

## BEITRAG ZUR BIOGENESE DES $\alpha$ -TERTHIENYLS

K. E. SCHULTE, G. HENKE, G. RÜCKER und S. FOERSTER

Institut für pharmazeutische Chemie der Westfälischen Wilhelms-Universität Münster

(Received in Germany 8 August 1967; accepted for publication 21 August 1967)

**Zusammenfassung**—Durch Fütterungsversuche an *Tagetes patula* nana "E" und *T. erecta* fl. pl. konnte gezeigt werden: Bithienylbutinen ist nicht die Vorstufe des  $\alpha$ -Terthienyls, mit dem es zusammen in diesen Pflanzen vorkommt.

Dagegen besitzt die Pflanze die Fähigkeit, aus dem bisher nicht aufgefundenen Bithienylbutadiin Bithienylbutinen, Bithienylbutinolacetat und  $\alpha$ -Terthienyl zu bilden.

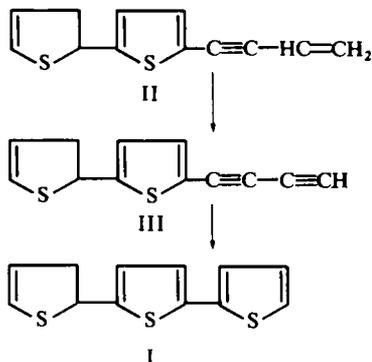
Für das bisher unbekannte Bithienylbutadiin wird eine Synthese beschrieben.

**Abstract**—Feeding experiments with *Tagetes patula* nana "E" and *T. erecta* fl. pl. proved that bithienylbutinene is not the precursor of  $\alpha$ -terthienyl which has been found in the same plants.

These plants, however, are able to synthesize bithienylbutinene, bithienylbutinolacetate and  $\alpha$ -terthienyl from bithienylbutadiene which has not yet been found.

A synthesis of bithienylbutadiene which was unknown is described.

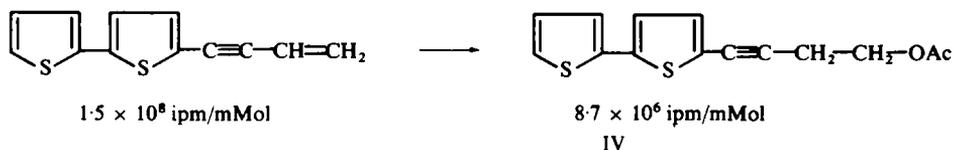
NEBEN  $\alpha$ -Terthienyl (I) ist aus verschiedenen *Tagetes*-Arten Bithienylbutinen (II) isoliert worden.<sup>1</sup> Dieser Befund gab Anlass zu der Vermutung, dass  $\alpha$ -Terthienyl aus Bithienylbutinen gebildet wird, wobei der Ringschluss über das bisher unbekannte Bithienylbutadiin (III) ablaufen könnte.



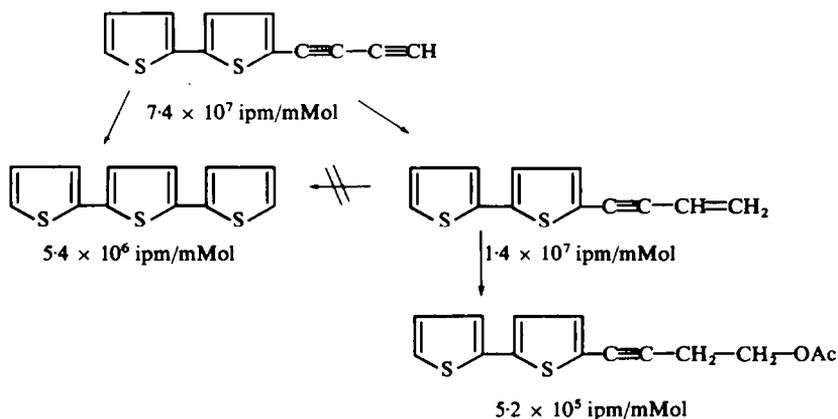
Früher<sup>2</sup> konnte gezeigt werden, dass in vitro die Bildung des Thiophenrings aus einer Diacetylengruppierung mit Schwefelwasserstoff oder SH-Donatoren, wie schwefelhaltigen Aminosäuren und Peptiden, sehr leicht erfolgt. Die Fähigkeit der Pflanzen, den Thiophenring ebenfalls aus einer Butadiin-Vorstufe zu bilden, konnte durch Isolierung von 2-C-14-[5-Propin-(1')-yl-thienyl-(2)]-acrylsäuremethylester aus *Chrysanthemum vulgare* nach Verfütterung von 2-C-14-Dehydromatricariaester nachgewiesen werden.<sup>3</sup>

Zur Abklärung des aufgezeigten Problems wurde an *T. patula* nana "E" und *T. erecta* fl. pl. S-35-Bithienylbutinen verfüttert, das durch Inkorporierung von

S-35- $\text{Na}_2\text{SO}_4$  und S-35-L-Cystein aus den Wurzeln dieser Tagetes-Arten gewonnen wurde. Alle Fütterungsversuche wurden während der Blütezeit durchgeführt, da in diesem Abschnitt der Vegetationsperiode der  $\alpha$ -Terthienyl-Gehalt der Wurzel stark ansteigt. Das nach der Verfütterung von S-35-Bithienylbutinen aus den Wurzeln isolierte  $\alpha$ -Terthienyl war inaktiv. Der Übergang: Bithienylbutinen  $\rightarrow$   $\alpha$ -Terthienyl findet nach diesem Ergebnis nicht statt. Dieser Befund steht im Widerspruch zu einer Beobachtung von Bohlmann *et al.*,<sup>4</sup> die nach der Verfütterung von 1,2-T-Tridecapentainen an *Echinops sphaerocephalus* neben aktivem Bithienylbutinen auch aktives  $\alpha$ -Terthienyl isoliert hatten. Wir halten es jedoch für nicht ganz ausgeschlossen, dass die geringe Aktivität des  $\alpha$ -Terthienyls durch Austausch zustande gekommen sein kann. Das in den Wurzeln ebenfalls vorkommende Bithienylbutinolacetat (IV) wies nach der Verfütterung von S-35-Bithienylbutinen eine spez. Aktivität von 5·8% der Vorstufe auf. Der Übergang von Bithienylbutinen in Bithienylbutinolacetat dürfte damit gesichert sein, zumal auch Bohlmann *et al.*<sup>5</sup> bei der Verfütterung von mit Tritium markiertem Bithienylbutinen an *Tagetes tenuifolia* zu dem gleichen Ergebnis gekommen sind.



Um zu klären, ob die Pflanze aus dem bisher nicht aufgefundenen Bithienylbutadiin (III)  $\alpha$ -Terthienyl zu bilden vermag, verfütterten wir C-14-markiertes Bithienylbutadiin an *T. patula nana* "E" und *T. erecta* pl. fl. Aus den Wurzeln wurden folgende aktive Verbindungen isoliert:  $\alpha$ -Terthienyl mit 5·3 bzw. 7·3% der spez. Aktivität der gefütterten Vorstufe, Bithienylbutinen mit 8 bzw. 19% und Bithienylbutinolacetat, dessen spez. Aktivität 4% der des Bithienylbutinens betrug. Daraus kann gefolgert werden, dass Bithienylbutadiin von der Pflanze in  $\alpha$ -Terthienyl übergeführt wird, vermutlich über eine aktivierte wasserlösliche Form; ob es die natürliche Vorstufe des  $\alpha$ -Terthienyls ist, bedarf einer weiteren Abklärung. Das Auffinden von aktivem Bithienylbutinen zeigt an, dass die Pflanze an die endständige Acetylgruppe Wasserstoff anzulagern vermag. Die gemessene Aktivität des Bithienylbutinolacetats steht mit dem Ergebnis der Fütterung von S-35-Bithienylbutinen in gutem Einklang.

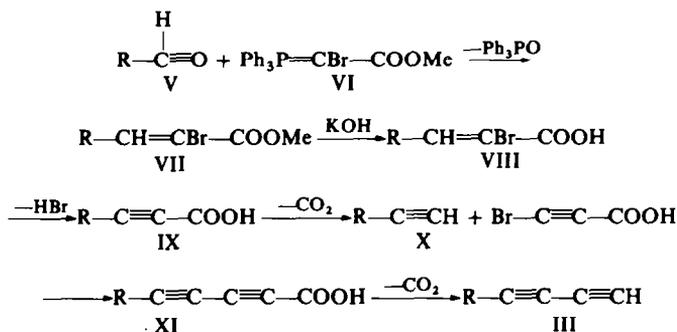


**Die Synthese des 2-C-14-1-[2',2''-Bithienyl-(5')]-butadiin**

5-Äthynyl-bithienyl-(2,2') (X) wurde nach Chodkiewicz<sup>6</sup> mit Brompropionsäure zur [2,2'-Bithienyl-(5')]-pentadiincarbonsäure (XI) gekuppelt und anschliessend nach Bohlmann, *et al.*<sup>7</sup> zum [2,2'-Bithienyl-(5')]-butadiin (III) decarboxyliert.

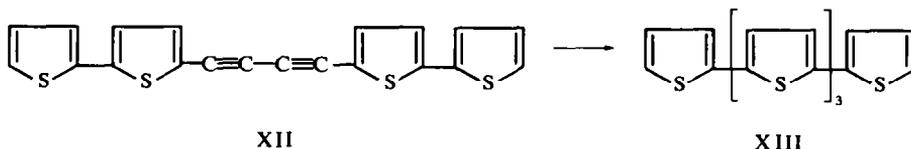
Daneben entsteht durch oxydative Dimerisierung von X als Nebenprodukt Bis-[2,2'-Bithienyl-(5')]-butadiin (XII).

Äthynyl-bithienyl wurde in 42%iger Ausbeute durch Decarboxylierung von [2,2'-Bithienyl-(5')]-propionsäure (IX) erhalten. IX war aus 5-Formyl-2,2'-bithienyl (V) und Triphenylphosphin-brom-carbomethoxymethylen (VI) und anschliessender HBr-Abspaltung der zunächst entstehenden  $\beta$ -[2,2'-Bithienyl-(5')]- $\alpha$ -bromacrylsäure (VIII) zugänglich.



R = Bithienyl-

Bithienylbutadiin ist ein sehr instabiles hellgelbes Öl, das nur in Lösung in der Kälte einige Zeit haltbar ist. Durch Anlagerung von Schwefelwasserstoff entsteht aus ihm  $\alpha$ -Terthienyl.



Auf dem gleichen Wege wurde XII in  $\alpha$ -Pentathienyl (XIII) überführt. Ein in 2-Stellung der Seitenkette mit C-14 markiertes Bithienylbutadiin wurde durch Einsatz von 2-C-14-Triphenylphosphin-brom-carbomethoxymethylen, das aus Triphenylphosphin und 2-C-14-Bromessigester leicht zugänglich ist, erhalten.

**EXPERIMENTELLER TEIL**

Die UV-Spektren wurden mit einem UV-Spektrometer der Firma Carl Zeiss GmbH, Modell RPQ 20 A, die IR-Spektren mit einem IR-Spektrographen der Firma Perkin Elmer, Modell 021, aufgenommen. Für die Messung der Aktivitäten stand ein Flüssigkeitsspektrometer der Firma Packard Instrument Company, Inc. Modell 314 EX, zur Verfügung. Die angegebenen Schmelzpunkte sind nicht korrigiert.

Die für die Fütterungsversuche verwendete Nährlösung enthielt in 1 Liter dest. Wasser: 2.8 g  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ ; 0.5 g  $\text{KNO}_3$ ; 0.5 g  $\text{K}_3\text{PO}_4$ ; 1.0 g  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ .

Bei der Verfütterung von S-35- $\text{Na}_2\text{SO}_4$  und S-35-L-Cystein wurde  $\text{MgSO}_4$  durch  $\text{MgCl}_2$  ersetzt. Die wasserunlöslichen Verbindungen S-35-Bithienylbutinen und C-14-Bithienylbutadiin wurden mit Tween 85 in Lösung gebracht.

Die zerkleinerten Wurzeln wurden mehrmals mit PAe (Sdp. 50–75°)/Äther (1:1) extrahiert. Die Auftrennung der eingeeigneten Extrakte erfolgte durch Chromatographie an  $\text{SiO}_2$  "Merck" (0.05–0.2 mm) und  $\text{Al}_2\text{O}_3$  (stand. n. Brockmann Akt. St. III–IV). Die Chromatographie der Bithienylbutadiin enthaltenden Extrakte wurde an  $\text{SiO}_2 + 5\% \text{AgNO}_3$  durchgeführt. Als Elutionsmittel diente PAe mit steigenden Zusätzen von Äther.

$\beta$ -[2'-2''-Bithienyl-(5')]- $\alpha$ -bromacrylsäure (VIII). 5 g (25.8 mMol) 5-Formyl-bithienyl-(2,2')<sup>8</sup> und 10.66 g (25.8 mMol) Triphenylphosphin-brom-carbomethoxymethylen<sup>9</sup> wurden in 150 ml abs. Benzol gelöst, 2 Std. auf 70° erwärmt und anschliessend noch 2 Std. am Rückfluss erhitzt. Das Benzol wurde i. Vak. entfernt und der Rückstand mit 75 ml MeOH, in dem 10 g KOH gelöst worden waren, 2 Std. zum Sieden erhitzt und über Nacht stehen gelassen. Beim Einengen der Lösung fiel das Kaliumsalz der Säure aus, das in siedendem Äthanol/Wasser (1:3) gelöst wurde. Beim Ansäuern mit HCl fielen 5.3 g (64.7% d. Th.) der Säure in orange-farbenen Nadeln aus, nach Umkristallisation aus MeOH/ $\text{H}_2\text{O}$  Schmp. 223° (Zers.). ( $\text{C}_{11}\text{H}_7\text{BrO}_2\text{S}_2$  (315.21): Ber: C, 41.92; H, 2.24; S, 20.34; Gef: C, 41.95; H, 2.32; S, 21.47%). IR-Spektrum (KBr): ~3000, 1670 (—COOH); 1580, 965 (*trans* —CH=CH—); 685 (*cis* —CH=CH—) und  $840 \text{ cm}^{-1}$  (2,5-Thiophen). UV-Spektrum (Benzol):  $\lambda_{\text{max}}$  (log  $\epsilon$ ) = 386 nm (4.4).

$\beta$ -[2'-2''-Bithienyl-(5')]-propionsäure (IX). 7.0 g (19.8 mMol) des Kaliumsalzes von VIII wurden in 160 ml Aceton und 140 ml 1.5 n KOH 8 Std. am Rückfluss erhitzt und über Nacht stehen gelassen. Nach dem Entfernen des Aceton i. Vak. fiel das Kaliumsalz der Bithienylpropionsäure aus. Zur Darstellung der freien Säure wurde wie bei VIII verfahren; 3.9 g (84% d. Th.) zitronengelbe Nadeln vom Schmp. 114° (Zers.). ( $\text{C}_{11}\text{H}_6\text{O}_2\text{S}_2$  (234.3): Ber: C, 56.39; H, 2.58; S, 27.37; Gef: C, 56.57; H, 2.74; S, 26.30%); IR-Spektrum (KBr): ~3000; 1650 (—COOH); 2200 (—C≡C—);  $840 \text{ cm}^{-1}$  (2,5-Thiophen). UV-Spektrum (Benzol):  $\lambda_{\text{max}}$  (log  $\epsilon$ ) = 353 nm (4.31).

5-Äthynyl-bithienyl-(2,2') (X). 0.5 g (2.14 mMol) IX wurden in 80 ml Aceton gelöst und mit 2 g fein gepulvertem  $\text{Cu}(\text{NH}_3)_4\text{SO}_4$  unter Stickstoff 25 Min. bei lebhaftem Rühren zum Sieden erhitzt. Die Lösung wurde filtriert, i. Vak. unter Stickstoff eingeeignet, mit Wasser verdünnt und mit PAe ausgezogen. Nach Reinigung durch Chromatographie an  $\text{Al}_2\text{O}_3$  wurden 163 mg (41% d. Th.) hellgelbes Öl erhalten; IR-Spektrum ( $\text{CCl}_4$ ): 3300 (—CH); 2100 (—C—C—) und  $840 \text{ cm}^{-1}$  (2,5-Thiophen); UV-Spektrum (PAe):  $\lambda_{\text{max}}$  = 322; 330 nm.

[2'-2''-Bithienyl-(5')]-butadiin (III). 327 mg (1.72 mMol) X, 3.5 mg  $\text{Cu}_2\text{Cl}_2$  und 43.2 mg  $\text{NH}_2\text{OH} \cdot \text{HCl}$  wurden in 3 ml MeOH aufgenommen und im Wasserbad auf 35–40° erwärmt. Unter Rühren wurden nacheinander bei 40° 0.38 ml 40%ige Äthylaminlösung und die mit 0.22 ml Äthylaminlösung neutralisierte Lösung von 259 mg (1.72 mMol) Brompropionsäure in 3.8 ml Lösungsmittel hinzugefügt. Nach 20 Min. wurde das Lösungsmittel i. Vak. entfernt, der Rückstand in 20 ml Aceton aufgenommen und nach Zusatz von 0.75 g fein gepulvertem  $\text{Cu}(\text{NH}_3)_4\text{SO}_4$  unter Rühren in der Siedehitze decarboxyliert. Nach Aufarbeitung und Reinigung wie bei X wurden 96 mg (26% d. Th.) gelbes Öl erhalten; IR-Spektrum ( $\text{CHCl}_3$ ): 3100 (—CH); 2210 (—C≡C—) und  $840 \text{ cm}^{-1}$  (2,5-Thiophen). UV-Spektrum (PAe):  $\lambda_{\text{max}}$  = 341; 349 nm.

