

DEUTSCHE DEMOKRATISCHE REPUBLIK
AMT FÜR ERFINDUNGS- UND PATENTWESEN

PATENTCHRIFT 147 239

Wirtschaftspatent

Erteilt gemäß § 5 Absatz 1 des Änderungsgesetzes zum Patentgesetz

In der vom Anmelder eingereichten Fassung veröffentlicht

Int. Cl.³

(11) 147 239

(44) 25.03.81

3(51) C 07 D 307/93

(21) WP C 07 D / 216 763

(22) 08.11.79

(71) Akademie der Wissenschaften der DDR, Berlin, DD

(72) Voigt, Brunhilde, Dr. Dipl.-Chem.; Adam, Günter, Prof. Dr. Dipl.-Chem., DD

(73) siehe (72)

(74) Akademie der Wissenschaften der DDR, Institut für Biochemie der Pflanzen, Büro für Schutzrechte, 4010 Halle, Weinberg 3, PSF 250

(54) Verfahren zur Herstellung von Azidogibberellinen

(57) Es ist das Ziel der Erfindung, solche Gibberellin-Derivate herzustellen, die eine veränderte biologische Aktivität aufweisen und insbesondere eine für die Photoaffinity labelling-Technik geeignete Gruppierung enthalten. Die Aufgabe der Erfindung besteht darin, in Position 1 des ent-Gibberellan-Grundgerüsts eine Azidogruppe einzuführen. Erfindungsgemäß wird ein Gibberellin-Derivat mit Δ^1-3 -Oxo-Strukturmerkmal mit Stickstoffwasserstoffsäure in einem inerten Lösungsmittel umgesetzt und gegebenenfalls anschließend mit komplexen Metallhydriden, insbesondere mit Natriumborant, reduziert. 1-Azidogibberelline werden bereits in guten Ausbeuten erhalten, wenn man bei Raumtemperatur arbeitet. Nebenprodukte wurden nicht gefunden.

216763 -1-

Verfahren zur Herstellung von Azidogibberellinen

Die Erfindung betrifft ein Verfahren zur Herstellung von Azidogibberellinen. Darunter sind Gibberellin-Derivate zu verstehen, die in Position 1 des ent-Gibberellin-Grundgerüsts eine Azidogruppe besitzen. Dabei ist das ent-Gibberellin-Grundgerüst intakt oder geringfügig verändert (z. B. seco-, homo- oder nor-ent-Gibberellin) und gegebenenfalls in verschiedenster Weise substituiert.

Anwendungsgebiet der Erfindung

Anwendungsgebiet der Erfindung ist die biochemische Forschung, insbesondere die Erforschung der Regulation von Wachstums- und Differenzierungsprozessen in Pflanzen im Hinblick auf die Entwicklung neuer Wachstumsregulatoren für die landwirtschaftliche Praxis.

Die Azidogibberelline enthalten eine für die Photoaffinity labelling-Technik geeignete chromophore Funktion und sind somit für Rezeptorstudien als Phytohormonanaloga einsetzbar.

Die erfindungsgemäß hergestellten Verbindungen dienen außerdem zur Synthese weiterer strukturmodifizierter Gibberelline bzw. als Ausgangsstoffe für die Gewinnung trägerfixierter Gibberelline zur Affinitätschromatographie.

Charakteristik der bekannten technischen Lösungen

Natürlich vorkommende Diterpenoide mit Gibberellin-Grundgerüst besitzen als Phytohormone multipler Wirkung (Gibberelline) gro-

Se biologische Bedeutung. Es ist bekannt, daß eine Strukturmodifikation solcher Gibberelline zu Verbindungen mit veränderter biologischer Aktivität führt. Beispielsweise zeigen Desoxygibberellin C, Pseudogibberellin A₁ sowie bestimmte fluorierte Vertreter gibberellin-antagonistische Eigenschaften.

