

Ferdinand Bohlmann, Walther v. Kap-herr, Ruth Jente und Gerhard Grau

Polyacetylenverbindungen, CV¹⁾

Über die Biogenese natürlicher Acetylenverbindungen

Aus dem Organisch-Chemischen Institut der Technischen Universität Berlin

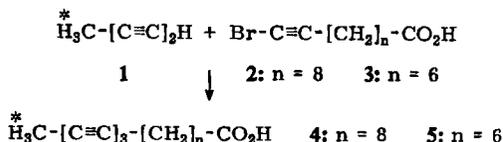
(Eingegangen am 8. Januar 1966)



Durch Verfütterung markierter Carbonsäuren werden neue Einblicke in die Biogenese der natürlich vorkommenden Acetylenverbindungen gewonnen. Es kann sichergestellt werden, daß in der Pflanze langkettige Carbonsäuren durch Dehydrierung und oxydativen Abbau in Dehydromatricariaester übergeführt werden. Die Ergebnisse machen früher diskutierte Möglichkeiten wahrscheinlich.



In der letzten Zeit haben wir zahlreiche Acetylenverbindungen isoliert und in ihrer Struktur aufgeklärt, die die Hypothese, daß die natürlichen Acetylene durch Dehydrierung und oxydativen Abbau aus Fettsäuren entstehen, durchaus interessant gemacht haben²⁾. Zunächst stellten wir zwei Triinsäuren dar, die in den Methylgruppen markiert sind. Ausgehend von [5-³H]Pentadiin (1) erhält man mit 11-Brom-undecin-(10)-säure bzw. 9-Brom-nonin-(8)-säure die Triinsäuren 4 und 5, die an *Artemisia vulgaris* L. verfüttert werden.

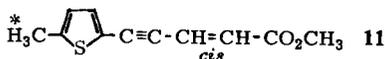
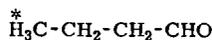
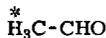
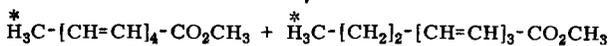
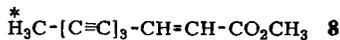
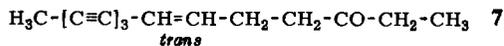


Nach den Fütterungen isoliert man aus den Extrakten die Hauptinhaltsstoffe durch Chromatographie. Während Centaur X₃ (6) und Artemisiaketon (7) nach Reinigung praktisch inaktiv sind, ist der isolierte Dehydromatricariaester (8) stark aktiv. Den bis zur konstanten spezif. Aktivität gereinigten Ester haben wir zur Lokalisierung der Aktivität definiert abgebaut. Nach partieller Hydrierung mit Lindlar-Katalysator erhält man mit Osmiumtetroxid und Perjodat als flüchtige Aldehyde neben Acetaldehyd auch Butyraldehyd, offensichtlich bedingt durch teilweise Weiterhydrierung

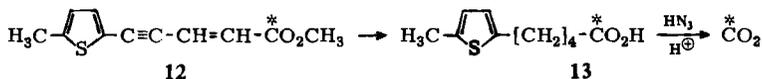
1) CIV. Mitteil.: F. Bohlmann und J. Laser, Chem. Ber. **99**, 1834 (1966).

2) F. Bohlmann und K.-M. Kleine, Chem. Ber. **99**, 590 (1966); F. Bohlmann, H. Mönch und U. Niedballa, ebenda **99**, 586 (1966); F. Bohlmann, K.-M. Kleine und H. Bornowski, ebenda **99**, 142 (1966); F. Bohlmann, K.-M. Kleine und C. Arndt, ebenda **98**, 1225 (1965); F. Bohlmann und H.-G. Kapteyn, ebenda **99**, 1830 (1966).

des Tetraen-esters. Die Aldehyde reinigt und trennt man als Dinitrophenylhydrazone. Sowohl der Acetaldehyd als auch der Butyraldehyd enthalten praktisch die gleiche spezif. Aktivität wie **8**, so daß der direkte Übergang von **4** bzw. **5** in **8** sichergestellt ist.

