

Zur Chemie des Phorbols, IV¹

Polybenzoate und -acetate des Phorbols und Phorbol-3-ols und funktionelle Derivate der Allylgruppierung des Phorbols

HANS ULRICH SCHAIRER *, HEINZ WALTER THIELMANN *, MICHAEL GSCHWENDT *, GERT KREIBICH *
RAINER SCHMIDT und ERICH HECKER

Biochemisches Institut des Deutschen Krebsforschungszentrums, Heidelberg

(Z. Naturforsch. 23 b, 1430—1443 [1968]; eingegangen am 17. August 1968)

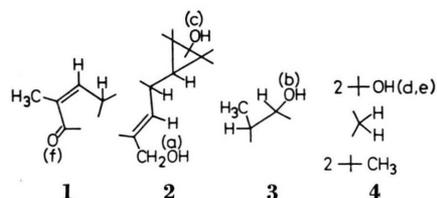
Base catalysed transesterification of phorbol-12,13,20-tribenzoate yields phorbol-12,13-dibenzoate. By base catalysed transesterification of phorbol-pentaacetate phorbol-9,12,13-triacetate is obtained. This can be re-acetylated to give phorbol-9,12,13,20-tetraacetate which is also obtained by treatment of phorbol-12,13,20-triacetate with acetic anhydride/*p*-toluene-sulfonic acid.

Reduction of phorbol-12,13,20-triacetate with LiAlH₄ yields phorbol-3-ol which reduces Fehling's and Tollen's reagent. Reduction of the 3-keto group alone can be accomplished with sodium borohydride. From all phorbol-esters investigated only in phorbol-pentaacetate an acetyl migration is observed during the sodium borohydride reduction leading to phorbol-3-ol-3,9,12,13,20-pentaacetate. By these findings those two tertiary hydroxyl groups of phorbol which are not acetylated with acetic anhydride/pyridine at room temperature were further characterized.

Oxidation of phorbol-12,13-diacetate with activated manganese dioxide yields phorbol-20-al-12,13-diacetate. By evaluation of nmr-spectra of this aldehyde and of some of its derivatives as well as of the epoxide of phorbol-12,13-diacetate and of 6-oxo-7-hydroxy- and 6,7-diacetoxy-20-nor-phorbol-12,13-diacetate the sequence of C-atoms around the allylic alcohol group of phorbol is further characterized.

In einer der vorausgehenden Mitteilungen wurden die Partialstrukturen **1**–**3** und die Strukturelemente **4** (vgl. Formelschema) des neuen tetrazyklischen Diterpens Phorbol C₂₀H₂₈O₆ nachgewiesen^{1–4}. Sie enthalten alle 28 H-Atome des Moleküls sowie alle sechs Sauerstofffunktionen (a)–(f). Die in **1**–**4** jeweils freien Valenzen entsprechen daher C-C-Bindungen, d. h. **1**–**4** sind untereinander zu verbinden. Mit dieser und den nachfolgenden Mitteilungen wird die Beschreibung chemischer und spektroskopischer Untersuchungen funktioneller Derivate und Umwandlungsprodukte des Phorbols weitergeführt, die eine schrittweise Verknüpfung der Partialstrukturen

und Strukturelemente **1**–**4** des Phorbols zu dessen vollständiger Struktur^{5–8} ermöglicht haben.



Phorbol-*f*-ol sowie Polybenzoate des Phorbols und des Phorbol-*f*-ols

Die α , β -ungesättigte Carbonylgruppe des Phorbols (vgl. **1**) läßt sich in den natürlichen Wirkstoffen

* Aus den Dissertationen H. U. SCHAIRER, Heidelberg 1966, M. GSCHWENDT, Heidelberg 1967, G. KREIBICH, Heidelberg 1968, H. W. THIELMANN, Heidelberg 1968.

¹ III. Mitt.: CH. V. SZCZEPANSKI, H. U. SCHAIRER, M. GSCHWENDT u. E. HECKER, Liebigs Ann. Chem. **705**, 199 [1967].

² E. HECKER, CH. V. SZCZEPANSKI, H. KUBINYI, H. BRESCH, E. HÄRLE, H. U. SCHAIRER u. H. BARTSCH, Z. Naturforsch. **21 b**, 1204 [1966].

³ H. BARTSCH, H. BRESCH, M. GSCHWENDT, E. HÄRLE, G. KREIBICH, H. KUBINYI, H. U. SCHAIRER, CH. V. SZCZEPANSKI, H. W. THIELMANN u. E. HECKER, Z. analyt. Chem. **221**, 424 [1966].

⁴ E. HECKER, „Molekulare Biologie des malignen Wachstums“, 17. Colloquium der Gesellschaft für physiologische Chemie, Springer-Verlag, Berlin-Heidelberg-New York 1966, S. 105.

⁵ Die Struktur des Phorbols wurde von uns erstmals 1966 bekanntgegeben: E. HECKER: Vorträge bei der Marburger Chemischen Gesellschaft am 20. 5. 1966, der Gesellschaft Deutscher Chemiker, Ortsverband Göttingen, am 16. 6. 1966, im Max-Planck-Institut für Biochemie, München, am 4. 10. 1966, der Herbsttagung der Gesellschaft für Biologische Chemie vom 13.–15. 10. 1966 in Marburg, auf dem IX. Internationalen Krebskongreß vom 23.–29. 10. 1966 in Tokyo sowie im Chester Beatty Institute for Cancer Research in London am 11. 1. 1967. Vergleiche auch l. c. ^{6,7}.

⁶ E. HECKER, Naturwissenschaften **54**, 282 [1967].

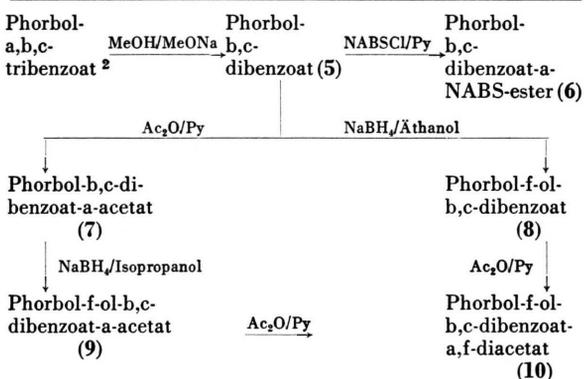
⁷ E. HECKER, H. BARTSCH, H. BRESCH, M. GSCHWENDT, E. HÄRLE, G. KREIBICH, H. KUBINYI, H. U. SCHAIRER, CH. V. SZCZEPANSKI u. H. W. THIELMANN, Tetrahedron Letters [London] **1967**, 3165.

⁸ E. HÄRLE, W. KOCH u. E. HECKER, Chem. Ber. **100**, 795 [1967].

(vgl. l. c.⁹⁻¹¹ sowie frühere Mitteilungen) bzw. in Phorbol-a,b,c-triacetat² oder -a,b,c-tribenzoat^{2, 12} mit Lithiumaluminiumhydrid reduzieren. Dabei wird das besonders empfindliche Phorbol-f-ol^{2, 9-14} erhalten, das sich auch durch Reduktion von Phorbol mit Natriumborhydrid gewinnen läßt. Im Gegensatz zu den Befunden von KAUFFMANN und NEUMANN¹² sowie unseren ersten Befunden^{13, 14} wirkt Phorbol-f-ol – ebenso wie Phorbol¹²⁻¹⁴ – reduzierend.

Zur weiteren Charakterisierung der Carbonylgruppe des Phorbols sind wegen der Instabilität der Polyhydroxyverbindung Phorbol-f-ol und deren Schwerlöslichkeit in organischen Lösungsmitteln Ester des Phorbol-f-ols erwünscht. Sie können durch selektive Reduktion der Carbonylgruppe geeigneter Phorbolester (vgl. l. c.¹) dargestellt werden.

Besonders geeignet dazu erscheinen zunächst Benzoate des Phorbols, da deren Estergruppen relativ hydrolysebeständig sind. So läßt sich z. B. im Phorbol-a,b,c-tribenzoat² der Benzoylrest an Hydroxylgruppe (a) durch protonenkatalysierte Umesterung selbst nicht bei 10-fach höherer Säurekonzentration als zur Abspaltung eines Acetylrests erforderlich¹ ist entfernen. Seine selektive Freisetzung im Tribenzoat gelingt jedoch durch basenkatalysierte Umesterung mit Natriummethylat, wobei Phorbol-b,c-dibenzoat (5) erhalten wird (vgl. Tab. 1).



Tab. 1. Versuche zur Darstellung von Phorbol-b,c-dibenzoat zur Reduktion der Carbonylgruppe (f) in Phorbol-b,c-dibenzoat und Phorbol-b,c-dibenzoat-a-acetat. Erstmals beschriebene Verbindungen sind numeriert.

Das harzartige Phorbol-b,c-dibenzoat kann mit NABS*-Chlorid/Pyridin (vgl. l. c.⁹⁻¹¹) bzw. Acetanhydrid/Pyridin in kristallisierende Derivate, Phorbol-b,c-dibenzoat-a-NABS-ester (6) bzw. Phorbol-b,c-dibenzoat-a-acetat (7) überführt werden.

Sowohl in Phorbol-b,c-dibenzoat (5) als auch in Phorbol-b,c-dibenzoat-a-acetat (7) läßt sich die α, β -ungesättigte Carbonylgruppe mit Natriumborhydrid selektiv und ohne nennenswerte Esterspaltung reduzieren. Sowohl das Phorbol-f-ol-b,c-dibenzoat (8) als auch das Phorbol-f-ol-b,c-dibenzoat-a-acetat (9) sind Harze. Im KMR-Spektrum von 9 erscheint ein breites Singulett bei 4,3 ppm, das dem neu entstandenen, zur Hydroxylgruppe (f) geminalen Proton zugeordnet werden kann. Zur weiteren Charakterisierung wird 8 mit Acetanhydrid/Pyridin in das kristallisierende Phorbol-f-ol-b,c-dibenzoat-a,f-diacetat (10) überführt, das auf analoge Weise auch aus 9 erhalten wird (vgl. Tab. 1).

Aus 9 wird ferner (vgl. Versuchsteil) mit Benzoylchlorid/Pyridin das harzartige Phorbol-f-ol-b,c,f-tribenzoat-a-acetat (11) und aus diesem durch säurekatalysierte Umesterung Phorbol-f-ol-b,c,f-tribenzoat (12) dargestellt, das sich in den sehr gut kristallisierenden Phorbol-f-ol-b,c,f-tribenzoat-a-NABS-ester (13) überführen läßt.

Polyacetate des Phorbols und des Phorbol-f-ols

Durch partielle Acetylierung von Phorbol mit Acetanhydrid/Pyridin bzw. durch säure- und basenkatalysierte Umesterung von Phorbol-a,b,c-triacetat sind alle diejenigen Acetate zugänglich, an denen die Hydroxylgruppen (a), (b) und (c) beteiligt sind¹.

Eine kürzlich erschienene Vorschrift, wonach durch Kochen von Phorbol-triacetat mit Acetanhydrid/Pyridin ein Phorbol-tetraacetat in hoher Ausbeute entstehen soll¹⁵, konnte nicht reproduziert werden. Die für das Tetraacetat angegebenen Daten stimmen aber auffallend mit denen eines Tetraacetats überein, das unter ähnlichen Versuchsbedingungen aus dem bisher unbekanntem 4 α -Phorbol¹⁶ oder dessen Triacetat erhalten werden kann.

Behandelt man Phorbol-pentaacetat (vgl. Tab. 2) mit Natriummethylat in Methanol, so entsteht ein neues Phorbol-triacetat (14), das sich im R_f -Wert und physikalischen Daten von Phorbol-a,b,c-triacetat

⁹ E. HECKER u. H. BRESCH, Z. Naturforschg. **20**, 216 [1965].