Zahlreiche weitere strukturmodifizierte Gibberelline wurden auf partial- bzw. totalsynthetischem Wege dargestellt und auf ihre biologische Aktivität geprüft. So wurden z. B. durch säurekatalysierte Hydratisierung von 3-Dehydro-gibberellin A₃ mit 2 n Salzsäure in Tetrahydrofuran und anschließende Reduktion mit Natriumborant 1 β -Hydroxy-gibberellin A₁ und 1 β -Hydroxy-pseudogibberellin A₁ synthetisiert (G. ADAM und Ph. D. HUNG, DDR-Patentschrift 112 439, C 07d, 5/06; G. ADAM und Ph. D. HUNG, Tetrahedron Letters 1974, 3419) und durch photochemische oder alkalikatalysierte Umsetzung des 3-Dehydro-gibberellin A₃-methylesters in Alkoholen 1-Alkoxy-gibberellin A₁-methylester gewonnen (E. P. SEREBRYAKOV, N. S. KOBRINA, V. F. KUCHEROV, G. ADAM und K. SCHREIBER, Tetrahedron 28 (1972), 3819; I. A. GURVICH, I. M. MILSTEIN und V. F. KUCHEROV, Izvest. Akad. Nauk SSSR (Ser. Khim.) 1966, 184). Gibberellin-Verbindungen, die in Position 1 des ent-Gibberellin-Grundgerüsts eine unsubstituierte oder substituierte Mercaptogruppe besitzen, wurden durch Umsetzung von Gibberellin-Derivaten mit Δ^1 -3-Oxo-Strukturmerkmal mit einer Verbindung R-SH, wobei R für H, Alkyl oder substituiertes Alkyl steht, in einem Lösungsmittel und gegebenenfalls in Anwesenheit einer organischen Base hergestellt (B. VOIGT und G. ADAM, DDR-Patentschrift 136 836, C 07 D 307/93).

Ziel der Erfindung

Es ist das Ziel der Erfindung, zu Gibberellin-Derivaten mit veränderter biologischer Aktivität zu gelangen, insbesondere zu solchen Gibberellin-Derivaten, die eine für die Photoaffinity labelling-Technik geeignete Gruppierung enthalten.

Darlegung des Wesens der Erfindung

Die Aufgabe der Erfindung besteht darin, Gibberellin-Derivate herzustellen, die in Position 1 des ent-Gibberellin-Grundgerüsts eine Azidogruppe besitzen.

Erfindungsgemäß wird ein Gibberellin-Derivat mit Δ^1 -3-Oxo-Strukturmerkmal mit Stickstoffwasserstoffsäure umgesetzt und gegebenenfalls anschließend mit komplexen Metallhydriden reduziert.

Die Stickstoffwasserstoffsäure wird in einem inerten organischen Lösungsmittel, beispielsweise in ätherischer Lösung, eingesetzt.

Als Ausgangsstoffe geeignete Gibberellin-Derivate sind u. a. 3-Dehydro-gibberellin A_3 , 3-Dehydro-gibberellin A_7 , 3-Dehydro-gibberellin A_{30} , 3-Dehydro-gibberellin A_{32} oder die entsprechenden Methylester. Sie werden nach bekannten Verfahren hergestellt (vgl. z. B. P. J. KEAY, J. S. MOFFATT und T. P. C. MULHOLLAND, J. chem. Soc. 1805 (1965); N. S. KOBRINA, E. P. SEREBRYAKOV, V. F. KUCHEROV, G. ADAM und B. VOIGT, Tetrahedron 29, 3425 (1973)).

Die Umsetzung wird in einem inerten Lösungsmittel, z. B. Tetrahydrofuran, Diäthyläther oder Methylenchlorid, durchgeführt. 1-Azidogibberelline werden bereits in guten Ausbeuten erhalten, wenn man bei Raumtemperatur arbeitet. Nebenprodukte wurden nicht gefunden.

Um Stabilität, Wasserlöslichkeit sowie Aufnahme und Transport der Verbindungen in der Pflanze zu verbessern, ist es zweckmäßig, die Ketogruppe in Position 3 mit komplexen Metallhydriden, insbesondere Natriumborant, zu reduzieren.

Die Isolierung der hergestellten Azidogibberelline erfolgt nach bekannten Methoden.

Die erfindungsgemäß hergestellten Azidogibberelline besitzen als wachstumsregulatorisch wirksame Substanzen biologisches Interesse und praktische Bedeutung für Photoaffinity labelling-Untersuchungen.

