

Ferdinand Bohlmann, Wolfgang Lucas, Joachim Laser und Peter-Helmut Bonnet

Polyacetylenverbindungen, 148¹⁾

Weitere Untersuchungen zur Biogenese der Spiroketalenolätherpolyine

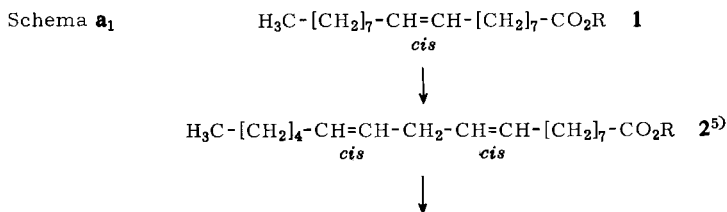
Aus dem Organisch-Chemischen Institut der Technischen Universität Berlin

(Eingegangen am 23. Oktober 1967)

Durch Verfütterung doppelt markierter Verbindungen werden weitere Einzelheiten des Biogeneseweges der weitverbreiteten Spiroketalenolätherpolyine geklärt. Für die normalen Verbindungen vom Typ **10** bzw. **11** wird der früher angenommene Mechanismus endgültig gesichert und für die stärker ungesättigten Verbindungen vom Typ **12** eine Entscheidung zwischen den beiden noch offenen Möglichkeiten getroffen. Weiterhin wird die Biogenese von **24** und **29** untersucht. Die zentrale Bedeutung von **4** bzw. **5** für die Biogenese der natürlichen Polyine wird erneut gezeigt.

Kürzlich haben wir über die Biogenese der Spiroketalenolätherpolyine vom Typ **10** bzw. **11** berichtet²⁾. Zur endgültigen Klärung der einzelnen Stufen haben wir **4**³⁾ bzw. **5** doppelt markiert dargestellt und an *Artemisia integrifolia* Falk. bzw. *Chrysanthemum maximum* L. verfüttert. In beiden Fällen zeigt sich, daß man die für den angenommenen Biogeneseweg zu erwartende Aktivitätsverteilung findet⁴⁾, so daß die im Schema **a**₁ angegebenen Biogenesewege als gesichert angesehen werden können.

Der Übergang von **11** nach **12** war nach den bisherigen Untersuchungen²⁾ noch nicht restlos geklärt. Neben dem obigen Weg war grundsätzlich auch mit einer direkten Bildung von **15** bzw. **12** aus dem entsprechenden Ketoaldehyd **14** zu rechnen²⁾. Um auch diese Frage zu klären, haben wir weitere Fütterungen mit markierten Vorstufen durchgeführt. Die Verfütterung eines Gemisches von 1-³H- und 13-¹⁴C-**13** (**13b** + **13b'**) ergibt, daß im isolierten Acetat **12** nur noch etwa 10% der ursprünglichen ³H-Aktivität gefunden wird.



