

Mikrobiologische Umwandlung von Silicium-Verbindungen: Enantioselektive Reduktion von Acetessigsäure-(trimethylsilylalkyl)estern und deren Carba-Analoga

Microbiological Transformation of Silicon Compounds:

Enantioselective Reduction of Trimethylsilylalkyl Acetoacetates and their Carba-Analogues

Reinhold Tacke*, Haryanto Linoh

Institut für Anorganische und Analytische Chemie der Technischen Universität
Braunschweig, Pockelsstraße 4, D-3300 Braunschweig

Burghard Stumpf, Wolf-Rainer Abraham, Klaus Kieslich und Ludger Ernst

Gesellschaft für Biotechnologische Forschung mbH, Mascheroder Weg 1,
D-3300 Braunschweig-Stöckheim

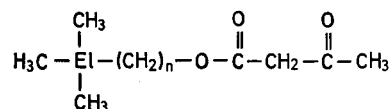
Z. Naturforsch. **38b**, 616-620 (1983); eingegangen am 8. Dezember 1982

Silicon Compounds, Microbiological Transformation, Enantioselective Reduction

The trimethylsilylalkyl acetoacetates **1b** and **2b** as well as their carba analogues **1a** and **2a** have been reduced microbiologically by *Kloeckera corticis* (ATCC 20109), leading to the corresponding (+)-3(*S*)-hydroxybutanoates **3b**, **4b**, **3a**, and **4a**. The enantiomeric purity was found to be 80% (**3a**, **3b**, **4b**) and 65% (**4a**), respectively. The reduction of **1b** and **2b** is - to our knowledge - the first example for a controlled microbiological transformation of organosilicon substrates.

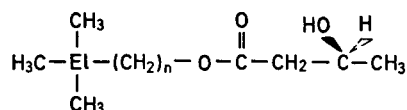
Durch unsere Arbeiten über sila-substituierte Pharmaka konnten wir zeigen, daß zwischen organischen Wirkstoffen und hiervon abgeleiteten Sila-Analoga in der Regel stark ausgeprägte bioisostere Beziehungen bestehen [1]; ein Ergebnis, das auf breit angelegten Untersuchungen von C/Si-Analogenpaaren verschiedenen Strukturtyps an verschiedenen pharmakologischen Modellen basiert. Derartige Ähnlichkeiten konnten u. a. auch auf molekularer Ebene an isolierten Enzymen nachgewiesen werden [2]. Dies alles ließ vermuten, daß auch an bestimmten organischen Substraten ablaufende mikrobiologische Umwandlungsreaktionen prinzipiell auf sila-analoge Strukturen übertragbar sein sollten.

Zur Überprüfung dieser Hypothese haben wir die bereits früher von uns synthetisierten [3, 4] Acetessigsäurealkylester **1a** und **2a** sowie deren Sila-Analoga **1b** bzw. **2b** unter gleichen Bedingungen dem Versuch einer mikrobiologischen Reduktion durch *Kloeckera corticis* (ATCC 20109; ältere Bezeichnung: *Kloeckera magna*) unterzogen, einem Hefestamm, dessen enantioselektiv Keton-reduzierenden Eigenschaften bekannt sind [5, 6].



	1a	1b	2a	2b
EI	C	Si	C	Si
n	1	1	2	2

In der Tat erfolgt durch das reduzierende Enzymsystem der genannten Hefe die erwartete Umwandlung zu den entsprechenden, bisher nicht beschriebenen (+)-3-Hydroxybutansäureestern **3a**, **3b**, **4a** bzw. **4b**. Dies Ergebnis ist ein weiteres Beispiel für die Existenz stark ausgeprägter bioisosterer Beziehungen zwischen strukturanalogen Verbindungen des Kohlenstoffs und Siliciums und darüber hinaus das unseres Wissens erste Beispiel einer gezielten mikrobiologischen Umwandlung von siliciumorganischen Substraten überhaupt.



	3a	3b	4a	4b
EI	C	Si	C	Si
n	1	1	2	2

* Sonderdruckanforderungen an Priv.-Doz. Dr. R. Tacke.

Wir fanden, daß diese Reaktionen – zunächst durchgeführt mit 500 mg-Ansätzen – unter den gewählten experimentellen Bedingungen praktisch vollständig ablaufen (dünn-schichtchromatographische Kontrolle des Fermentationsprozesses). Es ist aber ebenso möglich, die Umsetzungen im präparativen Maßstab mit isolierten Ausbeuten von ca. 90% durchzuführen [7], wie am Beispiel der Reduktion von **2b** zu **4b** [10 ml-Ansatz (\triangleq 9,6 g **2b**) in einem 10 l-Versuchsfermenter, Ausb. 91%] im experimentellen Teil gezeigt ist.

Die (+)-3-Hydroxybutansäureester **3a**, **3b**, **4a** und **4b** wurden in ihrer Struktur durch $^1\text{H-NMR}$ -, $^{13}\text{C-NMR}$ - und IR-spektroskopische sowie massenspektrometrische Untersuchungen [Bestimmung der relativen Molmasse der ($\text{M}^+ - \text{CH}_3$)-Fragmente durch MS-Hochauflösung; die Molekülonen M^+ selbst waren nicht nachweisbar] sichergestellt. Im Falle von **4b** wurde darüber hinaus eine Elementaranalyse angefertigt.

Analog dem ebenfalls durch mikrobiologische Reduktion erhaltenen (+)-3(*S*)-Hydroxybutansäuremethylester bzw. -ethylester (vgl. hierzu Lit. [8]) ordnen wir den rechtsdrehenden Verbindungen **3a**, **3b**, **4a** und **4b** vorläufig (*S*)-Konfiguration am C(3)-Atom des Hydroxybutansäurerestes zu. Hierbei werden wir durch die Tatsache bestärkt, daß auch die Reduktion anderer Ketone mit *Kloeckera corticis* zu Produkten gleicher absoluter Konfiguration führt [5, 6]. Eine endgültige Konfigurationszuord-

nung behalten wir uns jedoch bis zum Vorliegen weiterer experimenteller Befunde vor.

Durch $^1\text{H-NMR}$ -spektroskopische Untersuchungen an **3a**, **3b**, **4a** und **4b** wurde unter Verwendung des chiralen Verschiebungsreagenzes Tris[3-(heptafluorpropylhydroxymethylen)-*d*-camphorato]europium(III) [$\text{Eu}(\text{hfc})_3$] eine Enantiomerenreinheit von etwa 80% (**3a**, **3b**, **4b**) bzw. 65% (**4a**) bestimmt. Die experimentellen Bedingungen wurden zuvor durch entsprechende Untersuchungen an den jeweiligen Racematen optimiert, welche leicht durch Reduktion von **1a**, **1b**, **2a** bzw. **2b** mit Natriumcyanoborant zugänglich sind. Nach Zusatz der Europium-Verbindung beobachtet man für die jeweiligen (*R*)- und (*S*)-Enantiomere separate Resonanzsignale – besonders gut erkennbar für die an das Chiralitätszentrum und die El-Atome gebundenen Methyl-Gruppen –, über deren relative Intensitäten eine Quantifizierung der Isomeren vorgenommen werden kann. Am Beispiel von *rac*-3-Hydroxybutansäure-(2-trimethylsilylethyl)ester (**5**) sind die chemischen Verschiebungen der genannten Signale dokumentiert (vgl. Fußnote j von Tab. I).

Die vorliegenden Ergebnisse zeigen, daß mikrobiologische Umwandlungen siliciumorganischer Verbindungen prinzipiell möglich und auch im präparativen Maßstab durchführbar sind. Für den gezielten Einsatz von Biotransformationen in der Siliciumchemie zeichnen sich damit interessante Perspektiven ab, nicht zuletzt auch deshalb, weil derartige

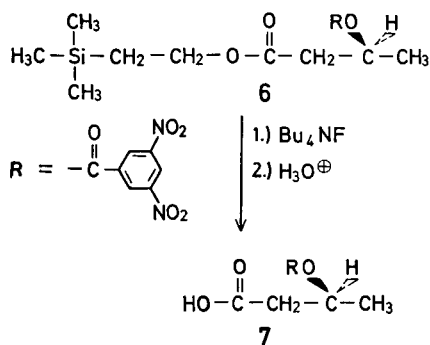
Tab. I. $^1\text{H-NMR}$ -spektroskopische Daten^a von **3a**, **3b**, **4a** und **4b**.

	3a	3b	4a	4b
El-CH ₃	0,95, s, 9H	0,08, s, 9H	0,94, s, 9H	0,05, s, 9H
El-CH ₂ -C	–	–	1,57, m ^g , 2H	1,00, m ^g , 2H
El-CH ₂ -O	3,81, s, 2H	$\delta_A = 3,83$, $\delta_B = 3,81$, 2H ^e	–	–
C-CH ₂ -O	–	–	4,17, m ^g , 2H	4,21, m ^g , 2H
C-CH ₂ -C	$\delta_A = 2,50$, $\delta_B = 2,48$, 2H ^b	$\delta_A = 2,50$, $\delta_B = 2,42$, 2H ^f	$\delta_A = 2,48$, $\delta_B = 2,41$, 2H ^h	$\delta_A \approx \delta_B = 2,43$, 2H ⁱ
C-H	$\delta_X = 4,21$, 1H ^b	$\delta_X = 4,18$, 1H ^f	$\delta_X = 4,19$, 1H ^h	$\delta_X = 4,2$, 1H ⁱ
O-H	3,4, s ^c , 1H	3,1, s ^c , 1H	3,1, s ^c , 1H	3,6, s ^c , 1H
C-CH ₃	1,24, d ^d , 3H	1,23, d ^d , 3H	1,23, d ^d , 3H	1,21, d ^d , 3H

^a Lösungsmittel CDCl_3 , interner Standard TMS; angegeben sind die chemischen Verschiebungen (δ -Werte), Multiplizitäten und relative Intensitäten; ^b ABX-System ($J_{AB} = -16,2$ Hz, $J_{AX} = 3,5$ Hz, $J_{BX} = 8,9$ Hz); ^c Verbreitertes Signal; ^d $^3J_{\text{HH}} = 6,3$ Hz; ^e AB-System ($J_{AB} = -14,1$ Hz); ^f ABX-System ($J_{AB} = -16,4$ Hz, $J_{AX} = 3,1$ Hz, $J_{BX} = 9,1$ Hz); ^g Lage des Multiplett-Zentrums; ^h ABX-System ($J_{AB} = -16,5$ Hz, $J_{AX} = 3,1$ Hz, $J_{BX} = 9,1$ Hz); ⁱ ABX-System [$0,5 (J_{AX} + J_{BX}) = 6,3$ Hz]; ^j Chemische Verschiebungen der Methyl-Gruppen von **5** nach Zusatz von $\text{Eu}(\text{hfc})_3$ (Reagenz/Substrat-Verhältnis ca. 1:4): (*S*)-Enantiomer: 0,10 (s, Si-CH₃) bzw. 2,73 (d, C-CH₃); (*R*)-Enantiomer: 0,09 (s, Si-CH₃) bzw. 2,76 (d, C-CH₃).

Umwandlungsreaktionen nicht nur auf Tetraalkylsilane beschränkt sind: Auch Silane mit Si-Aryl- und sogar mit Si-H-Einheiten wurden inzwischen erfolgreich als Substrate für Biotransformationen eingesetzt [7].

Weitergehende Untersuchungen dienen u. a. dem Ziel, unter Ausnutzung der Stereoselektivität bestimmter mikrobiologischer Stoffumwandlungen optisch aktive Silane darzustellen. Auch für die organische Synthese zeichnen sich interessante Möglichkeiten ab. So lassen sich z. B. die Verbindungen **4b** und **6** als chirale C₄-Bausteine (vgl. hierzu Lit. [9]) mit einer (2-trimethylsilylethyl)-geschützten Carboxyl-Funktion auffassen. Am Beispiel von **6** konnten wir zeigen, daß diese Schutzgruppe durch Umsetzung mit Tetrabutylammoniumfluorid in THF unter milden Bedingungen abgespalten und die freie Carbonsäure **7** durch nachfolgende wässrige Aufarbeitung erhalten werden kann [10].



Experimenteller Teil

I. Ausgangsverbindungen

Acetessigsäure-neopentylester (**1a**) [3], Acetessigsäure-(trimethylsilylmethyl)ester (**1b**) [3], Acetessigsäure-(3,3-dimethylbutyl)ester (**2a**) [4] und Acetessigsäure-(2-trimethylsilylethyl)ester (**2b**) [4] wurden nach Literaturvorschriften dargestellt.

II. Mikrobiologische Umwandlung von **1a**, **1b**, **2a** und **2b** (500 mg-Ansätze)

a) Stammhaltung

Der Stamm *Kloeckera corticis* (ATCC 20109) wurde auf Schrägagarröhrchen [Nährlösung: 0,2% Glucose, 0,3% Hefeextrakt, 1% Malzextrakt, 1% Universalpepton (Merck M 66), 2% Agar] bei 9 °C aufbewahrt und alle 3 Monate auf Vermehrungsfähigkeit überprüft.

b) Vorkultur

Ein 100 ml-Erlenmeyerkolben wurde mit 20 ml Kulturmedium [2% Glucose, 0,5% Hefeextrakt, 2% Malzextrakt, 1% Universalpepton (Merck M 66)] gefüllt und anschließend 30 min bei 121 °C und 1 atm in strömendem Wasserdampf sterilisiert. Dann wurde mit einer Impföse Kulturmaterial übertragen und 24 h bei 27 °C im Dunkeln unter Schütteln (Rotationsschüttelmaschine, 100 U/min) inkubiert.

c) Fermentation

Die Vorkulturen wurden unter aseptischen Bedingungen in einen 3 l-Fermentationskolben, der mit 500 ml steriler Kulturlösung gleicher Zusammensetzung (vgl. II b) gefüllt war, übertragen. Die Kulturen wurden zunächst unter den gleichen Bedingungen wie oben beschrieben 24 h vorfermentiert und dann mit 0,5 g Substanz (als 50-proz. Lösung in Ethanol) durch Sterilfiltration versetzt. Nach 2, 4, 6 und 8 h wurde unter sterilen Bedingungen jeweils eine 1 ml-Probe entnommen und dünnschichtchromatographisch hinsichtlich des zeitlichen Umsatzes untersucht (vgl. II d). Letzterer war in allen Fällen nach 8 h nahezu vollständig.

d) Analytik

Eine 1 ml-Probe der Kulturbrühe wurde mit 0,2 ml Ethylacetat extrahiert, ein 0,01 ml-Anteil des so erhaltenen organischen Extraktes auf eine DC-Platte (Merck HPTLC, Kieselgel 60 F₂₅₄) aufgetragen und dann chromatographiert (Laufmittel Dichlormethan/Aceton 95:5). Zur Sichtbarmachung von Substrat und reduziertem Produkt (letzteres hat stets den kleineren R_F-Wert) wurde die DC-Platte mit einer gesättigten Lösung von Pyridiniumchlorochromat in Dichlormethan gründlich besprüht, 2–3 min bei ca. 120 °C erhitzt, bei dieser Temperatur mit Anisaldehyd/Schwefelsäure-Reagenz [11] erneut besprüht und weitere 2 min bei ca. 120 °C belassen (→ intensive Rotviolett-Färbung).

e) Isolierung

Die Kulturen wurden dreimal mit Ethylacetat extrahiert, die vereinigten organischen Extrakte über Na₂SO₄ getrocknet und dann an Kieselgel chromatographiert (Kieselgel-60-Fertigsäulen, Merck; Laufmittel *n*-Hexan/Ethylacetat 8:2). – Eine dünnschichtchromatographische Reinigung ist ebenfalls möglich (DC-Fertigplatten, Kieselgel 60 F₂₅₄, Schichtdicke 2 mm, Merck; Laufmittel Dichlormethan/Aceton 9:1). Die Platten wurden an beiden Seiten perforiert und die Randstreifen wie unter II d angefärbt (längere Aufheizzeiten).

III. Mikrobiologische Umwandlung von **2b** (präparativer Ansatz)

a) Stammhaltung

Vgl. II a.

b) Vorkultur

Ein 2 l-Erlenmeyerkolben – gefüllt mit 400 ml Kulturmedium (vgl. IIb) – wurde bei 121 °C und 1 atm in strömendem Wasserdampf sterilisiert und mit 20 ml einer Übernachtskultur (vgl. IIb) beimpft. Anschließend wurde 16 h bei 27 °C im Dunkeln unter Schütteln (Rotationsschüttelmaschine; 100 U/min) inkubiert.

c) Fermentation

Ein 10 l-Fermenter (Fa. Braun, Melsungen) wurde mit 10 l Kulturmedium (vgl. IIb) versetzt und nach Sterilisation aseptisch mit der Vorkultur beimpft. Anschließend fermentierte man unter Rühren (Blattrührer; 100 U/min) 16 h bei 27 °C und einer Belüftung von 10 l Luft/min, reduzierte die Belüftung auf 2 l Luft/min, setzte unter sterilen Bedingungen 4,8 g (23,7 mmol) **2b** hinzu und fermentierte unter den zuletzt genannten Bedingungen weiter. Da nach 2 h das Substrat weitgehend umgesetzt war (DC-Kontrolle, vgl. II d), wurden nach insgesamt 3,5 h erneut 4,8 g (23,7 mmol) **2b** hinzugegeben. Nach insgesamt 8 h Kontaktzeit (vollständiger Umsatz; DC-Kontrolle) brach man die Fermentation ab. Während der gesamten Fermentationszeit wurde der pH-Wert konstant bei 5,5 gehalten (gesteuert durch Zugabe einer wässrigen 15-proz. KOH-Lösung).

d) Isolierung

Die Kulturbrühe wurde abgelassen und der Fermenter mit Ethylacetat gespült. Dann extrahierte man die Kulturbrühe dreimal mit Ethylacetat, filtrierte die vereinigten organischen Extrakte über Kieselgur und verdampfte das Lösungsmittel im Rotationsverdampfer. Der Rückstand wurde in etwas Dichlormethan aufgenommen und durch einfache Säulenchromatographie grob gereinigt (100 g Kieselgel 60, Korngröße 0,063–0,200 mm, Merck; Elutionsmittel Dichlormethan). Nach Verdampfen des Dichlormethans wurde i. Vak. über eine Vigreux-Kolonnen fraktionierend destilliert. Ausbeute 8,7 g (91%) einer farblosen, ¹H-NMR-spektroskopisch weitgehend einheitlichen Flüssigkeit vom Sdp. 84 °C/2 Torr. Für analytische Zwecke wurde eine kleine Probe durch zusätzliche Dünnschichtchromatographie (vgl. II e) und nachfolgende Destillation im Kugelrohrverdampfer gereinigt.

IV. Charakterisierung und Strukturaufklärung von **3a**, **3b**, **4a** und **4b**

¹H- (400,1 MHz) und ¹³C-NMR-Spektren (100,6 MHz): Bruker-WM-400-Gerät. – IR-Spektren: IR-Spectral-Photometer 297 der Fa. Perkin-Elmer. – Massenspektren (70 eV): MS-902S-Gerät der Fa. AEI. – Optische Drehungen: Perkin-Elmer-Polarimeter 241.

(+)-3(*S*)-Hydroxybutansäure-neopentylester (**3a**): ¹H-NMR: vgl. Tab. I. – ¹³C-NMR: vgl. Tab. II. – IR (CHCl₃): 3520 (O–H), 1720 (C=O) cm⁻¹. – MS-Hochauflösung: relative Molmasse für M⁺ – CH₃ 159,1013 (ber. für C₈H₁₅O₃ 159,1021). – Spezifische Drehungen: vgl. Tab. III.

(+)-3(*S*)-Hydroxybutansäure-(trimethylsilylmethyl)ester (**3b**): ¹H-NMR: vgl. Tab. I. – ¹³C-NMR: vgl. Tab. II. – IR (CHCl₃): 3520 (O–H), 1715 (C=O) cm⁻¹. – MS-Hochauflösung: relative Molmasse für M⁺ – CH₃ 175,0796 (ber. für C₇H₁₅O₃Si 175,0790). – Spezifische Drehungen: vgl. Tab. III.

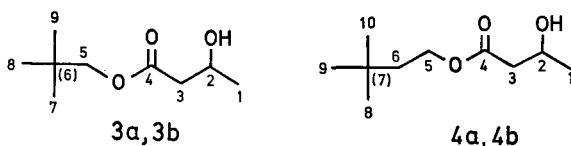
(+)-3(*S*)-Hydroxybutansäure-(3,3-dimethylbutyl)ester (**4a**): ¹H-NMR: vgl. Tab. I. – ¹³C-NMR: vgl. Tab. II. – IR (CHCl₃): 3520 (O–H), 1715 (C=O) cm⁻¹. – MS-Hochauflösung: relative Molmasse für M⁺ – CH₃ 173,1187 (ber. für C₉H₁₇O₃ 173,1178). – Spezifische Drehungen: vgl. Tab. III.

Tab. II. ¹³C-NMR-spektroskopische Daten^a von **3a**, **3b**, **4a** und **4b**.

C-Atom ^b	3a	3b	4a	4b
C-1	22,5(q)	22,4(q)	22,4(q)	22,5(q)
C-2	64,3(d)	64,3(d)	64,4(d)	64,3(d)
C-3	42,9(t)	42,8(t)	42,9(t)	43,0(t)
C-4	173,0(s)	173,4(s)	172,9(s)	173,0(s)
C-5	74,0(t)	58,0(t)	62,3(t)	62,9(t)
C-6	31,3(s)	–	41,8(t)	17,4(t)
C-7	26,5(q)	–3,1(q)	29,6(s)	–
C-8	26,5(q)	–3,1(q)	29,5(q)	–1,5(q)
C-9	26,5(q)	–3,1(q)	29,5(q)	–1,5(q)
C-10	–	–	29,5(q)	–1,5(q)

^a Lösungsmittel und interner Standard CDCl₃ (δ = 77,05); angegeben sind die chemischen Verschiebungen (δ-Werte) und Multiplizitäten (in Klammern);

^b Numerierung der C-Atome:

Tab. III. Spezifische Drehungen^a von **3a**, **3b**, **4a** und **4b**.

Nr.	[α] _D ²⁵ ₉₉	[α] _D ²⁵ ₇₈	[α] _D ²⁵ ₄₆	[α] _D ²⁵ ₃₆	[α] _D ²⁵ ₃₅	c ^b
3a	+ 26	+ 27	+ 31	+ 51	+ 79	1,0
3b	+ 23	+ 24	+ 27	+ 46	+ 69	1,0
4a	+ 27	+ 28	+ 32	+ 53	+ 80	0,95
4b	+ 24	+ 25	+ 28	+ 47	+ 72	1,0

^a Gemessen in Chloroform. Die angegebenen Werte beziehen sich auf die mit den (–)-(R)-Enantiomeren verunreinigten Produkte;

^b Konzentration c (g Substanz in 100 cm³ Lösung).

(+)-3(*S*)-Hydroxybutansäure-(2-trimethylsilyl-ethyl)ester (**4b**): $^1\text{H-NMR}$: vgl. Tab. I. – $^{13}\text{C-NMR}$: vgl. Tab. II. – IR (CHCl_3): 3520 (O–H), 1715 (C=O) cm^{-1} . – MS-Hochauflösung: relative Molmasse für $\text{M}^+ - \text{CH}_3$ 189,0940 (ber. für $\text{C}_8\text{H}_{17}\text{O}_3\text{Si}$ 189,0947). – Spezifische Drehungen: vgl. Tab. III.

$\text{C}_9\text{H}_{20}\text{O}_3\text{Si}$ (204,3)

Ber. C 52,90 H 9,86,

Gef. C 52,9 H 9,8.

V. Chemische Reduktion von **2b**;

Darstellung von rac-3-Hydroxybutansäure-(2-trimethylsilyl)ethyl)ester (**5**)

Eine Lösung von 1,01 g (5 mmol) **2b** in 10 ml abs. Methanol wurde bei Raumtemperatur unter Rühren mit 375 mg (6 mmol) Natriumcyanoboranat und einigen Körnchen Methylorange versetzt, wobei so-

fort Gelbfärbung auftrat. Durch kontinuierliches Zutropfen einer 4 N methanolischen HCl-Lösung versuchte man, eine schwache Rotfärbung des Reaktionsgemisches einzustellen. Nach etwa 10 min war der schnelle Farbwechsel beendet (anhaltende Rotfärbung). Man rührte weitere 90 min bei Raumtemperatur, verdampfte das Lösungsmittel im Rotationsverdampfer, versetzte mit 100 ml Wasser und extrahierte dreimal mit Dichlormethan. Die vereinigten organischen Extrakte wurden über Na_2SO_4 getrocknet und vom Lösungsmittel befreit. Die Vakuumdestillation des Rückstandes im Kugelrohrverdampfer (2 Torr/84 °C) lieferte 980 mg (96% Ausb.) einer farblosen Flüssigkeit, deren ^1H - und $^{13}\text{C-NMR}$ - sowie IR-Spektrum sich als identisch mit denen von **4b** erwiesen.

Unser Dank gilt dem Fonds der Chemischen Industrie für die Unterstützung mit Sachmitteln.

-
- [1] R. Tacke, Habilitationsschrift: Bioisostere Beziehungen zwischen strukturanalogen Verbindungen des Kohlenstoffs und Siliciums, Technische Universität Braunschweig 1980.
- [2] R. Tacke, M. Strecker und R. Niedner, *Liebigs Ann. Chem.* **1981**, 387.
- [3] R. Tacke, A. Bentlage, R. Towart, H. Meyer, F. Bossert, W. Vater und K. Stoepel, *Z. Naturforsch.* **35b**, 494 (1980).
- [4] R. Tacke, A. Bentlage, R. Towart und E. Möller, *Eur. J. Med. Chem.*, im Druck.
- [5] Schering AG (Erf. K. Kieslich und U. Eder), D.B.P. 2 832 602 (2. 8. 1979) [*C. A.* **91**, P 209380 x (1979)].
- [6] S.-F. Lee, G. Barth, K. Kieslich und C. Djerassi, *J. Am. Chem. Soc.* **100**, 3965 (1978).
- [7] B. Stumpf, R. Tacke, H. Lange und H. Zilch, unveröffentlichte Ergebnisse.
- [8] B. S. Deol, D. D. Ridley und G. W. Simpson, *Aust. J. Chem.* **29**, 2459 (1976).
- [9] B. Seuring und D. Seebach, *Helv. Chim. Acta* **60**, 1175 (1977); E. Hungerbühler, D. Seebach und D. Wasmuth, *Helv. Chim. Acta* **64**, 1467 (1981).
- [10] R. Tacke, H. Linoh und H. Zilch, unveröffentlichte Ergebnisse.
- [11] D. Waldi in: *Thin-Layer Chromatography, A Laboratory Handbook* (Herausg. E. Stahl), S. 485, Springer-Verlag, Berlin/Heidelberg/New York 1965.