Auch nach Reduktion der Ketogruppe in Position 3 bleibt eine Gibberellinwirkung erhalten, gegebenenfalls wird sie sogar verstärkt.

Die Erfindung soll durch die folgenden Ausführungsbeispiele näher erläutert werden:

Ausführungsbeispiele

Beispiel 1:

1 β -Azido-3-dehydro-gibberellin A₁ (3) und 1 α -Azido-3-dehydro-gibberellin A₁ (4):

280 mg 3-Dehydro-gibberellin A₃ (1) wurden in 30 ml absol. Tetrahydrofuran mit 5 ml einer ätherischen Lösung von Stickstoffwasserstoffsäure (aus 1 g NaN₃) versetzt und 2 Tage bei Raumtemp. stehen gelassen. Nach Abdestillieren des Lösungsmittels i. Vak. wurden 317 mg eines amorphen Gemisches von 3 und 4 im Verhältnis 2,8 : 1 erhalten. IR (Nujol): ν_{max} 908 ($\text{C}=\text{CH}_2$), 1703 und 1719 (Carbonyl), 1782 (γ -Lacton), 2103 und 2132 (Azid) und 3408 cm⁻¹ (Hydroxyl). UV (CH₃OH, c = 0,937): λ_{max} 286 nm, E_M = 259. MS: m/e 344 (M⁺-HN₃). NMR: 1,09 (s, 18-H₃), 1,11 (s, 18-H₃), 2,27 (m, 2-H₂), 2,76 (d, J = 9 Hz, 6-H), 3,30 (d, J = 9 Hz, 5-H), 4,45 (dd, J₁ = 8,5 Hz, J₂ = 2,5 Hz, 1 β -H), 4,71 (dd, J₁ = 6,5 Hz, J₂ = 1,5 Hz, 1 α -H), 4,95 und 5,25 (σ) ppm (17 - H₂).

Beispiel 2:

1 β -Azido-3-dehydro-gibberellin A₁-methylester (5) und 1 α -Azido-3-dehydro-gibberellin A₁-methylester (6):

1,074 g 3-Dehydro-gibberellin A₃-methylester (2) wurden in 250 ml methanolfreiem Methylenchlorid mit 25 ml einer ätherischen Lösung von Stickstoffwasserstoffsäure (aus 3 g NaN₃) 2 Tage bei Raumtemp. umgesetzt. Nach Abdestillieren des Lösungsmittels i. Vak. wurden 1,20 g eines amorphen Gemisches von 5 und 6 im Verhältnis 1,8 : 1 erhalten. IR: ν_{max} 907 ($\text{C}=\text{CH}_2$), 1176 (Estercarbonyl), 1723 (Carbonyl), 1779

(γ -Lacton), 2102 (Azid), 3078 ($\text{C}=\text{CH}_2$) und 3400 cm^{-1} (Hydroxyl). UV ($c = 0,910$): $\lambda_{\text{max}} 290\text{ nm}$, $E_M 267$. MS: m/e 358 ($M^+-\text{HN}_3$). NMR: 1,02 (s, 18- H_3), 1,06 (s, 18- H_3), 2,15 (m, 2- H_2), 2,81 (d, $J = 9\text{ Hz}$, 6-H), 3,31 (d, $J = 9\text{ Hz}$, 5-H), 3,72 (s, COOCH_3), 4,30 (dd, $J_1 = 9\text{ Hz}$, $J_2 = 2,5\text{ Hz}$, 1 β -H), 4,72 (dd, $J_1 = 7\text{ Hz}$, $J_2 = 2\text{ Hz}$, 1 α -H), 4,96 und 5,28 (δ) ppm (17- H_2).

Beispiel 3:

1 β -Azido-gibberellin A₁ (7):

1,133 g 3 und 4 wurden in 200 ml Methanol mit 550 mg Natriumborant innerhalb 30 Minuten unter Rühren bei Raumtemp. reduziert. Nach Ansäuern mit 10 ml 20 %iger Essigsäure wurde das Lösungsmittel i. Vak. weitgehend abdestilliert, die restliche Lösung mit 50 ml Wasser versetzt und 10 mal mit je 25 ml Essigester extrahiert. Die vereinigten Essigester-Extrakte wurden mit Wasser gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und i. Vak. einrotiert: 1,27 g Rohprodukt, das an 2,5 g Celite gebunden und an 62 g Kieselgel (Woelm) chromatographiert wurde (Fraktionen zu 30 ml). Elution mit Benzol/Äther 4 : 6 v/v lieferte in den Fraktionen 36 - 49 509 mg (40 %) 7 vom Schmp. 239 - 41 °C (Zers., aus Aceton/n-Hexan) und $[\alpha]_D^{25} 62,5^\circ$ ($c = 0,160$; $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$). IR: $\nu_{\text{max}} 906$ ($\text{C}=\text{CH}_2$), 1704 (Carbonyl), 1762 (γ -Lacton), 2113 (Azid) und 3453 cm^{-1} (Hydroxyl). MS: m/e 389 (M^+). NMR (100 MHz): 1,07 (s, 18- H_3), 2,56 (d, $J = 10\text{ Hz}$, 6-H), 3,52 (d, $J = 10\text{ Hz}$, 5-H), 3,76 (dd, $J_1 = 5\text{ Hz}$, $J_2 = 2\text{ Hz}$, 3-H), 4,08 (dd, $J_1 = 5\text{ Hz}$, $J_2 = 2\text{ Hz}$, 1-H), 4,86 und 5,16 (δ) ppm (17- H_2).

1 β -Azido-pseudogibberellin A₁ (8):

Elution mit Benzol/Äther 2 : 8 v/v der für 7 beschriebenen Säulenchromatographie lieferte in den Fraktionen 50-83 296 mg (23 % amorphes 8 mit $[\alpha]_D^{26} - 11,9^\circ$ ($c = 0,311$). IR: $\nu_{\text{max}} 908$ ($\text{C}=\text{CH}_2$), 1707 (Carbonyl), 1763 (γ -Lacton), 2102 (Azid), 3078 ($\text{C}=\text{CH}_2$) und 3420 cm^{-1} (Hydroxyl). MS: m/e 389 (M^+). NMR (100 MHz): 1,11 (s, 18- H_3), 2,55 (d, $J =$

10 Hz, 6-H), 2,69 (d, $J = 10$ Hz, 5-H), 3,79 (dd, $J_1 = 12$ Hz, $J_2 = 6$ Hz, 3-H), 4,17 (dd, $J_1 = 6$ Hz, $J_2 = 2$ Hz, 1-H), 4,85 und 5,18 (δ) ppm (17-H₂).

1 α -Azido-gibberellin A₁ (9):

Weitere Elution mit Äther/Eisessig 98 : 2 v/v lieferte in den Fraktionen 95 - 115 306 mg (24 %) amorphes 9 mit $[\alpha]_D^{22} +45,3^\circ$ ($c = 0,256$). IR: $\nu_{\max}$ 907 ($>C = CH_2$), 1706 (Carbonyl), 1762 (γ -Lacton), 2101 (Azid) und 3400 cm^{-1} (breit, Hydroxyl). MS: m/e 389 (M^+). NMR (100 MHz): 1,08 (s, 18-H₃), 2,54 (d, $J = 10$ Hz, 6-H), 3,53 (d, $J = 10$ Hz, 5-H), 3,64 (t, $J = 5$ Hz, 3-H), 3,73 (dd, $J_1 = 7$ Hz, $J_2 = 4$ Hz, 1-H), 4,80 und 5,17 (δ) ppm (17-H₂).

Analog wurden hergestellt:

1 β -Azido-gibberellin A₁-methylester (10):

Schmp. 193 - 95 °C (Nadeln aus Aceton/n-Hexan) $[\alpha]_D^{23} - 66,9^\circ$ ($c = 0,329$). IR: $\nu_{\max}$ 907 ($>C = CH_2$), 1177 (Estercarbonyl), 1657 ($>C = CH_2$), 1733 (Carbonyl), 1758 (γ -Lacton), 2118 (Azid), 3080 ($>C = CH_2$), 3420 und 3460 cm^{-1} (Hydroxyl). MS: m/e 402 ($M^+ - 1$). NMR (100 MHz): 1,06 (s, 18-H₃), 2,60 (d, $J = 10$ Hz, 6-H), 3,53 (d, $J = 10$ Hz, 5-H), 3,66 (s, COOCH₃), 3,78 (3-H), 4,07 (dd, $J_1 = 5$ Hz, $J_2 = 2$ Hz, 1-H), 4,72 (d, $J = 4,5$ Hz, H-Brücke), 4,83 und 5,14 (δ) ppm (17-H₂). Ausb.: 39 %.

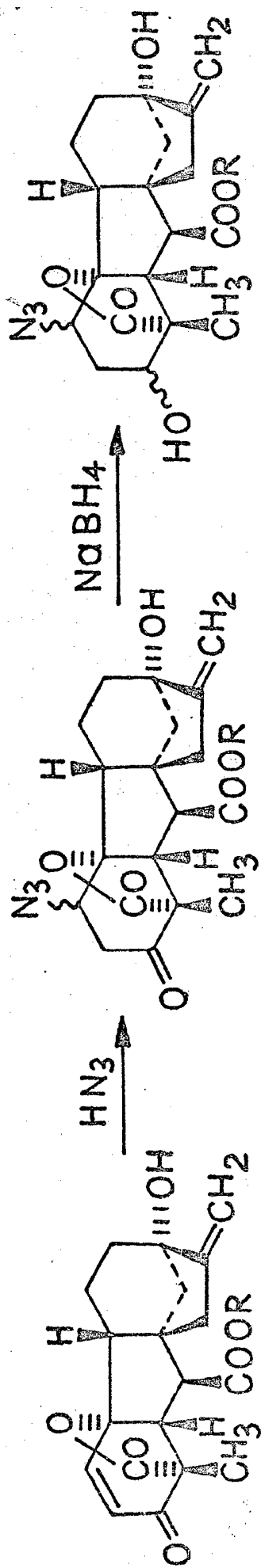
1 β -Azido-pseudogibberellin A₁-methylester (11):

amorph. $[\alpha]_D^{22} - 10,2^\circ$ ($c = 0,304$). IR: $\nu_{\max}$ 906 ($>C = CH_2$), 1174 (Estercarbonyl), 1655 ($>C = CH_2$), 1725 (Estercarbonyl), 1772 (γ -Lacton), 2098 (Azid), 3073 ($>C = CH_2$) und 3420 cm^{-1} (Hydroxyl). MS: m/e 403 (M^+). NMR: 1,05 (s, 18-H₃), 2,63 (d, $J = 10$ Hz, 6-H), 2,88 (d, $J = 10$ Hz, 5-H), 3,71 (s, COOCH₃), 3,90 (3-H), 4,21 (dd, $J_1 = 5$ Hz, $J_2 = 2$ Hz, 1-H), 4,91 und 5,21 (δ) ppm (17-H₂). Ausb.: 25 %.

Erfindungsanspruch

1. Verfahren zur Herstellung von Azidogibberellinen, dadurch gekennzeichnet, daß ein Gibberellin-Derivat mit Δ^1 -3-Oxo-Strukturmerkmal mit Stickstoffwasserstoffsäure in einem inerten Lösungsmittel umgesetzt und gegebenenfalls anschließend mit komplexen Metallhydriden reduziert wird.
2. Verfahren nach Punkt 1, dadurch gekennzeichnet, daß nach der Umsetzung des Gibberellin-Derivats mit Δ^1 -3-Oxo-Strukturmerkmal mit Stickstoffwasserstoffsäure mit Natriumborant reduziert wird.

Hierzu / Seiten Formeln



1: R = H
2: R = CH₃

3: R = H, 1 β -N₃
4: R = H, 1 α -N₃
5: R = CH₃, 1 β -N₃
6: R = CH₃, 1 α -N₃

7: R = H, 1 β -N₃, 3 β -C
8: R = H, 1 β -N₃, 3 α -C
9: R = H, 1 α -N₃, 3 β -C
10: R = CH₃, 1 β -N₃, 3 β -C
11: R = CH₃, 1 β -N₃, 3 α -C