

## ZUR KONSTITUTION DES FAGOPYRINS

Hans Brockmann und Helmut Lackner

Organisch-Chemisches Institut der Universität Göttingen

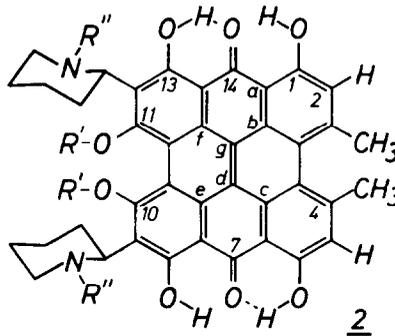
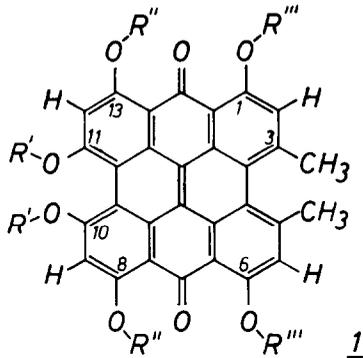
Tammannstraße 2, D-3400 Göttingen

Vor 29 Jahren hat eine Arbeitsgruppe unseres Institutes aus Buchweizenbluten das rote, rot fluoreszierende, photodynamisch wirksame <sup>1)</sup> Fagopyrin isoliert und nachgewiesen, daß es ein Derivat des gleichfalls photodynamisch aktiven Hypericumfarbstoffes Hypericin (1a) ist, an dem ein Molekülteil mit der provisorischen Summenformel  $C_{12}H_{22-24}N_2O_2$  hängt <sup>2)</sup>. Weiterhin konnte G Pampus zeigen, daß der Abbau von Fagopyrin zu 1a zwar nicht direkt mit HJ/P bzw. KJ/Phosphorsäure, wohl aber durch HJ/P-Hydrolyse des aus methyliertem Fagopyrin mit Dimethylsulfat erhaltenen quartären Methylammoniumsalzes oder durch Erhitzen von Fagopyrin mit Pyridiniumchlorid bzw. KOH (17%) in Glycol/Wasser gelingt. Bromierung des Fagopyrins in siedendem Eisessig ergab ein stickstoffreies, mit dem unter gleichen Bedingungen aus 1a gewonnenen Bromhypericin identisches Abbauprodukt. Diese und andere Befunde führten zu der Annahme, daß die 3- und 4-Methylgruppen von 1a im Fagopyrin durch zwei gleichartige  $-CH_2-[C_5H_8(CH_3)NO]$ -Reste ersetzt sind <sup>4)</sup>.

Zur Überprüfung dieser Formulierung wurde jetzt versucht, aus noch vorhandenem Rohfagopyrin <sup>2)</sup> über chromatographisch einheitliche Acetate <sup>5)</sup> reines Fagopyrin herzustellen. Die Umsetzung von Rohfagopyrin mit Acetanhydrid/Pyridin/20°C und kombinierte Chromatographie an  $CaSO_4$  und Kieselgel lieferte eine rote und mehrere gelbe Acetatfraktionen. <sup>1</sup>H-NMR-Spektren zeigten, daß nur die rote Fraktion einheitlich war, alle gaben jedoch ein  $CH_3(ar)$ -Singulett bei  $\delta$  2,7, was die obige Fagopyrinformel bereits widerlegte. Da die Uneinheitlichkeit der gelben Fraktionen dadurch bedingt sein konnte, daß bei der Aufarbeitung – insbesondere der Kieselgelchromatographie – peri-Acetoxyloxyse verseift werden, lag nahe, diese Reaktion selektiv und quantitativ vor der Adsorption an Kieselgel durchzuführen, d. h. zur Chromatographie Fagopyrinacetate mit freien peri-Hydroxylen einzusetzen.

Einen Weg zu solchen Acetaten zeigten Modellversuche mit Hypericinhexaacetat (1b), das in Eisessig/konz. Schwefelsäure (10 l, Vol.) bei Raumtemp. innerhalb von 10 min zu Hypericin-10,11-diacetat (1c) <sup>6)</sup> wurde. 1c, in Chloroform (Spektrum 4, Abb. 1) mäßig aber besser löslich und im DC/Kieselgel schneller wandernd als 1b, ließ sich in wasserhaltigem Pyridin – spektroskopisch gut verfolgbar – innerhalb 3 h zu 1a verseifen (Abb. 1, Kurve 2).