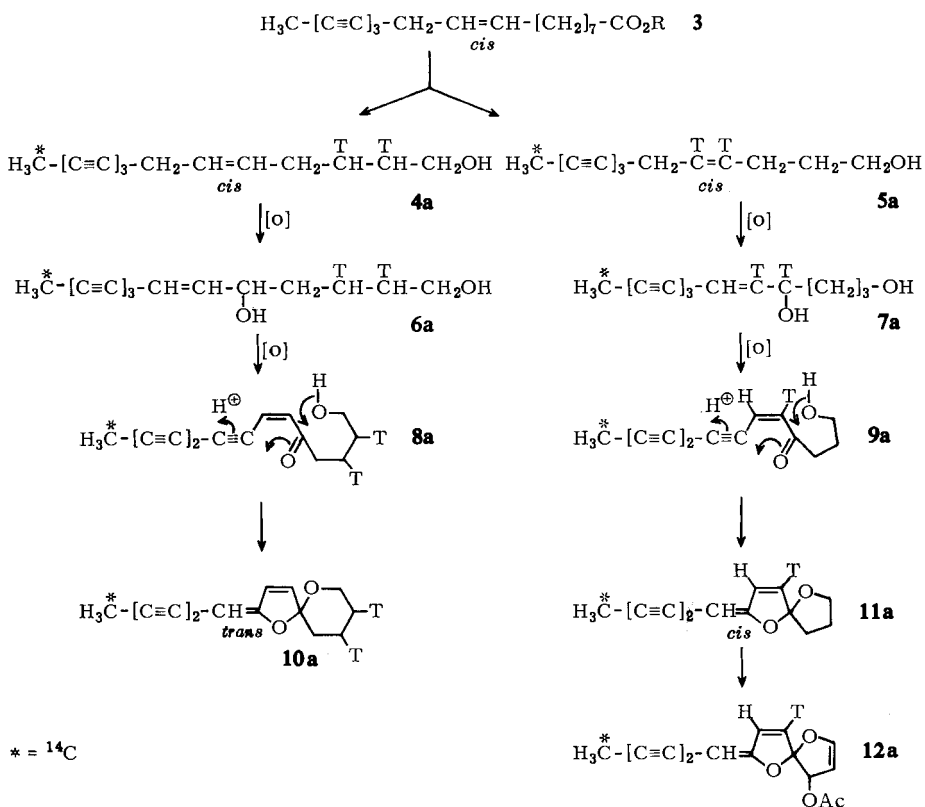
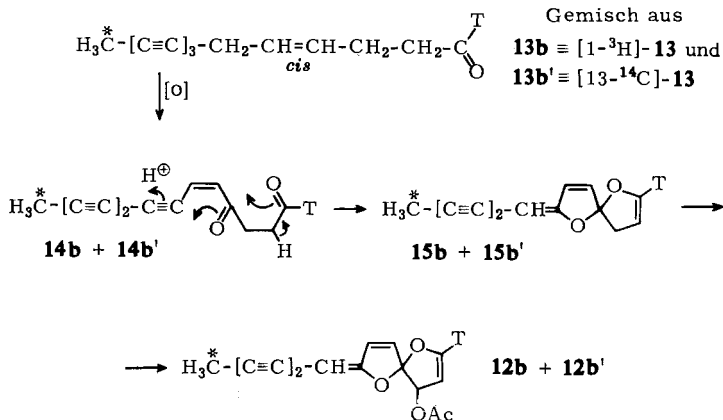
1) 147. Mitteil.: F. Bohlmann und K.-M. Rode, Chem. Ber. 101, 1163 (1968), vorstehend.

2) F. Bohlmann, R. Jente, W. Lucas, J. Laser und H. Schulz, Chem. Ber. 100, 3183 (1967).

3) F. Bohlmann, H. Bonnet und R. Jente, Chem. Ber. 101, 855 (1968).

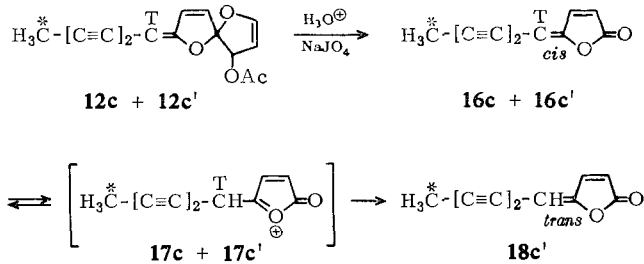
4) * = ¹⁴C.

5) Wie wir inzwischen zeigen konnten (F. Bohlmann und Mitarbb., unveröffentlicht), wird auch Linolsäure in **5** umgewandelt.

Schema a₁ FortsetzungSchema b (gilt für ein Gemisch aus ¹⁴C- und T-markierter Verbindung (b u. b'))

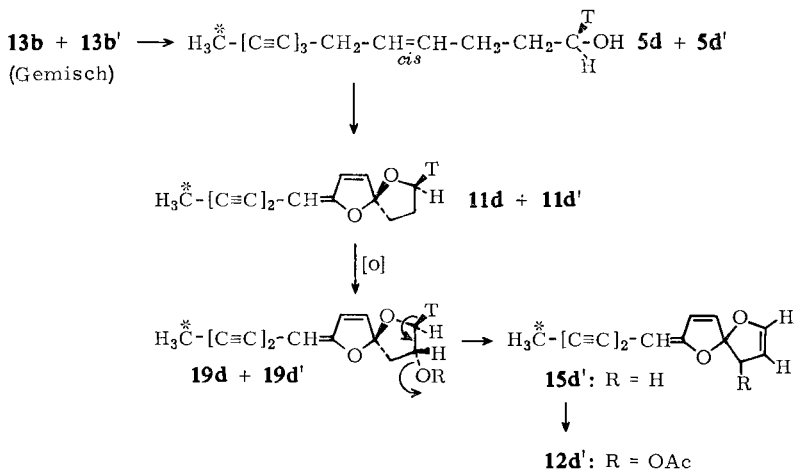
Dieses Ergebnis ist naturgemäß nicht mit Schema **b** vereinbar. Durch Abbau von **12** zum Butenolid **16**⁶⁾ kann gezeigt werden, daß die noch vorhandene ³H-Aktivität gar nicht mehr im Sauerstoffring zu finden ist, sondern, wie durch Austausch gezeigt werden kann, an der Enolätherdoppelbindung lokalisiert ist (**12c**), wo sie wahrscheinlich als Proton beim Ringschluß eingeführt wird.

