

FERDINAND BOHLMANN und ULRICH HINZ

Polyacetylenverbindungen, LXXII¹⁾

Über biogenetische Umwandlungen des Tridecen-pentains

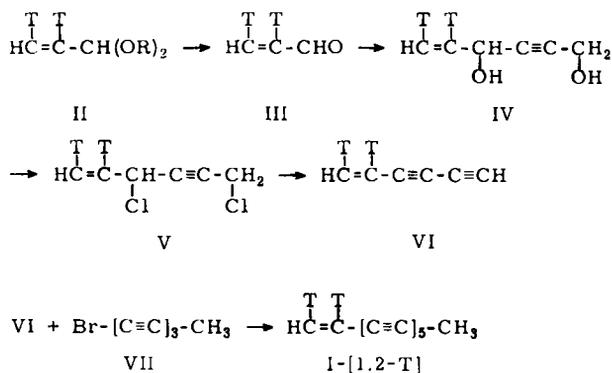
Aus dem Organisch-Chemischen Institut der Technischen Universität
Berlin-Charlottenburg

(Eingegangen am 16. September 1964)

Durch Untersuchungen mit markiertem Pentain-en I kann gezeigt werden, daß dieser bei den Compositen sehr weit verbreitete Kohlenwasserstoff eine Vorstufe für viele andere natürlich vorkommende Verbindungen darstellt. Weitere Biogeneseschritte werden untersucht.

Das Pentain-en I ist in der Familie *Compositae* sehr weit verbreitet. In 10 von 12 Tribus ist dieser Kohlenwasserstoff zu finden²⁾. Daneben isoliert man häufig Substanzen, die offensichtlich in enger biogenetischer Beziehung zu diesem Kohlenwasserstoff stehen.

Um diese möglichen Übergänge zu beweisen, haben wir mit Tritium markiertes I aufgebaut. Ausgehend von Propargylaldehydacetal, erhält man durch katalytische Tritierung das [2.3-³H₂]Acroleinacetal II. Nach Spaltung zum Aldehyd setzt man mit der Grignard-Verbindung des Acetaldehyd-äthyl-propinyl-acetals um und erhält nach Hydrolyse und Umsetzung mit Thionylchlorid in Pyridin das Dichlorid V. Die doppelte Salzsäure-Abspaltung mit Natriumamid in flüssigem Ammoniak liefert das an der Doppelbindung mit Tritium markierte Hexen-(1)-diin-(3.5) (VI). Durch Kupplung mit 1-Brom-heptatriin-(1.3.5) (VII) erhält man das markierte Pentain-en I-[1.2-T].