Analog reagierte Fagopyrin. Die an der  $CaSO_4$ -Säule am schnellsten wandernde Acetatfraktion lieferte unter gleichen Bedingungen wie bei 1b  $\rightarrow$  1c ein in Chloroform leicht lösli-



1a R', R'', R''' = H  
(Hypericin)

b: R', R'', R''' = Acetyl

c. R' = Acetyl,  
R'', R''' = H

2a: R', R'' = Acetyl

b: R', R'' = Benzoyl

c. R' = H, R'' = Acetyl

d: R', R'' = H

ches, rotes, rot fluoreszierendes Hydrolyseprodukt, das im Schichtchromatogramm [Oxalsäure-Kieselgel,  $\text{CHCl}_3/\text{CH}_3\text{OH}$  (97/3)] eine dunkelrote Hauptzone und darunter – gut abgetrennt – mehrere schwächere rote Zonen gab. Die Absorptionskurve des Hauptproduktes (Abb. 1, 3) ist praktisch deckungsgleich mit der von 1c (Abb. 1, 4), die Maxima sind um 7–11 nm längerwellig. Gleiches gilt für die langsameren Fraktionen. Aus den Analysenzahlen für das Hauptprodukt berechnet sich als kleinste Formel die eines Tetraacetates  $\text{C}_{48}\text{H}_{42}\text{N}_2\text{O}_{12}$  (838.9) – Ber. C 68.73 H 5.05 N 3.34 O 22.88 4  $\text{CH}_3\text{CO}$  20.5. Gef. C 68.54 H 5.35 N 3.21 O 22.55  $\text{CH}_3\text{CO}$  19.7. Danach liegt dem Tetraacetat ein Fagopyrin  $\text{C}_{40}\text{H}_{34}\text{N}_2\text{O}_8$  zugrunde, d. h. enthalte dieses zwei gleiche N-haltige Reste, so hatten sie die Summenformel  $\text{C}_5\text{H}_{10}\text{N}$ .

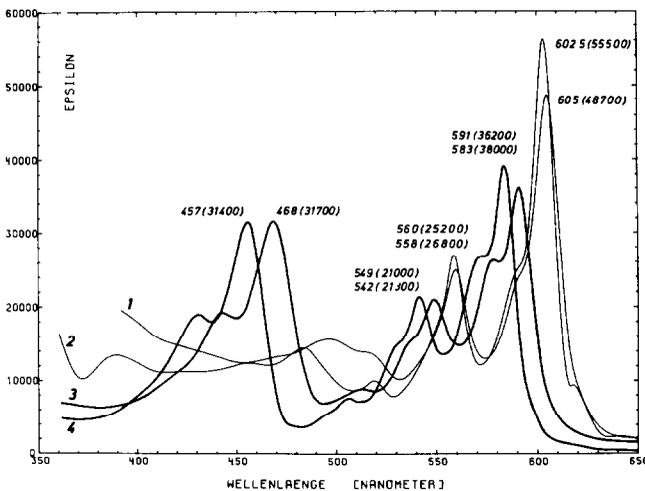


Abb. 1. Absorptionskurven

1. Fagopyrindiacetat (2c) in Pyridin<sup>+</sup>
2. Hypericin (1a) in Pyridin<sup>+</sup>
3. Fagopyrintetraacetat (2a) in  $\text{CHCl}_3$
4. Hypericindiacetat (1c) in  $\text{CHCl}_3$

<sup>+</sup> gemessen nach Beendigung der Acetylspaltung am 10- und 11-Hydroxyl, 2a → 2c bzw. 1c → 1a.

(Herrn Dr. H. Laatsch danken wir für die Aufzeichnung der Spektren.)

Die Absorptionskurve des Tetraacetates (Abb. 1, 3) änderte sich in wässrigem Pyridin schnell und war nach 3 h bei 20°C (Abb. 1, 1) praktisch deckungsgleich mit der des Rohfagopyrins ( $\lambda_{\text{max}}$  um 4 nm längerwellig) bzw. des Hypericins (Abb. 1, 2). Das als Hydrolyseprodukt zu erwartende Fagopyrin-N,N-diacetat  $\text{C}_{44}\text{H}_{38}\text{N}_2\text{O}_{10}$  (754.8) – Ber. N 3.71 2  $\text{CH}_3\text{CO}$  11.4 Gef. N 3.43  $\text{CH}_3\text{CO}$  10.6 – war aufgrund der freigesetzten 10/11-Hydroxyle wieder schwerer löslich und blieb im DC (Kieselgel,  $\text{CHCl}_3/\text{CH}_3\text{OH}$  - 97/3) am Start.

Beim Fagopyrinoctabenzoat <sup>3)</sup> verlief die Partialhydrolyse erwartungsgemäß langsamer als beim Octaacetat. Die an der  $\text{CaSO}_4$ -Säule am schnellsten wandernde Fraktion des benzoyleierten

Rohfagopyrins gab mit Eisessig/konz.  $\text{H}_2\text{SO}_4$  (5 l Vol., 14 h/20°C) ein rotes Hydrolysat, dessen Chromatogramm (Oxalsäure-Kieselgel,  $\text{CHCl}_3$  mit 0.6% Ethanol) dem des teilhydrolysierten Fagopyrinoctaacetates glich. Die Absorptionskurve des aus der Hauptzone isolierten Fagopyrintetra-benzoates war deckungsgleich mit der des Tetraacetates (Abb. 1, 3) und hatte die gleichen  $\lambda_{\text{max}}$ -Werte.