Schema **c** (**c** = T-markiert, **c'** = ¹⁴C-markiert; Gemische!)



Damit ist sichergestellt, daß das gesamte Tritium an C-1 von **13b** während der Biogenese eliminiert wird. Dieses Ergebnis ist nur so zu interpretieren, daß **15** durch eine spezifische Eliminierung aus **11** gebildet wird. Diese Selektivität kann nur bedeuten, daß **13b** zunächst enzymatisch stereospezifisch zu **5d** hydriert wird, das dann über die **7a** und **9a** entsprechenden Stufen den Enoläther **11d** mit sterisch einheitlicher Konfiguration hinsichtlich des Tritiums liefert. Die Einführung der Doppelbindung müßte dann durch β -Oxydation und stereospezifische Eliminierung erfolgen, wobei das ³H-Atom abgespalten wird (Schema **d**).

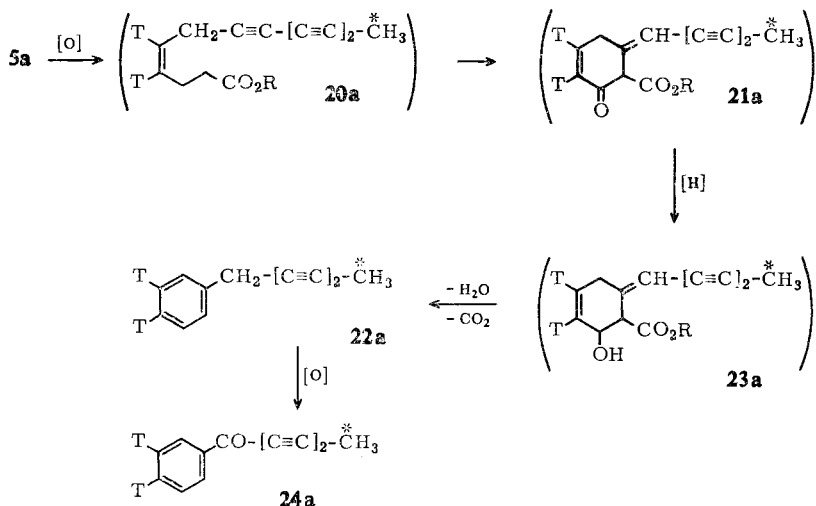
Schema **d** (**d** = T-markiert, **d'** = ¹⁴C-markiert; Gemische!)



⁶⁾ F. Bohlmann, P. Herbst, C. Arndt, H. Schönowsky und H. Gleinig, Chem. Ber. **94**, 3215 (1961).

Um diese Hypothese zu untermauern, haben wir das Gemisch aus **13b** und **13b'** zunächst an *Chrysanthemum flosculosum* L. verfüttert und den gebildeten Enoläther **11** (= **11d** + **11d'**) isoliert. Das $^3\text{H}/^{14}\text{C}$ -Verhältnis in **11d/11d'** beträgt 6.46:1. Die Verfütterung dieses Enoläthergemisches an *Chrysanthemum maximum* L. ergibt ein Acetat **12**, das, bezogen auf ^{14}C , nur noch sehr wenig Tritium enthält. Damit ist gezeigt, daß tatsächlich **11** stereospezifisch in **12** übergeführt wird, so daß Schema **d** für die Bildung der ungesättigten Enolätherpolyine angenommen werden kann⁷⁾. Verbindungen vom Typ **19** kommen auch in *Chrysanthemum*-Arten vor⁸⁾.