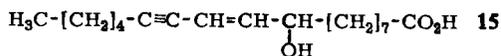
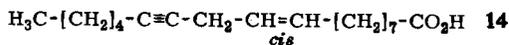


Auch der aus dem gleichen Versuch isolierte Thiophenester **11** ist aktiv. Verfüttert man [1-¹⁴C]Dehydromatricariaester an *Anthemis nobilis* L., so wird der C-1-markierte Thiophenester **12** erhalten, der über **13** und Schmidt-Abbau aktives Kohlendioxyd liefert. Damit ist nachgewiesen, daß **11** aus **8** gebildet wird.



Die erhaltenen Ergebnisse zeigen, daß langkettige Triensäuren in den Pflanzen in Dehydromatricariaester umgewandelt werden, wobei es offenbar nicht wesentlich ist, welche Kettenlänge die entsprechenden Carbonsäuren besitzen *).

Nachdem kürzlich gezeigt werden konnte³⁾, daß die Pflanze auch Doppelbindungen zur Dreifachbindung dehydrieren kann, lag es nahe zu untersuchen, ob evtl. auch Ölsäure in der Pflanze direkt in Acetylenverbindungen übergeführt wird, zumal in gewissen Compositen neben Ölsäure auch die C₁₈-Säuren **14** und **15** vorkommen⁴⁾.

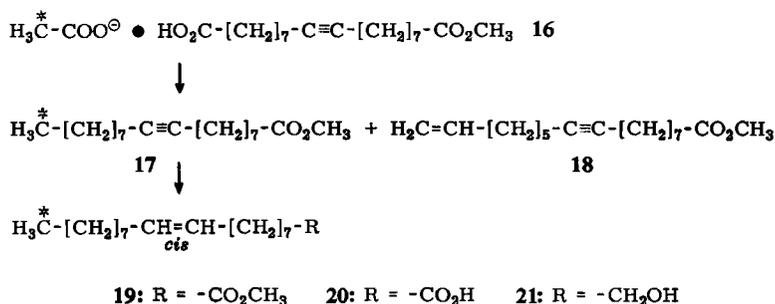


*) *Anm. b. d. Korr.* (28. 4. 1966): Durch Verfütterung von **4** an *Chrysanthemum serotinum* L. wird der Übergang in **8** bestätigt.

³⁾ F. Bohlmann, M. Wotschokowsky, U. Hinz und W. Lucas, *Chem. Ber.* **99**, 984 (1966).

⁴⁾ K. Mikolajczak, C. R. Smith, M. Bagby und I. A. Wolff, *J. org. Chemistry* **29**, 318 (1964); R. G. Powell, C. R. Smith, C. A. Glass und I. A. Wolff, ebenda **30**, 610 (1965).

18-¹⁴C-markierte Ölsäure haben wir auf folgendem Wege dargestellt:



Durch Kolbe-Synthese von **16** mit [2-¹⁴C]Natriumacetat in Methanol erhält man in etwa 24-proz. Ausbeute **17**, das durch partielle Hydrierung in **19** übergeführt wird. Wir haben sowohl **19** als auch **20** und **21** an *Artemisia vulgaris* L. verfüttert. Nach sorgfältiger Reinigung waren jedoch in allen Fällen die isolierten Produkte **6**, **7** und **8** inaktiv. Das gleiche Ergebnis brachte eine Verfütterung an *Centaurea ruthenica* Lam., *Coreopsis lanceolata* L. und *Falcaria vulgaris* Bernh. In allen Fällen waren die hochgereinigten Hauptinhaltsstoffe inaktiv. Diese negativen Ergebnisse dürfen jedoch nicht überschätzt werden, da es nicht sicher ist, ob **19** bzw. **20** oder **21** wirklich den evtl. vorhandenen Stoffwechsel-Cyclus erreicht haben⁵⁾. Es wäre denkbar, daß in den betreffenden Pflanzen Enzymkomplexe vorliegen, in denen die Bildung stärker ungesättigter Fettsäuren direkt mit der Fettsäurebiogenese gekoppelt ist, so daß es schwierig sein dürfte, Zwischenprodukte in diese Enzymkette einzuschleusen.

Weitere Versuche müssen zeigen, ob die Bildung von **8** aus Fettsäuren, die weniger stark ungesättigt sind als **4** bzw. **5**, ebenfalls nachweisbar ist.

Der Deutschen Forschungsgemeinschaft und dem ERP-Sondervermögen danken wir für die Förderung dieser Arbeit.

