

Eckhart Härle, Wolfgang Koch und Erich Hecker

Chemie des Phorbols, II¹⁾

Über das Kohlenstoffskelett des Phorbols

Aus dem Biochemischen Institut des Deutschen Krebsforschungszentrums Heidelberg

(Eingegangen am 2. August 1966)

Die Dehydrierung von Phorbol und Phorbol-f-ol sowie die Dehydratisierung von Phorbol-f-ol führt zu Azulenen. Dies deutet darauf hin, daß Phorbol möglicherweise eine Hydroazulen-Struktur enthält.

Phorbol ist vermutlich ein Diterpen, dessen Strukturelemente bekannt sind¹⁾. Versuche zur Ermittlung des Kohlenstoffskeletts von Phorbol haben bereits *Flaschenträger* und Mitarbb. unternommen^{2,3)}.

Dabei wurde nach Säurebehandlung von Phorbol „Crotophorolon“ und daraus in wenig übersichtlicher Reaktion und mit nur 1% Ausbeute eine neutrale Substanz vom Schmelzpunkt 148–150° erhalten, deren energische Reduktion mit Platin und Wasserstoff und danach mit Jodwasserstoff und Phosphoniumjodid einen öligen Kohlenwasserstoff ergab, dessen Analyse zwischen den Bruttoformeln $C_{20}H_{36}$ und $C_{18}H_{32}$ nicht unterscheiden ließ. — *Arroyo* und *Holcomb*⁴⁾ geben an, als Produkte der Dehydrierung von Phorbol mit Palladium 1-Methyl-phenanthren und einen weiteren Kohlenwasserstoff vom Retentyp erhalten zu haben. Unter den im folgenden beschriebenen Dehydrierungsbedingungen konnten Kohlenwasserstoffe mit Phenanthrenstruktur nicht gefunden werden.

Die Dehydrierung von Phorbol oder Phorbol-f-ol^{*)} mit Selen oder Palladium/Tierkohle führt zu Gemischen von blauen und violetten Azulenen, in denen sich dünn-schichtchromatographisch fünf bis sechs Komponenten nachweisen lassen (Tab. 1). Dieselben Azulene werden in höheren Ausbeuten aus Phorbol-f-ol durch trockenes Erhitzen ohne Zusätze erhalten (Tab. 1). Phorbol gibt unter diesen Bedingungen keine Azulene.

Von den Produkten der thermischen Zersetzung des Phorbol-f-ols konnten die Azulene „ α “, „ β “, „ γ “ und in sehr geringer Menge ein Gemisch der Azulene „ δ_1 “ und „ δ_2 “ dünn-schichtchromatographisch isoliert werden. Das Azulen α ist ein instabiles blaues Öl, das sich rasch zersetzt. Das kristalline violette Azulen β schmilzt bei

*) Zur Bezeichnung der Sauerstoff-Funktionen vgl. I. c.¹⁾.

1) I. Mitteil.: *E. Hecker, Ch. v. Szczepanski, H. Kubinyi, H. Bresch, E. Härle, H. U. Schairer* und *H. Bartsch*, *Z. Naturforsch.* **21b**, 1204 (1966).

2) *B. Flaschenträger*, *Zangger-Festschrift*, S. 857, Zürich 1934.

3) *B. Flaschenträger* und *F. v. Falkenhausen*, *Liebigs Ann. Chem.* **514**, 252 (1934).

4) *E. R. Arroyo* und *J. Holcomb*, *Chem. and Ind.* **1965**, 350.

