mol.-Gew.-Bestimmung nach der Methode der isothermen Destillation der durch UV-Belichtung

aus Plastochinon-45 entstandenen Verbindung ergab ein Mol.-Gew. von 1444 (Tab. 3), so daß damit eine Dimerisierung gesichert scheint. Das Dimere wurde bisher nur als gelbes Öl erhalten. R_f -Werte sind in Tab. 4 und das Protonenresonanz-Spektrum in Tab. 5 angegeben.

	$E_{1\text{ cm}}^{1\%}$	Mol.-Gew.	
		bestimmt aus Ex- tinktion	berechnet
Trimethyl- <i>p</i> -benzo- chinon	1065	142	150
2,3-Dimethyl- <i>p</i> -benzo- chinon-5-buttersäure *	706	212	222
Plastochinon-15 (synth.)	434	346	340
Plastochinon-20 (isol.)	342	448	408
Plastochinon-45 (isol.)	200	750	749
„Plastochinon X“ (isol.)	219	685	680
Dimeres von Plastochinon-20 (isol.)	181	832	817
Dimeres von Plastochinon-45 (isol.)	110	1365	1498
Dimeres a von Plastochinon-45 (synth.)	108	1385	1498
Dimeres b von Plastochinon-45 (synth.)	104,5	1435	1498

Tab. 2. UV-Spektrum von Benzochinonen mit isoprenoïder Seitenkette (Extinktion bei 255 m μ in Äthanol). Das Mol.-Gew. in Spalte 2 wurde aus der spezifischen Extinktion berechnet unter Annahme einer molaren Extinktion von 15 000 für alle in der Tab. angeführten Chinone. isol. = aus Kastanienblättern isoliert; synth. = synthetisch gewonnen. * Extinktion bei 257,5 m μ .

	Mol.-Gew.	
	gefunden	berechnet
Plastochinon-45	736	749
Dimeres von Plasto- chinon-45 (durch Belichtung)	1444	1498
Dimeres von Plasto- chinon-20 (aus Kastanienblättern)	812	817

Tab. 3. Mol.-Gew. von Plastochinon-Dimeren nach der Methode der isothermen Destillation.

Sorgfältige Dünnschichtchromatographie in mehreren Lösungsmitteln mit kleinen Substanzmengen ergab nun auch eine Auftrennung der 2. Chinon-Fraktion aus Kastanienblättern. Es wurden 4 Zonen erhalten, von denen drei als Plastochinon-20 und als Dimere von Plastochinon-45 und -20 angesprochen wurden. Von einer weiteren Substanz („Plastochinon X“) wurden nur etwa $1/10$ bis $1/20$ der anderen drei erhalten. Da die 2. Chinon-Fraktion in diesem Stadium bereits 14 Tage alt war und sich, wie die ersten Mol.-Gew.-Bestimmungen ergeben hatten (s. vorne), dauernd veränderte, läßt sich keine Aussage mehr über die ursprüngliche quantitative Zusammensetzung machen. Da die 2. Chinon-Fraktion aber frei von Plastochinon-45 war, kann zumindest das Dimere von Plastochinon-45 in dieser Fraktion nicht nachträglich entstanden sein.

Die R_f -Werte dieser 4 Substanzen sind in Tab. 4 angegeben. Sie haben danach zwar deutlich verschie-

Schicht	R_f -Werte		
	Paraffiniertes Kieselgel G ¹⁴	Kieselgel G	Kieselgel G
Fließmittel	paraffingesättigtes Äthanol	Benzol + 1,5% Methanol	Benzol + 0,5% Methanol
Ubichinon-50	0,20		
Ubichinon-30	0,60		
Ubichinon-0	0,77		
(= 2,3-Dimethoxytoluchinon)			
Plastochinon-45 (isol.)	0,06–0,09	0,94	
Plastochinon-20 (isol.)	0,60	0,79	
Plastochinon-15 (synth.)	0,68–0,72	0,72	
Plastochinon-0	0,88		
(= 2,3-Dimethylchinon)			
2,3-Dimethyl-phytyl-chinon	0,41–0,43		
„Plastochinon X“ (isol.)	0,77	0,80	
Dimeres Plastochinon-20 (isol.)	0,73–0,79	0,76	
Dimeres Plastochinon-45 (isol.)	0,66	0,70	
Dimeres Plastochinon-45 (durch Belichtung)			0,26 a) 0,23–0,28 b) 0,00

Tab. 4. R_f -Werte von Benzochinonen mit isoprenoider Seitenkette nach Dünnschichtchromatographie. isol. = aus Kastanienblättern, synth. = synthetisch gewonnen.

dene, aber doch sehr ähnliche R_f -Werte zueinander. Werden deshalb zu große Substanzmengen aufgesetzt, laufen die 4 Zonen nicht auseinander. Eine der Zonen ist mit einer der durch UV-Belichtung aus Plastochinon-45 entstandenen Dimeren identisch.