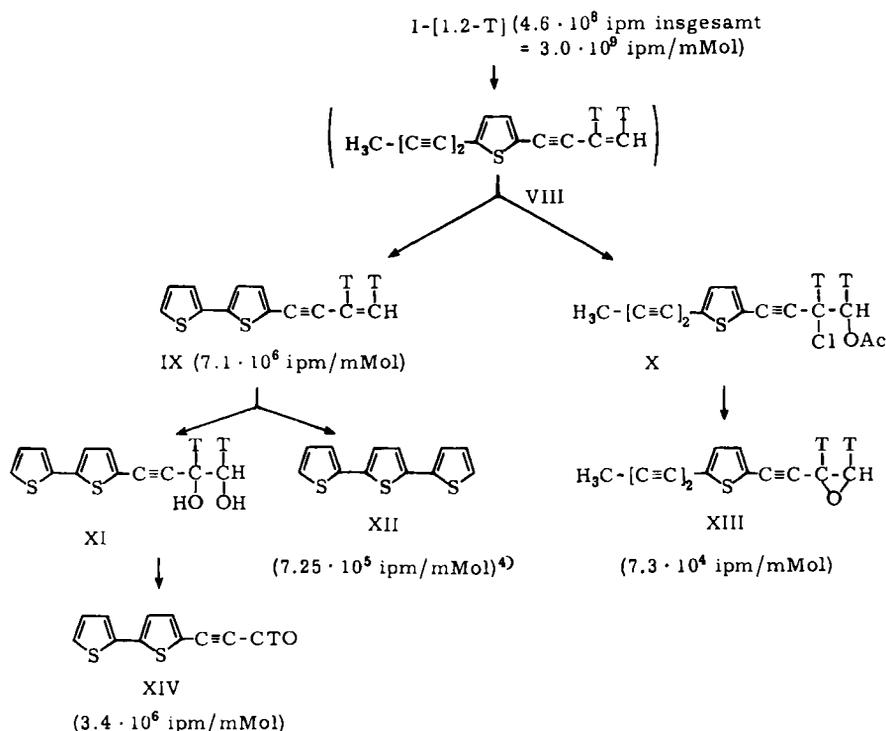


Der äußerst instabile, chromatographisch gereinigte Kohlenwasserstoff wird sofort für die Fütterungen eingesetzt. Dazu wird er in Baumwollsaatöl gelöst und mit Hilfe

1) LXXI. Mitteil.: F. BOHLMANN und K.-M. KLEINE, Chem. Ber. 98, 872 [1965], vorstehend.

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

eines Emulgators in Wasser emulgiert. Wie in Vorversuchen geklärt wurde, beträgt die Halbwertszeit von I unter diesen Bedingungen ca. 8–10 Stdn.; somit bestand die Hoffnung, daß die nötigen Substanzmengen von den Pflanzen aufgenommen werden können. Für den ersten Versuch haben wir *Echinops sphaerocephalus* L. ausgewählt, obwohl diese Pflanze kein Pentain-en enthält, dafür aber zahlreiche, offensichtlich biogenetisch eng verwandte Acetylenverbindungen³⁾. Nach 12stdg. Fütterung findet man bei den intakten Pflanzen eine Aktivität von $3.0 \cdot 10^7$ ipm in den mit Äther extrahierbaren Anteilen. Nach sorgfältiger chromatographischer Auftrennung des Extraktes haben wir die Verbindungen IX, X, XI und XII isoliert, wobei jedoch X sofort in das Epoxyd XIII übergeführt und XI mit Perjodsäure gespalten wurde, um völlig reine Präparate in die Aktivitätsmessungen einsetzen zu können. Die gefundenen Aktivitäten für die einzelnen Verbindungen ergeben das folgende Biogeneseschema:

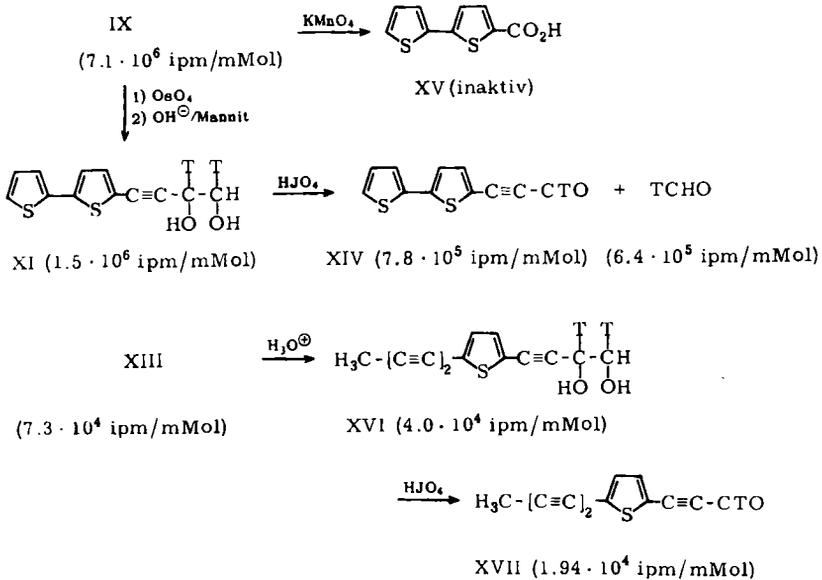


Um sicherzustellen, daß die gefundenen Aktivitäten nicht auf die ganzen Moleküle verteilt sind, haben wir IX und XIII abgebaut. Durch Permanganatoxydation erhält man aus IX die Bithienyl-(2.2')-carbonsäure-(5) (XV), die — wie zu erwarten — inaktiv ist. Die Hydroxylierung von IX mit Osmiumtetroxyd liefert das Diol XI, das im IR-Spektrum nicht von dem natürlichen Diol zu unterscheiden ist. Bei der Spaltung des primären Komplexes mit alkalischer Mannit-Lösung erfolgt jedoch ein teilweiser

³⁾ F. BOHLMANN, C. ARNDT, K.-M. KLEINE und H. BORNOWSKI, Chem. Ber. **98**, 155 [1965].

⁴⁾ Unsicher, da Spuren von I nicht völlig auszuschließen sind.

Austausch von Tritium gegen Wasserstoff, wie durch eine nochmalige Behandlung des Diols mit alkalischer Mannit-Lösung gezeigt wird. Die Perjodat-Spaltung von XI ergibt den Aldehyd XIV und Formaldehyd, der als Dinitrophenylhydrazon isoliert wird. Die in den beiden Teilstücken gefundenen Aktivitäten sind praktisch gleich. Die etwas geringeren Werte für Formaldehyd-dinitrophenylhydrazon sind zweifellos auf teilweisen Austausch zurückzuführen. Wenn man den Formaldehyd durch Wasserdampfdestillation isoliert, erhält man ein praktisch inaktives Derivat. Das Epoxyd XIII ergibt nach Hydrolyse das Diol XVI, und die Perjodat-Spaltung liefert den Aldehyd XVII, der die erwartete Aktivität aufweist. Die Ergebnisse sind im folgenden Schema wiedergegeben:



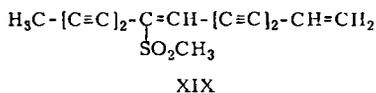
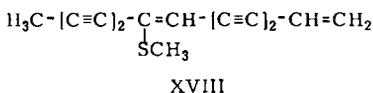
Damit dürfte sichergestellt sein, daß das Pentain-en I die direkte Vorstufe für die Biogenese der Thiophenderivate aus *Echinops sphaerocephalus* L.³⁾ darstellt. Bemerkenswert ist die rasche Umwandlung von I in IX, die zweifellos über die Verbindung VIII verlaufen muß, deren Folgeprodukte (z. B. X) aber eine sehr viel geringere spezif. Aktivität aufweisen. Selbst das Terthienyl (XII), dessen Bildung neben einer nochmaligen H₂S-Addition eine Dehydrierung erfordert, weist eine höhere spezif. Aktivität auf als X.

Leider war es nicht möglich, VIII oder seine zahlreichen sauerstoffhaltigen Derivate in reiner Form zu isolieren; denn wahrscheinlich sind einige Derivate sehr viel stärker aktiv, wenn man die Gesamtaktivität des Ätherextraktes berücksichtigt.

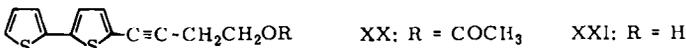
Eine weitere, naheliegende biogenetische Beziehung zu I ist bei dem Thioäther XVIIII zu vermuten⁵⁾. Zur Bestätigung haben wir das markierte Pentain-en (I) an *Flaveria repanda* Lag. verfüttert. Um sicherzustellen, daß dem isolierten Thioäther keine Spur

5) F. BOHLMANN und K.-M. KLEINE, Chem. Ber. 96, 1229 [1963].

von I beigemischt ist, führt man diesen mit Persäure in das Sulfon über, das leicht chromatographisch abgetrennt werden kann. Das so erhaltene Sulfon XIX weist eine Aktivität von $2.8 \cdot 10^5$ ipm/mMol auf. Somit dürfte der Übergang von I in XIX sichergestellt sein.