Da gezeigt werden konnte²⁾, daß **5** auch die Vorstufe für die Phenylpolyine des Tribus *Anthemideae* ist, haben wir das doppelt markierte **5a** auch an *Lonas annua* L. verfüttert und die Aktivitätsverteilung im gebildeten Capillin⁸⁾ bestimmt. Erwartungsgemäß findet man praktisch das gleiche Aktivitätsverhältnis von $^3\text{H}/^{14}\text{C}$ wie in der eingefütterten Verbindung, was mit dem angenommenen Biogeneschema völlig im Einklang steht.

Schema **a**₂

Durch Verfütterung von $[1-^3\text{H}]\text{-5}$ (= **5e**) haben wir schließlich noch die Biogenese des Thiophenderivates **29** wahrscheinlich gemacht, das wie **27** und **28** ebenfalls im Tribus *Anthemideae* vorkommt⁸⁾. Das Schema e dürfte daher anzunehmen sein.

Der durch Abbau aus **29e** erhaltene Thiophenolaldehyd **30e** ist völlig inaktiv.

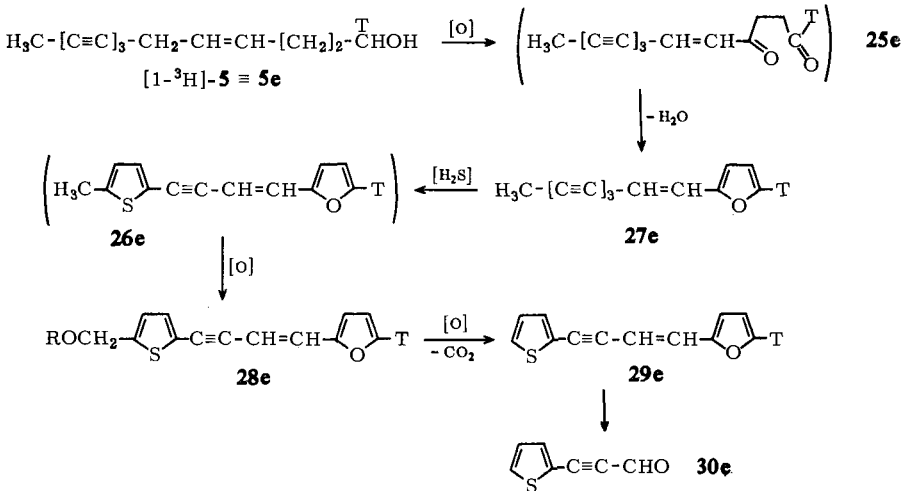
Damit ist erneut die zentrale Stellung der Verbindungen **4** und **5** für den Aufbau der Polyine des Tribus *Anthemideae* aufgezeigt worden.

Inzwischen konnte festgestellt werden, daß **4** bzw. entsprechende unkonjugierte Verbindungen auch für die Polyine anderer Tribus als Vorstufe dienen. Über diese Ergebnisse wird gesondert berichtet werden.

⁷⁾ Die optischen Antipoden wurden willkürlich gewählt.

⁸⁾ F. Bohlmann, Fortschr. chem. Forsch. **6**, 65 (1966).

Schema e



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

Beschreibung der Versuche

Die UV-Spektren wurden in Äther im Beckman DK 1, die IR-Spektren in CCl_4 im Beckman IR 9, die NMR-Spektren in CCl_4 im Varian HA 100 mit TMS als innerem Standard und die Massenspektren im MS 9 der Firma AEI aufgenommen. Die Aktivitätsbestimmungen erfolgten im Beckman-Szintillationszähler.

Alle bereits bekannten Verbindungen sowie die aktiven Substanzen wurden durch Vergleich der UV-, IR- und NMR-Spektren mit denen von authentischem Material identifiziert.

[4.5.3- H_2 -13- ^{14}C]Tridecen-(4c)-triin-(7.9.11)-ol-(1) (**5a**)⁹⁾: Die Darstellung erfolgte analog zu [13- ^{14}C]-**5**²⁾. Lediglich die Darstellung von Octen-(4c)-in-(7)-ol-(1) wurde variiert. 50 g Pentin-(4)-yl-(1)-tetrahydropyranyl-(2)-äther in 75 ccm absol. THF überführte man in die Grignard-Verbindung. Anschließend leitete man 15 g gasförmigen Formaldehyd ein und rührte 12 Stdn. bei 20°. Nach Zersetzen mit Ammoniumchlorid-Lösung nahm man in Äther auf und destillierte den Eindampfrückstand i. Vak., Sdp._{0.1} 120° [1-(Tetrahydropyranyl-(2)-oxy)-hexin-(4)-ol-(6)].



