

PHORBOL - EIN NEUES TETRACYCLISCHES DITERPEN AUS CROTONÖL.

E.Hecker, H.Kubinyi, Ch.v.Szczepanski, E.Härle und H.Bresch
Biochemisches Institut am Deutschen Krebsforschungszentrum,
Heidelberg

(Received 10 April 1965)

Die bisher rein dargestellten, toxisch, entzündlich und cocarcinogen hochaktiven Prinzipien des Crotonöls - die Wirkstoffe A1 (1) und B1 - B7 (2,3) - sind Diester des Grundalkohols Phorbol $C_{20}H_{28}O_6$ (4) mit jeweils einer kurzkettigen (Essig-, 2-Methylbutter- oder Tiglinsäure) und einer langkettigen Fettsäure (Capryl-, Caprin-, Laurin- oder Myristinsäure). Phorbol wurde auf das bisher unbekannte tetracyclische Diterpen Tiglian $C_{20}H_{34}$ zurückgeführt (4). Die erhobenen chemischen und physikalischen Befunde stehen mit der Struktur eines 5,8,11,17,20-Pentahydroxy- $\Delta^{2.13}$ -tigliadien-ons-(4) (I, vgl. Abb.1) für Phorbol in Einklang.

(I) liefert mit Acetanhydrid/Pyridin ein 5,8,20-Triacetat (1) sowie unter geeigneten Bedingungen die 5,8-, 5,20- und 8,20-Diacetate. Die tertiären Hydroxylgruppen an C-11 und C-17 werden mit Acetanhydrid/Pyridin nicht acetyliert (1). Die Acyloingruppierung in (I) läßt sich mit Fehling'scher Lösung und Tollens Reagenz nachweisen (vgl. auch (5,6)). Oxydation des 8,20-Diacetats mit CrO_3 führt zum 4,5-Diketon ($\lambda = 446$, massenspektrometrisch), dessen NMR-Spektrum für H-6 ein Quadruplett

bei 2,95 ppm ($J_{6,16} = 6,5$ Hz) zeigt. Reduktion der Carbonylgruppe mit Lithium-aluminiumhydrid (4,7-9) führt zu Phorbolol (II) $C_{20}H_{30}O_6$, Schmp. 222-225°, $[\alpha]_D^{24} + 54^\circ$ (2% i. Methanol), das im Gegensatz zu Phorbol (I) bei $\lambda > 210$ m μ keine UV-Absorption zeigt und Fehling'sche Lösung nicht reduziert.

Katalytische Hydrierung von (I)-Triacetat mit Pt in Methanol liefert ein 2,3,13,14-Tetrahydro-20-desoxy-phorbol-5,8-diacetat $C_{24}H_{36}O_7$, $[\alpha]_D^{24} + 131^\circ$, das im NMR-Spektrum das Dublett des Protons H-9 um $\delta = 0,65$ ppm ($J_{9,10} = 5,5-6,0$) zeigt.

Die CH_3 -Signale der Isopropoxygruppe in (I)-triacetat sowie den 5,8- und 8,20-Diacetaten liegen bei 1,20-1,37 ppm ($CDCl_3$ bzw. CCl_4). Als getrennte Singulets erscheinen sie in (I)-Derivaten mit freiem OH an C-8 und bei solchen δ -Acyl-derivaten, die gleichzeitig einen großen Säurerest an C-5 tragen.

Die Isopropoxygruppe läßt sich aus der ditertiären Glykolgruppierung mit Bleitetraacetat als Aceton abspalten (10). Behandlung von Phorbol-5,20-diacetat mit $POCl_3$ /Pyridin führt unter Erweiterung des Dreirings (Pinakolin-Umlagerung) zum entsprechenden α,α -Dimethyl-cyclobutanon, $\nu_{C=O} 5,67 \mu$.

Das allylische Hydroxyl an C-20 kann in den Wirkstoffen sowie im (I)-5,8-Diacetat mit aktiviertem Mangandioxyd zur α,β -ungesättigten Aldehydgruppierung oxydiert werden, z.B. B1-aldehyd $C_{37}H_{56}O_6$, $\lambda_{max} 233,5, 335$ m μ , $\epsilon_{max} 20000, < 500$. Sie läßt sich durch Umsetzung mit 2,4-Dinitrophenylhydrazin charakterisieren (2,7-9).

Dehydrierung bzw. Dehydratisierung von (I) bzw. (II)

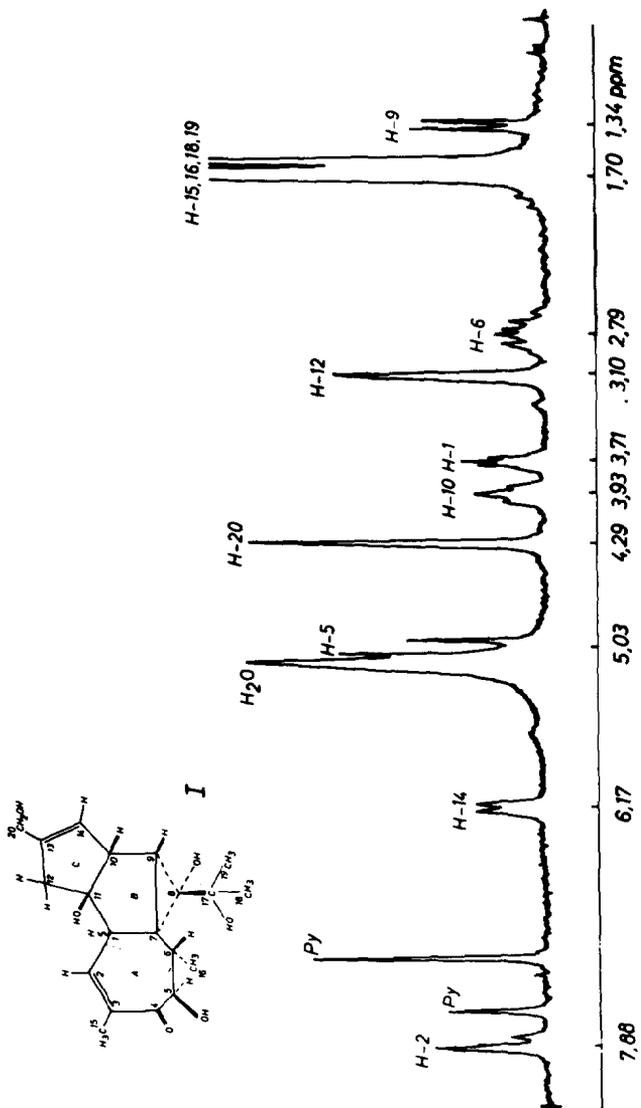


ABBILDUNG 1:

NMR-Spektrum des Phorbols in d_5 -Pyridin/ D_2O (Tetramethylsilan 0,00 ppm).

Herrn Dr. A. Melera, Varian Associates Zürich, sind wir für die Messung von NMR-Spektren und anregende Diskussionen zu Dank verbunden.

liefert ein Gemisch von mindestens 4 Azulenen ($\alpha, \beta, \gamma, \delta$) z.B. Azulene β $C_{16}H_{16}O$, $\delta_{\text{arom.H.}}$ = 6,96(S); 7,20(S); 7,76(S); 7,96(S) ppm.

In den NMR-Spektren von Phorbol (Abb.1) und seinen Derivaten sind die einzelnen Signale gut aufgelöst. Man kann bei Betrachtung aller gemessenen Spektren 28 Protonen unterscheiden, von denen 5 (OH-Signale) bei Behandlung mit D_2O verschwinden (Tab.1).

TABELLE 1:

NMR-Daten für die Protonen des Phorbols, gemessen in d_5 -Pyridin/ D_2O (Tetramethylsilan 0,00 ppm).

Protonen	δ in ppm	J in Hz
H-1	3,71	Triplet; $J_{1,15} = 1-2$ $J_{1,2} = 0,5-1,0$
H-2	7,88	Multiplett; $J_{1,2} = 0,5-1,0$ $J_{2,15} = 1-2$
H-5	5,03	Dublett; $J_{5,6} = 10,5-11,0$
H-6	2,79	Multiplett; $J_{5,6} = 10,5-11,0$ $J_{6,16} = 6,5$
H-9 ⁺)	1,34	Dublett; $J_{9,10} = 5,5-6,0$
H-10	3,93	Triplet; $J_{9,10} = 5,5-6,0$ $J_{10,14} = 5,5-6,0$
H-12	3,10	breites Singulett $J_{12,14} = 1-2$
H-14	6,17	breites Dublett $J_{12,14} = 1-2$ $J_{10,14} = 5,5-6,0$
H-20	4,29	Singulett
H-15,16,18,19	1,60-1,70	nicht auflösbar

⁺) in d_5 -DMSO : $\delta = 0,56$ ppm (1)

Die Methylgruppen (Tab.1) werden bei Messung in $\text{CDCl}_3/\text{D}_2\text{O}$ besser aufgelöst (Tab.2).

TABELLE 2:

NMR-Daten für die Methylgruppen des 6-Acetyl-phorbol-4'-Nitro-azobenzol-carbonsäure-(4)-esters-(5), gemessen in $\text{CDCl}_3/\text{D}_2\text{O}$ (Tetramethylsilan 0,00 ppm).

Protonen	δ in ppm	J in Hz
H-15	1,80	$J_{1,15} = 1-2$ $J_{2,15} = 1-2$
H-16	1,06	$J_{6,16} = 6,5$
H-18,19	1,27 und 1,43 ⁺)	

⁺) verschiedene Lage wegen eingeschränkter freier Drehbarkeit.

Die in Tab. 1 und 2 wiedergegebenen Kopplungskonstanten stehen im Einklang mit der für (I) angegebenen relativen Konfiguration. Die Festlegung der absoluten Konfiguration, d.h. der Stellung von H-1, ist mit den vorliegenden Daten nicht möglich.

Die von uns erstmals angegebene Partialstruktur des Wirkstoffes A1 (1,4) ist kürzlich von anderer Seite bestätigt worden (11). Der von diesen Autoren für den Grundalkohol $\text{C}_{20}\text{H}_{28}\text{O}_6$ diskutierte Strukturvorschlag steht jedoch im Widerspruch zu den hier mitgeteilten chemischen Befunden und physikalischen Daten. Auch die Struktur des früher postulierten aromatischen Hydrierungsprodukts (12), das aus uneinheitlichem Ausgangs-

material^{†)} erhalten wurde, ist bisher nicht zweifelsfrei bewiesen worden.

Literaturverzeichnis

- (1) E.Hecker, H.Bresch u. Ch.v.Szczepanski, Angew.Chem. 76, 225 (1964). Angew.Chem.internat.Edit. 3, 227 (1964).
- (2) E.Hecker, H.Kubinyi u. H.Bresch, Angew.Chem. 76, 889 (1964); Angew.Chem.internat.Edit. 3, 747 (1964).
- (3) E.Clark u. E.Hecker, Science, im Druck.
- (4) E.Hecker, H.Bresch u. J.G.Meyer. I.Weltfettkongreß, Hamburg 12.-18.10.64, Abstracts of Papers S.176, vgl.a. Fette-Seifen-Anstrichmittel 67, 78 (1965).
- (5) B.Flaschenträger, Zangger-Festschrift Zürich 1934, Bd.II, S.857.
- (6) Th.Kauffmann u. H.Neumann, Chem.Ber. 92, 1715 (1959).
- (7) E.Hecker u. H.Bresch, Z.f.Nat.forschg. 20b, 216 (1965).
- (8) E.Hecker u. H.Kubinyi, Z.f.Krebsf., im Druck.
- (9) E.Clark u. E.Hecker, Z.f.Krebsf., im Druck.
- (10) Th.Kauffmann, A.Eisinger, W.Jasching u. K.Lenhardt, Chem.Ber. 92, 1727 (1959).
- (11) E.R.Arroyo u. J.Holcomb, Chem. and Ind. 1965, 351.
- (12) B.L.van Duuren, E.Arroyo u. L.Orris, J.med.Chem. 6, 616 (1963).

^{†)} Anm.: Der letzte Satz der früheren Mitteilung (2) muß richtig lauten: Das Ausgangsmaterial der Hydrierung ist möglicherweise ein Gemisch der von uns erstmals isolierten reinen Naturstoffe B1 und B2.