¹⁰ E. HECKER u. H. KUBINYI, Z. Krebsforsch. **67**, 176 [1965].

¹¹ E. CLARKE u. E. HECKER, Z. Krebsforsch. **67**, 192 [1965].

¹² TH. KAUFFMANN u. H. NEUMANN, Chem. Ber. **92**, 1715 [1959].

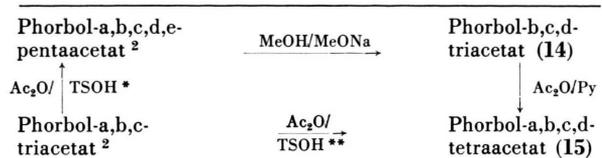
¹³ H. BRESCH, Dissertation, Universität München 1964, dort S. 29.

* NABS = 4'-Nitro-azobenzolcarbonsäure-(4).

¹⁴ E. HECKER, H. KUBINYI, CH. v. SZCZEPANSKI, E. HÄRLE u. H. BRESCH, Tetrahedron Letters [London] **1965**, 1837.

¹⁵ E. R. ARROYO u. J. HOLCOMB, J. med. Chem. **8**, 672 [1965].

¹⁶ E. HECKER, E. HÄRLE, H. U. SCHAIRER u. P. JACOBI sowie W. HOPPE, J. GASSMANN, M. RÖHRL u. H. ABEL, Angew. Chem. **80**, 913 [1968]; Angew. Chem. internat. Ed. **7**, im Druck.

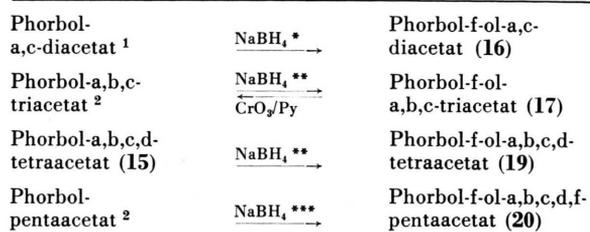


Tab. 2. Versuche zur Darstellung von Phorbol-b,c,d-triacetat und Phorbol-a,b,c,d-tetraacetat. Erstmals beschriebene Verbindungen sind numeriert. * 50 : 1, ** ~ 2500 : 1.

unterscheidet. Wie das KMR-Spektrum der Verbindung ausweist, ist die primäre allylische Hydroxylgruppe (a) frei und die sekundäre Hydroxylgruppe (b) acetyliert. Danach müssen – außer Hydroxylgruppe (b) – auch zwei der insgesamt drei tertiären Hydroxylgruppen (c), (d) und (e) des Phorbols acetyliert sein (vgl. 1–4). Acetylierung von **14** mit Acetanhydrid/Pyridin bei Raumtemperatur liefert ein Tetraacetat (**15**), in dem nur die primäre Hydroxylgruppe (a) zusätzlich acetyliert ist. Dasselbe Tetraacetat kann auch durch vorsichtige Acetylierung von Phorbol-a,b,c-triacetat mit Acetanhydrid/p-Toluolsulfonsäure erhalten werden. Danach ist anzunehmen, daß in **14** die Hydroxylgruppe (c) bereits vor der Nachacetylierung mit Acetanhydrid/Pyridin acetyliert war. Die dritte – neben (b) und (c) – acetylierte Hydroxylgruppe in **14** kann somit nur eine der beiden tertiären Hydroxylgruppen (d) oder (e) sein (vgl. 4), die im Phorbol mit Acetanhydrid/Pyridin nicht veresterbar sind. Die Hydroxylgruppe, die bei der alkalikatalysierten Umesterung des Phorbol-pentaacetats acetyliert bleibt bzw. durch partielle Acetylierung von Phorbol-a,b,c-triacetat unter Säurekatalyse acetylierbar ist, wird willkürlich mit (d) bezeichnet. Damit ist **14** als Phorbol-b,c,d-triacetat und das daraus dargestellte Tetraacetat als Phorbol-a,b,c,d-tetraacetat (**15**) anzusprechen (vgl. Tab. 2).

Die Bildung von Phorbol-b,c,d-triacetat unter den Bedingungen der basenkatalysierten Umesterung ist insofern bemerkenswert, als die tertiäre Hydroxylgruppe (c) bei der Umesterung von Phorbol-a,b,c-triacetat zu Phorbol-b-monoacetat bereits mit Alkalikonzentrationen freigesetzt wird¹, die niedriger sind als die zur Darstellung des Phorbol-b,c,d-triacetats aus Phorbol-pentaacetat erforderlichen. Der Acetylrest an Hydroxylgruppe (c) erscheint danach gegen alkalikatalysierte Umesterung stabilisiert, wenn Hydroxylgruppe (d) acetyliert ist.

Die Reduktion von Phorbol-a,c-diacetat mit Natriumborhydrid (vgl. Tab. 3) in Äthanol führt im wesentlichen zu zwei dünn-schichtchromatographisch unterscheidbaren Substanzen. Die vorwiegend ge-



Tab. 3. Übersicht über die Versuche zur Reduktion der Carbonylgruppe in Phorbol-a,c-di-, Phorbol-a,b,c-tri-, Phorbol-a,b,c,d-tetra- und Phorbol-pentaacetat. Erstmals beschriebene Verbindungen sind numeriert. * in Äthanol, ** in Isopropanol, *** THF/Isopropanol.

bildete Substanz mit dem größeren *R_f*-Wert kristallisiert nach chromatographischer Reinigung und ist Phorbol-f-ol-a,c-diacetat (**16**). Die Substanz zeigt im UV-Spektrum jenseits 210 nm keine Absorption. Im KMR-Spektrum erscheint das neu eingeführte Proton als breites Signal bei 4,17 ppm. Das dazu β -ständige Proton (vgl. 1) ist gegenüber Phorbol-a,c-diacetat um 1,85 ppm nach höherem Feld (5,70 ppm) gerückt. Dies entspricht dem Verhalten des entsprechenden Protons in Phorbol-f-ol (vgl. 1. c. ², dort Proton 1 A).

Behandelt man Phorbol-a,b,c-triacetat ² mit Natriumborhydrid in Isopropanol (vgl. Tab. 3), so entsteht als Hauptprodukt das harzartige Phorbol-f-ol-a,b,c-triacetat (**17**), das auf der Kieselgeldünnschicht einen nur wenig kleineren *R_f*-Wert als das Ausgangsmaterial zeigt und im Gegensatz zum Ausgangsmaterial – und ebenso wie Phorbol-f-ol – im durchfallenden UV-Licht nicht absorbiert. Acetylierung mit Acetanhydrid/Pyridin liefert das bekannte Phorbol-f-ol-a,b,c,f-tetraacetat ^{2, 9, 11}. Oxidation von **17** mit CrO₃/Pyridin gibt Phorbol-a,b,c-triacetat zurück.

Außer **17** entsteht bei Reduktion von Phorbol-a,b,c-triacetat eine Anzahl von Nebenprodukten, die alle wesentlich kleinere *R_f*-Werte zeigen als das Ausgangsmaterial. Acetyliert man jedoch das gesamte Reaktionsgemisch, so wird als einzige Substanz Phorbol-f-ol-a,b,c,f-tetraacetat erhalten. Die Nebenprodukte sind somit sehr wahrscheinlich Verbindungen, die durch teilweise Abspaltung von Acetylgruppen entstanden sind. Prinzipiell ist zu erwarten, daß bei der Reduktion auch die an C-3 epimere Verbindung entsteht. Sie konnte jedoch bisher nicht gefaßt werden.

Im IR-Spektrum von **17** findet sich das Signal des zur neu entstandenen Hydroxylgruppe (f) geminalen Protons bei 4,2 ppm. Wegen der Aufhebung der Konjugation mit der Carbonylgruppe ist das Signal

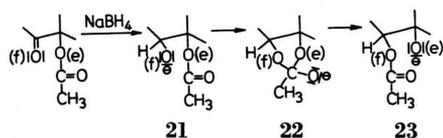
des zur Carbonylgruppe β -ständigen Protons wie in 16 von 7,5 nach 5,8 ppm verschoben.

17 läßt sich mit Benzoylchlorid/Pyridin (vgl. Versuchsteil) in das leicht kristallisierende Phorbol-a,b,c-triacetat-f-benzoat überführen. Daraus wird durch säurekatalysierte Umesterung in Methanol das ebenfalls kristallisierende Phorbol-f-ol-b,c,-diacetat-f-benzoat (18) erhalten. Die Reacetylierung von 18 ergibt das Ausgangsmaterial.

Auch Phorbol-a,b,c,d-tetraacetat (15) läßt sich mit NaBH_4 /Isopropanol weitgehend selektiv zu Phorbol-f-ol-a,b,c,d-tetraacetat (19) reduzieren (vgl. Tab. 3). Das Signal des zur neu entstandenen Hydroxylgruppe geminalen Protons in 19 liegt bei 4,3 ppm.

Unter analogen Bedingungen wird die Carbonylgruppe (f) auch im Phorbol-pentaacetat reduziert. Man erhält ein Phorbol-ol-pentaacetat, das oberhalb 210 nm nicht mehr absorbiert. Im KMR- und im IR-Spektrum läßt sich eine freie Hydroxylgruppe nachweisen. Das Reduktionsprodukt zeigt jedoch im KMR-Spektrum nicht das Signal eines zur neu eingeführten Hydroxyl-Gruppe geminalen Wasserstoffs – wie für das Phorbol-f-ol-a,b,c,d,e-pentaacetat zu erwarten – sondern das Singulett eines zu einer Acetoxy-Gruppe geminalen Protons. Dieses „anomale“ Reaktionsprodukt ist mit Acetanhydrid/Pyridin auch nicht analog den bisher beschriebenen Phorbol-f-ol-Derivaten acetylierbar. Auf Grund dieser Befunde und dem „normalen“ Verlauf der Reduktion bei den übrigen untersuchten Phorbolbenzoaten und -acetaten (Tabn. 1 und 3), muß angenommen werden, daß das erhaltene Phorbol-ol-pentaacetat durch Abwanderung einer Acetylgruppe von der tertiären Hydroxylgruppe (e) zu dem bei der Reduktion neu gebildeten sekundären Hydroxyl (f) entstanden ist. Das Produkt der Reaktion ist somit als Phorbol-f-ol-a,b,c,d,f-pentaacetat (20) anzusprechen.

Eine Acetylwanderung dieser Art weist auf räumliche Beziehungen zwischen den beteiligten Partnern hin. Sie wäre beispielsweise ausgehend von einem primären Reduktionsprodukt 21 (vgl. Formelschema) möglich, das über einen fünfgliedrigen cyclischen Übergangszustand (22) in 23 übergehen kann.



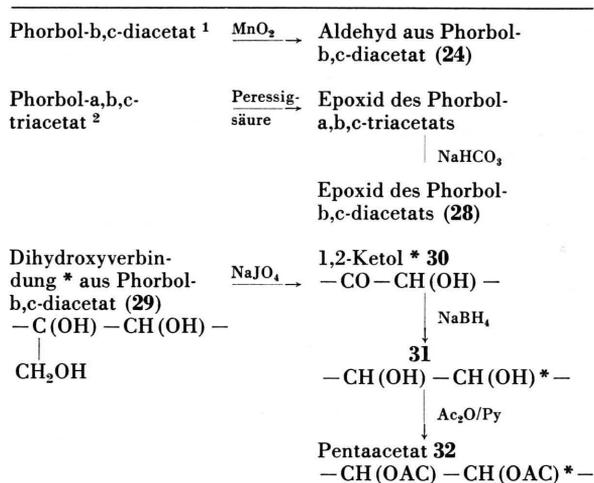
¹⁷ R. M. EVANS, Quart. Rev. [chem. Soc., London] 13, 61 [1959].

Phorbol-Derivate mit abgewandelter Allylgruppierung

Die primär allylische Hydroxylgruppe (a) ist in allen bisher aus Crotonöl isolierten Phorboldiestern frei⁹⁻¹¹, wie sich durch Oxydation mit aktivem Mangandioxid¹⁷ bzw. durch Veresterung mit NABS-chlorid nachweisen ließ.

Oxydationsversuche an Phorbol mit aktivem Mangandioxid führten zu einem komplexen Substanzgemisch, das nicht weiter untersucht wurde.

Phorbol-b,c-diacetat, dessen Veresterungstyp dem der natürlichen Wirkstoffe entspricht, kann mit aktivem Mangandioxid praktisch quantitativ zu dem kristallisierenden Aldehyd (24) oxydiert werden (vgl. Tab. 4).



Tab. 4. Übersicht über die Darstellung von Phorbol-Derivaten mit abgewandelter Allylgruppierung. Erstmals beschriebene Verbindungen sind numeriert. * Die Darstellung und Charakterisierung von 29–32 und weiterer durch Veränderung der Allylgruppierung erhaltener Phorbol-Derivate werden in einer späteren Mitteilung ausführlicher beschrieben.

Im IR-Spektrum erkennt man die neu eingeführte Carbonylfunktion an den C-H-Valenzschwingungen des Aldehydwasserstoffs bei 2720 und 2820 cm^{-1} und an einer neuen scharfen Carbonylbande bei 1680 cm^{-1} . Das KMR-Spektrum der Verbindung zeigt ein scharfes Signal bei 9,4 ppm, dessen chemische Verschiebung für ein Aldehydproton charakteristisch ist. Mit Deuteriumoxid lassen sich 2 Protonen bei 3,3 und 5,7 ppm [Hydroxylgruppen (e) bzw. (d)] austauschen. Das Signal des zur Sauerstofffunktion (a) β -ständigen Protons (vgl. 2) ist gegenüber Phorbol-b,c-diacetat um 1,1, das des γ -ständigen Protons um 0,5 ppm nach niedrigerem Feld verschoben. Dies ist

zu erwarten, da die neu entstandene Aldehydfunktion zur Doppelbindung konjugiert ist.

Zur weiteren Charakterisierung wird der Aldehyd (24) in das Oxim (25) überführt (vgl. Versuchsteil), aus dem man durch Kochen mit Acetanhydrid das Nitril (26) erhält. Als Nebenprodukt der Nitrildarstellung wird das Oximacetat (27) isoliert, das sich auch durch Acetylierung des Oxims mit Acetanhydrid/Pyridin darstellen läßt.

Es fällt auf, daß im KMR-Spektrum (vgl. Tab. 5) die beiden Protonen der Methylengruppe (vgl. 4) im Aldehyd (24) und dessen Oximacetat (27) nicht wie im Phorbol-a,b,c-triacetat², -b,c-diacetat¹ und im Nitril (26) (vgl. Tab. 5) als Singulett auftreten. Vielmehr erscheinen 2 breite Signale bei 2,6 und 2,8 bzw. 2,8 und 2,95 ppm (AB-System). Die Methylengruppe muß daher in räumlicher Nähe der Aldehyd- bzw. Oximacetat-Funktionen stehen. Ihre beiden Protonen werden dadurch offenbar ungleich abgeschirmt. Ähnliche Effekte bezüglich der Methylengruppe können auch bei anderen Phorbol-Derivaten beobachtet werden, deren Allylgruppierung verändert ist.

Substanz	δ [ppm]
Phorbol-a, b, c-triacetat ²	2,5
Phorbol-b, c-diacetat ¹	2,5
Aldehyd aus Phorbol-b, c-diacetat (24)	2,8 und 2,6
Nitril aus Phorbol-b, c-diacetat (26)	2,7
Oximacetat (27)	2,95 und 2,8
Epoxid des Phorbol-b, c-diacetats (28)	2,6 und 2,1
Hydroxy-nor-phorbol-b, c-diacetat (30)	3,11 und 2,45

Tab. 5. Chemische Verschiebung (δ) der Methylenprotonen des Phorbols in den KMR-Spektren (CDCl_3) von Phorbol-Derivaten mit abgewandelter Allylgruppierung.

Auf Grund unseres ersten Strukturvorschlags für Phorbol¹⁴ lokalisierten KAUFFMANN et al.¹⁸ die Oxidogruppe in dem von ihnen mittels Perbenzoesäure dargestellten Epoxid des Phorbol-a,b,c-triacetats an der Doppelbindung der Allylalkoholgruppierung. Die Epoxidierung gelingt auch mit Peressigsäure. Aus dem Epoxid läßt sich die acetylierte Hydroxylgruppe (a) mit 0,5-proz. Natriumbicarbonat-Lösung selektiv freisetzen (Tab. 4).

Im KMR-Spektrum des Epoxids des Phorbol-b,c-diacetats (28) erkennt man die Signale von zwei Acetylgruppen sowie von drei mit Deuteriumoxid austauschbaren Protonen. Wie zu erwarten, verschoben sich beim Epoxid die Signale der zur

Hydroxylgruppe (a) geminalen sowie die der β - und γ -ständigen Protonen (vgl. 2) gegenüber Phorbol-b,c-diacetat nach höherem Feld. Ähnlich wie im Phorbol-b,c-diacetat-a-aldehyd bildet die Methylengruppe ein breites AB-System mit den Zentren bei 2,1 und 2,6 ppm (Tab. 5).

Eine starke Beeinflussung der Signale der Methylengruppe ist bei einem Phorbol-Derivat zu erwarten, bei dem die Hydroxymethylgruppe (vgl. 2) durch einen Carbonylsauerstoff ersetzt ist. Um eine entsprechende Abwandlung zu erzielen, wird die isolierte Doppelbindung in Phorbol-a,b,c-triacetat mittels Osmium-tetroxid in eine *cis*-1.2-Glykolgruppierung überführt (vgl. Tab. 4) und die Hydroxylgruppe (a) selektiv freigesetzt. Das nunmehr vorliegende Dihydroxy-Derivat (29) des Phorboltriacetats enthält eine glycerinähnliche Gruppierung, aus der sich mit Natriumperjodat die Hydroxymethylgruppe selektiv abspalten läßt. An deren Stelle tritt ein Carbonylsauerstoff, der mit dem ringständigen Hydroxyl ein sekundäres 1.2-Ketol bildet (30). In 30 sind die Signale der Protonen der Methylengruppe nach 2,45 bzw. 3,11 ppm verschoben (vgl. Tab. 5) und zu einem ausgeprägten AB-System aufgespalten. Daher ist auch hier anzunehmen, daß die Carbonylgruppe das eine Proton der Methylengruppe infolge seiner räumlichen Nähe stärker diamagnetisch abschirmt als das andere.

Im 1.2-Ketol (30) läßt sich – außer der Carbonylgruppe (f) – auch die sekundäre 1.2-Ketolgruppierung mit Natriumborhydrid zu einem disekundären 1.2-Glykol reduzieren (31, vgl. Tab. 4). Durch Acetylierung von 31 mit Acetanhydrid/Pyridin wird ein Pentaacetat (32) erhalten. Wie sich im KMR-Spektrum (Tab. 6) durch Doppelresonanz nachweisen läßt, koppelt das durch Reduktion des Ketolcarbonyls in 30 eingeführte H-Atom mit einem der beiden H-Atome der Methylengruppe ($J \approx 8$ cps).

Zur Struktur des Phorbols

Auf Grund des chemischen Verhaltens und der spektroskopischen Daten der voranstehend beschriebenen Phorbol-Derivate können die Partialstrukturen 1–3 mit Strukturelementen aus 4 ergänzt sowie die letzteren weiter aufgeschlüsselt werden.

Die reduzierenden Eigenschaften des Phorbol-3-ols sprechen gegen die zunächst angenommene^{12, 14} Verknüpfung der α,β -ungesättigten Carbonylgruppe in 1 mit der sekundären Hydroxylgruppe (b) in 3 zu einer sekundären 1.2-Ketolgruppierung^{3, 4}. Anderer-

¹⁸ TH. KAUFFMANN, W. JASCHING u. J. SCHULZ, Chem. Ber. **99**, 1569 [1966].

bei	eingestrahlt [ppm]	beobachtet bei	beobachtet [ppm]	Änderung der Multiplizität
H-3 (M)	5,35	H-10	2,98	Verschärfung ^a
H-10 (M) ^b	2,98	H-1	5,85	Verschärfung ^c
		H-3	5,35	Verschärfung ^d
H-5a	2,98	H-6	5,44	Q → D ($J_{5/6} \approx 8$ cps; Kopplungskonstante des Dubletts $J_{6/7} \approx 1,2$ cps)
H-5a	2,98 ($J = 16$ cps) ^e	—	—	—
H-11, H-8	2,15	H-7	5,5	M → T (nicht aufgelöst; unvollständige Entkopplung? H-7/H-8 trans-ständig)
		H-12	5,54	D → S ($J_{11/12} \approx 10$ cps)
5 Acetylene	2,15 2,07 2,06 1,97	—	—	—
CH ₃ -19 (M)	1,63	H-1	5,85	M → T ^f
		H-3	5,35	M → T ^d
CH ₃ -16, CH ₃ -17	1,20 bis 1,28	—	—	—
CH ₃ -18	0,99 (D, $J = 6$ cps)	—	—	—

Tab. 6. KMR-Spektren (100 MHz) von **32** gemessen in CDCl₃ mit Entkopplungen. In der ersten Spalte der Tabelle sind auch die chemischen Verschiebungen von Protonen, die nicht entkoppelt wurden, aufgeführt. ^a homoallylische long range-Kopplung, ^b überlagert von H-5a, ^c allylische long range-Kopplung (vgl. auch l. c. ², dort Tab. 2 1A → 1E), ^d homoallylische long range-Kopplung vom allylischen Typ. Ähnliche über ein sp²-Zentrum verlaufende Kopplungen sind bei Methinprotonen bekannt¹⁹. Das nach der Entkopplung verbleibende Triplett (Dublett eines Dubletts) ist durch die Kopplung H-3 mit H-1 (allylisch) und von H-3 mit H-10 (homoallylisch) bedingt. ^e AB-System; H-5b verdeckt durch Acetylsignale, ^f allylische Kopplung (vgl. auch l. c. ², dort Tab. 2 3A → 1A).

mäßig wenige auf Grund der bisher mitgeteilten chemischen Befunde und spektroskopischen Daten ausschließen lassen.

Beschreibung der Versuche

Allgemeines

Wenn nichts anderes vermerkt wird, wurden physikalische Messungen und chemische Vorschriften wie folgt ausgeführt:

Schmelzpunkte wurden mit einem Leitz-Schmelzpunktmikroskop bestimmt und nicht korrigiert. Die Bestimmung optischer Drehungen erfolgte entweder in 1-dm-Küvetten mit dem Kreispolariometer der Fa. Zeiss Winkel oder in 0,1-dm-Küvetten mit dem lichtelektrischen Präzisionspolariometer 0,005° der Fa. Zeiss, Oberkochen bzw. mit dem Polariometer Modell 141 der Fa. Bodenseewerk Perkin-Elmer & Co. GmbH, Überlingen. Bei der Natrium-D-Linie gemessene Drehungen (Kreispolariometer Zeiss Winkel, Polariometer Modell 141) sind als solche wie üblich mit $[\alpha]_D$ gekennzeichnet. Bei Messungen mit dem lichtelektrischen Polariometer der Fa. Zeiss werden entweder die bei 578 und 546 nm ermittelten Werte selbst angegeben oder mit der Formel

$$\alpha_{589} = \frac{\frac{\alpha_{578}}{\alpha_{546} - \alpha_{578}} + 1,3725}{\frac{\alpha_{578}}{\alpha_{546} - \alpha_{578}}} \cdot \alpha_{546}$$

auf die Wellenlänge 589 nm umgerechnet und mit $[\alpha]_{589}$ gekennzeichnet.

Analysen wurden im mikroanalytischen Labor des Chem. Instituts der Universität Heidelberg durchgeführt. Die Vorbereitung kristalliner Substanzen zur Analyse erfolgte durch 12-stdg. quantitatives Trocknen im Hochvakuum. Insbesondere bei harzartigen Substanzen wurde ein möglicher Gehalt an Lösungsmittel durch Messung eines KMR-Spektrums überprüft.

Die Elektronenstoß-Massenspektren wurden bei 70 eV mit dem Massenspektrometer CH-4 der Fa. Varian MAT GmbH, vormals F. Krupp, Meß- und Analysetechnik, Bremen, hochaufgelöste Elektronenstoß-Massenspektren mit dem Massenspektrometer SM 1 der Fa. F. Krupp, Meß- und Analysetechnik, Bremen, oder mit dem Massenspektrometer CEC-21-110 B der Fa. Bell & Howell GmbH, Friedberg/Hessen, aufgenommen. Elektronenanlagerungs-Massenspektren sind mit dem Gerät von M. von ARDENNE, Dresden, gemessen.

Zur Aufnahme der KMR-Spektren dienten die Kernresonanzspektrographen Modell A-60 und HA-100 der Fa. Varian AG, Zürich. Chemische Verschiebungen beziehen sich auf Si(CH₃)₄ ($\delta = 0,00$ ppm) als internen Standard.

¹⁹ M. ANTEUNIS u. F. COMPERNOLE, Bull. Soc. Chim. [Belges] 76, 483 [1967].

IR-Spektren wurden mit dem IR-Gitterspektrophotometer 521 der Fa. Bodenseewerk Perkin-Elmer & Co. GmbH, Überlingen, UV-Spektren mit dem Spektrophotometer DK-2a far UV der Fa. Beckman Instruments GmbH, München, gemessen. Tief-UV-Spektren wurden in Methanol unter Stickstoffspülung in Küvetten von 0,1 cm Schichtdicke aufgenommen. Als Kontrolle diente eine Standardlösung von Cholesterin in Methanol: λ_{\max} 194 nm; ϵ 9200–9600.

Circulardichrogramme wurden bei einer Schichtdicke von 2 cm am Dichrographen der Fa. Roussel-Jouan, Paris, bei Raumtemperatur aufgenommen.

Zur Herstellung von Dünnschicht- und Dickschichtplatten wurde Kieselgel HF₂₅₄ bzw. PF₂₅₄ der Firma Merck verwendet. Die Chromatogramme wurden im Licht einer Hg-Lampe (254 nm) betrachtet, danach mit Vanillin-Schwefelsäure-Reagenz²⁰ besprüht und auf ca. 110 °C erhitzt. Man stellt das Reagenz durch Mischen von 10 ml einer 2,5-proz. Lösung von Vanillin in Äthanol mit 50 ml konz. Schwefelsäure her.

Zur Säulenchromatographie diente Kieselgel (Merck) der Korngröße 0,05–0,20 mm verschiedener Aktivitätsstufen, die durch Zugabe bestimmter Wassermengen (% = g Wasser/100 g Kieselgel) und 12-stgd. Schütteln erhalten wurden.

Zur Säulenchromatographie wird neben Kieselgel auch Aluminiumoxid (Merck) verschiedener Aktivitätsstufen verwendet.

Soweit nicht die chemischen Symbole selbst kurz sind (z. B. CCl₄, CHCl₃, CH₂Cl₂), werden häufig verwendete Lösungsmittel bzw. Reagenzien wie folgt abgekürzt: Aceton (A), Äther (Ä), Benzol (B), Cyclohexan (Cyclo), Diisopropyläther (DipÄ), Essigester (EE), Petroläther (PÄ), Tetrahydrofuran (THF); Vanillin/Schwefelsäure (V/S).

Fehlingsche Probe: Lösung I: 10-proz. wäßrige Kupfersulfatlösung. Lösung II: 10-proz. Lösung von Kaliumtartrat in 1 n Natronlauge. Man vereinigt erst kurz vor dem Versuch 3 Tropfen der Lösung I mit 5 Tropfen der Lösung II und gießt zu diesem tiefblauen Reagenz eine wäßrige Lösung von ca. 5 mg der zu prüfenden Substanz. Bei positiver Reaktion bildet sich nach Erhitzen ein roter Niederschlag.

Tollens-Probe: Zu 1 ml einer n/10-wäßrigen Silbernitratlösung gibt man soviel 2,5-proz. wäßrigen Ammoniak, bis sich der zuerst gebildete Niederschlag gerade wieder gelöst hat (ca. 4 Tropfen). Diese Lösung wird zu wenigen mg Substanz in 0,5 ml Methanol gegeben. Bei positiver Reaktion tritt – oft erst nach Erhitzen – nach 1–2 Min. ein braunschwarzer Niederschlag oder ein Silberspiegel auf.

Aufarbeitung von Reaktionsansätzen, die Pyridin enthalten: Die Pyridinlösung wird in kaltes Wasser gegossen und die wäßrige Lösung viermal mit Essigester ausgeschüttelt. Die vereinigten Essigesterphasen wäscht man zuerst mit 1 n Salzsäure pyridinfrei und dann mit 5-proz. Kaliumbicarbonat-Lösung säurefrei. Zuletzt

wird die Essigesterphase noch mit Wasser nachgewaschen, über geglühtem Magnesiumsulfat getrocknet und eingedampft.

Aufarbeitung von Reaktionsansätzen, die Perchlorsäure enthalten: Nach Zugabe einer jeweils angegebenen Menge Natriumacetat wird die methanolische Lösung eingedampft. Den Rückstand nimmt man in Wasser auf und schüttelt die wäßrige Lösung viermal mit Essigester aus. Die vereinigten Essigesterphasen werden mit NaHCO₃-Lösung säurefrei und mit Wasser neutral gewaschen. Man trocknet über geglühtem Magnesiumsulfat und dampft ein.

Aufarbeitung von Reaktionsansätzen, die Natrium-methylat enthalten: Nach Zugabe einer jeweils angegebenen Menge Eisessig und Abdampfen des Lösungsmittels wird der Rückstand in Wasser aufgenommen und die wäßrige Lösung wie bei Ansätzen mit Perchlorsäure aufgearbeitet.

Aufarbeitung von Reaktionsansätzen, die Natriumborhydrid enthalten: Der Reaktionsansatz wird in Wasser gegossen und eine jeweils angegebene Menge Eisessig zugegeben. Die wäßrige Lösung wird wie bei den Ansätzen mit Perchlorsäure aufgearbeitet.

Phorbol-3-ol [3.4.9.12.13.20-Hexahydroxy-tigliadien-(1.6)]: Zu einer Lösung von 360 mg Phorbol in 50 ml Äthanol tropft man innerhalb von 30 Min. eine möglichst konzentrierte Lösung von 60 mg Natriumborhydrid in Äthanol. Nach einer Stde. bricht man die Reaktion mit 0,3 ml Essigsäure ab und dampft die Lösung am Rotationsverdampfer ein. Man digeriert den Rückstand dreimal mit je 100 ml Äthanol. Dieses Reaktionsgemisch wird dickschichtchromatographisch getrennt (System A/EE = 1/1). Nach dem Umkristallisieren aus Methanol bleiben noch 245 mg Phorbol-3-ol (Schmp. 218–222 °C; Ausbeute 62% d. Th.), das nach den IR-spektroskopischen Daten mit dem durch reduzierende Spaltung von Phorbol-12.13.20-triacetat gewonnenen Produkt² identisch ist. Die Verbindung reduziert Fehlingsche Lösung und Tollens Reagenz.

Phorbol-12.13-dibenzoat (5): 3,5 g Phorbol-12.13.20-tribenzoat² werden in 700 ml absolutem Methanol gelöst, mit 10 ml einer Lösung aus 0,6 g Natrium in 100 ml Methanol versetzt und unter N₂ bei Raumtemperatur stehen gelassen. Nach 15 Stdn. beendet man die Reaktion durch Zugabe von 2 ml Eisessig. Das Lösungsmittel wird im Rotationsverdampfer abgezogen und der Rückstand mit 250 ml Wasser versetzt. Nach üblicher Aufarbeitung chromatographiert man das Reaktionsprodukt an 500 g SiO₂/13% H₂O. Mit CH₂Cl₂ wird Benzoessäuremethylester, mit CH₂Cl₂/Ä = 9/1 Phorboltribenzoat und mit CH₂Cl₂/Ä = 6/1 werden geringe Mengen einer Substanz, die wahrscheinlich Phorbol-12.20-dibenzoat ist, eluiert.

Schließlich wäscht man mit CH₂Cl₂/Ä = 2/1 1,7 g (57% d. Th.) Phorbol-12.13-dibenzoat aus. Phorbol-12.13-dibenzoat ließ sich bisher nicht kristallisieren, [α]_D²⁵ –33° (1%, Dioxan).

²⁰ J. S. MATTHEWS, Biochim. biophysica Acta [Amsterdam] **69**, 163 [1963].

KMR (CDCl₃): zehn aromatische Protonen 8,0 und 7,5; H-12 5,86; H-7 5,8; H₂-20 4,05; H-10 und H-8 3,4; H₂-5 2,7; H₃-19 1,8; H₃-16 und H₃-17 1,5 und 1,32; H₃-18 1,0; OH (austauschbar) 6,1, 3,6, 2,9 ppm.

IR (KBr): $\nu_{\text{O-H}}$ 3410; $\nu_{\text{C=O}}$ 1700; $\nu_{\text{C=C}}$ 1623, 1600, 1582 cm⁻¹.

UV (Methanol): λ_{max} 231 nm; ϵ 35800.

Phorbol-12.13-dibenzoat-20-NABS-ester (6): 98 mg Phorbol-12.13-dibenzoat werden in 5 ml Benzol gelöst, mit 0,2 ml Pyridin und einer Lösung von 300 mg NABS-chlorid in 10 ml Benzol versetzt und bei Raumtemperatur stehen gelassen. Nach 3 Tagen wird das Benzol am Rotationsverdampfer abgezogen, der Rückstand mit 15 ml Aceton sowie 2 ml Wasser versetzt und 4 Stdn. gerührt. Man filtriert die rote Lösung und wäscht den Rückstand mit wenig Aceton aus. Das Filtrat wird im Rotationsverdampfer bis zur Trockene eingedampft und der Rückstand an 75 g Al₂O₃/10% H₂O chromatographiert. Zunächst eluiert man mit CCl₄/CH₂Cl₂ = 4/1 und CCl₄/CH₂Cl₂ = 2/1 Verunreinigungen aus dem NABS-chlorid. Mit CH₂Cl₂ lassen sich 131 mg (93% d. Th.) NABS-ester auswaschen. Aus Methanol kristallisiert der Ester in dünnen, roten Plättchen vom Schmp. 221–224 °C.

C₄₇H₄₃N₃O₁₁ (825,8)

Ber. C 68,35 H 5,25 N 5,10,
Gef. C 68,44 H 5,25 N 5,33.

IR (KBr): $\nu_{\text{O-H}}$ 3565, 3380; $\nu_{\text{C=O}}$ 1700; $\nu_{\text{C=C}}$ 1620, 1595, 1585, 1578 cm⁻¹.

UV (Äthanol): λ_{max} 231, 332 nm; ϵ 43500, 29800.

Phorbol-12.13-dibenzoat-20-acetat (7): 2 g Phorbol-12.13-dibenzoat wird in 15 ml Pyridin gelöst, mit 10 ml Acetanhydrid versetzt und bei Raumtemperatur stehen gelassen. Nach 2 Tagen wird der Acetylierungsansatz in 200 ml Wasser gegossen und 1 Stde. stehen gelassen. Das Acetylierungsprodukt wird nach üblicher Aufarbeitung in Äther aufgenommen. Aus dieser Lösung kristallisieren 2,02 g farblose Nadeln (95% d. Th.) vom Schmp. 146–149 °C, $[\alpha]_{\text{D}}^{25} = -26^{\circ}$ (1%, Dioxan).

C₃₆H₃₈O₉ (614,7)

Ber. C 70,36 H 6,17,
Gef. C 70,16 H 6,23.

IR (KBr): $\nu_{\text{O-H}}$ 3400; $\nu_{\text{C=O}}$ (1715), 1700; $\nu_{\text{C=C}}$ 1625, 1598, 1580 cm⁻¹.

UV (Methanol): λ_{max} 231 nm; ϵ 35000.

Phorbol-3-ol-12.13-dibenzoat (8): 700 mg Phorbol-12.13-dibenzoat werden in 100 ml Äthanol gelöst, mit 200 mg NaBH₄ versetzt und bei Raumtemperatur stehen gelassen. Nach 4 Stdn. versetzt man das Reaktionsgemisch mit 2 ml Essigsäure. Das Lösungsmittel wird weitgehend am Rotationsverdampfer abgezogen und der Rückstand mit 100 ml Wasser versetzt. Nach üblicher Aufarbeitung chromatographiert man den Rückstand an 150 g SiO₂/13% H₂O. Mit CH₂Cl₂/Ä = 3/2 lassen sich 603 mg Phorbol-3-ol-12.13-dibenzoat eluieren, die bisher nicht kristallisiert werden konnten.

IR (KBr): $\nu_{\text{O-H}}$ 3420; $\nu_{\text{C=O}}$ 1717, 1700; $\nu_{\text{C=C}}$ 1598, 1580 cm⁻¹.

UV (Methanol): λ_{max} 230 nm; ϵ 29200.

Phorbol-3-ol-12.13-dibenzoat-20-acetat (9): 1 g Phorbol-12.13-dibenzoat-20-acetat wird in 80 ml THF und 20 ml Isopropanol gelöst, mit 100 mg NaBH₄ versetzt und bei Raumtemperatur stehen gelassen. Nach 2 Stdn. setzt man nochmals 100 mg NaBH₄ zu und gießt nach weiteren 2 Stdn. das Reaktionsgemisch in 200 ml Wasser, das 4 ml Eisessig enthält. Man chromatographiert das Reaktionsprodukt nach üblicher Aufarbeitung an 150 g SiO₂/13% H₂O. Die Elution mit CH₂Cl₂/Ä = 40/1 ergibt 825 mg (80% d. Th.) Phorbol-3-ol-12.13-dibenzoat-20-acetat, das sich bisher nicht kristallisieren ließ.

KMR (CDCl₃): zehn aromatische Protonen 8,0 und 7,5; H-12 5,8; H₂-20 4,5; H-3 4,3; OCOCH₃ 2,1; H₃-16 und H₃-17 1,52 und 1,32 ppm.

IR (KBr): $\nu_{\text{O-H}}$ 3420; $\nu_{\text{C=O}}$ 1720, 1700; $\nu_{\text{C=C}}$ 1598, 1580 cm⁻¹.

UV (Methanol): λ_{max} 230 nm; ϵ 29000.

Phorbol-3-ol-12.13-dibenzoat-3.20-diacetat (10): 770 mg Phorbol-3-ol-12.13-dibenzoat-20-acetat werden in 10 ml Pyridin gelöst, mit 6 ml Acetanhydrid versetzt und bei Raumtemperatur stehen gelassen. Nach 15 Stdn. wird der Acetylierungsansatz in 100 ml Wasser gegossen und 1 Stde. stehen gelassen. Man chromatographiert das Acetylierungsprodukt nach üblicher Aufarbeitung an 200 g SiO₂/13% H₂O. Mit CH₂Cl₂ läßt sich Phorbol-3-ol-12.13-dibenzoat-3.20-diacetat, mit CH₂Cl₂/Ä = 10/1 140 mg Ausgangsmaterial eluieren. Aus Diisopropyläther kristallisieren 581 mg Phorbol-3-ol-12.13-dibenzoat-3.20-diacetat vom Schmp. 149 bis 153 °C, $[\alpha]_{\text{D}}^{25} = -60^{\circ}$ (1%, Dioxan).

C₃₆H₄₂O₁₀ (658,7)

Ber. C 69,30 H 6,38,
Gef. C 69,24 H 6,33.

IR (KBr): $\nu_{\text{O-H}}$ 3440; $\nu_{\text{C=O}}$ 1730, 1720, 1700; $\nu_{\text{C=C}}$ 1598, 1580 cm⁻¹.

UV (Methanol): λ_{max} 230 nm; ϵ 31200.

Phorbol-3-ol-3.12.13-tribenzoat-20-acetat (11): 725 mg Phorbol-3-ol-12.13-dibenzoat-20-acetat werden in 10 ml Pyridin gelöst, mit 1 ml Benzoylchlorid versetzt und bei Raumtemperatur stehen gelassen. Nach 24 Stdn. wird 100 ml Wasser zugesetzt und 8 Stdn. gerührt. Man chromatographiert das Reaktionsprodukt nach üblicher Aufarbeitung an 150 g SiO₂/13% H₂O. Mit CH₂Cl₂ lassen sich 698 mg (82% d. Th.) Phorbol-3-ol-3.12.13-tribenzoat-20-acetat eluieren, das sich bisher nicht kristallisieren ließ. $[\alpha]_{\text{D}}^{25} = -30^{\circ}$ (1%, Dioxan).

IR (KBr): $\nu_{\text{O-H}}$ 3410; $\nu_{\text{C=O}}$ 1718, 1700; $\nu_{\text{C=C}}$ 1598, 1580 cm⁻¹.

UV (Methanol): λ_{max} 230 nm; ϵ 42000.

Phorbol-3-ol-3.12.13-tribenzoat (12): 500 mg Phorbol-3-ol-3.12.13-tribenzoat-20-acetat werden in 100 ml Methanol gelöst, mit 0,3 ml 60-proz. Perchlorsäure versetzt und bei Raumtemperatur stehen gelassen. Zur

Beendigung der Reaktion wird nach 19 Stdn. 1 g NaAc·3 H₂O zugesetzt. Man zieht das Lösungsmittel im Rotationsverdampfer ab und versetzt den Rückstand mit 100 ml Wasser. Nach üblicher Aufarbeitung chromatographiert man das Reaktionsprodukt an 200 g SiO₂/13% H₂O. Mit CH₂Cl₂ läßt sich wenig Ausgangsmaterial, mit CH₂Cl₂/Ä = 5/1 420 mg (89% d. Th.) Phorbol-3-ol-3.12.13-tribenzoat eluieren, das sich bisher nicht kristallisieren ließ, $[\alpha]_D^{25} = -38^\circ$ (1%, Dioxan).

IR (KBr): ν_{O-H} 3420; $\nu_{C=O}$ 1720, 1720; $\nu_{C=C}$ 1598, 1580 cm⁻¹.

UV (Methanol): λ_{max} 230 nm; ϵ 42700.

Phorbol-3-ol-3.12.13-tribenzoat-20-NABS-ester (13): 127 mg Phorbol-3-ol-3.12.13-tribenzoat werden in einer Lösung von 300 mg NABS-chlorid in 10 ml Benzol gelöst und mit 0,2 ml Pyridin versetzt. Nach 3-tägigem Stehen bei Raumtemperatur wird das Benzol im Rotationsverdampfer abgezogen. Der Rückstand wird mit 20 ml Aceton und 2 ml Wasser versetzt und 15 Stdn. gerührt. Man filtriert die rote Lösung und wäscht den Rückstand mit 10 ml Aceton. Das Lösungsmittel wird im Rotationsverdampfer abgezogen und der Rückstand an 150 g Al₂O₃/6% H₂O chromatographiert. Mit CCl₄ und CCl₄/CH₂Cl₂ = 2/1 werden Verunreinigungen aus dem NABS-chlorid, mit CH₂Cl₂ 160 mg (91% d. Th.) Phorbol-3-ol-3.12.13-tribenzoat-20-NABS-ester eluiert. Der Ester kristallisiert aus Methanol in dünnen, roten Plättchen vom Schmp. 167–170 °C.

C₅₄H₄₉N₃O₁₂ (932,0)

Ber. C 69,58 H 5,26 N 4,51,

Gef. C 69,25 H 5,35 N 4,72.

IR (KBr): ν_{O-H} 3410; $\nu_{C=O}$ 1720, 1700; $\nu_{C=C}$ 1600, 1580 cm⁻¹.

UV (Methanol): λ_{max} 230, 332 nm; ϵ 59000, 33400.

Acetylierung von Phorbol-3-ol-12.13-dibenzoat: 550 mg Phorbol-3-ol-12.13-dibenzoat werden in 10 ml Pyridin gelöst, mit 6 ml Acetanhydrid versetzt und 15 Stdn. bei Raumtemperatur stehen gelassen. Man gießt das Reaktionsgemisch in 100 ml Wasser und arbeitet wie üblich auf. Man erhält 406 mg Phorbol-3-ol-12.13-dibenzoat-3.20-diacetat (10), das aus PÄ/DiPA umkristallisiert wird. Das so dargestellte Produkt ist in seinen physikalischen Daten identisch mit der aus Phorbol-3-ol-12.13-dibenzoat-20-acetat durch Acetylierung erhaltenen Verbindung.

IR (KBr): ν_{O-H} 3440; $\nu_{C=O}$ 1730, 1720, 1700; $\nu_{C=C}$ 1598, 1580 cm⁻¹.

UV (Methanol): λ_{max} 230 nm; ϵ 31200.

Phorbol-9.12.13-triacetat (14): 1 g Phorbol-4.9.12.13.20-pentaacetat² wird in 400 ml absolutem Methanol gelöst und mit 7,5 ml einer Natriummethylat-Lösung (0,6 g Natrium/100 ml Methanol; 2,6·10⁻¹ M) versetzt. Man läßt den Ansatz unter Stickstoff 20 Stdn. bei 4 °C stehen. Danach ist das Ausgangsmaterial quantitativ in eine mehr polare Substanz übergegangen. Man bricht die Reaktion durch Zugabe von 2 ml Eisessig ab und dampft das Methanol ab. Der

Rückstand wird in 200 ml Essigester aufgenommen. Man wäscht die organische Phase je zweimal mit je 100 ml 5-proz. Kaliumbicarbonat-Lösung und Wasser. Nach Abdampfen des Essigesters erhält man 800 mg Substanz, die durch Säulenchromatographie an 300 g SiO₂/13% H₂O mit dem System B/EE = 1/1 gereinigt wird. Man erhält 750 mg (90% d. Th.) nicht kristallisierendes Phorbol-9.12.13-triacetat. R_f -Wert in B/EE = 1/1:0,21. Nach Besprühen des Dünnschichtchromatogramms mit V/S färbt sich der Substanzfleck rotbraun.

KMR (CDCl₃): H-1 7,42 (DD: $J_{1,10} \approx 2-3$ cps; $J_{1,19} \approx 1-2$ cps); H-7 5,64 (D: $J_{7,8} = 4$ cps); H-12 5,53 (D: $J_{11,12} = 10$ cps); H₂-20 4,05 (S); H-10 4,02 (M); H-8 3,33 (M); H₂-5 ca. 2,5; H-11 2,5–2,2; drei OCOCH₃ 2,15, 2,08, 1,98; H₃-19 1,78 (DD: $J_{10,19} \approx 2-3$ cps; $J_{1,19} \approx 1-2$ cps); H₃-16 und H₃-17 1,29 (S) und 1,15 (S); H₃-18 0,95 (D: $J_{11,18} = 7$ cps); H-14 0,95 (D: $J_{8,14} = 6$ cps); zwei OH (austauschbar) 3,60 und ca. 2,8 ppm.

IR (KBr): ν_{O-H} 3440 (breit); $\nu_{C=O}$ 1707, 1735 (mit Schultern); $\nu_{C=C}$ 1627 cm⁻¹.

UV (Methanol): λ_{max} 236, 321 nm; ϵ 5800, 92.

Phorbol-9.12.13.20-tetraacetat (15) aus Phorbol-9.12.13-triacetat: 400 mg Phorbol-9.12.13-triacetat werden in 5 ml Pyridin gelöst und mit 1 ml Acetanhydrid versetzt. Man läßt 8 Stdn. bei Raumtemperatur stehen und arbeitet den Ansatz in üblicher Weise auf. Nach der Reinigung des Rohprodukts durch Dickschichtchromatographie (System: B/EE = 3/1) erhält man 380 mg Phorbol-9.12.13.20-tetraacetat (90% d. Th.) als Harz.

R_f -Wert in Ä/PÄ = 4/1 : 0,5. $[\alpha]_{546}^{25} = 74^\circ$; $[\alpha]_{578}^{25} = 70^\circ$ (1%, Dioxan).

MS: Molekülion $m/e = 532$.

IR (CCl₄): ν_{O-H} 3565, 3415 (breit); $\nu_{C=O}$ 1738, 1710; $\nu_{C=C}$ 1630 cm⁻¹.

UV (Methanol): λ_{max} 186, 232, (320) nm; ϵ 13000, 6200, (140).

Phorbol-9.12.13.20-tetraacetat (15) aus Phorbol-12.13.20-triacetat: 500 mg Phorbol-12.13.20-triacetat versetzt man mit 50 ml Acetanhydrid und 20 mg *p*-Toluolsulfonsäure. Die Reaktion wird dünnschichtchromatographisch kontrolliert: die gesuchte Substanz besitzt im System PÄ/Ä = 1/10 einen R_f -Wert zwischen dem der beiden Referenzsubstanzen Phorbol-12.13.20-triacetat und Phorbolpentaacetat. Nach etwa 27 Stdn. wird der Ansatz in eine Lösung von 2 g Natriumacetat·3 H₂O in 200 ml Wasser gegossen. Nach etwa 3 Stdn. wird die wäßrige Lösung viermal mit je 50 ml Essigester ausgeschüttelt. Die vereinigten Essigesterphasen wäscht man mit 5-proz. Kaliumbicarbonat-Lösung säurefrei. Nach dem Nachwaschen mit Wasser wird über Magnesiumsulfat getrocknet.

Das Rohprodukt wird an 300 g SiO₂/13% H₂O chromatographiert. Die Ausbeute an Phorbol-9.12.13.20-tetraacetat beträgt 325 mg (62% d. Th.). Es wird in harziger Form erhalten und konnte bis jetzt nicht zur Kristallisation gebracht werden.

MS: Molekülion $m/e = 532$.

KMR (CDCl_3): H-1 7,43 (M); H-7 5,72 (M); H-12 5,49 (D: $J_{11,12} = 10$ cps); H₂-20 4,51 (S); H-10 4,03; H-8 3,26; H₂-5 2,6 und 2,3 (AB-System); drei OCOCH_3 2,13, 2,05, 1,97; H-11 ca. 2,1; H₃-19 1,79 (DD); H₃-16 und H₃-17 1,28 (S) und 1,14 (S); H₃-18 0,93 (D: $J_{11,18} = 6$ cps) H-14 ca. 0,9; OH (austauschbar) 3,02 ppm.

IR (CCl_4): $\nu_{\text{O-H}}$ 3565, 3415 (breit); $\nu_{\text{C=O}}$ 1738, 1710; $\nu_{\text{C=C}}$ 1630 cm^{-1} .

UV (Methanol): λ_{max} 195,5, 235, 328 nm; ϵ 13850, 5700, 71.

Nacharbeitung einer Vorschrift¹⁵ zur Darstellung eines Phorbol-tetraacetates: 312 mg Phorbol-12.13.20-triacetat wurden in 5 ml Acetanhydrid gelöst, mit 1 ml Pyridin versetzt und in einer Stickstoffatmosphäre 3 Stdn. unter Rückfluß gekocht. Nach Abkühlen auf Raumtemperatur wurde der schwarzbraune Acetylierungsansatz in 100 ml Wasser gegossen und 2 Stdn. stehen gelassen. Nach üblicher Aufarbeitung zeigte das Dünnschichtchromatogramm, daß nur ca. 50% des eingesetzten Triacetates in mehrere unpolare Produkte umgewandelt wurden.

Phorbol-3-ol-13.20-diacetat (16): 1 g Phorbol-13.20-diacetat wird in 30 ml Äthanol gelöst und unter Rühren mit 100 mg Natriumborhydrid versetzt. Nach einer Stde. ist die Ausgangssubstanz vollständig umgesetzt, und man kann die Reaktion durch Zugabe von 1 ml Eisessig abbrechen. Nach üblicher Aufarbeitung wird das Reaktionsgemisch auf der Säule (4 · 120 cm; $\text{SiO}_2/20\%$ Wasser) mit dem System $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{A} = 5/1$ getrennt. Man erhält 500 mg (50% d. Th.) aus Äther kristallisierendes 16, das nach 24-stdg. Trocknen bei 120 °C im Hochvakuum bei 155–157 °C schmilzt.

R_f -Wert in B/EE = 1/3 : 0,42.

$[\alpha]_{\text{D}}^{24} = 37^\circ$ (1%, Dioxan).

MS: Molekülion $m/e = 450$.

KMR (CDCl_3): OCOCH_3 2,11 (S), 2,07 (S); CH_3 1,68 (Q), 1,28 (S), 1,20 (S), 1,17 (D); OH (austauschbar) 3,33, ca. 3,20 (breit), 2,95; Veränderungen gegenüber Phorbol-13.20-diacetat¹: H-1 5,73; H-3 4,15 ppm.

IR (KBr): $\nu_{\text{O-H}}$ 3521, 3425, 3390; $\nu_{\text{C=O}}$ 1724, 1709 cm^{-1} .

UV (Äthanol): Keine Maxima oberhalb von 215 nm.

Phorbol-3-ol-12.13.20-triacetat (17): 1 g Phorbol-12.13.20-triacetat wird in 100 ml Isopropanol gelöst, mit 50 mg NaBH_4 versetzt und gerührt. Nach 2 Stdn. setzt man weitere 50 mg NaBH_4 zu und gießt den Ansatz nach 4 Stdn. Reaktionszeit in 100 ml H_2O , das 1 ml Essigsäure enthält. Man chromatographiert das Reaktionsprodukt nach üblicher Aufarbeitung an 200 g $\text{SiO}_2/13\%$ H_2O . Mit $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{A} = 20/1$ lassen sich 702 mg (70% d. Th.) dünn-schichtchromatographisch einheitliches Phorbol-3-ol-12.13.20-triacetat eluieren, das bisher nicht kristallin erhalten wurde.

KMR (CDCl_3): H-1 und H-7 5,8; H-12 5,4; H₂-20 4,5; H-3 4,2; H-10 und H-8 3,0; H₂-5 2,6; drei

OCOCH_3 2,1; H₃-19 1,7; H₃-16 und H₃-17 1,30 und 1,23; H₃-18 0,9; OH (austauschbar) 5,3; 3,0 ppm.

IR (KBr): $\nu_{\text{O-H}}$ 3400; $\nu_{\text{C=O}}$ 1730; $\nu_{\text{C=C}}$ — cm^{-1} .

UV (Methanol): Keine Maxima oberhalb von 215 nm.

Phorbol-3-ol-3.12.13.20-tetraacetat (vgl. l. c.^{2,9,11}): 470 mg Phorbol-3-ol-12.13.20-triacetat werden in 15 ml Pyridin gelöst, mit 10 ml Acetanhydrid versetzt und bei Raumtemperatur stehen gelassen. Nach 72 Stdn. gießt man den Acetylierungsansatz in 100 ml Wasser und läßt 1 Stde. stehen. Man chromatographiert das Reaktionsprodukt nach üblicher Aufarbeitung an 55 g $\text{Al}_2\text{O}_3/10\%$ H_2O . Die Elution mit CH_2Cl_2 ergibt 424 mg (83% d. Th.) Tetraacetat. Mit $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{A} = 20/1$ lassen sich noch ca. 15 mg Ausgangsmaterial eluieren. Nach Umlösen des Tetraacetates aus Cyclohexan werden 307 mg farblose Kristalle vom Schmp. 183–185 °C erhalten.

$\text{C}_{28}\text{H}_{38}\text{O}_{10}$ (534,6)

Ber. C 62,91 H 7,16,

Gef. C 62,92 H 7,22.

KMR (CDCl_3): Veränderung gegenüber Phorbol-3-ol-12.13.20-triacetat: H-3 5,5 ppm; eine weitere OCOCH_3 -Gruppe bei 2,1 ppm.

IR (KBr): $\nu_{\text{O-H}}$ 3585, 3425; $\nu_{\text{C=O}}$ 1730; $\nu_{\text{C=C}}$ — cm^{-1} .

Rückoxydation von Phorbol-3-ol-12.13.20-triacetat zu Phorbol-12.13.20-triacetat: 115 mg CrO_3 werden in 5 ml absolutem Pyridin gelöst und anschließend unter Rühren und Kühlen mit einer Lösung von 100 mg Phorbol-3-ol-12.13.20-triacetat in 5 ml absolutem Pyridin versetzt. Nachdem das Reaktionsgemisch 2 Tage bei Raumtemperatur gestanden hat, gießt man den Reaktionsansatz in 100 ml Wasser. Das Reaktionsprodukt wird nach üblicher Aufarbeitung an 40 g $\text{SiO}_2/10\%$ H_2O chromatographiert. Mit $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{A} = 9/1$ lassen sich zunächst 67 mg Phorbol-12.13.20-triacetat, dann 17 mg Ausgangsmaterial eluieren. Phorboltriacetat wird aus B/PÄ umgelöst (Schmp. 103–105 °C). Das erhaltene Triacetat hat den gleichen R_f -Wert und das gleiche IR-Spektrum wie das durch Acetylierung von Phorbol mit $\text{Ac}_2\text{O}/\text{Pyridin}$ dargestellte.

IR (KBr): $\nu_{\text{O-H}}$ 3400; $\nu_{\text{C=O}}$ 1710 (breit); $\nu_{\text{C=C}}$ 1622 cm^{-1} .

Phorbol-3-ol-12.13.20-triacetat-3-benzoat: 640 mg Phorbol-3-ol-12.13.20-triacetat werden in 10 ml Pyridin gelöst, mit 0,8 ml Benzoylchlorid versetzt und bei Raumtemperatur stehen gelassen. Nach 15 Stdn. wird das Reaktionsgemisch mit 80 ml Wasser versetzt und 7 Stdn. gerührt. Man chromatographiert das Reaktionsprodukt nach üblicher Aufarbeitung an 300 g $\text{SiO}_2/13\%$ H_2O . Mit CH_2Cl_2 lassen sich 605 mg (78% d. Th.) der gewünschten Verbindung eluieren. Nach Umlösen aus PÄ/Ä werden 510 mg glasklare, farblose Plättchen vom Schmp. 193–195 °C, aus Cyclo vom Schmp. 197 bis 199 °C erhalten. $[\alpha]_{\text{D}}^{24} = 16^\circ$ (1%, Dioxan).

$\text{C}_{33}\text{H}_{40}\text{O}_{10}$ (596,7)

Ber. C 66,42 H 6,76,

Gef. C 66,17 H 6,84.