2-C-14-1-[2'-2''-Bithienyl-(5')]-butadiin. Aus 4.9 mg 2-C-14-Bromessigsäuremethylester (Akt. 1.5 mc), verdünnt mit 3.1 g inaktivem Bromessigsäuremethylester wurden 5.8 g 2-C-14-Triphenylphosphin-brom-carbomethoxymethylen<sup>9</sup> mit der Akt.  $1.23 \times 10^9$  ipm (spez. Akt.  $0.74 \times 10^8$  ipm/mMol) erhalten. Ausgehend von 4.5 g 2-C-14-Triphenylphosphin-brom-carbomethoxymethylen wurden auf dem oben beschriebenen Wege 77, 5 mg 2-C-14-1-[2'-2''-Bithienyl-(5')]-butadiin mit der Akt.  $2.7 \times 10^7$  ipm (spez. Akt.  $7.4 \times 10^7$  ipm/mMol) gewonnen. Radiochem. Ausbeute: 2.8%.

$\alpha$ -Terthienyl (I). In eine Lösung von 50 mg III in 30 ml Aceton und 1.5 ml 1 n NaOH wurde 15 Min.  $\text{H}_2\text{S}$  eingeleitet. Die Reaktionslösung wurde über Nacht stehen gelassen. Nach Verdünnen mit 200 ml Wasser wurde mit HCl angesäuert und mit Äther extrahiert. Nach Reinigung durch Chromatographie an  $\text{Al}_2\text{O}_3$  wurden blassgelbe Kristallblättchen vom Schmp. 94° erhalten (Lit.<sup>1</sup>: Schmp. 95°). UV-Spektrum (PAe):  $\lambda_{\text{max}}$  = 350 nm (Lit.<sup>10</sup>:  $\lambda_{\text{max}}$  = 350 nm).

Bis-[2'-2''-bithienyl-(5')]-butadiin (XII). Beim Einengen des bei der Decarboxylierung der Bithienylpropionsäure erhaltenen PAe-Extraktes fielen geringe Mengen orangefarbener Kristalle aus, die nach chromatographischer Reinigung an  $\text{Al}_2\text{O}_3$  einen Schmp. von 168° (Zers.) hatten. ( $\text{C}_{20}\text{H}_{10}\text{S}_4$  (378.56): Ber: C, 63.46; H, 2.66; S, 33.88; Gef: C, 63.03; H, 3.02; S, 33.45%); IR-Spektrum (KBr): 2120 (—C≡C—);  $840 \text{ cm}^{-1}$  (2,5-Thiophen). UV-Spektrum (PAe):  $\lambda_{\text{max}}$  (log  $\epsilon$ ) = 386 nm (4.39).

$\alpha$ -Pentathienyl (XIII). Etwa 30 mg XII wurden unter Zusatz von 1.5 ml 1 n NaOH in 30 ml Aceton gelöst. In diese Lösung wurde 15 Min.  $\text{H}_2\text{S}$  eingeleitet. Nach Aufarbeitung und Reinigung wie bei I wurden orangefarbene Kristallblättchen vom Schmp. 253° erhalten (Lit.<sup>1</sup>: Schmp. 253°). UV-Spektrum (Benzol):  $\lambda_{\text{max}}$  = 418 nm (Lit.<sup>11</sup>: 418 nm).

Die Verfütterung von S-35-Bithienyl-butinen. 17.5 mg S-35-Bithienyl-butinen (spez. Akt.  $1.5 \times 10^8$  ipm/mMol) wurden in 200 ml Nährlösung gelöst und an zwei Pflanzen *T. patula* nana "E" verfüttert. Die Aufnahme der aktiven Verbindung durch die Pflanzen betrug nach 10 Tagen 89%. Aus 34 g Wurzeln wurden 0.96 mg inaktives  $\alpha$ -Terthienyl und 5.3 mg S-35-Bithienyl-butinolacetat mit der spez. Akt.  $8.7 \times 10^6$  ipm/mMol isoliert.