Tab. 1. Reaktionsprodukte der Dehydrierung bzw. thermischen Zersetzung von Phorbol und Phorbol-f-ol auf dem Dünnschichtchromatogramm

Vers. Nr.	eingesetzte Substanz	Reaktionsbedingungen	Reaktionsprodukte*) und R_F -Werte**)							
			α blau 0.9	α_1 farbl. 0.9	β viol. 0.75	γ blau 0.7	δ_1 blau-grün 0.5	δ_2 blau-viol. 0.5	ϵ_1 rot 0.2	ϵ viol. 0.1
1	Phorbol	20 Stdn., 320°, 760 Torr, mit Selen	—	+	+	(+)	+	+	—	++
2	Phorbol	20 Stdn., 320°, 12 Torr, mit Selen	—	—	+	+	(+)	(+)	—	—
3	Phorbol-f-ol	20 Stdn., 320°, 760 Torr, mit Selen	—	—	(+)	(+)	(+)	(+)	—	—
4	Phorbol-f-ol	20 Stdn., 320°, 12 Torr, mit Pd auf Tierkohle	(+)	—	+	(+)	++	++	(+)	—
5	Phorbol-f-ol	20 Stdn., 320°, 12 Torr, mit Selen	(+)	—	++	++	+++	++	(+)	(+)
6	Phorbol-f-ol	12 Torr, 3 Stdn., 320°, trocken erhitzt ohne Zusätze	+++	(+)	+++	+++	++	+	(+)	—

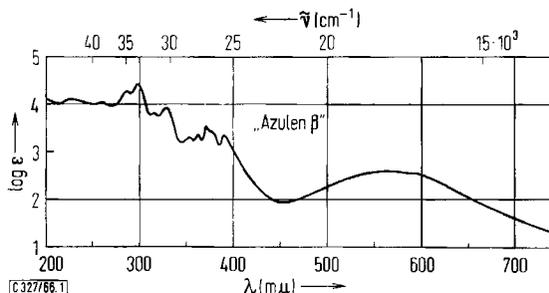
*) Die relativen Mengen, in denen die Substanzen entstanden sind, werden an Hand des Dünnschichtchromatogramms abgeschätzt und mit (+), +, ++ und +++ bezeichnet.

** R_F -Werte in der „ungesättigten Kammer“ auf der Kieselgel-Dünnschicht (System Benzol/Essigester 20:1). Die angeführten Flecke sind im UV- oder Tageslicht zu erkennen. Nicht in die Tabelle aufgenommen wurden UV-löschende braune und UV-löschende farblose Substanzen, die in geringer und wechselnder Menge entstehen, sowie UV-löschende Flecke geringer Intensität am Start, an der Front und bei R_F -Werten um 0.6.

76–77° und ist relativ beständig. Die Azulene γ sowie δ_1 und δ_2 wurden als beständige dunkelblaue Öle erhalten. Die Substanzen α , β und γ lösen sich in 50–60-proz. Schwefelsäure mit gelber, δ mit rosaroter Farbe. Sie zeigen darin und in der entsprechenden Veränderung des UV-Spektrums das charakteristische Verhalten von Azulen. Die Azulene β und γ können aus der sauren Lösung nach Verdünnen unverändert zurückisoliert werden.

Die UV-Spektren der Azulene α , β und γ sind einander sehr ähnlich (vgl. Abbild. und Tab. 2) und entsprechen dem Azulentyp⁵⁾. Verglichen mit einfachen Azulen ist

⁵⁾ H. H. Jaffé und M. Orchin, Theory and Applications of Ultraviolet Spectroscopy, S. 339, John Wiley and Sons, Inc., New York 1964.

UV-Spektrum des Azulens β aus Phorbol bzw. Phorbol-f-ol, in Cyclohexan

der Schwerpunkt der Absorption nach längeren Wellen verschoben, wie es bei Benzazulenen⁶⁾ sowie Azulenen mit Carbonylsubstituenten⁷⁾ bekannt ist. Die IR-Spektren der Azulene β und γ zeigen eine Carbonylbande bei 1708 bzw. 1700/cm.

