

Ferdinand Bohlmann und Tilo Burkhardt

Polyacetylenverbindungen, 166¹⁾

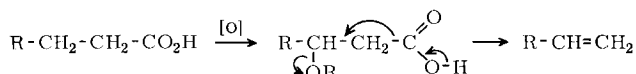
Über die Biogenese von C₁₇-Polyinen

Aus dem Organisch-Chemischen Institut der Technischen Universität Berlin

(Eingegangen am 14. November 1968)

Durch Verfütterung markierter Verbindungen wird gezeigt, daß C₁₇-Polyine wie Centaur X₃ (6), Dehydrofalcarinon (10) und Oenanthetolacetat (15) aus Ölsäure über die entsprechende β-Hydroxysäure 3 gebildet werden.

In der vorstehenden Arbeit wurde gezeigt, daß die beiden in *Artemisia vulgaris* L. vorkommenden Polyine Dehydromatricariaester und Artemisiaketon aus Ölsäure über das Triin 2 gebildet werden. Das ebenfalls in dieser Pflanze vorkommende Centaur X₃ (6) dürfte auch aus Ölsäure entstehen. Offen ist jedoch die Frage, wie und wann die Vinyl-Endgruppe eingeführt wird. Da eine derartige Endgruppe bei den natürlichen Acetylenverbindungen sehr häufig zu beobachten ist²⁾, handelt es sich um einen der wichtigen Biogeneseschritte, der durch Verfütterung markierter Substanz geklärt werden muß. Nach Verfütterung von [10-¹⁴C]Ölsäure an *Artemisia vulgaris* L. wird aktives Centaur X₃ (6) isoliert³⁾, während der Ester 2 nur sehr schlecht in 6 umgewandelt wird³⁾. Für die Bildung der Vinyl-Endgruppe ist das folgende allgemeine Schema am wahrscheinlichsten:



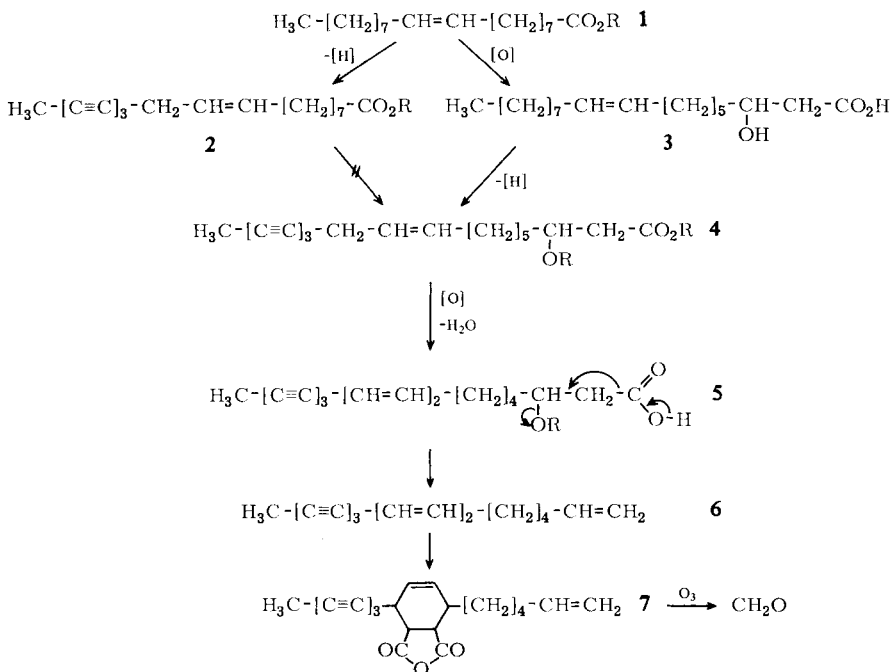
Offen ist jedoch, ob die β-Oxydation bereits auf der Stufe der Ölsäure oder erst nach Dehydrierung zum Triin 2 erfolgt. Da 2 sehr schlecht in Centaur X₃ (6) umgewandelt wird³⁾, dürfte primär β-Hydroxy-ölsäure (3) gebildet werden. Wir haben daher letztere mit Tritium markiert. Ausgehend von Hexadecin-(7)-al-(1) erhält man mit [2-³H]Bromessigester und Zink den Hydroxyester, der nach Verseifung und Hydrierung die gewünschte Verbindung 3 liefert. Die Verfütterung von 3 an *Artemisia vulgaris* L. zeigt, daß in der Tat der Einbau in Centaur X₃ (6) gut ist, so daß nachstehendes Biogeneseschema angenommen werden kann.