KMR (CDCl₃): ein Benzoat 8,0; 7,5; H-1, H-3 und H-7 5,95 und 5,8; H-12 5,4; H-8 3,1; H-10 und H₂-5 2,9–2,7; drei OCOCH₃ 2,1; H₃-19 1,7; H₃-16 und H₃-17 1,18 und 1,23; H-14 und H₃-18 1,0 ppm.

IR (KBr): $\nu_{\text{O-H}}$ 3530, 3430; $\nu_{\text{C=O}}$ 1738, 1728, 1715; $\nu_{\text{C=C}}$ 1600, 1584 cm⁻¹.

UV (Methanol): λ_{max} 230 nm; ϵ 15800.

Phorbol-3-ol-12.13-diacetat-3-benzoat (18): 460 mg Phorbol-3-ol-12.13.20-triacetat-3-benzoat werden in 100 ml Methanol gelöst, mit 0,2 ml 60-proz. Perchlorsäure versetzt und bei Raumtemperatur stehen gelassen. Nach 24 Stdn. beendet man die Reaktion durch Zugabe von 1,5 g Natriumacetat · 3 H₂O. Das Methanol wird im Rotationsverdampfer abgezogen und der Rückstand mit Wasser versetzt. Anschließend arbeitet man wie üblich auf und chromatographiert das Reaktionsprodukt an 100 g SiO₂/13% H₂O. Mit CH₂Cl₂/Ä = 3/1 werden 323 mg (77% d. Th.) Phorbol-3-ol-12.13-diacetat-3-benzoat eluiert, das nach Umlösen aus CCl₄ bei 133 bis 135 °C schmilzt. Die Substanz zeigt keine optische Drehung.

MS: Molekülion m/e = 554.

KMR (CDCl₃): ein Benzoat 8,0, 7,5; H₂-20 4,05; zwei OCOCH₃ 2,05; OH (austauschbar) 5,3, 2,7, 2,5 ppm.

IR (KBr): $\nu_{\text{O-H}}$ 3420; $\nu_{\text{C=O}}$ 1715; $\nu_{\text{C=C}}$ 1598, 1580 cm⁻¹.

UV (Methanol): λ_{max} 230 nm; ϵ 15200.

Reacetylierung von Phorbol-3-ol-12.13-diacetat-3-benzoat: 30 mg Phorbol-3-ol-12.13-diacetat-3-benzoat werden in 1 ml Pyridin gelöst und mit 0,2 ml Acetanhydrid versetzt. Nach Stehen über Nacht arbeitet man das Reaktionsgemisch wie üblich auf. Man erhält 27 mg Acetylierungsprodukt, das nach Umlösen aus PÄ/Cyclo bei 192–195 °C schmilzt. Nach Mischen mit Phorbol-3-ol-12.13.20-triacetat-3-benzoat trat keine Depression des Schmelzpunktes auf. Auch zeigte das erhaltene Produkt den gleichen R_f -Wert und identische IR- und UV-Spektren wie Phorbol-3-ol-12.13.20-triacetat-3-benzoat.

IR (KBr): $\nu_{\text{O-H}}$ 3530, 3430; $\nu_{\text{C=O}}$ 1738, 1728, 1715; $\nu_{\text{C=C}}$ 1600, 1584 cm⁻¹.

UV (Methanol): λ_{max} 230 nm; ϵ 15800.

Phorbol-3-ol-9.12.13.20-tetraacetat (19): Man löst 300 mg Phorbol-9.12.13.20-tetraacetat in 30 ml Isopropanol und setzt zweimal je 30 mg Natriumborhydrid unter Rühren zu. Man bricht die Reaktion nach einer Stde. mit 0,5 ml Eisessig ab und arbeitet wie üblich auf. Nach Dickschichtchromatographie erhält man 220 mg chromatographisch einheitliches Phorbol-3-ol-9.12.13.20-tetraacetat (73% d. Th.) als farbloses Harz. R_f -Wert in B/EE = 3/2 : 0,4.

KMR (CDCl₃): H-7 5,78 (D: $J_{7,8}$ = 5 cps); H-1 5,58 (M); H-12 5,52 (D: $J_{11,12}$ = 10 cps); H₂-20 4,58 (S); H-3 4,28 (S); H-10 3,78 (M); H-8 2,9 (M); H₂-5 2,53 (S); H-11 2,4–2,0; vier OCOCH₃

2,1 und 1,99; H₃-19 1,73 (DD); H₃-16 und H₃-17 1,33 (S) und 1,15 (S); H₃-18 1,03 (D: $J_{11,18}$ = 7 cps); H-14 0,97 (D: $J_{8,14}$ = 7 cps) ppm.

IR (CCl₄): $\nu_{\text{O-H}}$ 3580, 3420; $\nu_{\text{C=O}}$ 1732 cm⁻¹.

UV (Methanol): keine Maxima oberhalb von 220 nm.

Phorbol-3-ol-3.9.12.13.20-pentaacetat (20): 358 mg Phorbol-4.9.12.13.20-pentaacetat wird in einer Mischung aus 50 ml THF und 5 ml Isopropanol gelöst und mit 120 mg NaBH₄ versetzt. Das Reaktionsgemisch wird 4 Stdn. bei Raumtemperatur gerührt und anschließend in 200 ml Wasser gegossen, das 1 ml Essigsäure enthält. Nach üblicher Aufarbeitung chromatographiert man das Reaktionsprodukt an 120 g SiO₂/20% H₂O. Mit CH₂Cl₂/Ä = 20/1 lassen sich 202 mg (56% d. Th.) Phorbol-3-ol-3.9.12.13.20-pentaacetat, mit CH₂Cl₂/Ä = 10/1 73 mg hydrophilere Produkte eluieren. Phorbol-3-ol-3.9.12.13.20-pentaacetat ließ sich aus diesem Ansatz nicht kristallisieren. $[\alpha]_D^{25}$ = 68° (1%, Dioxan).

KMR (CDCl₃): H-1 und H-7 um 5,7; H-3 und H-12 um 5,5; H₂-20 4,5; H-10 3,86; H-8 2,76; H₂-5 2,58; fünf OCOCH₃ 2,18, 2,13, 1,98; H₃-19 1,65; H₃-16 und H₃-17 1,32 und 1,16; H₃-18 1,08; H-14 0,98; OH (austauschbar) 2,46 ppm. Die Integration lieferte 40, nach dem Austausch mit D₂O 39 Protonen.

IR (CH₂Cl₂): $\nu_{\text{O-H}}$ 3680, 3580; $\nu_{\text{C=O}}$ 1730; $\nu_{\text{C=C}}$ – cm⁻¹.

Versuch zur Darstellung von Phorbol-3-ol-3.4.9.12.13.20-hexaacetat: 352 mg Phorbol-3-ol-3.9.12.13.20-pentaacetat wurde in 10 ml Pyridin gelöst, mit 5 ml Acetanhydrid versetzt und 15 Stdn. bei Raumtemperatur stehen gelassen. Anschließend wurde der Acetylierungsansatz in Wasser gegossen und nach üblicher Aufarbeitung an 150 g SiO₂/13% H₂O chromatographiert. Mit CH₂Cl₂/Ä = 20/1 ließen sich 320 mg eines aus Ä und Ä/PÄ kristallisierenden Produkts vom Schmp. 92–94 °C eluieren. Das erhaltene Produkt wies den gleichen R_f -Wert und identische IR- und KMR-Spektren auf wie das Ausgangsmaterial.

Oxydation von Phorbol: 213 mg Phorbol werden in 1,5 l A/B = 2/1 heiß gelöst, die klare Lösung auf 20 °C gekühlt und mit 5,0 g aktivem Mangandioxyd 2 Stdn. lang geschüttelt. Man filtriert, bringt das Filtrat zur Trockene und untersucht dünnschichtchromatographisch: mit Essigester als Laufmittel erkennt man ein Gemisch aus mindestens 10 Substanzen mit R_f -Werten zwischen 0,4 und 0,9. Die Hauptmenge (R_f = 0,45) ist ein farbloses Harz, das sich an der Luft sehr rasch unter Gelbfärbung zersetzt.

4.9-Dihydroxy-12.13-diacetoxy-tigliadien-(1.6)-al-(20) (24): Man löst 700 mg Phorbol-12.13-diacetat¹ in 300 ml Methylenchlorid und versetzt mit 22 g frisch bereitetem, aktivem MnO₂. Nach 3-stdg. Rühren wird das Mangandioxyd abgesaugt und gründlich mit Methylenchlorid ausgewaschen. Zur Entfernung von Resten des MnO₂ filtriert man die Methylenchlorid-Lösung des Aldehyds durch Kieselgel, das in Wasser suspendiert wurde, und wäscht mit Methylenchlorid und mit 100 ml Äther nach. Das Filtrat trocknet man über MgSO₄.

Nach Abziehen des Lösungsmittels kristallisieren 683 mg (97% d. Th.) Aldehyd in Rosetten vom Schmp. 205 bis 207 °C (unter Zers.). Nach Umlösen aus Äther liegt der Schmp. bei 197–199 °C. $[\alpha]_D^{24} = 108^\circ$ (1%, Dioxan).

$C_{24}H_{30}O_8$ (446,5)

Ber. C 64,56 H 6,72,
Gef. C 64,47 H 6,91.

MS: Molekülion $m/e = 446$.

KMR ($CDCl_3$): H_2 -20 9,4; H-1 7,5; H-7 6,7; H-12 5,4; H-8 3,65; H-10 3,0; H_2 -5 2,8 und 2,6; zwei $OCOCH_3$ 2,1; H_3 -19 1,75; H_3 -16 und 17 1,25; H_3 -18 0,9; OH (austauschbar) 5,7, 3,2 ppm.

IR (KBr): ν_{O-H} 3445, 3345; $\nu_{C-H, Aldehyd}$ 2815; $\nu_{C=O}$ 1710, 1680; $\nu_{C=C}$ 1630 cm^{-1} .

UV (Methanol): λ_{max} 236, 322 nm; ϵ 18400, 100.

Oxim von 24 (25): 2,5 g Hydroxylaminhydrochlorid werden in 40 ml einer 0,4-m. Natriummethylat-Lösung aufgelöst und ausgefallenes NaCl abfiltriert. In dieser Lösung wird 0,1 g **24** aufgelöst. Nach $1/2$ Stde. zieht man Methanol und Hydroxylamin am Rotationsverdampfer ab und versetzt den trockenen Rückstand mit 100 ml Wasser. Der Niederschlag wird abfiltriert, mit Wasser gewaschen und über P_2O_5 getrocknet, Schmp. 168–172 °C unter Zersetzung. Die wäßrige Phase schüttelt man mit 40 ml Äther aus, trocknet die organische Phase über $MgSO_4$ und vereinigt den Trockenrückstand mit dem ausgefallenen Produkt. Ausbeute: 830 mg (80% d. Th.).

IR (KBr): ν_{O-H} 3400; $\nu_{C=O}$ 1710; $\nu_{C=C}$ 1620 cm^{-1} .

4.9-Dihydroxy-12.13-diacetoxy-20-cyan-tigliadien-(1.6) (26): 820 mg rohes **25** werden in 100 ml Acetanhydrid gelöst und eine Stde. in einer Stickstoffatmosphäre unter Rückfluß gekocht. Man zieht das Acetanhydrid im Rotationsverdampfer ab, versetzt den Rückstand mit 50 ml Wasser und läßt 6 Stdn. stehen. Nach üblicher Aufarbeitung wird an 200 g $SiO_2/13\%$ H_2O chromatographiert. Bei der Elution mit CH_2Cl_2 erhält man 310 mg (39% d. Th.) Nitril **26**; mit $CH_2Cl_2/CHCl_3 = 1/1$ werden noch 220 mg **27** eluiert. Die erneute Chromatographie des Nitrils an 200 g $SiO_2/13\%$ H_2O mit CH_2Cl_2 und nachfolgendes Umlösen aus Ä/PÄ erbringt 244 mg analysenreines Nitril (31% d. Th.) vom Schmp. 224–228 °C (bei ca. 215 °C beginnende Zers.). $[\alpha]_D^{24} = 91^\circ$ (1%, Dioxan).