Tab. 2. UV-Absorptionen der Azulene α , β , γ und δ_1 . Hauptmaxima kursiv

Azulen α		Azulen β		Azulen γ		Azulen δ_1	
in Cyclohexan	in Cyclohexan	in 60-proz. $H_2SO_4^{*)}$		in Cyclohexan	in 60-proz. $H_2SO_4^{*)}$	in Cyclohexan	in 60-proz. $H_2SO_4^{*)}$
λ_{max}	λ_{max} ϵ_{max}	λ_{max}	ϵ_{max}	λ_{max}	ϵ_{max}	λ_{max}	λ_{max}
	226 12 500			227	15 300		
238	(240) (11 050)	235	ca. 12 000	(250)	(17 200)	231	229
	261 11 100	275	ca. 11 500	256	17 800	275	276
293	287 18 900			287	23 400		
307	298 26 700	(295)	ca. 9 500	297.5	28 200	(300)	306
	316 6 700			313	10 700		316
328	329 8 600	323	ca. 4 500	327	14 300	335	330
	354 1 970			(355)	(3 200)		(335)
	362 2 300						
372	370 3 300			370	5 450	375	
	(380) (2 400)			378	5 600		
	390 2 250			388	6 800	390	
396		410	ca. 6 000	398	4 300	400	410
	558 400						530
570	(595) (360)			600	580	580–620	
610				(615)	(560)		
	(650) (180)			(650)	(500)	(675)	
				(720)	(200)	(750)	

^{*)} Nach Ausschütteln aus dem gleichen Volumen Cyclohexanlösung mit 60-proz. Schwefelsäure.

Durch hochauflösende Massenspektrometrie ließ sich für das Azulen β die Bruttoformel $C_{16}H_{16}O$, für das Azulen γ $C_{19}H_{20}O$ ermitteln.

⁶⁾ E. Kloster-Jensen, E. Kováts, A. Eschenmoser und K. E. Heilbronner, *Helv. chim. Acta* **39**, 1051 (1956).

⁷⁾ E. Heilbronner und R. Gerdil, *Helv. chim. Acta* **39**, 1996 (1956).

Beschreibung der Versuche

Die UV-Spektren wurden mit einem Beckman-Spektralphotometer DK 2A aufgenommen.

IR-Spektren sind mit dem Perkin-Elmer-Spektralphotometer 521 gemessen.

KMR-Spektren wurden in den Geräten A 60 und HR 100 der Fa. Varian Associates mit den entsprechenden Zusätzen zur Spinnetkopplung aufgenommen. Als innerer Standard diente Tetramethylsilan.

Die Messung von Massenspektren erfolgte an dem Gerät MS-9 der Fa. AEI Manchester.

Dehydrierung und thermische Zersetzung von Phorbol und Phorbol-f-ol: 80 mg Phorbol oder Phorbol-f-ol werden allein oder mit der doppelten Menge Dehydrierungsmittel (s. Tab. 1) in einem geschlossenen Glasrohr (6–7 mm Durchmesser) bei einem Druck von 12 bzw. 760 Torr in einem Metallbad von 300–320° trocken erhitzt. Im kühlen Teil des Rohres schlägt sich allmählich ein blaugrünes Harz nieder; dieses wird nach Zerschneiden des Glasrohres mit Essigester herausgespült. Die Auftrennung des Reaktionsproduktes und die Reinigung der einzelnen Substanzen erfolgt durch mehrmalige präparative Dünnschichtchromatographie auf äthanolgewaschenen, getrockneten Platten (Kieselgel G, Merck) bei 4° in CO₂-Atmosphäre mit den Fließmitteln Essigester/Benzol (1 : 30) für das Gesamtgemisch, Cyclohexan/Petroläther (1 : 1) für die Reinigung von Azulen α und Tetrachlorkohlenstoff/Methylenchlorid (1 : 1) für die Reinigung der Azulene β und γ .

Aus insgesamt 50 Ansätzen (4.0 g Phorbol-f-ol) werden unter den Bedingungen von Tab. 1, Versuch Nr. 6, erhalten:

Azulen α : ca. 3 mg eines blauen, zähflüssigen Öls, das sich rasch unter Bildung eines braunen Harzes zersetzt.

Azulen β : 8 mg violette Kristalle, die nach Umkristallisieren aus Methanol/Wasser bei 76–77° (unkorr.) schmelzen.

Azulen γ : 4 mg eines zäh-viskosen dunkelblauen Produkts.