0.4 g des obigen Carbinols wurden mit Tritium in Gegenwart von 50 mg Lindlar-Katalysator anhydriert und nach Zugabe von 3.6 g weiteren Carbinols mit H_2 bis zur Aufnahme von 1 Mol-Äquiv. hydriert. Das erhaltene 1-(Tetrahydropyranyl-(2)-oxy)-[4.5.3- H_2]hexen-(4c)-ol-(6) (spezif. Aktivität 2.78 · 10⁹ ipm/mMol) wurde in 100 ccm Äther mit 6 g gepulvertem Kaliumhydroxid und 5.5 g *p*-Toluolsulfchlorid 5 Stdn. bei 0° gerührt. Nach Waschen mit Wasser wurde die Ätherphase eingedampft. Ausb. 95%. Das Tosylat in 50 ccm absol. THF wurde bei 30° nach Zugabe von 50 mg Cu_2Cl_2 zur ber. Menge Äthynylmagnesiumbromid in

⁹⁾ Dissert. G. Dehmel, Techn. Univ. Berlin 1967.

100 ccm THF getropft. Anschließend erwärmte man 2 Stdn. zum Sieden, zersetzte mit Ammoniumchlorid-Lösung und erhielt durch Chromatographie des Rohprodukts an Al_2O_3 (Akt.-St. II) mit Äther/Petroläther (1 : 20) 3.2 g *1-(Tetrahydropyranyl-(2)-oxy)-[4.5- $^3\text{H}_2$]octen-(4c)-in-(7)*. Dieses erwärmte man in 50 ccm Methanol mit 50 mg *p-Toluolsulfonsäure* 2 Stdn. zum Sieden. Nach Chromatographie mit Äther/Petroläther (1 : 1) an Al_2O_3 (Akt.-St. II) erhielt man 1.57 g *[4.5- $^3\text{H}_2$]Octen-(4c)-in-(7)-ol-(1)*.

IR: —OH 3640; —C≡CH 3320, 2120; —CH=CH— 1645/cm.

NMR: HC≡C—CH₂CH=CH— t 8.12 τ (1) ($J = 2.5$ Hz), m 7.1 (2), m 4.6 (2); =CH—CH₂—CH₂CH₂OH m 7.9 (2), m 8.4 (2), t 6.50 (2) ($J = 6.5$), s (breit) 6.15 (1).

Azobenzolcarbonsäureester: Orangefarbene Kristalle aus Petroläther/Äther, Schmp. 61°.

$\text{C}_{21}\text{H}_{20}\text{N}_2\text{O}_2$ (332.4) Ber. C 75.88 H 6.06 N 8.43 Gef. C 75.76 H 5.92 N 8.42

Analog²⁾ erhielt man aus 1 mMol *[4.5- $^3\text{H}_2$]Octen-(4c)-in-(7)-ol-(1)* und *1-Brom-[5- ^{14}C]pentadiin-(1.3)* 85 mg **5a** (45%). Spezif. Aktivität: ^3H $2.78 \cdot 10^9$ ipm/mMol, ^{14}C $3.74 \cdot 10^8$ ipm/mMol.

Azobenzolcarbonsäureester: Orangefarbene Kristalle, Schmp. 78.5°.

$\text{C}_{26}\text{H}_{22}\text{N}_2\text{O}_2$ (394.5) Ber. C 79.16 H 5.62 N 7.10 Gef. C 79.00 H 5.61 N 7.10

Gemisch aus [1- ^3H]- und [13- ^{14}C]Tridecen-(4c)-triin-(7.9.11)-al-(1) (13b + 13b'): 245 mg **5** (inaktiv) und 1 g *Dicyclohexylcarbodiimid* in 20 ccm absol. Äther versetzte man mit 0.1 g H_3PO_4 in 4 ccm absol. Dimethylsulfoxid und erwärmte 2 Stdn. auf 40°. Nach Erkalten schüttelte man mit 4 n H_2SO_4 aus und chromatographierte den nach Eindampfen der Ätherphase verbleibenden Rückstand an Al_2O_3 (Akt.-St. III). Mit Petroläther/Äther (20 : 1) eluierte man *Tridecen-(4c)-triin-(7.9.11)-al-(1)*, Ausb. 75%. Farbloses Öl.