Weitere Einzelheiten über die Struktur der erhaltenen Tetraacylfagopyrine, vor allem bezüglich der Stellung und Art der N-haltigen Seitenketten, ließen sich den  $^1\text{H}$ - und  $^{13}\text{C}$ -NMR-Daten (Abb. 2) entnehmen. Die  $^1\text{H}$ -Spektren des Chromophorteils zeigen je ein – bei wechselseitiger Entkopplung deutlich verschärftes – Signal für 2 aromatische Protonen und 2  $\text{CH}_3$ -Gruppen, das beim Hypericin (1a) noch beobachtete 9  $^{12}\text{H}$ -Signal fehlt. Dementsprechend findet man in den  $^1\text{H}$ -entkoppelten  $^{13}\text{C}$ -Spektren nur ein scharfes C-H-Signal (Abb. 2, Peak 10) und eines für aromatische Methylene (Peak 3), wobei die Methylprotonen auch mit dem C-H-Kohlenstoff koppeln ( $J=4-3\text{ Hz}$ ). Daraus und aus den Befunden, daß Fagopyrin in Hypericin (1a) überführt und an den C-10/C-11-Hydroxylen acyliert werden kann, folgt, daß die jeweils äquivalenten aromatischen Wasserstoffe und die – im Gegensatz zur früheren Annahme<sup>4)</sup> – unsubstituierten Methylgruppen benachbart auf einer Molekülseite stehen und die Seitenketten mit C-9/C-12 verknüpft sind. Da außerdem für das ermittelte  $\text{C}_{40}$ -Kohlenstoffskelett des nicht acylierten Fagopyrins nur 20 scharfe  $^{13}\text{C}$ -Signale (Abb. 2, die übrigen 10 (+) gehören zu den N- und O-Benzoylresten) beobachtet werden, sollte das Gesamtmolekül (2) symmetrisch sein, also zwei identische Seitenketten enthalten.

Vergleiche der  $^1\text{H}$ - und  $^{13}\text{C}$ -Spektren von Fagopyrin-tetrabenzoat und -tetraacetat (Abb. 2) mit denen anderer Fagopyrin- und Hypericinderivate, verschiedene  $^1\text{H}$ -Homo- und Heteroentkopplungsexperimente sowie die Auswertung unentkoppelter und quantitativer  $^{13}\text{C}$ -Messungen ergaben,

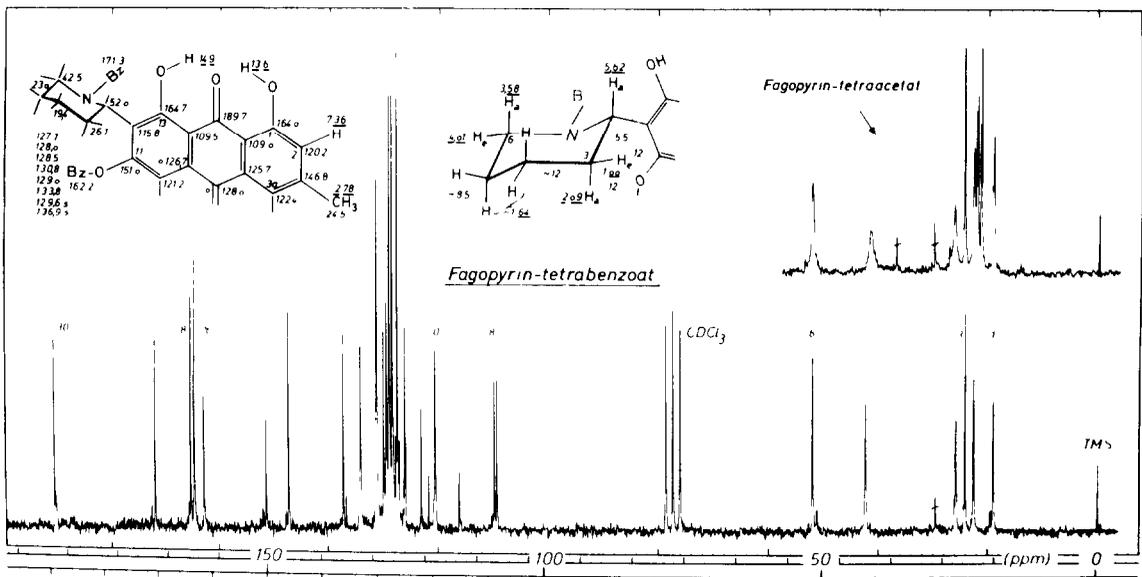


Abb. 2.  $^{13}\text{C}$ -NMR-Spektren des Fagopyrintetrabenzoates (2b) und des Fagopyrintetraacetates (2a, Ausschnitt der Seitenkettensignale) bei 25.2 MHz in  $\text{CDCl}_3$  und Daten der  $^1\text{H}$ -Spektren ( $\text{CDCl}_3$ ). - + Signale der Benzoylreste, o vorläufige Zuordnung eng benachbarter Signale.