Beschreibung der Versuche

Die UV-Spektren wurden in Äther mit dem Beckman DK 1 und die IR-Spektren in CCl₄ mit dem Beckman IR 9 aufgenommen. Für die Chromatographien verwandte man Al₂O₃ (Akt.-St. II) und eluierte mit Petroläther, dem steigende Mengen Äther zugesetzt wurden. Alle Reaktionen mit aktiven Substanzen wurden zunächst mit inaktivem Material durchgeführt. Die Aktivitätsbestimmungen verdanken wir Herrn G. Bieshalski; sie wurden im Gaszählrohr mit einem Gerät der Firma Prof. Berthold ausgeführt. Die Dinitrophenylhydrazone wurden durch Papierchromatographie gereinigt (formamid-imprägniertes Papier, mobile Phase CHCl₃/Petroläther 1 : 3). Für die Fütterungen emulgierte man die aktiven Substanzen in Wasser unter Zusatz eines gemischten Saccharose-fettsäureesters.

[16-³H]Hexadecatriin-(10.12.14)-säure (**4**): In Anlehnung an eine Vorschrift aus Organic Syntheses⁶⁾ erhielt man aus 10.11-Dibrom-undecansäure-(I) mit 5 Äquivv. Natriumamid in

⁵⁾ Inzwischen haben J. D. Bu'Lock und G. N. Smith (Privatmittel.) zeigen können, daß Ölsäure bei Verfütterung an eine Pilzkultur von *Tricholoma grammopodium* tatsächlich in Polyine umgewandelt wird.

⁶⁾ Org. Syntheses **32**, 104 (1952).

flüss. Ammoniak und bei 20stdg. Reaktionszeit in 94-proz. Ausb. *Undecin-(10)-säure*. 0.81 g davon in 5 ccm 1*n* NaOH versetzte man unter Rühren bei 0° mit einer gekühlten *Natriumhy-pobromit*-Lösung aus 0.27 ccm Brom in 1.25 ccm 10*n* NaOH und 2.5 g Eis. Nach 1 Stde. neutralisierte man mit 2*n* H₂SO₄ und nahm in Äther auf, farblose Kristalle aus Petroläther, Schmp. 47° (84%) (2).

C₁₁H₁₇BrO₂ (261.2) Ber. C 50.58 H 6.56 Br 30.60 Gef. C 51.11 H 6.68 Br 30.01

235 mg¹ mit Äthylamin-Lösung neutralisiertes 2 in 4.5 ccm THF/Methanol (1 : 1) tropfte man bei 30° zu 0.9 mMol [5-³H]Pentadiin-(1.3) (1) in 5.5 ccm Methanol/THF (1 : 1), dem 3 mg Kupfer(I)-chlorid, 23 mg Hydroxylaminhydrochlorid und 0.2 ccm 40-proz. Äthylamin-Lösung zugesetzt waren. Nach 30 Min. wurde neutralisiert und die erhaltene Säure an SiO₂ (Akt.-St.III) chromatographiert (Äther/Petroläther 1 : 1). Man erhielt aus Äther/Petroläther 52% farblose Kristalle, die sich im Licht rasch blau färben, Schmp. 106°. Spezif. Aktivität 1.8 · 10⁹ ipm/mMol.

C₁₆H₂₀O₂ (244.3) Ber. C 78.67 H 8.25 Gef. C 78.48 H 8.25

UV: λ_{max} = 308, 305.5, 295.5, 286, 278, 267, 262.5, 252, 239, 209.5 mμ (ε = 120, 119, 106, 214, 151, 213, 148, 153, 94, 160000).

IR (in KBr): -CO₂H 1700; -C≡C- 2230/cm.

[14-³H]Tetradecatriin-(8.10.12)-säure (5): Analog zur Darstellung von 4 erhielt man aus *Nonin-(8)-säure*⁷⁾ die 9-Brom-nonin-(8)-säure (3) und mit [5-³H]Pentadiin-(1.3) (1) die Triin-säure 5. 44% farblose Kristalle, Schmp. 147.5° (aus Äther/Petroläther). Spezif. Akt. 1.8 · 10⁹ ipm/mMol.

C₁₄H₁₆O₂ (216.3) Ber. C 77.75 H 7.46 Gef. C 77.84 H 7.80

UV: λ_{max} = 308, 305.5, 295.5, 286, 278, 267, 252.5, 238.5, 209 mμ (ε = 126, 126, 111, 218, 159, 232, 170, 106, 157000).