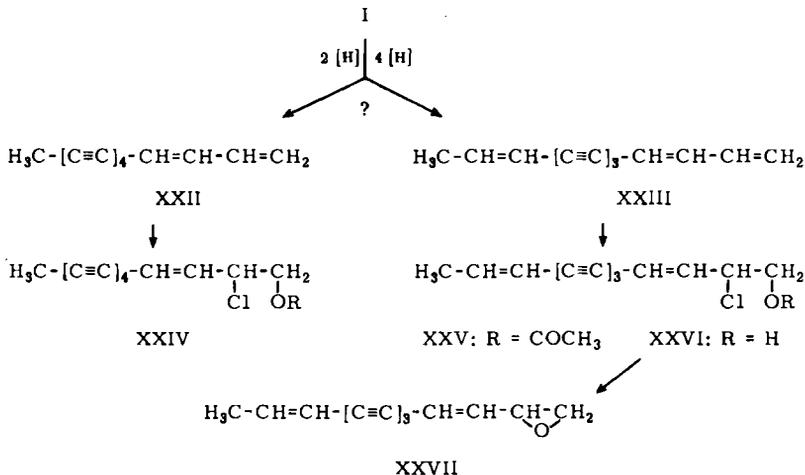


Die Isolierung des relativ stark aktiven Dithienylderivates IX erlaubt die Untersuchung einer weiteren Frage. Neben IX findet man z. B. bei *Tagetes*-Arten das Acetat XX. Dieses könnte entweder durch Essigsäureabspaltung in IX übergehen oder IX durch Anlagerung von Essigsäure oder von Wasser über den Alkohol in XX. Die Verfütterung von markiertem IX liefert nach Isolierung und Trennung der Inhaltsstoffe markiertes Acetat XX, das nach Verseifung als Alkohol XXI gereinigt wird. Die gefundene molare Aktivität für XXI beträgt etwa 1.5% von der des eingesetzten Dithienylderivates IX, so daß der biogenetische Übergang von IX in XX gesichert sein dürfte.



Analoge Paare wie IX und XX bzw. XXI sind sehr häufig bei natürlichen Acetylenverbindungen anzutreffen, und es ist wahrscheinlich, daß allgemein Additionen zur Bildung der Acetate bzw. Alkohole führen. Jedenfalls sind schon jetzt viele Untersuchungen einwandfrei in der Richtung zu deuten, daß die Polyin-en-Kohlenwasserstoffe die Ausgangssubstanzen für die polareren Verbindungen in der Pflanzenzelle sind.

Neben dem Pentain-en I findet man häufig wasserstoffreichere Kohlenwasserstoffe bzw. deren Umwandlungsprodukte. Es wäre denkbar, daß z. B. die Verbindungen XXII und XXIII durch biologische Hydrierung des weitverbreiteten Pentain-ens I



gebildet werden. Zur Überprüfung dieser Frage haben wir markiertes I an *Centaurea ruthenica* Lam. verfüttert, da wir hier bereits sichergestellt haben, daß die sauerstoffhaltigen Derivate XXIV und XXV aus den Kohlenwasserstoffen XXII bzw. XXIII entstehen⁶⁾.

Obwohl I gut aufgenommen wird, findet man in XXV und XXVI praktisch keine Aktivität. Die zunächst nach Chromatographie erhaltenen rohen Fraktionen von XXV und XXVI sind noch aktiv. Nach Überführung von XXVI in das Epoxyd XXVII und des Acetats XXV durch Umesterung in XXVI erhält man jedoch völlig reine Präparate, die praktisch inaktiv sind. Damit ist es sehr unwahrscheinlich, daß die biologische Hydrierung von Dreifachbindungen eine wesentliche Rolle bei der Bildung der wasserstoffreicheren Polyine spielt. Jedoch werden wir diese Frage noch an anderen Beispielen untersuchen.