Zur Sicherung des Ergebnisses haben wir 6 in das Addukt 7 übergeführt und dieses mit Ozon abgebaut. Der gebildete Formaldehyd, als Dinitrophenylhydrazon isoliert, enthält erwartungsgemäß die Aktivität.

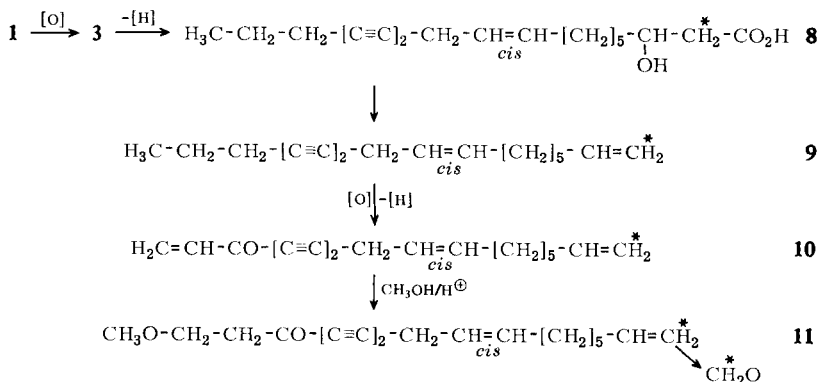
¹⁾ 165. Mitteil.: F. Bohlmann und W. Thefeld, Chem. Ber. 102, 1698 (1969), vorstehend.

²⁾ F. Bohlmann, Fortschr. Chem. org. Naturstoffe [Wien] 25, 1 (1967).

³⁾ F. Bohlmann und Mitarbeiter, unveröffentlicht.

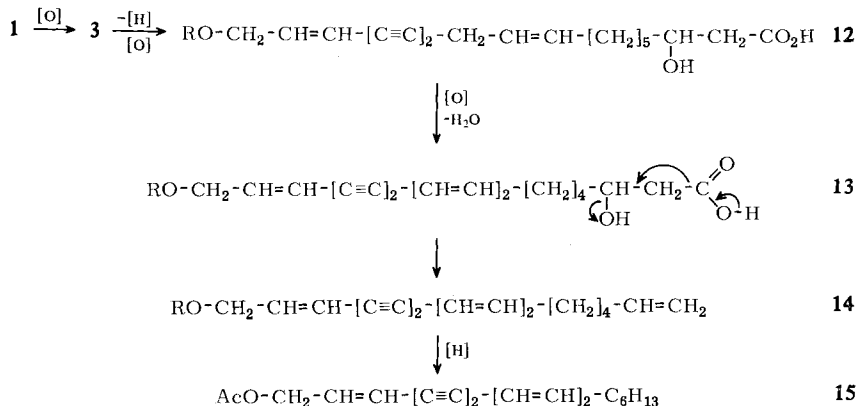


Um weiterhin zu prüfen, ob dieses Schema auch für andere C₁₇-Vinylverbindungen gilt, haben wir **3** an *Artemisia atrata* Lam. verfüttert und das in den Wurzeln vorkommende Dehydrofalcariin (**10**) isoliert. Wiederum wird **3** eindeutig in die Vinylverbindung **10** umgewandelt. Ebenso wird [2-³H]Ölsäure gut eingebaut, so daß für die Biogenese des Dehydrofalcariins (**10**) folgendes Schema angenommen werden kann:



Zur Reinigung haben wir **10** in das Methanol-Addukt **11** übergeführt und dieses ozonisiert. Wiederum enthält der als Dinitrophenylhydrazon isolierte Formaldehyd die Aktivität.