12 mg S-35-Bithienylbutinen (spez. Akt.  $3.5 \times 10^7$  ipm/mMol) in 250 ml Nährlösung wurden an eine Pflanze *T. erecta* pl. fl. verfüttert. Nach 10 Tagen waren 97% der aktiven Verbindung durch die Pflanze aufgenommen. Aus 43 g Wurzeln wurden 1.5 mg inaktives  $\alpha$ -Terthienyl erhalten.

Die Verfütterung von C-14-Bithienyl-butadiin. 27 mg 2-C-14-1-[2',2''-Bithienyl-(5')]-butadiin (spez. Akt.  $7.4 \times 10^7$  ipm/mMol) wurden in 600 ml aqua dest. gelöst und an drei Pflanzen *Tagetes erecta* pl. fl. verfüttert. Nach 12 Tagen waren 68% der aktiven Verbindung durch die Pflanzen aufgenommen worden. Aus dem Extrakt von 67 g Wurzeln wurden isoliert: 4.4 mg C-14-Bithienyl-butinen (spez. Akt.  $1.4 \times 10^7$  ipm/mMol); 1.8 mg C-14- $\alpha$ -Terthienyl (spez. Akt.  $5.4 \times 10^6$  ipm/mMol) und 1.3 mg C-14-Bithienylbutinolacetat (spez. Akt.  $5.2 \times 10^5$  ipm/mMol).

18 mg 2-C-14-1-[2',2''-Bithienyl-(5')]-butadiin (spez. Akt.  $7.4 \times 10^7$  ipm/mMol) in 600 ml aqua dest. wurden an 4 Pflanzen *T. patula* nana "E" verfüttert. Nach 9 Tagen betrug die Aufnahme 63%. Die Auftrennung von 72 g Wurzeln ergab 12 mg C-14-Bithienyl-butinen (spez. Akt.  $6.0 \times 10^6$  ipm/mMol) und 1.9 mg C-14- $\alpha$ -Terthienyl (spez. Akt.  $4.0 \times 10^6$  ipm/mMol).

#### LITERATUR

- <sup>1</sup> A. Zechmeister und A. Sandoval, *Arch. Biochem.* **8**, 425 (1945);  
J. H. Uhlenbroek und J. Bijloo, *Rec. Trav. Chim.* **77**, 1004 (1958).  
J. H. Uhlenbroek und J. D. Bijloo, *Ibid.* **78**, 382 (1959);  
F. Bohlmann und P. Herbst, *Chem. Ber.* **95**, 2945 (1962).
- <sup>2</sup> K. E. Schulte, J. Reisch und L. Hörner, *Angew. Chem.* **72**, 920 (1960);  
K. E. Schulte, J. Reisch und L. Hörner, *Chem. Ber.* **95**, 1943 (1962);  
K. E. Schulte, J. Reisch, W. Hermann und G. Bohn, *Arch. Pharmaz.* **296**, 456 (1963).
- <sup>3</sup> K. E. Schulte, G. Rücker und W. Meinders, *Tetrahedron Letters* 659 (1965).
- <sup>4</sup> F. Bohlmann und U. Hinz, *Chem. Ber.* **98**, 876 (1965).
- <sup>5</sup> F. Bohlmann, M. Wotschokowsky, U. Hinz und W. Lucas, *Ibid.* **99**, 984 (1966).
- <sup>6</sup> W. Chodkiewicz, *Ann. Chim.* 819 (1957).
- <sup>7</sup> F. Bohlmann, W. Sucrow und J. Queck, *Chem. Ber.* **97**, 2586 (1964).
- <sup>8</sup> E. Lescot, Ng. Ph. Buu-Hoi und N. D. Xuong, *J. Chem. Soc.* 3234 (1959).
- <sup>9</sup> G. Wittig und W. Haag, *Chem. Ber.* **88**, 1654 (1955); G. Märkl, *Chem. Ber.* **94**, 2996 (1961).
- <sup>10</sup> L. Zechmeister und J. W. Sease, *J. Am. Chem. Soc.* **69**, 270 (1947).
- <sup>11</sup> W. Steinkopf, R. Leitsmann und K. H. Hofmann, *Liebigs Ann.* **546**, 180 (1941).