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

BESCHREIBUNG DER VERSUCHE

Die UV-Spektren wurden in Äther im Beckman DK 1 und die IR-Spektren im Beckman IR 4 in CCl₄ aufgenommen. Die Aktivitätsmessungen wurden von Herrn G. BIESSALSKI nach der Methode von H. SIMON und Mitarbb.⁷⁾ im Gaszählrohr mit einem Gerät der Firma Prof. BERTHOLD ausgeführt. Für die Chromatographien verwandte man Al₂O₃ (schwach sauer, Akt.-St. II). Die aktiven Substanzen wurden, in Baumwollsaatöl gelöst, stets unter Zusatz eines Emulgators in der nötigen Menge Wasser emulgiert (vgl. I. c.⁶⁾). Die entsprechenden Pflanzen wurden jeweils etwa 12 Stdn. in die Emulsionen eingestellt, anschließend zerkleinert und mit Äther zweimal extrahiert. Die Extrakte trennte man durch Chromatographie mit Petroläther (30–60°), dem steigende Mengen Äther zugesetzt wurden.

[1.2-³H₂]Hexen-(1)-in-(4)-diol-(3.6) (IV)⁸⁾: 82 mg Propargylaldehyd-diäthylacetal setzte man in Gegenwart von 30 mg LINDLAR-Katalysator in einer geschlossenen Apparatur mit Tritium um. Nach Aufnahme der ber. Menge wurde vom Katalysator abfiltriert, nach Zusatz von 1.0 g inaktivem II eingedampft und der Rückstand i. Vak. bei 95 Torr destilliert. Das Destillat spülte man mit weiteren 1.5 g inaktivem II in ein Kölbchen mit 2 ccm 2*n* H₂SO₄. Nach 10 Min. Rühren bei 20° versetzte man mit 4 ccm inaktivem Acrolein und destillierte azeotrop in 25 ccm Petroläther (30–35°) ein. Dieses wurde nach Zusatz von weiteren 4 ccm Acrolein wiederholt. Die getrocknete Petrolätherlösung tropfte man zu einer Grignard-Lösung von 0.2 Mol Acetaldehyd-äthyl-[propin-(2)-yl]-acetal in 100 ccm THF. Anschließend erwärmte man 15 Min. auf 50°, zersetzte nach dem Erkalten mit Ammoniumchlorid-Lösung und nahm in Äther auf. Der Eindampfrückstand wurde i. Vak. destilliert, Sdp._{0.05} 100°, Ausb. 20.4 g. Das erhaltene Acetal wurde in 20 ccm Methanol mit 30 ccm 2*n* H₂SO₄ 16 Stdn. bei 20° gerührt. Die klare Lösung extrahierte man mit Äther und destillierte den Eindampfrückstand i. Vak., Sdp._{0.05} 110°, Ausb. 11.4 g (92%) IV. Die Aktivität betrug 8.27 · 10⁹ ipm/mMol.

6) F. BOHLMANN und U. HINZ, Chem. Ber. 97, 520 [1964]; F. BOHLMANN, U. HINZ, A. SEYBERLICH und J. REPLINGER, ebenda 97, 809 [1964].

7) H. SIMON, H. DANIEL und J. F. KLEBE, Angew. Chem. 71, 303 [1959].

8) Experimentell ausgearbeitet von M. WOTSCHOKOWSKY.

[1.2-³H₂]Hexen-(1)-diin-(3.5) (VI): 11.4 g IV in 16.2 g Pyridin versetzte man unter Rühren bei ca. 25° mit 20 ccm Thionylchlorid. Anschließend erwärmte man 30 Min. auf 40°, zersetzte mit Eis, nahm in Äther auf und destillierte den Eindampfrückstand i. Vak., Sdp.₁₂ 95–100°, Ausb. 8.8 g (58%) V; Aktivität: 8.23 · 10⁹ ipm/mMol. Zu einer Lösung von Natriumamid (aus 1.5 g Natrium) in flüss. Ammoniak gab man 2.04 g V (0.44 g aktives V und 1.6 g inaktives) in 5 ccm Äther. Nach 20 Min. Rühren wurde zersetzt und mit Äther mehrfach ausgerührt. Nach Verdampfen des Äthers über eine Vigreux-Kolonne wurde der Rückstand i. Vak. in eine Kühlfalle destilliert. Ausb. nach UV-Extinktion 820 mg VI (79%).