Azulen δ_1 und δ_2 : ca. 2 mg Gemisch als zähviskoses dunkelblaues Öl.

Spektroskopische Daten der Azulene sind in den Tab. 2–6 wiedergegeben.

Tab. 3. IR-Daten der Azulene β und γ (KBr)

Zuordnung	Azulen β [cm ⁻¹]	Azulen γ [cm ⁻¹]
ν_{CH}	2960–2880	2960–2880
$\nu_{\text{C=O}}$	1708	1700
	1615	1615
	1575	1553
$\nu_{\text{CH arom.}}$	1456	1450
	1375	1375
	1231	1237
		1220

Tab. 4. Kernresonanzspektrum des Azulens β in CCl_4 , 60 MHz

Lage (ppm)	Multiplizität	Integration (Protonen)		Zuordnung
7.96	S	1	4 ×	
7.76	S	1		
7.20	S	1		
6.96	S	1		
2.58	S	6	2 ×	
3.70 (c)	M	6		
2.92 (c)	M			
2.75 (b)	M			
1.34 (a)	D ($J = 7$ Hz)			

Tab. 4a. Doppelresonanzmessung des Azulens β in CCl_4 , 100 MHz

eingestrahlt bei (ppm)	beobachtet bei (ppm)	Änderung der Multiplizität
	1.36 (a)	D \longrightarrow S
2.75 (b)	2.92 (c)	M \longrightarrow D
	3.70 (c)	M \longrightarrow D

Tab. 5. Massenspektrum *) des Azulens β

Elektronenenergie [eV]	m/e	relative Intensität [%]	Summenformel	Zuordnung
	268	3	—	Verunreinigung A^+
12	224.1212	100	$\text{C}_{16}\text{H}_{16}\text{O}$	M^+
	210	8	—	Verunreinigung B^+
	268	3	—	Verunreinigung „ A^{**} “)
	253	4	—	$\text{A}^+ - 15$
	224.1212	100	$\text{C}_{16}\text{H}_{16}\text{O}$	M^+
	210	10	—	Verunreinigung „ B^{**} “)
70	209	10	—	$\text{M}^+ - 15$
	195	4	—	$\text{B}^+ - 15$
	181.1005	24	$\text{C}_{14}\text{H}_{13}$	$\text{M}^+ - \text{CH}_3\text{CO}\cdot$
	165.0698	30	C_{13}H_9	?

*) Die Substanzen „ A^{**} “ und „ B^{**} “ zeigen von der Hauptreihe M getrennte Abspaltungsmuster. Sie werden daher und auf Grund der geringen Intensität als Verunreinigungen angesprochen.

Tab. 6. Massenspektrum *) des Azulens γ

Elektronen- energie [eV]	m/e	relative Intensität [%]	Summen- formel	Zuordnung
	266.1693	37	$C_{19}H_{22}O$	M^+
	238	20	—	Verunreinigung „C“
12	224.1219	100	$C_{16}H_{16}O$	$M^+ - C_3H_6$ (Propylen)
	210	25	—	Verunreinigung „D“
	266.1693	27	$C_{19}H_{22}O$	M^+
	251	58	—	$M^+ - 15$
	238.1367	15	$C_{17}H_{18}O$?
	224.1219	100	$C_{16}H_{16}O$	$M^+ - C_3H_6$ (Propylen)
	223.1137	63	$C_{16}H_{15}O$	$M^+ - C_3H_7$ (Propylen)
70	210.1036	27	$C_{15}H_{14}O$	Verunreinigung „C“*
	209	34	—	$M^+ - C_3H_6 - 15$
	195	16	—	„C“ — 15
	183	27	—	?
	181	20	—	$M^+ - C_3H_6 - CH_3CO$
	165	60	—	?

*) Die Substanzen „C“ und „D“ zeigen von der Hauptreihe M getrennte Abspaltungsmuster. Sie werden daher und auf Grund der geringen Intensität als Verunreinigungen angesprochen.

[327/66]