Fütterung von 4 an *Artemisia vulgaris* L.: 57 mg 4 in 2 ccm Baumwollsaatöl emulgierte man unter Zusatz von Saccharose-monostearat in 1 l Wasser. Ca. 35 intakte Pflanzen hatten nach 63 Stdn. die Emulsion aufgenommen. Die Wurzeln wurden zerkleinert (1020 g) und viermal mit Äther/Petroläther (1 : 2) extrahiert. Der Rohextrakt hatte eine spezif. Aktivität von 1.53 · 10⁸ ipm. Nach Chromatographie erhielt man zunächst 6, das als Maleinsäure-anhydrid-Addukt gereinigt wurde; es zeigte keine Aktivität. Anschließend erhielt man *cis*-8, das durch mehrfache Chromatographie und Kristallisation bis zur konstanten Aktivität gereinigt wurde, spezif. Aktivität 1.01 · 10⁷ ipm/mMol. Es wurde mit inaktivem Ester verdünnt; spezif. Aktivität 1.29 · 10⁶ ipm/mMol. Das erhaltene Keton 7 war nach Überführung in den Alkohol praktisch inaktiv (7.9 · 10² ipm/mMol). Der Thiophenester 11 wurde zur Reinigung verseift. Die erhaltene Säure zeigte eine Aktivität von 5.67 · 10⁵ ipm/mMol.

Abbau von 8: 51 mg 8 (spezif. Aktivität 1.29 · 10⁶ ipm/mMol) wurden in Methanol mit Lindlar-Katalysator bis zur Aufnahme von 3 Moläquiv. H₂ hydriert und dann mit Osmium-tetroxid/Natriumperjodat gespalten⁸⁾. Die erhaltenen Aldehyde wurden als Dinitrophenylhydrazone isoliert und papierchromatographisch aufgetrennt⁸⁾. *Acetaldehyd*-DNPH (30 mg): spezif. Aktivität 1.26 · 10⁶ ipm/mMol (98% d. Th.). *Butyraldehyd*-DNPH: 1.27 · 10⁶ ipm/mMol (98.5% d. Th.).

Fütterung von 5 an *Artemisia vulgaris* L.: 0.068 mMol 5 in 2 ccm Baumwollsaatöl und 0.068 mMol 5 als Kaliumsalz (mit K₂CO₃ neutralisiert) emulgierte man wie oben in 1 l Wasser und stellte 33 intakte Pflanzen ein. Nach 40 Stdn. war die Emulsion aufgenommen. Die Wurzeln (930 g) wurden wie oben aufgearbeitet. Der Extrakt ergab nach Chromatographie inaktives 6 und 7 und aktives *cis*-8, das durch UV-Bestrahlung in *trans*-8 übergeführt wurde,

⁷⁾ J. H. Wotiz und E. S. Hudak, J. org. Chemistry 19, 1580 (1955).

⁸⁾ F. Bohlmann und G. Florentz, Chem. Ber. 99, 990 (1966).

spezif. Aktivität $1.89 \cdot 10^7$ ipm/mMol, nach Verdünnen mit inaktivem Ester $2.18 \cdot 10^6$ ipm/mMol Nach Abbau (s. o.) erhielt man *Acetaldehyd*-DNPH: spezif. Aktivität $2.09 \cdot 10^6$ ipm/mMol (96% d. Th.).

[18-¹⁴C]Ölsäure-methylester (19)⁹⁾: 2.0 g *Octadecin-(9)-disäure-(1.18)*¹⁰⁾ wurden in 5 ccm Benzol mit 100 mg konz. Schwefelsäure und 2.1 g *Methanol* 21 Stdn. zum Sieden erhitzt. Anschließend versetzte man mit Wasser, nahm in Äther auf, wusch neutral und kristallisierte den Diester (98%) aus Äther/Petroläther, Schmp. 45°. 3.1 g *Octadecin-disäure* und 1.9 g *Dimethylester* erhitzte man mit 0.4 ccm *Methanol* und 0.25 ccm konz. Salzsäure in 1 ccm Di-n-butyläther kurze Zeit auf 160°. Die dann homogene Lösung erhitzte man noch 2 Stdn. auf 130°, setzte erneut 0.15 ccm *Methanol* hinzu und erwärmte wieder 2 Stdn. auf 130°. Nach Zugabe von Wasser nahm man in Äther auf und extrahierte die Ätherphase zunächst mit NaHCO₃-Lösung und anschließend mit Natriumcarbonatlösung. Der letztere Extrakt ergab nach Ansäuern 67% *Octadecin-(9)-disäure-(1.18)-monomethylester* (16), Schmp. 49–50°.