$C_{24}H_{29}NO_7$ (443,6)

Ber. C 64,99 H 6,54 N 3,16,
Gef. C 65,32 H 6,77 N 2,96.

MS: Molekülion $m/e = 443$.

KMR ($CDCl_3$): H-1 7,55; H-7 6,6; H-12 5,4; H-8 3,4; H-10 3,2; H_2 -5 2,7; zwei $OCOCH_3$ 2,1 und 2,08; H_3 -19 1,8; H_3 -16 und 17 1,2; H-14 1,15; H_3 -18 0,9; OH (austauschbar) 5,6, 3,4 ppm.

IR (KBr): ν_{O-H} 3440, 3325; $\nu_{C=N}$ 2215; $\nu_{C=O}$ 1712; $\nu_{C=C}$ 1625 cm^{-1} .

UV (Methanol): λ_{max} 228 nm; ϵ 11200.

Oximacetat von 24 (27): 215 mg **25** werden in 10 ml Acetanhydrid gelöst, mit 1 ml Pyridin versetzt und bei Raumtemperatur stehen gelassen. Nach 12 Stdn. erhitzt man das Reaktionsgemisch 40 Min. unter Stickstoff auf 110 °C. Nach Abkühlen auf Raumtemperatur wird Acetanhydrid am Rotationsverdampfer abgezogen und der Rückstand mit 50 ml Wasser versetzt und 1 Stde. stehen gelassen, um restliches Acetanhydrid zu zersetzen. Nach der üblichen Aufarbeitung chromatographiert man das Reaktionsprodukt an 120 g $SiO_2/13\%$ H_2O . Mit $CH_2Cl_2/CHCl_3 = 1/1$ lassen sich 187 mg (83% d. Th.) **27** eluieren. Nach Umlösen aus B/PÄ schmilzt das Produkt bei 152–156 °C (unter Zersetzung).

Aus dieser Verbindung konnte durch Kochen in Dimethylformamid keine Essigsäure unter Nitrilbildung abgespalten werden, $[\alpha]_D^{24} = 83^\circ$ (1%, Dioxan).

KMR ($CDCl_3$): H_2 -20 7,9; H-1 7,55; H-7 6,15; H-12 5,4; H-8 3,6; H-10 3,15; H_2 -5 2,95 und 2,8; drei $OCOCH_3$ 2,22, 2,19, 2,10; H_3 -19 1,8; H_3 -16 und 17 1,26; H-14 1,15; H_3 -18 0,9; OH (austauschbar) 5,7, 3,3 ppm.

IR (KBr): ν_{O-H} 3400; $\nu_{C=O}$ 1770, 1740, 1710; $\nu_{C=C}$ 1625, 1590 cm^{-1} .

Epoxid des Phorbol-12.13.20-triacetats [4.9-Dihydroxy-12.13.20-triacetoxy-6.7-oxido-tigli-en-(1)-on-(3)] (vgl. l. c.¹⁸): 1 g Phorbol-12.13.20-triacetat² wird mit 50 ml einer Peressigsäure-Lösung in Methylchlorid (1–2-molar) versetzt und 15 Stdn. bei Raumtemperatur stehen gelassen. Danach verdünnt man den Ansatz mit 150 ml Methylchlorid, schüttelt zweimal mit je 100 ml $NaHCO_3$ -Lösung, einmal mit 100 ml Wasser aus und dampft die Methylchlorid-Lösung ein. Um die überschüssige Peressigsäure möglichst quantitativ zu entfernen, wird der Rückstand in Toluol aufgenommen und die Lösung wieder im Vakuum eingedampft. Diesen Vorgang wiederholt man viermal. Man erhält 798 mg chromatographisch einheitliches Epoxid des Phorbol-12.13.20-triacetats (77% d. Th.), das aus Benzol nach Zugabe von Petroläther (bis zur beginnenden Trübung) auskristallisiert. Nach einer Umkristallisation aus Ä/PÄ und 24-stdg. Trocknung bei 80 °C im Hochvakuum schmilzt das Epoxid bei 174–176 °C.

$C_{26}H_{34}O_{10}$ (506,6)

Ber. C 61,66 H 6,72,
Gef. C 61,21 H 6,66.

KMR ($CDCl_3$): H-1 7,60 (DD: $J_{1,10} = 2-3$ cps, $J_{1,19} = 1-2$ cps); H-12 5,42 (D: $J_{11,12} = 10,5$ cps); H_2 -20 3,98 (AB-System: $J_{A,B} = 11,5$ cps); H-10 3,48 (M); H-7 3,22 (D: $J_{7,8} = 8,5$ cps); H-5a 2,70 (D: $J_{5a,5b} = 17$ cps); drei $OCOCH_3$ 2,12, 2,09, 1,95; H-5b 2,05 (verdeckt); H-8, H-11 ca. 2,0; H_3 -19 1,77 (DD: $J_{1,19} \approx 1-2$ cps, $J_{10,19} \approx 2-3$ cps); H_3 -16 und 17 1,27 (S) und 1,23 (S); H-14 ca. 0,9; H_3 -18 0,88 (D: $J_{11,18} = 6,5$ cps); OH (austauschbar) 5,63, 3,41 ppm.

IR (KBr): $\nu_{\text{O-H}}$ 3510 (Schulter), 3475; $\nu_{\text{C=O}}$ 1742, 1718, 1693; $\nu_{\text{C=C}}$ 1619 cm^{-1} .

UV (Methanol): λ_{max} 244, 332 nm; ϵ 6900, 66.

Epoxid des Phorbol-12.13-diacetats[4.9.20-Trihydroxy-12.13-diacetoxy-6.7-oxido-tigli-en-(1)-on-(3)] (28): 370 mg des Epoxids von Phorbol-12.13.20-triacetat werden in 40 ml Methanol gelöst, mit 40 ml einer 0,5-proz. NaHCO_3 -Lösung versetzt und bei Raumtemperatur stehen gelassen. Nach 5 Stdn. wird die Reaktion durch Neutralisation mit Eisessig abgebrochen. Man dampft das Methanol ab, nimmt den wäßrigen Rückstand in 100 ml Wasser auf und schüttelt viermal mit je 80 ml Äther aus. Nach Eindampfen der vereinigten Ätherphasen trennt man den Rückstand säulenchromatographisch (200 g $\text{SiO}_2/13\% \text{H}_2\text{O}$) mit dem System B/EE = 1/1 auf. Es werden 210 mg **28** (62% d. Th.) erhalten und aus Äther kristallisiert.

$\text{C}_{24}\text{H}_{32}\text{O}_9$ (464,5)

Ber. C 62,06 H 6,94,

Gef. C 62,57 H 7,28.

KMR (CDCl_3): H-1 7,55 (M); H-12 5,38 (D: $J_{11,12} = 10,5$ cps); H₂-20 und H-10 ca. 3,5; H-7 3,28 (D: $J_{7,8} = 8,5$ cps); H-5a 2,6 (D: $J_{5a,5b} = 17$ cps); zwei OCOCH_3 2,12 und 2,09; H-5b, H-8 und H-11 ca. 2,1; H₃-19 1,74 (M); H₃-16 und 17 1,27 (S) und 1,23 (S); H-14 ca. 0,9; H₃-18 0,87 (D: $J_{11,18} = 6,5$ cps); OH (austauschbar) 5,68, 3,74, 3,1 ppm.

IR (KBr): $\nu_{\text{O-H}}$ 3410; $\nu_{\text{C=O}}$ 1740, 1718, 1709; $\nu_{\text{C=C}}$ 1628 cm^{-1} .

*4.7.9-Trihydroxy-12.13-diacetoxy-20-nor-tigli-en-(1)-dion-(3.6) (30)**: Zur Darstellung von **(30)** wird Phorbol-12.13.20-triacetat² mit OsO_4 an der Doppelbindung der Allylgruppierung hydroxyliert und die Hydroxylgruppe (a) freigesetzt, wobei die Verbindung **(31)** entsteht. Diese wird mit NaJO_4 behandelt. Das entstehende 1.2-Ketol **(30)** ist harz-

* Vgl. Fußnote Tab. 4.

artig, R_f -Wert in $\text{CHCl}_3/\text{EE} = 2/2 : 0,27$, $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = 62^\circ$ (1%, Dioxan).

$\text{C}_{23}\text{H}_{30}\text{O}_9$ (450,5)

MS: Molekülion $m/e = 450$.

KMR (CDCl_3 , 100 MHz): H-1 7,76 (M); H-12 5,73 (D: $J \approx 10$ cps); H-7 4,66 (DD: $J_{\text{CHOH}} \approx 6$ cps, $J_{7,8} \approx 10$ cps); OH-7 3,79 (D: $J_{\text{CHOH}} \approx 6$ cps); H-10 3,46 (M); H₂-5 2,78 (AB-System, $J \approx 16$ cps, $\Delta\nu = 0,67$); H-8 2,37 (DD: $J_{7,8} \approx 10$ cps, $J_{8,14} \approx 6$ cps); zwei OCOCH_3 2,08 und 2,05; H₃-19 1,82 (M); H-14 1,65 (D); H₃-16, H₃-17 1,19 und 1,09; H₃-18 0,87 (D: $J = 6,5$ cps); OH (austauschbar) 5,93 (S); 3,14 (S) ppm.

IR (KBr): $\nu_{\text{O-H}}$ 3380; $\nu_{\text{C=O}}$ 1735, 1715, 1705; $\nu_{\text{C=C}}$ 1623 cm^{-1} .

UV (Methanol): λ_{max} 193, 242, 330 nm; ϵ 6680, 8320, 64.

4.9-Dihydroxy-3.6.7.12.13-pentaacetoxy-20-nor-tigli-en-(1) (32): Man reduziert **30** mit Natriumborhydrid in Äthanol und verestert das Reduktionsprodukt **31** mittels Acetanhydrid/Pyridin. **32** ist harzartig. R_f -Wert in B/EE = 2/1 : 0,35; $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = 14,4^\circ$ (1%, Dioxan).

$\text{C}_{29}\text{H}_{40}\text{O}_{12}$ (580,6)

MS: kein Molekülion, Fragmentionen höchster Masse bei $m/e = 562$ ($\text{M}^\ominus - 18$) und $m/e = 520$ ($\text{M}^\ominus - 60$).

IR (KBr): $\nu_{\text{O-H}}$ 3500, 3420 (breit); $\nu_{\text{C-H}}$ 2970 bis 2920, 2875; $\nu_{\text{C=O}}$, Acetat 1735 (breit); $\delta_{\text{as,CH}_3}$, $\delta_{\text{s,CH}_2}$ 1430; $\delta_{\text{s,CH}_3}$, $\delta_{\text{s,CH}_3}$, Acetat 1370; $\nu_{\text{C-O}}$, Acetat 1255–1220, 1058, 1037, 1016 cm^{-1} .

UV (Methanol): λ_{max} 194,5 nm, ϵ 11595.

Die Messung von zahlreichen Spektren sowie anregende Diskussionen verdanken wir Herrn Dr. CH. WÜNSCHE (MS), Heidelberg, und Herrn Dr. H. BUDZIKIEWICZ (MS), Braunschweig, Herrn Dr. A. MANN-SCHRECK (KMR), Heidelberg, Herrn Dr. J. SONNEN-BICHLER (KMR), München, Herrn Dr. A. MELERA (KMR), Zürich, und Herrn Prof. Dr. M. ANTEUNIS (KMR), Gent.