

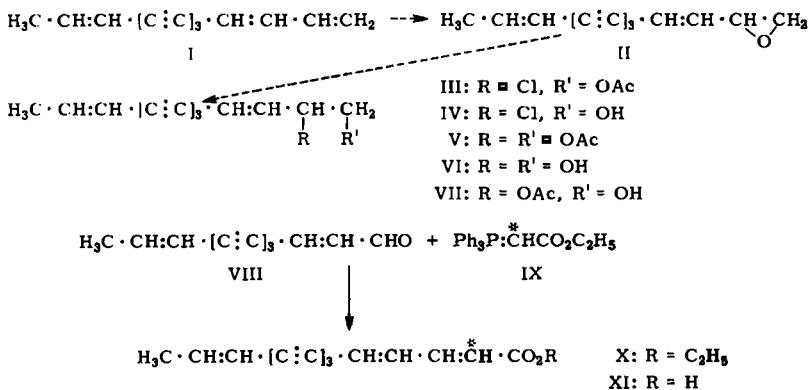
FERDINAND BOHLMANN und ULRICH HINZ

Polyacetylenverbindungen, LI¹⁾**Biogenetische Beziehungen
zwischen natürlich vorkommenden Polyinen**

Aus dem Organisch-Chemischen Institut der Technischen Universität Berlin-Charlottenburg
(Eingegangen am 29. Juli 1963)

Durch Verfütterung des radioaktiv markierten Polyins I wird eine bereits vermutete Biogenesekette für *Centaurea ruthenica* LAM. bewiesen. Die isolierten disubstituierten En-triin-ene werden demnach aus dem Tridecatrien-(1.3.11)-triin-(5.7.9) über das 1.2-Epoxyd gebildet.

Ein Vergleich der natürlichen Acetylenverbindungen läßt in vielen Fällen enge biogenetische Beziehungen vermuten²⁾. Besonders häufig findet man neben Polyinen entsprechende Substanzen mit einer Epoxydgruppierung und offensichtliche Folgeprodukte. In den Wurzeln und oberirdischen Teilen von *Centaurea ruthenica* LAM.³⁾ liegen z. B. die Verbindungen I und II in sehr geringer Konzentration vor, während III–VI die Hauptpolyine darstellen; daneben findet man die analogen Tetrainderivate²⁾.



Durch Verfütterung radioaktiv markierter Polyine sollte diese Biogenesekette beweisbar sein. Das Problem schien zunächst die Unlöslichkeit der Polyine in der wäßr. Nährlösung der Pflanzen zu sein. Da I evtl. durch Decarboxylierung der Säure XI in der Pflanze gebildet wird, haben wir zunächst [¹⁴C]-XI synthetisiert. Ein geeigneter Weg ist die WITTIG-Reaktion von Dodecadien-(2.10)-triin-(4.6.8)-al-(1) (VIII) mit dem Ylen IX, die in glatter Reaktion den Ester X gibt.

1) L. MITTEL.: F. BOHLMANN, CH. ARNDT und J. STARNICK, *Tetrahedron Letters* [London] **1963**, 1605.

2) F. BOHLMANN, H. BORNOWSKI und CH. ARNDT, *Fortschr. chem. Forsch.* **4**, 138 [1963].

3) F. BOHLMANN, S. POSTULKA und J. RUHNKE, *Chem. Ber.* **91**, 1642 [1958]; F. BOHLMANN, W. SUCROW, H. JASTROW und H.-J. KOCH, *ebenda* **94**, 3179 [1961].

Die Verseifung des Esters X bereitet Schwierigkeiten. Nur bei genauer Einhaltung bestimmter Reaktionsbedingungen läßt sich die freie, ziemlich instabile Säure in befriedigender Ausbeute isolieren. Der entsprechende Methylester ist bereits zu schwer verseifbar.

Die Verfütterung von XI als Kaliumsalz an *Centaurea ruthenica* LAM. in wäßr. Lösung zeigt, daß die Verbindung rasch aufgenommen wird. Nach 24 Std. werden die Wurzeln extrahiert und der Extrakt chromatographisch aufgetrennt. Das Chloracetat III ist radioaktiv. Zur Prüfung der Aktivitätsverteilung wird III in das Epoxyd II übergeführt und dieses nach Öffnung zum Diol VI mit Perjodat gespalten. Die Aktivität befindet sich sowohl im erhaltenen Aldehyd VIII als auch im Formaldehyd, der als Dimedonderivat isoliert wird.

