

106. Partialsynthese von 4'-Demethylepipodophyllotoxin

22. Mitteilung über mitoschemmende Naturstoffe [1]

von **M. Kuhn, C. Keller-Juslén** und **A. von Wartburg**

Pharmazeutisch-chemische Forschungslaboratorien
SANDOZ AG., Basel

(20. III. 69)

Summary. 4'-Demethylepipodophyllotoxin (III) has been synthesized by epimerisation of 4'-demethylpodophyllotoxin (I) *via* the corresponding chloride II. An improved method for the preparation of III has been developed by selective ether cleavage of the easily available podophyllotoxin (V) using the bromoderivatives VI and VII as intermediates.

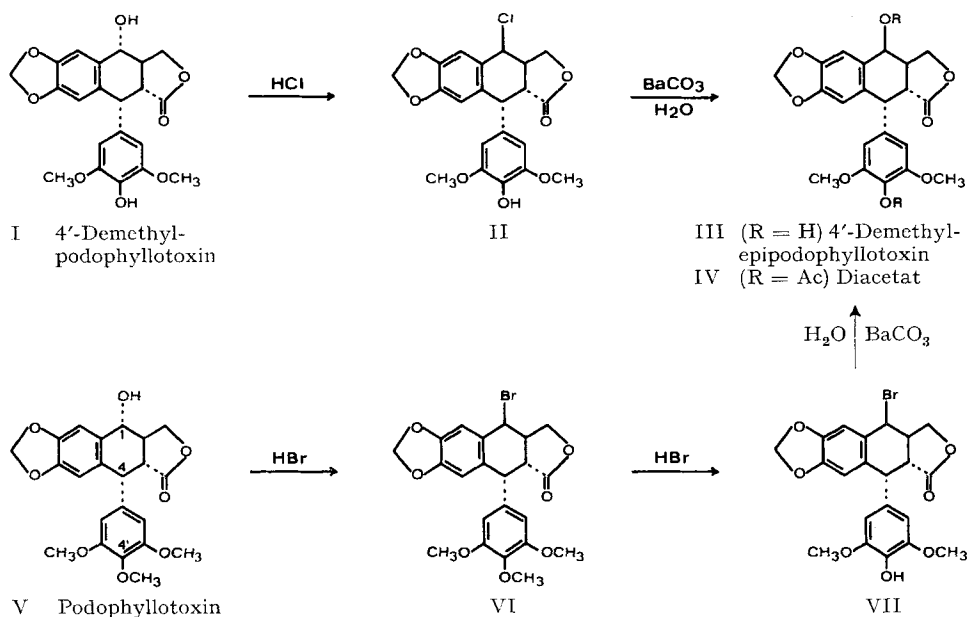
Für synthetische Versuche und zur Ableitung von Struktur-Wirkungsbeziehungen bei *Podophyllum*-Lignanen benötigten wir 4'-Demethylepipodophyllotoxin (III). Als einfachstes Verfahren zur Gewinnung dieses noch nicht bekannten Stoffes erwies sich die Epimerisierung der entsprechenden Demethylverbindung I, die analog wie beim Podophyllotoxin (V) [2] [3] [4] verlief. Das aus *P. emodi* zugängliche 4'-Demethylpodophyllotoxin (I) [5] [6] wurde zunächst mit HCl-Gas in Methylenchlorid in 1-Chlor-1-desoxy-4'-demethylepipodophyllotoxin (II) übergeführt. Die Epi-Stellung, d.h. die pseudo-axiale Lage des Chloratoms ergab sich aus der kleinen Kopplungskonstante des Protons an C-1 ($d, J_{1,2} = 2$ Hz), die nur mit der *cis*-Anordnung der benachbarten H-Atome an C-1 und C-2 vereinbar ist [4]. Solvolyse des Chlorderivats II in wässrigem Aceton in Gegenwart von BaCO_3 lieferte das erwartete 4'-Demethylepipodophyllotoxin (III)¹). Ergänzende Versuche, diese Methode zu vereinfachen und eine direkte Epimerisierung von 4'-Demethylpodophyllotoxin mittels Salzsäure in wässrigem Aceton zu erreichen, brachten keine Vorteile. Die Reaktion strebt nämlich unter diesen Bedingungen einem Gleichgewicht zwischen I und III zu [1], und das Epi-Derivat (III) lässt sich aus dem anfallenden Produktgemisch nur durch aufwendige chromatographische Trennung in einheitlicher Form isolieren.

Zur Herstellung grösserer Mengen von III kommen die beiden Verfahren kaum in Frage, da das als Ausgangsmaterial erforderliche 4'-Demethylpodophyllotoxin (I) relativ schwer zugänglich ist²). Es war deshalb naheliegend Podophyllotoxin (V), das Hauptlignan der *Podophyllum*-Droge [3], zur Partialsynthese von 4'-Demethylepipodophyllotoxin (III) heranzuziehen. Der heikle und entscheidende Reaktionsschritt bei der geplanten Überführung von V in III besteht in einer selektiven Spaltung der Methoxygruppe an C-4'. Wie SCHREIER [4] bei Arbeiten über Sikkimotoxin gezeigt hat, bewirken die üblichen LEWIS- und Mineralsäuren tiefgreifende, irreversible Ver-

¹) Daneben entstehen ca. 5% Demethylpodophyllotoxin, das sich bei der Kristallisation leicht entfernen lässt.

²) 4'-Demethylpodophyllotoxin wurde bisher nur aus indischem Podophyllin (Harzfraktion aus den Wurzeln von *Podophyllum emodi* WALL.) isoliert; Ausbeute 1,7% (bezogen auf Podophyllin) [5]. I ist auch durch enzymatische Spaltung von 4'-Demethylpodophyllotoxin- β -D-glucosid zugänglich. Dieses Glucosid kann in geringen Mengen aus den Wurzeln von *P. emodi* [6] oder *P. peltatum* [7] gewonnen werden.

änderungen des Podophyllotoxins; einzig mit BCl_3 liess sich eine bevorzugte Spaltung der Methylendioxygruppe erreichen. Es war deshalb überraschend, dass wir die anvisierte Reaktion unter geeigneten Bedingungen mit HBr selektiv und in annehmbaren Ausbeuten durchführen konnten.



Zur Umformung von V in III behandelten wir Podophyllotoxin zunächst mit HBr in 1,2-Dichloräthan bei 0° . Das primär gebildete 1-Brom-1-desoxy-podophyllotoxin (VI) [2] wurde nicht isoliert, sondern direkt in der Kälte während rund 20 Stunden der weiteren Einwirkung von HBr unterworfen. Die dünnschichtchromatographische Kontrolle der Reaktionsprodukte ergab, dass dabei vorzugsweise eine langsam verlaufende Spaltung der 4'-ständigen Methoxygruppe erfolgte. Das kristallisiert anfallende 1-Brom-1-desoxy-4'-demethylepipodophyllotoxin (VII) zeigt im NMR.-Spektrum bei 5,65 ppm das charakteristische Dublett des Protons an C-1; die Kopplungskonstante, $J_{1,2} = 3,5$ Hz, ist wie beim entsprechenden Chlorid II mit der *cis*-Anordnung der Wasserstoffatome an C-1 und C-2 bzw. der epi-Stellung des Bromatoms vereinbar. Das Bromid VII lässt sich leicht analog II mit wässrigem Aceton unter Zusatz von BaCO_3 zur gewünschten 4'-Demethylepiverbindung III hydrolysieren.

Reines 4'-Demethylepipodophyllotoxin (III), $\text{C}_{21}\text{H}_{20}\text{O}_8$, bildet farblose Kristalle vom Smp. $228\text{--}230^\circ$ (aus Methanol) bzw. $244\text{--}249^\circ$ (aus Aceton); $[\alpha]_D^{20} = -69,8^\circ$ (in Chloroform). Im NMR.-Spektrum zeigen die Gerüstprotonen sehr ähnliche chemische Verschiebungen wie beim bekannten Epipodophyllotoxin und die entsprechenden Kopplungskonstanten besitzen annähernd gleich grosse Werte.

Zur Charakterisierung von III stellten wir auf übliche Weise die Di-O-acetyl-Verbindung IV her. In ihrem NMR.-Spektrum interessierten vor allem die Singulette der phenolischen Acetoxygruppe bei 2,33 ppm (3 H) und der Acetoxygruppe an C-1 bei 2,14 ppm (3 H). Bezeichnend war ferner das nach tieferem Feld verschobene Dublett

des Protons an C-1 ($\delta = 6,17$ ppm) und die für Epi-Verbindungen charakteristische Kopplungskonstante $J_{1,2} = 3$ Hz.

Mit der beschriebenen selektiven Ätherspaltung des Podophyllotoxins ist das 4'-Demethylepipodophyllotoxin III leicht zugänglich geworden. Über die Synthese von Glykosiden dieses Aglykons berichten wir in der folgenden Mitteilung [8] dieser Reihe.

Experimentelles (unter Mitarbeit von W. HUBER). – *Allgemeines*. Die Smp. sind auf dem KOFER-Block bestimmt und korrigiert. Dünnschichtchromatographien wurden auf Kieselgel-G-Platten mit 15 cm Laufstrecke des Fliessmittels ausgeführt; Sichtbarmachung durch Besprühen mit einer Lösung von 0,2% Cer(IV)-sulfat in 50-proz. H_2SO_4 und Erwärmen auf 110–130° bis zum Erscheinen der Flecke. Die präparativen Chromatogramme erfolgten an Kieselgel MERCK, Korngrösse 0,05–0,2 mm.

Die IR.-Spektren wurden auf einem PERKIN-ELMER-IR.-Spektrometer, Mod. 21 mit Gitter, aufgenommen; ν_{max} sind in cm^{-1} angegeben.

Die NMR.-Spektren wurden auf einem VARIAN-Spektrographen, Mod. A-60, bei 60 MHz aufgenommen. Chemische Verschiebungen sind in ppm angegeben. Als interner Standard diente Tetramethylsilan mit $\delta_{TMS} = 0$ ppm. Kopplungskonstanten sind mit J bezeichnet und in Hz angegeben. s = Singulett, d = Dublett, t = Triplett, q = Quadruplett, m = Multiplett.

Abkürzungen: DC = Dünnschichtchromatographie (-gramm), Flm. = Fliessmittel, Chf = Chloroform, An = Aceton, DMSO = Dimethylsulfoxid, MeOH = Methanol, EtOH = Äthanol.

1. *1-Chlor-1-desoxy-4'-demethylepipodophyllotoxin (II)*. In eine Suspension von 5 g 4'-Demethylpodophyllotoxin (I) in 200 ml Methylenchlorid wurde unter Eiskühlung während 30 Min. Chlorwasserstoff eingeleitet wobei langsam völlige Lösung eintrat. Man liess noch 10 Min. in der Kälte stehen, wusch anschliessend dreimal mit je 100 ml kaltem Wasser aus, trocknete die organische Phase über Na_2SO_4 und dampfte sie im Vakuum ein: 5,32 g Rückstand. Kristallisation aus An-Pentan und dann aus An gab analysenreines II vom Doppelsmp. 209–213/228–232° (Zers.); $[\alpha]_D^{25} = -25,7^\circ$ ($c = 0,604$ in abs. Chf). – IR. (Nujol): 3380 OH; 1760 γ -Lacton; 1612, 1520, 1505, 1485 arom. C=C. – NMR. (DMSO): 7,08 (1 H, s), 6,54 (1 H, s), 6,25 (2 H, s) H C-8, H C-5 und H C-2', H C-6'; 6,06 (2 H, s) Methylendioxygruppe; 5,75 (1 H, d , $J_{1,2} = 2,0$ Hz) H C-1; 3,67 (6 H, s) 2 CH_3O -Gruppen.

$C_{21}H_{19}ClO_7$	Ber. C 60,2	H 4,6	Cl 8,5	O 26,7	2 CH_3O 14,8%
(418,82)	Gef. „ 60,4	„ 4,3	„ 8,5	„ 26,6	„ 14,6%

2. *1-Brom-1-desoxy-4'-demethylepipodophyllotoxin (VII) aus Podophyllotoxin (V)*. In eine Suspension von 22 g Podophyllotoxin (V) in 200 ml 1,2-Dichloräthan und 20 ml Äther wurden bei 0° im Verlauf von ca. 4 Std. 55 g Bromwasserstoff eingeleitet, wobei völlige Lösung eintrat. Man liess 19 Std. im verschlossenen Gefäss bei 0° reagieren³⁾ und dampfte dann im Vakuum bei max. 25° Badtemperatur ein. Der Rückstand lieferte aus 35 ml An 11 g Rohkristallinat. Zur Analyse wurde noch zweimal aus An kristallisiert, wobei reines 4'-Demethylepipodophyllotoxinbromid (VII) vom Smp. 186–195° (Zers.) anfiel; $[\alpha]_D^{25} = +16,0^\circ$ ($c = 1,034$ in Chf). – IR. (CH_2Cl_2): 3530 (scharf) OH; 1780 γ -Lacton; 1620, 1520, 1505, 1488 arom. C=C. – NMR. ($CDCl_3$): 6,90 (1 H, s) H C-8; 6,50 (1 H, s) H C-5; 6,30 (2 H, s) H C-2', H C-6'; 6,00 (2 H, s) Methylendioxygruppe; 5,65 (1 H, d , $J_{1,2} = 3,5$ Hz) H C-1; 4,70 (1 H, d , $J_{3,4} = 5$ Hz) H C-4; 4,40 (2 H, d , $J = 8$ Hz) CH_2 -Gruppe des γ -Lactons; 3,80 (6 H, s) 2 CH_3O -; 3,40 (1 H, doppeltes d , $J_{2,3} = 13,0$ Hz und $J_{3,4} = 5$ Hz) H C-3; 2,50–3,25 (1 H, flacher Signalhaufe) H C-2; 5,1– ca. 5,7 (1 H, flacher Signalhaufe) OH.

$C_{21}H_{19}BrO_7$	Ber. C 54,5	H 4,1	Br 17,2	O 24,2	2 CH_3O 13,4%
(463,28)	Gef. „ 54,9	„ 4,3	„ 16,8	„ 24,0	„ 13,6%

3. *4'-Demethylepipodophyllotoxin (III)*. – a) *Durch Hydrolyse von 1-Chlor-1-desoxy-4'-demethylepipodophyllotoxin (II)*. 2,0 g II wurden zu 2 g $BaCO_3$ in 100 ml An-Wasser-(1:1) gegeben und die Suspension 1 Std. bei 40° gerührt. Man filtrierte überschüssiges $BaCO_3$ ab, wusch mit 200 ml

³⁾ Der Reaktionsverlauf wird mittels DC. kontrolliert. Da sich die Bromide VI und VII auf der Kieselgelplatte zersetzen (Schwanzbildung), muss die entnommene Probe zuerst im Vakuum schonend eingedampft und dann unter Zusatz von $BaCO_3$ in An-Wasser hydrolysiert werden. Das so entstandene Gemisch von III und Epipodophyllotoxin wird mit dem Flm. Chf-MeOH-(95:5) chromatographiert.

warmem An nach und dampfte das Filtrat im Vakuum auf Wasser ein. Das ausgefallene Material wurde mit 300 ml Chf-An-(95:5) aufgenommen und die organische Phase zweimal mit je 50 ml Wasser gewaschen, über Na_2SO_4 getrocknet und im Vakuum eingedampft.

Das rohe III zeigte im DC., Flm. Chf-MeOH-(95:5), nur einen sehr geringen Anteil von 4'-Demethylpodophyllotoxin (I). Rf-Werte: III $\sim 0,38$, I $\sim 0,28$. Zur Reinigung wurde III zuerst aus Chf, dann aus MeOH kristallisiert. 4'-Demethylepipodophyllotoxin kristallisiert in Bälkchen vom Smp. 228–230° bzw. 244–249° aus An; $[\alpha]_D^{20} = -69,8^\circ$ ($c = 0,630$ in Chf) und $-65,6^\circ$ ($c = 0,648$ in MeOH). – IR. (Nujol): 3410 (breit) OH; 1750 γ -Lacton; 1618, 1520, 1508, 1490 arom. C=C. – NMR. (DMSO): 8,25 (1 H, s) phenol. OH; 6,97 (1 H, s) H C-8; 6,51 (1 H, s) H C-5; 6,25 (2 H, s) H C-2', H C-6'; 6,01 (2 H, s) Methylenedioxygruppe; 5,43 (1 H, d, $J = 6$ Hz) OH-Gruppe an C-1; 4,63–4,85 (1 H, m) H C-1; 4,10–4,60 (3 H, Signalhaufen) H C-4 und CH_2 -Gruppe des γ -Lactons; 3,64 (6 H, s) $2\text{CH}_3\text{O}$ -Gruppen. – NMR. (DMSO + D_2O): Die Signale bei 8,25 und 5,43 fehlen. Das Multiplett bei 4,63–4,85 wird zum Dublett bei 4,77 mit $J_{1,2} = 3$ Hz.

$\text{C}_{21}\text{H}_{20}\text{O}_8$	Ber.	C 63,0	H 5,0	O 32,0	$2\text{CH}_3\text{O}$ 15,5%
(400,38)	Gef.	„ 63,2	„ 5,0	„ 31,8	„ 15,7%

b) *Durch Hydrolyse von 1-Brom-1-desoxy-4'-demethylepipodophyllotoxin (VII)*. Eine Suspension von 25 g VII in 200 ml An wurde mit 11 g BaCO_3 und 200 ml Wasser versetzt und 1 Std. bei 40° gerührt. Man filtrierte, wusch die Ba-Salze mehrmals mit warmem An und dampfte das Filtrat im Vakuum auf Wasser ein. Zweimalige Kristallisation des ausgefallenen Materials aus An ergab reines 4'-Demethylepipodophyllotoxin (III) vom Smp. 244–249°, $[\alpha]_D^{20} = -69,8^\circ$ ($c = 0,630$ in Chf).

c) *Durch direkte Epimerisierung von 4'-Demethylpodophyllotoxin (I)*. Man löste 2 g 4'-Demethylpodophyllotoxin (I) in einem Gemisch von 25 ml An und 15 ml Wasser, setzte 5 ml konzentrierte Salzsäure zu und erwärmte 2 Std. unter Rückfluss. Nach dieser Zeit lag ein Gemisch von I und III im Verhältnis 3:1 vor. Die Produktkontrolle erfolgte im DC. mit dem Flm. Chf-MeOH-(95:5). Man neutralisierte durch Zugabe von BaCO_3 , filtrierte überschüssiges Bariumcarbonat ab, und dampfte das Filtrat im Vakuum auf Wasser ein. Die ausgefallenen Reaktionsprodukte wurden mit 100 ml Chf-An-(95:5) aufgenommen und die organische Phase über Na_2SO_4 getrocknet und im Vakuum eingedampft. Die 2,25 g Rückstand chromatographierte man an der 50-fachen Menge Kieselgel. Chf-MeOH-(98,5:1,5) eluierte zuerst 47 mg Nebenprodukte, dann 505 mg 4'-Demethylepipodophyllotoxin (III). Mit Chf-MeOH-(9:1) wurden zum Schluss noch 1530 mg 4'-Demethylpodophyllotoxin (I) abgelöst. Kristallisation aus MeOH ergab 456 mg reines 4'-Demethylepipodophyllotoxin (III) vom Smp. 227–230°; $[\alpha]_D^{20} = -68,6^\circ$ ($c = 0,504$ in Chf).

4. *Di-O-acetyl-4'-demethylepipodophyllotoxin (IV)*. Eine Lösung von 150 mg 4'-Demethylepipodophyllotoxin (III) in 2 ml Pyridin und 1 ml Essigsäureanhydrid wurde 24 Std. bei Raumtemperatur stehengelassen. Nach Zugabe von Wasser wurden die Lösungsmittel im Vakuum verdampft. Der einheitliche Rückstand (DC., Flm. Benzol-Essigester-(2:1), wassergesättigt oder Chf-MeOH-94:6) wurde aus Äther durch Zugabe von Pentan umgefällt. Smp. 135–138°; $[\alpha]_D^{20} = -128,5^\circ$ ($c = 0,622$ in Chf). – IR. (CH_2Cl_2): 1775, 1765 γ -Lacton und Acetoxygruppe an C-4'; 1735 Acetoxygruppe an C-1; 1602, 1510, 1490 arom. C=C. – NMR. (CDCl_3): 6,91 (1 H, s) H C-8; 6,60 (1 H, s) H C-5; 6,35 (2 H, s) H C-2' und H C-6'; 6,18 (1 H, d, $J_{1,2} = 3$ Hz) H C-1; 6,01 (2 H, s) Methylenedioxygruppe; 4,73 (1 H, d, $J_{3,4} = 4$ Hz) H C-4; 3,8–4,7 (2 H, m) CH_2 des Lactonrings; 3,73 (6 H, s) $2\text{CH}_3\text{O}$ -Gruppen an C-3' und C-5'; 2,8–3,6 (2 H, m) H C-2 und H C-3; 2,33 (3 H, s) CH_3COO an C-4'; 2,14 (3 H, s) CH_3COO -Gruppe an C-1.

$\text{C}_{25}\text{H}_{24}\text{O}_{10}$ (484,45)	Ber.	C 62,0	H 5,0	O 33,0%	Gef.	C 61,9	H 4,9	O 32,7%
--	------	--------	-------	---------	------	--------	-------	---------

LITERATURVERZEICHNIS

- [1] 21. Mitt.: M. KUHN & A. VON WARTBURG, *Helv.* 51, 1631 (1968).
- [2] J. L. HARTWELL & A. W. SCHRECKER, *J. Amer. chem. Soc.* 73, 2909 (1951).
- [3] J. L. HARTWELL & A. W. SCHRECKER, *Fortschr. Chem. org. Naturstoffe* 75, 83–166 (1958).
- [4] E. SCHREIER, *Helv.* 47, 1529 (1964).
- [5] M. V. NADKARNI, J. L. HARTWELL, P. B. MAURY & J. LEITER, *J. Amer. chem. Soc.* 75, 1308 (1953).
- [6] A. STOLL, A. VON WARTBURG, E. ANGLIKER & J. RENZ, *J. Amer. chem. Soc.* 76, 5004 (1954).
- [7] A. VON WARTBURG, E. ANGLIKER & J. RENZ, *Helv.* 40, 1331 (1957).
- [8] M. KUHN & A. VON WARTBURG, *Helv.* 52, 948 (1969).