daß die Seitenketten der Tetraacylfagopyrine neben dem acylierbaren Stickstoff – im Einklang mit der Elementaranalyse – jeweils 5 C-Atome (Peak 1, 2, 4, 5, 6) und 9 Wasserstoffe ( $\delta$ -Werte in Abb 2) enthalten. Sie verteilen sich auf 1 CH- (Peak 6) und 4 CH<sub>2</sub>-Gruppen, die man den  $\delta$ -Werten und vorläufigen Kopplungskonstanten nach am besten in einer 2-substituierten Piperidinstruktur (Abb 2, oben) anordnen kann. Daß einige  $\delta$ -Werte etwas von denen bekannter Piperidine abweichen, ist angesichts der gedrangten und komplexen sterischen Umgebung nicht überraschend. Das für den Piperidinrest ermittelte, noch unvollständige <sup>1</sup>H-Kopplungsschema deutet auf eine aquatoriale Verknüpfung mit dem Chromophor hin. Wie Abb 2 zeigt, sind die <sup>13</sup>C- ebenso wie die <sup>1</sup>H-Signale der Seitenketten (nicht die des Chromophors) vom Tetraacetat 2a erheblich breiter als die vom Benzoat 2b, auch scheinen im Acetat zwei unterschiedliche, beim Benzoat nicht beobachtete Konformere (u. a. 4 CH<sub>3</sub>CO-Signale – vgl. obere Kurve) vorzuliegen. Eine Erklärung dafür wäre, daß im Tetrabenzoat sowohl die Konformation der Piperidinringe als auch deren Einstellung bezüglich der Chromophorebene durch die voluminöseren Benzoylreste weit stärker als im Acetat fixiert werden. Die Zuordnung der <sup>13</sup>C-Signale in Abb 2 erfolgte hauptsächlich durch selektive <sup>1</sup>H-Entkopplung, Ermittlung von <sup>1</sup>H, <sup>13</sup>C-Fernkopplungen, Vergleiche mit Daten einiger Modellsubstanzen und durch Vermessung des 1,6,8-<sup>13</sup>O-Tetradeuterioderivates von 2b (Änderungen im Relaxationsverhalten D-naher C-Atome). Hierüber wird an anderer Stelle berichtet.

Alle chemischen und spektroskopischen Befunde deuten zur Zeit darauf hin, daß Tetraacylfagopyrine die Struktur 2a/2b haben, also am 10- und 11-Hydroxyl sowie an den beiden Stickstoffatomen acyliert sind, wobei man als Seitenketten zwei mit C-9 und C-12 des Hypericingerustes in  $\alpha$  verknüpfte Piperidinreste annehmen muß. Ob einem nativen Fagopyrin die sich hieraus ergebende Struktur 2d tatsächlich zukommt – mit der sich übrigens auch die eingangs erwähnten Abbaureaktionen erklären lassen –, kann erst entschieden werden, wenn reines Fagopyrin vorliegt. Bis dahin läßt sich nicht sicher ausschließen, daß bei der Umwandlung des nativen Fagopyrins in die Acylderivate unerwartete Nebenreaktionen eintreten.

#### REFERENCES

- 1) Die früher bei Pferden, Kühen, Schafen, Ziegen und Schweinen nach Verfütterung von frischem Buchweizen im Sonnenlicht aufgetretenen Hautschädigungen wurden durch Fagopyrin und seine ebenfalls fluoreszierende Vorstufe Protofagopyrin verursacht.
- 2) H. Brockmann, E. Weber und G. Pampus, Liebigs Ann. Chem. **565**, 53 (1952).
- 3) Die unter 2) angegebenen Analysenzahlen für Benzoyl- und p-Brombenzoyl-fagopyrin passen auf das Octabenzoat bzw. Octa-p-brombenzoat von Fagopyrin C<sub>40</sub>H<sub>34</sub>N<sub>2</sub>O<sub>8</sub>.
- 4) H. Brockmann, Fortschr. Chem. organischer Naturstoffe XIV, 141 (177) (1957).
- 5) Fagopyrinacetat wurde zuerst von G. Pampus dargestellt.
- 6) H. Brockmann, E. H. Frhr. von Falkenhausen, R. Neeff, A. Dorlars und G. Budde, Chem. Ber. **84**, 865 (885) (1951).

(Received in Germany 20 February 1979)