$\text{C}_{13}\text{H}_{12}\text{O}$ Ber. 184.0888 Gef. 184.0884

NMR: $\text{H}_3\text{C}-\text{C}\equiv$ s 8.04 τ (3); $\equiv\text{C}-\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CHO}$ d 6.95 (2) ($J = 5$ Hz), m 4.56 (2), m 7.6 (4), t 0.28 (1) ($J = 1.2$).

130 mg des obigen *Aldehyds* in 7 ccm Äthanol versetzte man mit 0.53 mg NaBT_4 (10 mC) und 8.5 mg NaBH_4 , zersetzte nach 3stdg. Rühren bei 20° mit verd. Schwefelsäure und nahm in Äther auf. Nach Chromatographie (Al_2O_3 , Äther/Petroläther 1 : 1) erhielt man 125 mg *[1- ^3H]-5* (=5e), spezif. Aktivität $1.19 \cdot 10^{10}$ tpm/mMol. Farbloses Öl, identisch in den spektralen Daten mit inaktivem **5**.

Zur Darstellung von **13b**+**13b'** mischte man *[1- ^3H]-5* mit *[13- ^{14}C]-5²⁾* und oxydierte wie oben zum Aldehyd. Gesamtaktivität: ^3H $2.8 \cdot 10^8$ tpm, ^{14}C $1.31 \cdot 10^8$ tpm; $^3\text{H}/^{14}\text{C} = 2.13$.

Verfütterung von 13b + 13b' an Chrysanthemum maximum L.: 75 mg **13b/13b'** in 1 ccm Baumwollsaatöl emulgierte man unter Zusatz von Saccharosemonostearat in 1 l Wasser und stellte in diese Emulsion intakte Pflanzen für 36 Stdn. ein. Die zerkleinerten Wurzeln (510 g) extrahierte man dreimal mit Äther und erhielt durch Chromatographie des Extraktes an Al_2O_3 (Akt.-St. III) mit Äther/Petroläther (1 : 20) 150 mg **12** (**12c**+**12c'**), Schmp. 91°. Gesamtaktivität: ^3H $1.625 \cdot 10^5$ tpm, ^{14}C $7.81 \cdot 10^5$ tpm; $^3\text{H}/^{14}\text{C} = 0.21$.

50 mg **12c**+**12c'** in 5 ccm Dioxan erwärmte man mit 2 ccm 5proz. Schwefelsäure und 100 mg NaJO_4 2 Stdn. auf 60°. Nach Chromatographie an Al_2O_3 mit Äther/Petroläther (1 : 4) erhielt man 11.1 mg **16c**+**16c'**, Aktivitätsverhältnis $^3\text{H}/^{14}\text{C} = 0.215$.

5.6 mg **16c**+**16c'** verdünnte man mit 12.15 mg inaktivem **16** und rührte 20 Stdn. in 4 ccm Methanol mit 15 mg *p-Toluolsulfonsäure* bei 20°. Das Reaktionsgemisch wurde durch Dünnschichtchromatographie (SiO_2 , Äther/Petroläther 1 : 4) aufgetrennt. Man erhielt 3.6 mg **18c**, Gesamtaktivität: ^3H 20 tpm, ^{14}C 3216 tpm.

Verfütterung von **13b**+**13b'** an *Chrysanthemum flosculosum* L.: 61.4 mg **13b/13b'** emulgierte man in 1 ccm Baumwollsaatöl, gelöst in 150 ccm Wasser (Saccharosemonostearat als Emulgator), und stellte 70 g oberirdische Teile von *Chrysanthemum flosculosum* L. 45 Stdn. in die Emulsion. Die zerkleinerten Pflanzen extrahierte man dreimal mit Äther und chromatographierte den Extrakt an Al_2O_3 (Akt.-St. II). Mit Petroläther/2% Äther eluierte man 80 mg **11d**+**11d'**. Gesamtaktivität: ^3H $9.32 \cdot 10^6$ tpm, ^{14}C $1.44 \cdot 10^6$ tpm; $^3\text{H}/^{14}\text{C} = 6.46$.

Verfütterung von **11d**+**11d'** an *Chrysanthemum maximum* L.: 80 mg **11d/11d'** emulgierte man wie oben in 100 ccm Wasser und stellte für 40 Stdn. vier intakte Pflanzen in die Emulsion. Die zerkleinerten Wurzeln extrahierte man dreimal mit Äther und chromatographierte den erhaltenen Extrakt an Al_2O_3 (Akt.-St. III). Nach Kristallisation erhielt man aus der Fraktion mit Petroläther/Äther (20:1) 48 mg **12d'**, Schmp. 91° . Gesamtaktivität: ^3H 6110 tpm, ^{14}C 23730 tpm; $^3\text{H}/^{14}\text{C} = 0.258$.

Verfütterung von [$1\text{-}^3\text{H}$]-**5** (= **5e**) an *Chrysanthemum myconis* L.: 25 mg **5e** emulgierte man wie oben in 1 l Wasser und stellte in diese Emulsion intakte Pflanzen für 30 Stdn. ein. Die Wurzeln (200 g) extrahierte man dreimal mit Äther und chromatographierte den erhaltenen Extrakt an Al_2O_3 (Akt.-St. II). Petroläther eluierte **29e**¹⁰⁾, farblose Kristalle aus Petroläther. Ausb. 35 mg. Spezif. Aktivität $1.09 \cdot 10^5$ tpm/mMol.

30 mg **29e** in 10 ccm Äther und 0.1 ccm Pyridin versetzte man mit 50 mg *Osmiumtetroxid*. Nach 12 Stdn. wurde das Addukt abfiltriert und mit alkalischer Mannit-Lösung zersetzt. Das erhaltene Diol wurde in Dioxan mit verd. Schwefelsäure und NaJO_4 gespalten. Nach Chromatographie an SiO_2 (Petroläther/Äther 20:1) erhielt man 5.1 mg inaktives **30e**.

Verfütterung von [$2,3\text{-}^3\text{H}_2\text{-}14\text{-}^{14}\text{C}$]-**4** (= **4a**) an *Artemisia integrifolia* Falk.: 30 mg **4a** ($^{14}\text{C}/^3\text{H} = 2.27$) emulgierte man wie oben in 500 ccm Wasser und stellte für 36 Stdn. intakte Pflanzen ein. Die zerkleinerten Wurzeln (600 g) extrahierte man dreimal mit Äther und erhielt nach Chromatographie an Al_2O_3 (Akt.-St. II) mit Äther/Petroläther (1:20) 58 mg **10a**, farblose Kristalle aus Äther/Petroläther, Schmp. $83\text{--}85^\circ$. Spezif. Aktivität: ^{14}C $1.4 \cdot 10^7$ tpm/mMol, ^3H $6.15 \cdot 10^6$ tpm/mMol; $^{14}\text{C}/^3\text{H} = 2.27$.

Verfütterung von [$4,5\text{-}^3\text{H}_2\text{-}13\text{-}^{14}\text{C}$]-**5** (= **5a**) an *Chrysanthemum maximum* L.: 12 mg **5a** ($^3\text{H}/^{14}\text{C} = 2.098$) emulgierte man wie oben in 500 ccm Wasser und stellte für 40 Stdn. intakte Pflanzen ein. Die zerkleinerten Wurzeln (950 g) extrahierte man und isolierte **12a** wie oben. Man erhielt 190 mg kristallisiertes **12a**, Schmp. 91° (aus Äther/Petroläther). Spezif. Aktivität: ^3H $2.52 \cdot 10^6$ tpm/mMol, ^{14}C $2.87 \cdot 10^6$ tpm/mMol; $^3\text{H}/^{14}\text{C} = 0.88$.

Verfütterung von [$4,5\text{-}^3\text{H}_2\text{-}13\text{-}^{14}\text{C}$]-**5** (= **5a**) an *Lonas annua* L.: 12 mg **5a** ($^3\text{H}/^{14}\text{C} = 2.098$), in 250 ccm Wasser emulgiert, verfütterte man 40 Stdn. an intakte Pflanzen. Der Wurzel-extrakt gab nach Chromatographie an Al_2O_3 (Akt.-St. II) mit Petroläther/Äther (20:1) 31.4 mg *Capillin*⁸⁾ (**24a**), das zur Reinigung mit NaBH_4 zum *Carbinol* reduziert wurde, Schmp. 106° (aus Petroläther). Spezif. Aktivität: ^3H $4.6 \cdot 10^5$ tpm/mMol, ^{14}C $2.31 \cdot 10^5$ tpm/mMol; $^3\text{H}/^{14}\text{C} = 1.99$.

¹⁰⁾ F. Bohlmann, H. Bornowski und H. Schönowsky, Chem. Ber. **95**, 1739 (1962).