Schließlich haben wir **3** noch an *Oenanthe pimpinelloides* L. verfüttert. Auch hier wird **3** in die C₁₇-Verbindungen eingebaut, wie am Beispiel des Hauptinhaltsstoffes **15** gezeigt wird. **15** dürfte demnach wie folgt entstehen:



In diesem Falle wird also, wie bei Umbelliferen üblich, die Vinyl-Endgruppe anschließend hydriert. Offen ist allerdings auch hier noch die genaue Reihenfolge der einzelnen Biogeneseschritte, so kann evtl. die Bildung der Endgruppe bereits bei **12** erfolgen; in *Oenanthe*-Arten kommen praktisch alle denkbaren Variationen vor⁴⁾.

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

Beschreibung der Versuche

Die zu verfütternden markierten Substanzen wurden in 0,5 ccm Baumwollsaatöl gelöst, unter Zusatz von Saccharosemonostearat in Wasser emulgiert und die intakten Pflanzen bis zur Aufnahme der Emulsion eingestellt (24–48 Stdn.). Anschließend zerkleinerte man das Pflanzenmaterial und extrahierte zweimal mit Äther/Petroläther (1 : 1). Die Extrakte wurden zunächst durch Säulenchromatographie und dann durch Dünnschichtchromatographie aufgetrennt. Für die Aktivitätsbestimmungen benutzte man den Beckman-Szintillationszähler.

[2-³H] Ölsäure-methylester ([2-³H]-1): 23,6 g *Hexandiol-(1.6)* in 400 ccm CHCl₃ versetzte man mit 750 mg *p-Toluolsulfonsäure* und 16,8 g *Dihydropyran*. Nach 15stdg. Rühren rührte man 4 Stdn. mit 1,1 g Natriumcarbonat, filtrierte und chromatographierte den Eindampfrückstand an Al₂O₃. Mit Äther/Petroläther (1 : 6) eluierte man 18,9 g *Hexandiol-(1.6)-[1-tetrahydropyranyl-(2)-äther]*. 15 g des Carbinols in 150 ccm absol. Äther rührte man mit 28 g gepulvertem KOH und tropfte in 2 Stdn. 16,9 g *p-Toluolsulfochlorid* in 150 ccm absol. Äther hinzu. Nach 14stdg. Rühren wurde filtriert und der Eindampfrückstand in 200 ccm Aceton mit 27,8 g *Natriumjodid* 60 Min. gerührt. Nach Filtrieren wurde eingedampft und der erhaltene *6-Jod-hexanol-(1)-tetrahydropyranyläther* (Ausb. 81%) ohne weitere Reinigung weiter umgesetzt. 10 g der Jodverbindung tropfte man zu *Lithiumacetylid* (aus 280 mg Lithium) in 200 ccm flüss. *Ammoniak*. Nach 12stdg. Rühren versetzte man mit Ammoniumchlorid und nahm nach Verdampfen des Ammoniaks in Äther auf. Den Eindampfrückstand reinigte man durch Chromatographie an Al₂O₃. Mit Petroläther/Äther (100 : 1) eluierte man 3,94 g *Octin-*

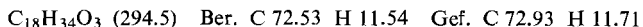
⁴⁾ F. Bohlmann und K.-M. Rode, Chem. Ber. **101**, 1163 (1968).

(1)-ol-(8)-tetrahydropranyläther (58.7%). Diesen löste man in 20 ccm absol. THF und tropfte zu Lithiumamid (aus 230 mg Lithium) in 180 ccm flüss. Ammoniak. Nach 1 Stde. versetzte man mit 3.59 g *n*-Octylbromid in 20 ccm absol. THF und erhielt nach 12stdg. Rühren 3.79 g Hexadecin-(7)-ol-(1)-tetrahydropranyläther (65%). Man löste in 50 ccm CH₃OH und erhitzte mit 3 ccm 2*n* H₂SO₄ 1 Stde. zum Sieden. Nach Zugabe von Wasser nahm man in Äther auf und destillierte den Eindampfrückstand i. Vak., Sdp._{0.01} 100–105°, Ausb. 88%. 450 mg des erhaltenen Hexadecin-(7)-ols-(1) in 2.2 ccm absol. Äther und 0.05 ccm Pyridin versetzte man bei 0° mit 0.11 ccm PBr₃ in 1 ccm Äther. Anschließend erhitzte man noch 3 Stdn. zum Sieden und destillierte das Reaktionsprodukt i. Vak., Sdp._{0.3} 100°, Ausb. 63% 1-Brom-hexadecin-(7).

Zu einer Natriummalonester-Lösung (aus 155 mg Natrium und 1 ccm Malonester in 8 ccm Äthanol und 3 ccm *n*-Butanol) tropfte man 1 g 1-Brom-hexadecin-(7) in 5 ccm absol. Äther und erhitzte 10 Stdn. zum Sieden. Das Reaktionsprodukt verseifte man mit 60proz. alkoholischer KOH-Lösung durch 6stdg. Erhitzen. Die isolierte Hexadecin-(7)-yl-malonsäure (996 mg) löste man in 4 ccm Dioxan und rührte 8 Stdn. bei 80° mit 0.222 ccm ³H₂O (Akt. 4.93 · 10¹¹ tpm). Nach Eindampfen erhitzte man bei 0.15 Torr auf 170°. Die erhaltene Stearolsäure veresterte man mit Diazomethan und hydrierte in Methanol mit Lindlar-Katalysator zu [2-³H]Ölsäure-methylester, Ausb. 37%, bezogen auf 1-Brom-hexadecin-(7), Gesamtakt. 5.8 · 10¹⁰ tpm, identisch mit inaktivem Material (DC, IR- und NMR-Spektrum).

β-Hydroxy-[2-³H]ölsäure ([2-³H]-3): Zur siedenden Lösung von 2.46 g Hexadecin-(7)-ol-(1) und 5.97 g Dicyclohexylcarbodiimid in 20 ccm absol. Äther tropfte man 484 mg kristallisierte Phosphorsäure in 3.3 ccm Dimethylsulfoxid. Nach 5stdg. Erhitzen zum Sieden versetzte man mit verd. Schwefelsäure, nahm in Äther auf und destillierte den Eindampfrückstand i. Vak., Sdp._{0.3} 80–82°, Ausb. 49% Hexadecin-(7)-al-(1).

804 mg [2-³H]Bromessigsäure-äthylester⁵⁾ löste man in 5 ccm absol. Benzol und 5 ccm absol. Äther. Zu 275 mg Zinkspänen gab man unter Rühren 6 ccm der obigen Lösung zusammen mit 527 mg Hexadecin-(7)-al-(1) in 2 ccm absol. Äther⁶⁾. Man destillierte den Äther ab und versetzte mit einem Körnchen Jod. Nach Anspringen der Reaktion erwärmte man noch 1 Stde. zum Sieden, versetzte mit 200 mg Zink und 2 ccm der Bromessigsäure-Lösung und erwärmte nochmals 2 Stdn. zum Sieden. Anschließend zersetzte man mit verd. Schwefelsäure, nahm in Äther auf, wusch neutral und dampfte die getrocknete Ätherlösung ein. Der Rückstand kristallisierte im Eisschrank und zerfloß bei Raumtemp. Ausb. 99% β-Hydroxy-stearolsäure-äthylester. 689 mg des Esters verseifte man mit 50 ccm 2proz. methanol. KOH-Lösung durch 3stdg. Erhitzen zum Sieden. Man erhielt 406 mg β-Hydroxy-stearolsäure, Schmp. 66° (aus Petroläther). 390 mg der Säure hydrierte man in Methanol mit Lindlar-Katalysator. Farblose Kristalle aus Petroläther, Schmp. 44°. Ausb. 83%, Akt. 3.9 · 10¹⁰ tpm.



Verfütterung von [2-³H]-1 an *Artemisia atrata* Lam.: 50 mg [2-³H]-1 (1.3 · 10¹⁰ tpm/mMol) wurden an intakte Pflanzen verfüttert. Der Extrakt der zerkleinerten Wurzeln (250 g) ergab nach Auftrennung 96 mg 10⁷⁾. Dieses wurde in 11 übergeführt⁷⁾ und die erhaltene sorgfältig gereinigte Methoxyverbindung (spez. Akt. 1.9 · 10⁶ tpm/mMol) in Petroläther ozonisiert. Den erhaltenen Formaldehyd isolierte man als Dinitrophenylhydrazon, gelbe Kristalle, Schmp. 165°, Ausb. 50%, spez. Akt. 1.7 · 10⁶ tpm/mMol.

⁵⁾ H. Schütte, Radioaktive Isotope in der organischen Chemie und Biochemie, Verlag Chemie, Weinheim/Bergstr. 1966.

⁶⁾ Analog E. Jenny und C. Grobs, Helv. chim. Acta 36, 1936 (1953).

⁷⁾ F. Bohlmann, C. Arndt, H. Bornowski, H. Jastrow und K.-M. Kleine, Chem. Ber. 95, 1320 (1962).

Verfütterung von [2-³H]-3 an Artemisia atrata Lam.: Die Verfütterung von 50 mg [2-³H]-3 ($4.6 \cdot 10^{10}$ tpm/mMol) ergab 50 mg **10**, das wiederum in **11** übergeführt wurde, spez. Akt. $1.2 \cdot 10^6$ tpm/mMol. Das daraus nach Ozon-Abbau erhaltene *Hydrazon*, Schmp. 165°, zeigte eine spez. Akt. von $0.92 \cdot 10^6$ tpm/mMol.

Verfütterung von [2-³H]-3 an Artemisia vulgaris L.: Nach Verfütterung von 50 mg [2-³H]-3 isolierte man *Centaur X₃* (**6**)⁸⁾, das man in 53 mg Addukt **7**⁸⁾ überführte, farblose Kristalle aus Äther, Schmp. 145°, spez. Akt. $3.2 \cdot 10^6$ tpm/mMol. Das nach Abbau in 45proz. Ausb. erhaltene *Formaldehyd-dinitrophenylhydrazon* vom Schmp. 165° zeigte eine spez. Akt. von $1.54 \cdot 10^6$ tpm/mMol (bei der Isolierung von Formaldehyd treten stets durch Austausch Tritiumverluste auf).

Verfütterung von [2-³H]-3 an Oenanthe pimpinelloides L.: Die Verfütterung von 50 mg [2-³H]-3 ergab nach dünn-schichtchromatographischer Reinigung des Blattextraktes (600 g) 70 mg *Oenantholacetat* (**15**)⁴⁾ mit einer spez. Akt. von $2.6 \cdot 10^4$ tpm/mMol.

Zur weiteren Reinigung wurde **15** zum entsprechenden *Alkohol* verseift. Nach Dünnschichtchromatographie (Äther/Petroläther 1 : 1) erhielt man 15 mg *Alkohol* (spez. Akt. $2.48 \cdot 10^4$ tpm/mMol). Dieser wurde in 5 ccm Äther mit 150 mg *MnO₂* 2 Stdn. gerührt und der erhaltene *Aldehyd* durch Dünnschichtchromatographie (Äther/Petroläther 1 : 10) gereinigt, Ausb. 50%, spez. Akt. $2.45 \cdot 10^4$ tpm/mMol.

⁸⁾ F. Bohlmann, E. Inhoffen und P. Herbst, Chem. Ber. **90**, 124 (1957).