C₁₉H₃₂O₄ (324.4) Ber. C 70.34 H 9.94 Gef. C 70.01 H 9.70

9 mg [2-¹⁴C]*Natriumacetat* (27.4 mC/mMol) wurden mit 59.5 mg Eisessig in 3 ccm absol. *Methanol* versetzt. Nach Zugabe von 179 mg 16 elektrolysierte man mit Platinelektroden bei 20°, Stromstärke 50 mA, 1³/₄ Stdn. Das entwickelte Äthan wurde in einer Kühlfalle aufgefangen. Nach Zugabe von Wasser wurde angesäuert und ausgeäthert. Der gebildete *Ester* 17 (24%) wurde i. Vak. destilliert, Sdp._{0.0005} 110–120°, er ist durch den Vinylester 18 verunreinigt, was im IR-Spektrum erkennbar ist (910/cm). Der erhaltene *Octadecin-(9)-säure-methylester* (17) wurde in 10 ccm Äther mit 170 mg Lindlar-Katalysator partiell hydriert. Der erhaltene rohe *Ölsäure-methylester* (19) (150 mg) zeigte eine spezif. Aktivität von 1.09 mC/mMol.

[18-¹⁴C]Ölsäure (20): 45 mg des obigen Esters verseifte man in 4 ccm *Methanol* mit 1 ccm 6-proz. *Kalilauge* 12 Stdn. bei 20°. Die erhaltene *Ölsäure* wurde ohne weitere Reinigung für die Fütterung eingesetzt.

[18-¹⁴C]*Octadecen-(9)-ol-(1)* (21): 30 mg 19 reduzierte man in Äther mit *Lithiumalanat* 4 Stdn. bei 20°. Der erhaltene *Alkohol* wurde direkt zur Fütterung eingesetzt.

Fütterung von *Artemisia vulgaris* L. mit 19, 20 bzw. 21: Jeweils 20 mg 19, 20 bzw. 21 emulgierte man in 1 l Wasser und stellte für 48 Stdn. intakte Pflanzen in die Emulsion ein. Anschließend zerkleinerte man die Wurzeln (ca. 500 g) und extrahierte zweimal mit Äther/Petroläther (4:1). Die Extrakte wurden an Al₂O₃ chromatographisch aufgetrennt und 6, 7 und 8 rein isoliert. In allen Fällen waren diese Substanzen inaktiv. Entsprechende Fütterungen von 19 an drei andere *Compositen* ergaben ebenfalls nur inaktive Polyine.

Fütterung von *trans-[1-¹⁴C]-8 an Anthemis nobilis* L.¹¹⁾: 12.1 mg 8 (spezif. Aktivität $4.5 \cdot 10^8$ ipm/mMol) emulgierte man in 1 l Wasser. Nach 36 Stdn. hatten die eingestellten Pflanzen die Lösung aufgenommen. Die Wurzeln ergaben nach Aufarbeitung (s. o.) und Chromatographie den Ester 12, der bis zur konstanten Aktivität gereinigt wurde (5.25 mg), spezif. Aktivität $6.74 \cdot 10^4$ ipm/mMol. Nach Verdünnen mit 47 mg inaktivem 12 hydrierte man mit Platin in *Methanol* und verseifte mit 1 n methanol. KOH. Die erhaltene Säure 13, Sdp._{0.03} 155–160°, wurde mit inaktivem Material verdünnt und aus *Aceton*/Wasser kristallisiert, Schmp. 57°, spezif. Aktivität $1.98 \cdot 10^3$ ipm/mMol.

C₁₀H₁₄O₂S (198.3) Ber. C 60.57 H 7.12 S 16.17 Gef. C 60.86 H 7.58 S 15.88

44.5 mg 13 ergaben nach Schmidt-Abbau in 72-proz. Ausb. *Bariumcarbonat*, spezif. Aktivität $1.96 \cdot 10^3$ ipm/mMol (98.5% d. Th.).

⁹⁾ Experimentell mitbearbeitet von W. Lucas.

¹⁰⁾ W. Gensler und H. Schlein, J. Amer. chem. Soc. 77, 4846 (1955).

¹¹⁾ C. Rybak, Dissertat., Techn. Univ. Berlin 1965.