[1.2-³H₂]Tridecen-(1)-pentaïn-(3.5.7.9.11) (I-[1.2-T]): 650 mg Heptatriin-(1.3.5) wurden in 20 ccm Äther mit einer Lösung von 1.2 ccm Brom in 20 ccm 10-proz. Kalilauge 1 Stde. geschüttelt. Nach Verdampfen des Äthers nahm man das kristalline I-Brom-heptatriin-(1.3.5) (VII) in 5 ccm Methanol auf. Ausb. nach UV-Messung 77%.

250 mg VII in 10 ccm Methanol tropfte man bei 26–28° zu 120 mg VI in 10 ccm Äther und 15 ccm Methanol, dem 2 ccm 50-proz. Äthylamin-Lösung, 50 mg Kupfer(I)-chlorid und 250 mg Hydroxylaminhydrochlorid zugesetzt waren. Nach 20 Min. versetzte man mit Wasser und nahm in Äther auf. Der Eindampfrückstand wurde an Kieselgel chromatographiert. Mit Petroläther eluierte man 25 mg I-[1.2-T] (nach UV-Extinktion). Aktivität: 3.00 · 10⁹ ipm/mMol. Die Substanz wurde sofort, in Baumwollsaatöl gelöst, für eine Fütterung eingesetzt.

Fütterung von *Echinops sphaerocephalus* L.: Mehrere intakte Pflanzen wurden in eine Emulsion⁶⁾ von 25 mg I in Wasser eingestellt. Nach 12 Stdn. zerkleinerte man die Wurzeln (850 g). Der erhaltene Extrakt (Gesamtaktivität 3.0 · 10⁷ ipm) wurde, wie bereits beschrieben³⁾, chromatographisch aufgetrennt und die Substanzen IX, X, XI und XII für die Aktivitätsbestimmungen und Abbauprobversuche isoliert.

Das so gewonnene IX wurde i. Vak. destilliert, Ausb. 500 mg. Aktivität: 7.11 · 10⁶ ipm/mMol.

150 mg IX in 8 ccm Pyridin und 2 ccm Wasser rührte man mit 450 mg Kaliumpermanganat. Nach Abtrennung des Braunsteins und Ansäuern wurde ausgeäthert. Man erhielt 55 mg Bithienyl-(2.2')-carbonsäure-(5) (XV) aus Petroläther, die keine Aktivität zeigte.

150 mg IX wurden in 10 ccm Äther mit 250 mg Osmiumtetroxyd und 0.2 ccm Pyridin versetzt. Nach 2 Stdn. isolierte man 400 mg Addukt, das in Methylenchlorid mit einer 5-proz. alkalischen Mannit-Lösung 12 Stdn. geschüttelt wurde. Man erhielt 51 mg XI aus CCl₄, Schmp. 105°. UV- und IR-Spektren identisch mit denen des Naturstoffs.

C₁₂H₁₀O₂S₂ (250.3) Ber. C 57.63 H 4.00 S 25.63 Gef. C 56.93 H 4.05 S 25.46

Die Aktivität betrug 1.5 · 10⁶ ipm/mMol. Nach nochmaliger Behandlung einer Probe mit alkalischer Mannitlösung sank die Aktivität auf 0.7 · 10⁶ ipm/mMol.

Perjodat-Spaltung von XI aus IX: 50 mg XI wurden mit 50 mg inaktivem XI verdünnt und in 5 ccm Methanol mit 200 mg Natriumperjodat in 5 ccm 2n H₂SO₄ versetzt. Nach 15 Min. versetzte man mit Wasser, extrahierte mit Petroläther und chromatographierte den erhaltenen Aldehyd XIV. Der durch Kristallisation aus Petroläther gereinigte Aldehyd zeigte eine Aktivität von 3.9 · 10⁵ ipm/mMol. Aus der wäßrigen Phase erhielt man nach Zerstörung des überschüssigen Perjodats mit Natriumthiosulfat den Formaldehyd als Dinitrophenylhydrazon, Aktivität: 3.18 · 10⁵ ipm/mMol.