Daraus ergibt sich, daß XI in der Pflanze offenbar sehr rasch abgebaut wird und die entstehenden Essigsäureeinheiten zum Aufbau des Chloracetats III benutzt werden, so daß eine Verteilung der Aktivität erfolgt. Die Decarboxylierung von XI zu I scheint kein Biogeneseschritt zu sein.

Wie durch orientierende Versuche gezeigt werden kann, nehmen die Pflanzen auch wasserunlösliche Polyine aus wäßr. Emulsionen auf. Damit hat man die Möglichkeit, radioaktiv markiertes I direkt zu verwenden. Der sehr instabile Kohlenwasserstoff muß in einem für die Pflanze verträglichen Öl, z. B. Baumwollsaatöl, gelöst und gegen Oxydation mit Tocopherolacetat geschützt werden.

Die Synthese des markierten Kohlenwasserstoffs I gelingt glatt durch Umsetzung von VIII mit [^{14}C]-Methylmagnesiumjodid und nachfolgende Wasserabspaltung. In die Emulsion der öligen Lösung von [^{1-14}C]-I in Wasser (Zusatz eines Emulgators) bringt man die oberirdischen Teile von *Centaurea ruthenica* LAM. ein. Nach 40 Std. werden die Pflanzenteile extrahiert. Ca. 30% der angebotenen Aktivität werden im Extrakt wiedergefunden. Nach chromatographischer Auftrennung zeigt sich, daß die Hauptaktivität im nicht umgewandelten I zu finden ist, aber III und IV sind ebenfalls aktiv. Diese werden vereinigt und durch Alkalibehandlung in II übergeführt, das chromatographisch gereinigt und zum Diol VI geöffnet wird. Nach Spaltung mit Perjodat zeigt der gebildete Aldehyd VIII praktisch keine Aktivität, während der als Dimedonderivat isolierte Formaldehyd etwa die gleiche spezifische Aktivität (93 300 ipm/mMol) aufweist, wie das in den Abbau eingesetzte Epoxyd II (90 500 ipm/mMol).

Damit dürfte der vermutete Biosyntheseweg von I über II zu III—VII sichergestellt sein. Weitere Untersuchungen mit markierten Substanzen müssen zeigen, wie weit dieses Schema auf andere Pflanzen übertragbar ist.

Der DEUTSCHEN FORSCHUNGSGEMEINSCHAFT und dem ERP-SONDERVERMÖGEN danken wir für die Förderung der vorliegenden Arbeit.

BESCHREIBUNG DER VERSUCHE

Die UV-Spektren wurden in Äther mit dem Beckman DK 1, die IR-Spektren in Tetrachlorkohlenstoff mit dem Beckman IR4 gemessen. Für die Bestimmung der spezif. Aktivitäten verbrannte man die Substanzen im Rohr unter Zusatz von Kaliumchlorat und Kupferoxyd und führte die Impulsmessung im Gaszählrohr mit einem Gerät der Firma Prof. Berthold durch. Herrn BIESSALSKI danken wir für die Ausführung dieser Messungen.

Phosphoniumsalz des [2-¹⁴C]-Bromessigsäure-äthylesters: Zu 700 mg [2-¹⁴C]-Bromessigsäure (dargestellt aus [2-¹⁴C]-Natriumacetat in Eisessig mit Brom und rotem Phosphor) in 25 ccm absol. Äther tropft man unter Eiskühlung 10 ccm einer gesätt. Diazoäthan-Lösung. Nach 15 Min. Rühren wird das überschüss. Diazoäthan mit weiteren 30 mg [2-¹⁴C]-Bromessigsäure zerstört. Anschließend tropft man bei Raumtemperatur 3.2 g Triphenylphosphin in 40 ccm absol. Äther zu und filtriert nach 3 Tagen das ausgefallene Phosphoniumsalz ab.

[¹⁴C]-Ester X: 860 mg des vorstehenden Phosphoniumsalzes werden in 50 ccm Äther suspendiert und mit 4.6 ccm 0.5 n Natriummethylat-Lösung versetzt. Nach 20 Min. Rühren gibt man 300 mg Aldehyd VIII in 30 ccm Äther hinzu, rührt 5 Stdn. bei Raumtemperatur, versetzt mit verd. Schwefelsäure, nimmt in Äther auf und chromatographiert den nach Neutralwaschen und Eindampfen verbleibenden Rückstand an SiO₂. Man erhält gelbe Kristalle vom Schmp. 105° (aus Äther/Petroläther); Ausb. 60% d. Th. UV-Spektrum: λ_{max} 378, 351, 327.5, 298, 283.5 mμ (ε 26900, 33500, 25000, 54500, 59700), IR-Spektrum: —C≡C— 2200, 2160; —CO₂R 1710; —CH=CH— 1620/cm.

C₁₆H₁₄O₂ (238.3) Ber. C 80.65 H 5.92 Gef. C 80.78 H 6.17

Verseifung von X zur Säure XI: 10 mg X werden in 10 ccm Dioxan gelöst und mit 10 ccm 5-proz. wäbr. Kaliumhydroxyd 12 Stdn. unter Stickstoff gerührt. Die nach dem Ansäuern ausgefallene Säure nimmt man in Äther auf; sie ist für die Verfütterung genügend rein.

Fütterung von *Centaurea ruthenica* LAM. mit dem Kaliumsalz von XI: 100 mg XI wurden in das Kaliumsalz übergeführt (Aktivität 1.4 · 10⁷ ipm) und in 100 ccm Wasser gelöst. In diese Lösung brachte man ca. 100 g junge Pflanzen von *Centaurea ruthenica* LAM. und extrahierte nach 24 Stdn. die Wurzeln 2mal mit Äther/Petroläther (1:1). Der Extrakt wurde an SiO₂ chromatographiert und das erhaltene Chloracetat III nach Verdünnen mit inaktivem III durch Kristallisation gereinigt (Aktivität 21 100 ipm/mMol). Der durch Perjodat-Abbau (s. unten) erhaltene Aldehyd VIII zeigte 18000 ipm/mMol, der abgespaltene Formaldehyd 2170 ipm/mMol.

[1-¹⁴C]-Tridecatrien-(1.3.11)-triin-(5.7.9) ([1-¹⁴C]-I): 1 mMol [1-¹⁴C]-Methyljodid (0.2 mC) wird in die Grignard-Verbindung übergeführt und in Äther mit 1.1 mMol VIII zum Carbinol umgesetzt. Nach chromatographischer Reinigung und Erhitzen in Benzol mit p-Toluolsulfonsäure wird der erhaltene Kohlenwasserstoff I an SiO₂ chromatographiert und aus Petroläther umkristallisiert; Aktivität 2.9 · 10⁷ ipm. Die Substanz war in allen Eigenschaften mit dem bekannten inaktiven Kohlenwasserstoff I identisch.

Verfütterung von [1-¹⁴C]-I und Abbau zu VIII und Formaldehyd: 500 g oberirdische Teile von *Centaurea ruthenica* LAM. wurden 40 Stdn. in einer Emulsion von 50 mg [1-¹⁴C]-I in 0.5 g Baumwollsaatöl (ca. 10 mg α-Tocopherolacetat enthaltend) und 500 ccm Wasser belassen (als Emulgator wurde ein gemischter Fettsäureester der Saccharose verwandt). Anschließend zerkleinerte man die Pflanzenteile und extrahierte 2mal mit Äther/Petroläther (1:1). Der Extrakt enthielt insgesamt 9.4 · 10⁶ ipm (30% der angebotenen Menge). Bei der Chromatographie an SiO₂ eluierte man mit Petroläther 13.6 mg I mit 6.44 · 10⁶ ipm. Das Chloracetat III und Chlorhydrin IV wurden vereinigt, in 10 ccm Methanol 15 Min. mit 5 ccm 1 n KOH geschüttelt und das gebildete Epoxyd II an SiO₂ chromatographiert; Aktivität 90 500 ipm/mMol.

II löste man in 10 ccm Dioxan und erwärmte mit 5 ccm 1 n H₂SO₄ 1 1/2 Stdn. auf 70°. Das erhaltene Diol VI löste man in 3 ccm Äther, rührte 2 Stdn. mit 5 ccm 5-proz. Perjodsäure-Lösung, versetzte mit 10 ccm Petroläther und schüttelte den gebildeten Formaldehyd 3 mal mit je 5 ccm Wasser aus. Aus der wäbr. Phase destillierte man den Formaldehyd in eine Dimedonlösung. Das Dimedonderivat ergab 93 300 ipm/mMol. Die Petrolätherphase wurde chromatographiert. Der erhaltene Aldehyd VIII zeigte praktisch keine Aktivität.