Die Zuordnung der Substanzen erfolgte im wesentlichen auf Grund der UV-Absorption (Tab. 2), indem aus den gemessenen spezifischen Absorptionen bei 255 m μ und der Annahme einer molaren Extinktion von 15 000 (dieser von uns für Plastochinon-45 gefundene Wert ist etwa um 5–7% geringer als Angaben in der Literatur^{4, 10}) für alle trialalkylsubstituierten *p*-Benzochinone ein Mol.-Gew. berechnet wurde. Die in der 2. Chinon-Fraktion gefundenen Substanzen haben danach Mol.-Gew. von 448 (Plastochinon-20), 832 (Dimeres von Plastochinon-20) und 1365 (Dimeres von Plastochinon-45) (Tab. 2). Aus $E_{1\text{ cm}}^{1\%} = 685$ für die 4. Substanz berechnet sich ein Mol.-Gew. von 346, das auf das Dimeres von Plastochinon-15 zutreffen würde. Wegen der geringen zur Verfügung stehenden Menge scheint dieser Wert aber als sehr fraglich; wahrscheinlich handelt es sich ebenfalls um ein Abbauprodukt von Plastochinon-20.

Die Menge der mit Dimeren von Plastochinon-20 bezeichneten Substanz reichte zu einer Mol.-Gew.-Bestimmung aus. Der gefundene Wert stimmt mit dem berechneten gut überein (s. Tab. 3). Damit wird wahrscheinlich, daß die 2. Chinon-Fraktion aus Kastanienblättern neben Plastochinon-20 ein

Dimeres von Plastochinon-20 und von Plastochinon-45 enthält. Bei den Dimeren handelt es sich möglicherweise um Artefakte bei der Aufarbeitung. Ganz sicher nimmt der Gehalt an Dimeren von Plastochinon-20 auf Kosten des Monomeren bei der Aufbewahrung der 2. Chinon-Fraktion zu. Wir halten es für möglich, daß es sich auch bei den von CRANE aus Chloroplasten isolierten Chinonen¹² zum Teil um solche Sekundärprodukte handelt.

Tab. 5 zeigt das Protonenresonanz-Spektrum des isolierten Dimeren von Plastochinon-20 und des durch Belichtung von Plastochinon-45 gewonnenen Dimeren im Vergleich mit den Monomeren von Plastochinon-15 und -45^{5, 15}. Die angegebenen Intensitäten wurden aus einmaliger Integration von Routinespektren erhalten und sind daher nur als Abschätzung zu betrachten. Wesentlich erscheint uns, daß in den Dimeren zusätzliche Signale bei geringen chemischen Verschiebungen auftreten, die Protonen in aliphatischer Bindung anzeigen, die durch Cycloaddition an C–C-Doppelbindungen entstanden sein könnten.

Aus dem Abfall der spezifischen UV-Absorption bei 255 m μ auf die Hälfte der Monomeren und der zusätzlichen Absorption bei kürzeren Wellenlängen (Tab. 2 und Abb. 2) könnte man schließen, daß eine Addition der Seitenkette des monomeren Plastochinons an den Chinonteil des zweiten Monomeren stattgefunden hat. Dabei sind verschiedene Isomere möglich und das Auftreten mehrerer Substanzen bei

Protonenart	Plastochinon-15	Plastochinon-45 ^{5 15}	Dimeres von	
			Plastochinon-20	Plastochinon-45
a			0,85) 0,96) (3) 1,04) 1,16)	0,78—1,0 (2—3)
b			1,23) (5—6) 1,33)	1,15) 1,26) 1,38) (20)
c	1,60) 1,70) (12)	1,63 (30)	1,57 (26)	1,62 (57)
d	2,04 (14)	2,03 (38)	1,92 (30)	2,00 (65)
e			2,60 (1)	2,62 (1)
f (Doublett)	3,10 (2)	3,15 (2)	3,04 (2)	3,12 (2)
g	5,10 (3)	5,14 (9)	5,03 (7)	5,08 (17)
h			5,45 (1)	5,50 (1)
i	6,44 (1)	6,44 (1)	6,35 (1)	6,41 (1)

Tab. 5. Protonenresonanz-Spektrum von Plastochinonen [Signallagen (in ppm) und Protonenzahlen (in Klammern); Tetramethylsilan als innerer Standard].

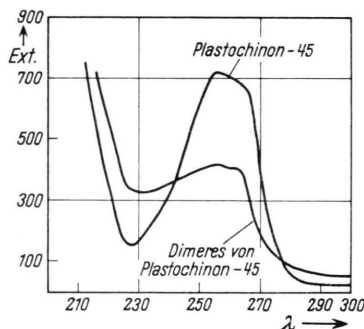
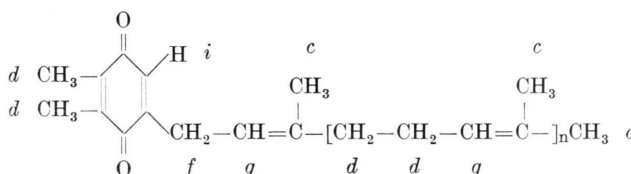


Abb. 2. UV-Spektrum von Plastochinon-45 (isoliert) und von Dimeren aus Plastochinon-45 [durch UV-Belichtung] (in Äthanol).

der Belichtung von Plastochinon-45 (darunter die zwei isolierten Dimeren a und b) wird erklärlich. Dimerisierungen von Chinonen bei Belichtung sind allgemein bekannt¹⁶. MADINAVEITIA¹⁷ zeigte beim Methylnaphthochinon und COOKSON, COX und HUDEC¹⁸ bei dialkyl-substituierten *p*-Benzochinonen,

daß sie im Licht unter Ausbildung eines Cyclobutanringes dimerisieren.

Eine Veränderung durch UV-Bestrahlung ist bei K-Vitaminen lange bekannt¹⁹ und ist auch bei den Ubichinonen beschrieben worden⁴. Das Bestrahlungsprodukt von Ubichinonen zeigt den gleichen Abfall der Extinktion des UV-Maximums (bei 276 mμ) auf die Hälfte und Anstieg der Absorption bei kürzeren Wellenlängen⁴ wie das des Plastochinons.

Eine physiologische Funktion kommt der Licht-Dimerisierung wahrscheinlich nicht zu; sie könnte aber vielleicht verantwortlich sein für die Lichtinaktivierung photosynthetischer Reaktionen isolierter Chloroplasten unter bestimmten Bedingungen²⁰. Plastochinon-20 zeigt gleiches Verhalten wie Plastochinon-45 in der Reaktivierung photosynthetischer Reaktionen in petroläther-extrahierten Chloroplasten, worüber z. T. schon berichtet wurde¹¹.

¹⁶ A. SCHÖNBERG, in: „Präparative organische Photochemie“, Springer-Verlag 1958.

¹⁷ J. MADINAVEITIA, Revista de la Academia de Ciencias, Madrid XXXI, 617 [1934].

¹⁸ R. C. COOKSON, D. A. COX u. J. HUDEC, J. chem. Soc. [London] 1961, 4499.

¹⁹ H. J. ALMQUIST, J. biol. Chemistry 117, 517 [1937]; A. E. BRODIE u. J. BALLANTINE, J. biol. Chemistry 235, 226 [1960]; H. DAM u. E. SØNDERGAARD, in: „The Enzymes“, Vol. 3, Seite 332, Academic Press, New York 1960.

²⁰ A. TREBST, Z. Naturforsch. 17b, 660 [1962]; N. SHAVIT u. M. AVRON, Biochim. biophysica Acta [Amsterdam] 66, 187 [1963].

Methodik

Isolierung von Plastochinonen

900 g gepulverte, an der Luft getrocknete Blätter der weißen Kastanie *Aesculus hippocastanum* (im September geerntet) wurden 24 h mit 3 l Petroläther (40°) geschüttelt. Der Petrolätherextrakt wurde im Vakuum eingedampft, bei -30° wachartige Substanzen ausgefroren und die Lösung eingedampft, in wenig Petroläther aufgenommen und durch Dünnschichtchromatographie aufgetrennt. Dazu wurde der Rohextrakt mit einer auf einer Laufschiene montierten Mikrometer-Rekordspritze auf 60 Kieselgel G-Platten (Schichtdicke 0,5 mm) aufgetragen und mit Benzol chromatographiert. Die Lokalisation der Chinone erfolgte durch die Farbreaktion nach DAM-KARRER in Propylenglykol⁶ in einer mit Äther extrahierten Probe jener Schichten, die sich mit SbCl₅ hatten braun anfärben lassen. Zwei chinonhaltige Schichten mit *R_f*-Werten von 0,84 und 0,05 bis 0,09 wurden unter N₂ bei 6° unter weitgehendem Lichtausschluß mit Äther eluiert und an Kieselgel G-Platten mit Benzol oder Petroläther + 4% Methanol als Fließmittel rechromatographiert.

Plastochinon-45 kristallisiert beim Einengen des Eluats der entsprechenden Schicht nach der 1. Rechromatographie. Umkristallisation aus Äthanol ergab 266 mg gelbe Kristalle mit Schmelzpunkt von 49°.

C₅₃H₈₀O₂

Ber.	C 84,95	H 10,76,
Gef.	C 84,47	H 10,76.

Die zweite chinonhaltige Fraktion mit *R_f*-Wert von 0,05 in Benzol mußte mehrmals rechromatographiert werden, bis sie frei von Chlorophyll- und Karotin-Abbauprodukten war. Sie konnte nicht zur Kristallisation gebracht werden (Chinone mit kurzkettigen Isoprenketten haben Schmelzpunkte unter 20°) und gab 40 mg eines gelben Öls. Eigenschaften dieser Fraktion sind unter „Ergebnissen“ angegeben.

Bei der Isolierung dieser zwei Chinon-Fractionen wurde nicht auf quantitative Ausbeute geachtet; die isolierten Mengen sind also keine Gehaltsangaben. Weiterhin soll die Isolierung von zwei Chinon-Fractionen nicht aussagen, daß es keine weiteren Chinone — wie Vitamin K und Ubichinone — in Kastanienblättern gibt. Der Gehalt an Plastochinon ist stark vom Alter der Kastanienblätter abhängig⁶. Im Mai/Juni geerntete Blätter enthielten in unseren Versuchen nur etwa 1,7 mg Plastochinon-45 in 100 g Trockengewicht, und die zweite Chinon-Fraktion war nicht zu be-

stimmen. Dagegen enthalten im Herbst geerntete Kastanienblätter etwa 260 mg Plastochinon-45 in 100 g Trockengewicht (in Übereinstimmung mit Angaben von KOFLER⁶) und etwa 5–10 mg Plastochinon-20.

Die Protonenresonanz-Spektren wurden mit einem Gerät von Varian associates, Modell A 60 mit Tetrachlorkohlenstoff als Lösungsmittel und Tetramethylsilan als inneren Standard aufgenommen.

Die Bestimmung der Mol.-Gew. erfolgte nach der Methode der isothermen Destillation (Benzol als Lösungsmittel) mit einem Dampfdruck-Osmometer, Modell 301 A (Mechrolab. Inc. Mountain View, Calif.)^{*}.

Die Mikrohydrierung der Chinone wurde in konischen Warburg-Gefäßen mit einem Gesamtvolumen von etwa 14 ml in einem temperaturkonstanten Bad von 20° mit 200 mg Palladium-BaSO₄ (5-proz.) nach KUHN²¹ als Katalysator und 3 ml Eisessig als Lösungsmittel mit den in Tab. 1 angegebenen Substanzmengen durchgeführt. Die Wasserstoffaufnahme kam nach 12 h zum Stillstand.

Die Synthese von Plastochinon-15 und von 2.3-Dimethylphytyl-benzochinon erfolgte analog nach der für die Synthese von Plastochinon-45 angegebenen Vorschrift von KOFLER⁷. Die Reinigung der Chinone geschah durch Dünnschichtchromatographie an Kieselgel G-Platten mit Petroläther-Methanol-Mischungen als Fließmittel, ihre Identifizierung über die in Tab. 5 und 2 angegebenen Spektren.

Dimerisierung von Plastochinon-45 durch UV-Licht

100 mg Plastochinon-45 wurden in einer kleinen Menge Benzol gelöst und auf einer flachen Schale durch Verdunsten des Lösungsmittels fein verteilt. Dann wurde 3 h mit einer UV-Lampe (Quarzlampen GmbH, Hanau, Modell S 50) im Abstand von 20 cm bestrahlt. Die etwas gedunkelte Schicht wurde in Benzol aufgenommen und durch Dünnschichtchromatographie an Kieselgel G-Platten und Benzol als Fließmittel aufgetrennt. Neben unverändertem Plastochinon-45 (etwa 50% der eingesetzten Menge) und einer bräunlichen Zone am Start zeigte sich eine gelbe Zone mit einem *R_f*-Wert von 0,05, die sich gelegentlich in zwei schmale Streifen auftrennte. Eigenschaften dieser Zone, als Dimeres von Plastochinon-45 bezeichnet, sind unter „Ergebnissen“ angegeben.

Wir danken Herrn Professor Dr. F. WEYGAND und der Deutschen Forschungsgemeinschaft für ihre Unterstützung und Fräulein SIEGLINDE WAGNER für ihre Mitarbeit.

* Wir sind Herrn H. HUBER vom Organisch-chemischen Institut der Universität München für die Durchführung der Messungen dankbar.

²¹ R. KUHN u. H. J. HAAS, Angew. Chem. **67**, 785 [1955].