Perjodat-Spaltung von direkt aus der Wurzel erhaltenem XI: Das bei der Chromatographie des Wurzelextraktes angefallene rohe Diol XI wurde in Dioxan/Wasser mit Perjodsäure wie vorstehend gespalten. Der erhaltene Aldehyd XIV wurde nach Chromatographie durch Kristallisation aus Petroläther gereinigt. Aktivität: 3.4 · 10⁶ ipm/mMol.

Darstellung und Spaltung von XIII: Das nach Chromatographie des Wurzelextraktes erhaltene rohe Chloracetat X wurde in 15 ccm Methanol mit 5 ccm 5-proz. Kalilauge 20 Min.

gerührt. Nach chromatographischer Reinigung des Reaktionsproduktes erhielt man das kristalline *Epoxyd XIII*, Ausb. 50 mg, Aktivität: $7.3 \cdot 10^4$ ipm/mMol. 50 mg XIII in 10 ccm Dioxan wurden mit 5 ccm $2n$ H_2SO_4 10 Min. auf 60° erwärmt. Das erhaltene Diol *XVI* wurde mit *Perjodsäure* gespalten. Der nach Chromatographie kristallin erhaltene Aldehyd *XVII* zeigte eine Aktivität von $1.94 \cdot 10^4$ ipm/mMol. Der aus der Wasserphase durch Wasserdampfdestillation isolierte Formaldehyd war praktisch inaktiv (als Dimeronderivat isoliert).

Isolierung von XII: Die bei der Darstellung von XI aus IX anfallenden nicht umgesetzten Anteile ergaben aus Methanol 2 mg gelbe Kristalle (*XII*). Nach Sublimation i. Vak. und Umkristallisation aus Petroläther zeigte XII eine Aktivität von $7.25 \cdot 10^5$ ipm/mMol.

Fütterung von Flaveria repunda Lag.: Mehrere intakte Pflanzen wurden wie oben in eine Emulsion, die 25 mg *I-[1.2-T]* enthielt, eingestellt. Der Äther-Extrakt aus 90 g Wurzeln ergab nach Chromatographie 2 mg rohes *XVIII*, das mit 4 Äquivv. *Perphthalsäure* in Äther 30 Min. zum Sieden erhitzt wurde. Nach chromatographischer Reinigung erhielt man 0.6 mg kristallines *Sulfon XIX*, Aktivität: $2.8 \cdot 10^5$ ipm/mMol.

Fütterung von Tagetes tenuifolia Cav.: Intakte Pflanzen wurden in eine Emulsion, die 200 mg *IX* ($7.11 \cdot 10^6$ ipm/mMol) enthielt, eingestellt. Der Wurzelextrakt (300 g Wurzeln) ergab nach Chromatographie das *Acetat XX* (1.8 mg), das zum *Alkohol XXI* verseift wurde. Der kristalline Alkohol (0.8 mg) zeigte eine Aktivität von $1.1 \cdot 10^5$ ipm/mMol.

Fütterung von Centaurea ruthenica Lam.: Ca. 1.7 kg oberirdische Teile wurden in eine Emulsion, die 25 mg *I-[1.2-T]* enthielt, eingestellt. Der Extrakt ergab nach chromatographischer Auftrennung (vg. 1. c.⁶) das *Chloracetat XXV* und das *Chlorhydrin XXVI*. Zur Reinigung wurde XXV durch saure Umesterung in Methanol mit *p*-Toluolsulfonsäure in kristallisiertes XXVI übergeführt. Dieses zeigte praktisch keine Aktivität. XXVI führte man in Methanol mit wäßriger *Kalilauge* in das *Epoxyd XXVII* über. Das kristallisierte Präparat zeigte wiederum praktisch keine Aktivität: