

40. Über die Konstitution des Biflorins, eines *o*-Chinons der Diterpen-Reihe

von J. Comin¹⁾, O. Gonçalves de Lima²⁾, Heather N. Grant³⁾,
L. M. Jackman⁴⁾, W. Keller-Schierlein und V. Prelog

(7. XII. 62)

Das aus *Capraria biflora* L. isolierte *o*-Chinon Biflorin, $C_{20}H_{20}O_3$, ist bemerkenswert wegen seiner langwelligen Absorption im Sichtbaren⁵⁾. Es schien uns deshalb interessant, die Konstitution dieser Verbindung und besonders auch ihren Chromophor zu bestimmen.

Das Biflorin lässt sich in Alkohol mit Platinoxid-Katalysator hydrieren, wobei zuerst unter Aufnahme von 1 Mol. Wasserstoff das Chinon in das entsprechende Brenzkatechin übergeführt wird. Dann wird eine weitere Mol. Wasserstoff noch relativ rasch aufgenommen, worauf eine dritte Mol. langsamer angelagert wird. Die Hydrierungsprodukte werden sehr leicht durch Luft oxydiert und gehen dabei zurück in die entsprechenden Chinone. Durch Hydrierung mit 2 Mol. Wasserstoff lässt sich so ein Dihydrobiflorin, $C_{20}H_{22}O_3$, erhalten, während die Hydrierung mit 3 Mol. Wasserstoff ein Tetrahydrobiflorin, $C_{20}H_{24}O_3$, liefert. Wenn man die Hydrierung mit 3 Mol. Wasserstoff in Acetanhydrid ausführt und das Hydrierungsprodukt in Abwesenheit von Luft durch Zugabe von Pyridin sofort acetyliert, entsteht ein Di-O-acetyl-hexahydrobiflorin, $C_{24}H_{30}O_5$.

Aus den Absorptionsspektren der Hydrierungsprodukte von Biflorin im UV. und im Sichtbaren liessen sich wichtige Schlüsse in bezug auf seine Konstitution ziehen. Während sich das Absorptionsspektrum des Dihydrobiflorins von demjenigen des Biflorins kaum unterscheidet (Fig. 1, Kurve 1), ist dasjenige des Tetrahydrobiflorins (Fig. 1, Kurve 2) ähnlich dem Spektrum der Naphtochinone-(1,2) und besonders demjenigen des β -Methyl-dihydropyrano-naphtochinons-(1,2) (Fig. 1, Kurve 2a)⁶⁾. Wir nahmen deshalb an, dass im Biflorin eine vom chromophoren System isolierte Doppelbindung vorliegt, die im Dihydrobiflorin abgesättigt ist. Das Tetrahydrobiflorin wäre demnach ein Naphtochinon-(1,2)-Derivat; im chromophoren System des Biflorins und des Dihydrobiflorins ist das Naphtochinon-(1,2)-System offenbar mit einer Doppelbindung konjugiert.

Durch Ozonisierung des Biflorins entsteht Aceton, welches als 2,4-Dinitrophenylhydrazon gefasst und identifiziert werden konnte. Unter gleichen Bedingungen bildet

¹⁾ Stipendiat des CONSEJO NACIONAL DE INVESTIGACIONES CIENTÍFICAS Y TÉCNICAS von Argentinien.

²⁾ INSTITUTO DE ANTIBIÓTICOS, UNIVERSIDADE RECIFE, Pernambuco, Brasilien.

³⁾ Stipendiatin des DEPARTMENT OF INDUSTRIAL AND SCIENTIFIC RESEARCH von Grossbritannien.

⁴⁾ Austauschdozent Imperial College, London – Eidg. Technische Hochschule, Zürich, Mai 1961.

⁵⁾ O. GONÇALVES DE LIMA, W. KELLER-SCHIERLEIN & V. PRELOG, *Helv.* 41, 1386 (1958).

⁶⁾ M. G. ETLINGER, *J. Amer. chem. Soc.* 72, 3091 (1950).

sich aus Dihydrobiflorin kein Aceton. Die isolierte Doppelbindung liegt somit in einer Teilstruktur $(\text{CH}_3)_2\text{C}=\text{C}$ vor. Es sei an dieser Stelle erwähnt, dass das Biflorin bei der Oxydation mit Chrom(VI)-oxid nach KUHN-ROTH 1,8–2,2 Mol. Essigsäure lieferte, das Tetrahydrobiflorin gab sogar 2,5 Mol. Essigsäure. Eine papierchromatographische Untersuchung zeigte, dass die bei der Oxydation des Biflorins nach KUHN-ROTH entstandene Essigsäure keine homologen Säuren enthielt. Da ein $(\text{CH}_3)_2\text{C}$ -Rest weniger als 1 Mol. Essigsäure liefert, müssen im Biflorin insgesamt 4 C-Methyle in einem Gerüst von 20 Kohlenstoffatomen vorliegen. Dies war der erste Hinweis darauf, dass es sich um ein Diterpen handeln könnte.

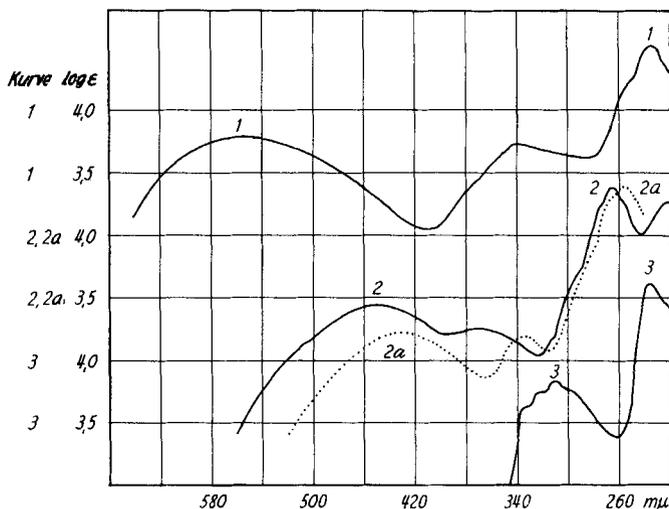


Fig. 1. UV- und sichtbare Absorptionsspektren der Hydrierungsprodukte des Biflorins
Kurve 1: Dihydrobiflorin (IV); Kurve 2: Tetrahydrobiflorin (V); Kurve 2a: β -Methyl-dihydroprano-naphthochinon-(1,2); Kurve 3: Di-O-acetyl-hexahydrobiflorin (VI)

Durch eine energische Oxydation des Biflorins mit verd. Salpetersäure entstand die Benzol-1,2,3,4-tetracarbonsäure, welche als Tetramethylester I durch Vergleich mit einem authentischen Präparat identifiziert wurde. Das Naphtochinon-(1,2)-Gerüst ist somit im Biflorin entweder in 5,6- oder in 7,8- oder in 5,8-Stellung mit Kohlenstoff substituiert.

Die Analyse der NMR.-Spektren des Biflorins und seiner Hydrierungsprodukte erlaubte nun, zusammen mit den erwähnten chemischen Ergebnissen, die Konstitution des Biflorins abzuleiten⁷⁾. Im Spektrum des Biflorins (Fig. 2, Kurve 1) findet man leicht Signale, welche vier Methylgruppen anzeigen. Die zwei Singlette δ 2,70 (3 H) und 1,94 (3 H), deren Lage im Spektrum des Dihydrobiflorins (Fig. 2, Kurve 2) und des Tetrahydrobiflorins (Fig. 2, Kurve 3) praktisch unverändert ist, sind einer

⁷⁾ Die chemischen Verschiebungen δ in ppm sind bezogen auf $\delta(\text{CH}_3)_4\text{Si} = 0$, die Kupplungskonstanten J sind angegeben in cps. Vergleichswerte findet man in L. M. JACKMAN, Application of Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy in Organic Chemistry, Pergamon Press, London 1959.

Methylgruppe am Benzolkern und einer Methylgruppe am Chinonring des Naphtochinon-(1,2)-Gerüsts zuzuschreiben. Zwei Dublette δ 1,55 (3 H, $J = 1,5$) und 1,71 (3 H, $J_* < 1$) kann man auf eine Teilstruktur $(\text{CH}_3)_2\text{C}=\text{C}$ zurückführen, deren Anwesenheit durch die Entstehung des Acetons bei der Ozonisierung des Biflorins nachgewiesen wurde. Bei der Absättigung der ersten Doppelbindung verschwinden

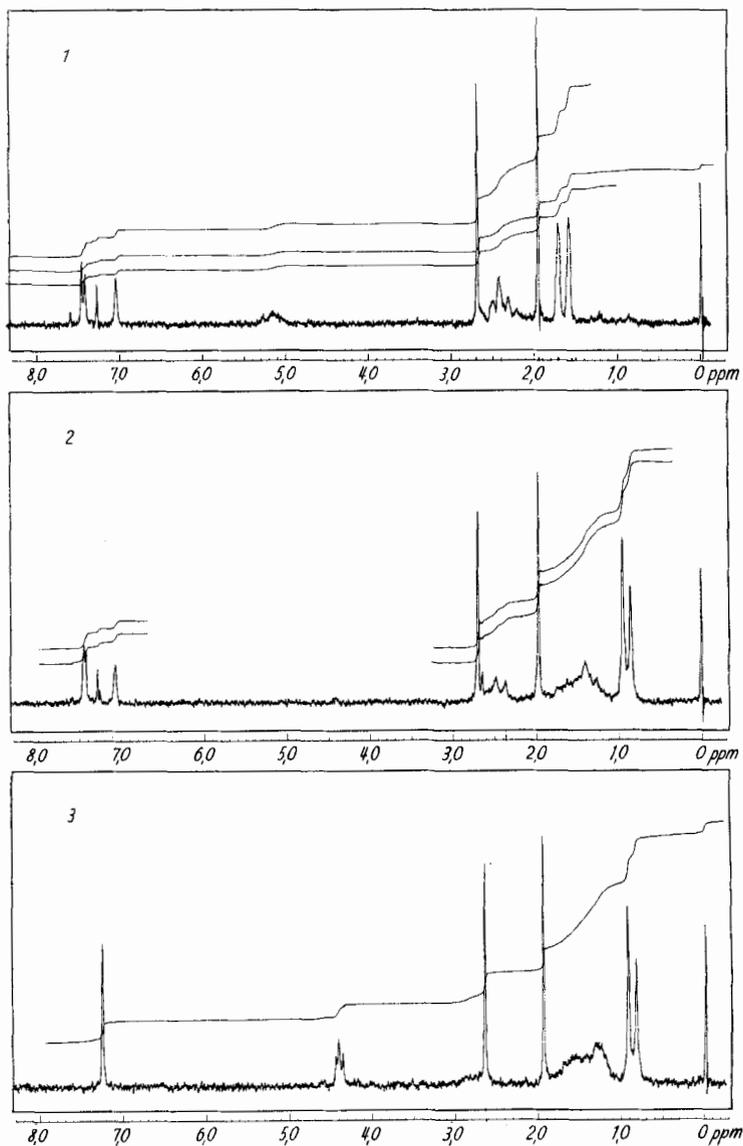


Fig. 2. NMR.-Spektren des Biflorins und seiner Hydrierungsprodukte
Kurve 1: Biflorin; Kurve 2: Dihydrobiflorin; Kurve 3: Tetrahydrobiflorin

die beiden Dublette; ein neues Dublett δ 0,90 (6 H, $J = 7$) zeigt die Anwesenheit der Gruppe $(\text{CH}_3)_2\text{CH}$ in den Hydrierungsprodukten an. Der Dublett-Charakter der beiden Signale, welche den Methylgruppen an der Doppelbindung zugeordnet sind, und ein breites Signal mit dem Schwerpunkt δ 5,15 (1 H), welches in den Spektren der Hydrierungsprodukte fehlt, zeigen, dass an der Doppelbindung ein Proton sitzt. Ein symmetrisches Multiplett mit dem Schwerpunkt δ 2,4 (4 H) und das Fehlen von Methylen- und Methin-Signalen zwischen δ 1 und 2 weisen darauf hin, dass im Biflorin eine Kette $\text{C}=\text{CCH}_2\text{CH}_2\text{C}=\text{C}$ vorliegt. Nach der Absättigung der ersten Doppelbindung findet man an der letzterwähnten Stelle nur noch ein 2 Protonen entsprechendes Signal, und es bildet sich gleichzeitig ein 5 Protonen entsprechender Signalhaufen δ 1 bis 2. Nach Absättigung der zweiten Doppelbindung verschwindet das Multiplett δ 2,4 vollständig, das Integral des Signalhaufens δ 1 bis 2 entspricht jetzt 7 Protonen. Ein Singlett δ 7,05 (1 H) im Biflorin- und Dihydrobiflorin-Spektrum zeigt die Teilstruktur $\text{C}=\text{CH}-\text{O}$. Im Tetrahydrobiflorin-Spektrum findet man dann erwartungsgemäss ein Multiplett δ 4,4 (2 H), entsprechend der Teilstruktur $\text{CH}-\text{CH}_2-\text{O}$. Alle diese Tatsachen bilden zusammen einen hinreichenden Grund für die Annahmen, dass im Biflorin ein zweiwertiger $\text{C}_5\text{H}_{12}\text{O}$ -Rest mit der Konstitution II vorliegt.

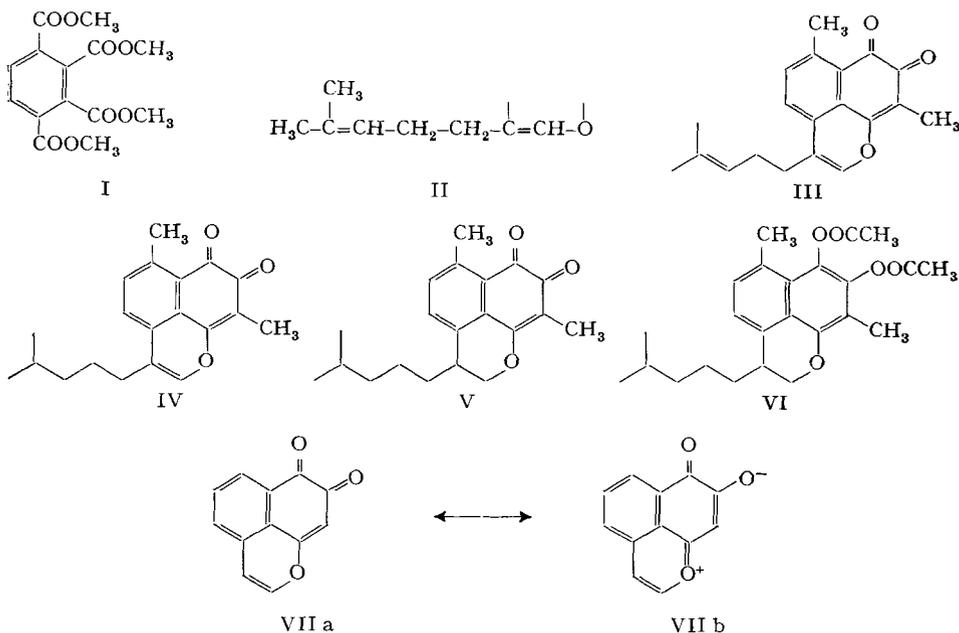
Es bleibt nun die Aufgabe übrig, diesen Rest sowie zwei Methylgruppen am Naphtochinon-(1,2)-Gerüst zu lokalisieren. Der Sauerstoff des Restes II kann wegen der Bildung der Benzol-1,2,3,4-tetracarbonsäure bei der Oxydation des Biflorins nur am Chinonring hängen, und zwar nur am C-4, da am Chinonring noch eine Methylgruppe untergebracht werden muss. Für die Bindung am Kohlenstoff des Restes II kommt somit nur noch C-5 als Verknüpfungsort in Betracht.

Die übriggebliebene Frage, ob die Methylgruppe am C-6 oder am C-8 des Naphtochinon-(1,2)-Gerüsts sitzt, lässt sich ebenfalls auf Grund der Analyse der NMR.-Spektren beantworten. Die Signale des *AB*-Systems δ 7,2 bis 7,5, welche den 2 aromatischen in *o*-Stellung stehenden Protonen entsprechen, liegen praktisch unverändert im Spektrum des Dihydrobiflorins vor. Im Spektrum des Tetrahydrobiflorins sieht man dagegen an dieser Stelle ein einziges Signal δ 7,25 (2 H), da die chemische Verschiebung für die beiden Protonen nach der Hydrierung der zweiten Doppelbindung fast gleich wird. Dies ist aber nur dann der Fall, wenn die bisher nicht lokalisierte Methylgruppe am C-8 sitzt und eines von den beiden aromatischen Protonen sich in der Nachbarschaft zur Doppelbindung befindet, welche im Tetrahydrobiflorin abgesättigt ist. Einen zusätzlichen Beweis dafür, dass sich die Methylgruppe am C-8 befindet, stellt die Tatsache dar, dass das Signal ihrer Protonen um 0,4 ppm bei niedrigerem Magnetfeld liegt als dasjenige der Protonen der Methylgruppe von Toluol. Eine solche Verschiebung ist zu erwarten, wenn sich die Methylgruppe in naher Umgebung einer Carbonylgruppe befindet und mit ihr koplanar ist⁷⁾.

Für das Biflorin ergibt sich daraus eindeutig die Konstitutionsformel III, für das Dihydrobiflorin IV, für das Tetrahydrobiflorin V und für das Di-O-acetylhexahydrobiflorin VI. Das Biflorin ist demnach ein *o*-Chinon, welches aus einer regelmässigen Kette von 4 Isopren-Einheiten aufgebaut ist. Chinone mit isoprenoiden

Seitenketten kommen oft in der Natur vor, dagegen sind Chinone, die nur aus Isopren-Einheiten aufgebaut sind, selten⁸⁾.

Ein besonderes Interesse beansprucht das 1-Oxa-phenalenchinon-(7,8)-System (VII), welches im Biflorin vorliegt. Dieses ist unseres Wissens bisher weder in der Natur gefunden noch synthetisch hergestellt worden. In der nachfolgenden Mitteilung ist die Synthese des 3,9-Dimethyl-1-oxa-phenalenchinons-(7,8) beschrieben. Dieses zeigt ein elektronisches Spektrum, welches mit demjenigen des Biflorins fast identisch ist, was als eine wichtige Stütze für die Richtigkeit der hier abgeleiteten Formeln betrachtet werden kann. Die langwellige Absorption und das hohe Dipolmoment⁹⁾ des Biflorins sind offenbar auf die mesomere Zwitterion-Struktur VII b des 1-Oxa-phenalenchinon-(7,8)-Systems zurückzuführen⁹⁾.



Experimenteller Teil¹⁰⁾

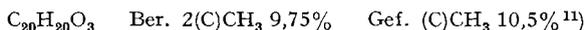
Biflorin (III). Das verwendete Präparat wurde nach der früher angegebenen Vorschrift⁵⁾ im INSTITUTO DE ANTIBIOTICOS DA UNIVERSIDADE RECIFE, Pernambuco, Brasilien, hergestellt. Das zur Analyse aus Hexan-Benzol-(1:1) umkristallisierte Muster war dünnschichtchromatographisch

⁸⁾ Ein solches Chinon ist z. B. Perezon. Vgl. R. H. THOMSON, *Naturally Occurring Quinones* Butterworths, London 1957, sowie W. D. OLLIS & I. O. SUTHERLAND in W. D. OLLIS, *Chemistry of Natural Phenolic Compounds*, Pergamon Press, London 1961.

⁹⁾ Vgl. dazu F. MATHYS, V. PRELOG & R. B. WOODWARD, *Helv.* 39, 1095 (1956).

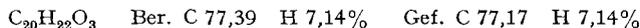
¹⁰⁾ Dünnschicht-Chromatographie wurde nach E. STAHL (*Chemiker-Ztg.* 82, 323 (1958); *Arch. Pharmaz.* 292/64, 411 (1959)) mit «Kieselgel G für Dünnschicht-Chromatographie MERCK» ausgeführt; für präparative Chromatographie wurde «Kieselgel unter 0,08 mm für Chromatographie MERCK» verwendet. Die Absorptionsspektren im UV. und Sichtbaren wurden mit einem BECKMAN Spektrographen Modell DJK, die IR.-Absorptionsspektren mit einem PERKIN-ELMER Spektrographen Modell 21, die NMR.-Spektren mit dem VARIAN-A-60-Spektrometer (60 MHz) aufgenommen.

(Benzol-Äthylacetat-1:1) rein, Rf = 0,51. – Absorptionsspektren im UV., Sichtbaren und IR. s. 5). NMR.-Spektrum (CDCl₃): Fig. 2, Kurve 1.

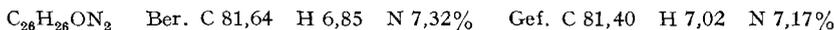


Eine papierchromatographische Untersuchung des neutralisierten Destillates mit dem Fließmittel Alkohol-Ammoniak-Wasser-8:1:1 zeigte nur einen einzigen Fleck, welcher der Essigsäure entsprach.

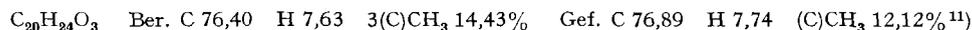
Dihydrobiflorin (IV). 300 mg Biflorin wurden in 30 ml abs. Alkohol mit vorreduziertem Katalysator aus 120 mg Platinoxid hydriert. Die ursprünglich tiefrote Lösung wurde nach Aufnahme von 1 Mol. Wasserstoff grünlich. Die Hydrierungsgeschwindigkeit nahm nach 1 Std., nachdem 2 Mol. Wasserstoff aufgenommen waren, deutlich ab. Die erhaltene Lösung, welche man vom Katalysator abfiltrierte, wurde an der Luft sofort wieder rot. Den Rückstand nach dem Eindampfen der Lösung chromatographierte man zweimal über 40 g Kieselgel mit Benzol-Äthylacetat-1:1 als Eluierungsmittel. Zuerst wurde etwas orangefarbiges Tetrahydrobiflorin eluiert, worauf das tiefrote Dihydrobiflorin folgte. Nach Umkristallisieren aus Äther erhielt man 100 mg reines Dihydrobiflorin, Smp. 118–120°. Absorptionsspektrum im UV. und Sichtbaren: Fig. 1, Kurve 1. NMR.-Spektrum (CDCl₃): Fig. 2, Kurve 2.



Chinoxalin-Derivat. Die auf übliche Weise⁵⁾ hergestellte rohe Verbindung aus 80 mg Dihydrobiflorin wurde an 40 g Kieselgel mit Benzol als Eluierungsmittel chromatographiert. Die ersten Eluate gaben nach zweimaligem Umlösen aus Hexan die reine Verbindung, Smp. 94–96°. Das Absorptionsspektrum im UV. und Sichtbaren (Feinsprit) ist praktisch identisch mit demjenigen des Chinoxalin-Derivates von Biflorin⁵⁾.

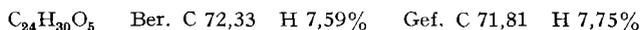


Tetrahydrobiflorin (V). 250 mg Biflorin wurden in 60 ml Alkohol mit vorreduziertem Katalysator aus 100 mg Platinoxid 5 Std. hydriert. Die fast farblose, vom Katalysator abfiltrierte Lösung hinterliess beim Eindampfen einen orangeroten Rückstand, der an 20 g Aluminiumoxid (Akt. III, neutral) chromatographiert wurde. Mit Benzol als Eluierungsmittel erhielt man 173 mg reines Tetrahydrobiflorin, welches nach Umlösen aus Hexan bei 96–97° schmolz, Rf (Benzol-Äthylacetat-1:1) = 0,71.



Absorptionsspektrum im UV. und Sichtbaren (Feinsprit): Fig. 1, Kurve 2. IR.-Absorptionsspektrum (KBr), 6 μ -Gebiet: 1687 (m), 1640 (s), 1614 (ss), 1585 (s) cm⁻¹. NMR.-Spektrum (CDCl₃): Fig. 2, Kurve 3.

Di-O-acetyl-hexahydrobiflorin (VI). 200 mg Tetrahydrobiflorin wurden in 15 ml Acetanhydrid mit 120 mg Platinoxid hydriert, bis die Lösung farblos geworden war. Der Hydrierungsapparat wurde mit Stickstoff gespült, das Gemisch mit einigen Tropfen Pyridin versetzt und 24 Std. bei Zimmertemperatur stehengelassen. Das Acetanhydrid wurde im Vakuum abdestilliert und der Rückstand an 50 g Kieselgel mit Benzol-Äthylacetat-1:1 chromatographiert. Die dünn-schichtchromatographisch reinsten Fraktionen wurden zusammen nochmals über 50 g Kieselgel chromatographiert, wobei man 150 mg eines farblosen Öls erhielt. Dieses zersetzte sich beim Destillieren im Hochvakuum und wurde zur Analyse bei 40° im Hochvakuum getrocknet. UV.-Absorptionsspektrum in Feinsprit: Fig. 1, Kurve 3.



Ozonisierung von Biflorin. Eine mit Aceton-Trockeneis gekühlte Lösung von 100 mg Biflorin in 2 ml Chloroform wurde mit Ozon gesättigt, mit 10 ml Ameisensäure und 5 ml 30-proz. Wasserstoffperoxid versetzt und über Nacht stehengelassen. Man gab darauf einige Körnchen Platinschwarz zu und rührte, solange sich Sauerstoff entwickelte. Die Lösung wurde darauf in einem

¹¹⁾ Bestimmt nach E. WIESENBERGER, Mikrochemie 33, 51 (1948).

Ölbad auf 110° erhitzt und die flüchtigen Produkte mit Stickstoff in eine Lösung von 2,4-Dinitrophenylhydrazin übergetrieben. Diese wurde mit Benzol erschöpfend extrahiert und der Extrakt an 5 g Aluminiumoxid chromatographiert. Die Fraktionen, welche nach dünnenschichtchromatographischer Untersuchung das *Aceton-2,4-dinitrophenylhydrazon* enthielten, wurden nochmals an 10 g Kieselgel mit Benzol-Chloroform-1:1 chromatographiert und aus Methanol umkristallisiert. Ausbeute 45 mg, Smp. 123–124°, keine Smp.-Erniedrigung mit einem authentischen Vergleichspräparat. Gef. C 45,43 H 4,36%.

Benzol-1,2,3,4-tetracarbonsäure-tetramethylester (I) aus Biflorin. 100 mg Biflorin wurden in 1 ml Salpetersäure (5 Teile rauch. Salpetersäure und 4 Teile Wasser) 20 Std. in einem Einschlußrohr auf 155° erhitzt. Die nach dem Erkalten des Gemisches ausgeschiedenen Kristalle wurden abfiltriert (55 mg, Smp. 244–247°), in 1,5 ml Methanol gelöst und mit überschüssiger ätherischer Diazomethan-Lösung versetzt. Nach Entfärben mit einigen Tropfen Essigsäure und Abkühlen schied sich der Tetramethylester in farblosen Kristallen vom Smp. 132–133° aus¹²⁾. Zur Analyse wurde aus Methanol umkristallisiert, wobei sich der Smp. nicht änderte; Ausbeute 44 mg.

$C_{14}H_{14}O_8$ Ber. C 54,19 H 4,55% Gef. C 54,08 H 4,62%

Das IR.-Absorptionsspektrum in KBr war identisch mit demjenigen eines authentischen Vergleichspräparates.

Die Analysen wurden in unserer mikroanalytischen Abteilung (Leitung W. MANSER) ausgeführt.

SUMMARY

Chemical and spectroscopic evidence leads to constitution III for the bluish-red antibiotic biflorin, $C_{20}H_{20}O_8$, obtained from *Capraria biflora* L.

Organisch-chemisches Laboratorium
der Eidg. Technischen Hochschule, Zürich

¹²⁾ F. GONZÁLEZ-SÁNCHEZ, *Tetrahedron* 1, 231 (1957).

41. Synthese eines 1-Oxa-phenalen-Derivates mit dem chromophoren System des Biflorins

von Heather N. Grant¹⁾, V. Prelog und R. P. A. Sneed²⁾

(7. XII. 62)

Für das Biflorin, ein natürliches *o*-Chinon der Diterpen-Reihe, welches eine auffallend langwellige Absorption im Sichtbaren zeigt, wurde in der vorhergehenden Mitteilung³⁾ die Konstitution I abgeleitet. Die aromatischen Grundkörper des Biflorins, das 1-Oxa-phenalen (II)⁴⁾ und das entsprechende 7,8-Chinon sowie ihre

¹⁾ Stipendiatin des DEPARTMENT OF SCIENTIFIC AND INDUSTRIAL RESEARCH von Grossbritannien.

²⁾ Leverhulme Fellow.

³⁾ J. COMIN, O. GONÇALVES DE LIMA, HEATHER N. GRANT, L. M. JACKMAN, W. KELLER-SCHIERLEIN & V. PRELOG, *Helv.* 46, 409 (1963).

⁴⁾ Benennung und Numerierung nach den von der Internationalen Union für reine und angewandte Chemie empfohlenen Grundsätzen; vgl. IUPAC Nomenclature of Organic Chemistry, Butterworths, London 1958, S.23, 65. Nach A. M. PATTERSON, L. T. CAPELL & D. F. WALKER, *The Ring Index*, 2nd Ed., American Chemical Society, Washington 1960, S.465, heisst der Grundkörper Naphto[1,8-bc]pyran.