



(12) Wirtschaftspatent

Ertelt gemäß § 17 Absatz 1 Patentgesetz

(19) DD (11) 259 625 A1

4(51) C 07 D 307/93

AMT FÜR ERFINDUNGS- UND PATENTWESEN

In der vom Anmelder eingereichten Fassung veröffentlicht

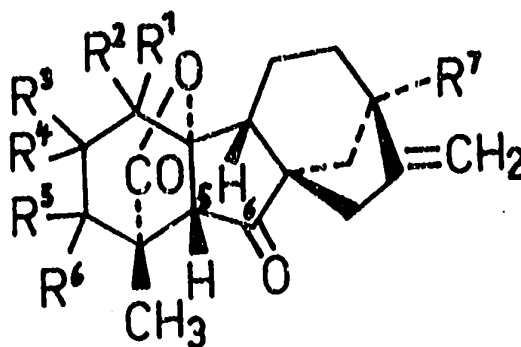
(21)	WP C 07 D / 301 827 7	(22)	15.04.87	(44)	31.08.88
------	-----------------------	------	----------	------	----------

(71)	Akademie der Wissenschaften der DDR, Otto-Nuschke-Straße 22/23, Berlin, 1080, DD
(72)	Lischowski, Manfred, Dr. sc. nat. Dipl.-Chem., LD

(54)	Vorgehen zur Herstellung von 6-Oxo-7-nor-gibberellinen
------	--

(55) Gibberellin, Gibberellin-Derivat,
6-Oxo-7-nor-gibberellin-A₃, 6-Oxo-7-nor-gibberellin-A₅,
6-Oxo-7-nor-gibberellin-A₉, 2,6-Dioxo-7-nor-gibberellin-A₂₀
(57) Verfahren zur Herstellung von

6-Oxo-7-nor-gibberellinen Erfindungsgemäß wird ein Gibberellin-Derivat mit 6 ständiger Hydroxylgruppe, gegebenenfalls nach Schutz von anderen oxidierbaren funktionellen Gruppen, in einem Lösungsmittel oder Lösungsmittelgemisch zum entsprechenden 6-Oxo-7-nor-gibberellin der allgemeinen Formel I oxidiert. Verbindungen der allgemeinen Formel I sind für viele Gebiete bedeutungsvoll, z. B. für biotechnologische und analytische Verfahren, für Untersuchungen von Biosynthese, Metabolismus, Transport, Verteilung, Wirkungsweise und Struktur-Wirkungsbeziehungen dieser Phytohormongruppe und ihrer partialsynthetischen Analoga bzw. als Grundlage für die Synthese neuer Wirkstoffe. Weiterhin dienen solche Verbindungen als Ausgangsstoffe für diese Synthese anderer strukturmodifizierter Gibberelline sowie radioaktiver und/oder stabilisotopmarkierter Substanzen. Formel I



Formel I

Patentansprüche:

1. Verfahren zur Herstellung von 6-Oxo-7-nor-gibberellinen der allgemeinen Formel I, **dadurch gekennzeichnet**, daß man ein Gibberellin-Derivat mit 6ständiger Hydroxylgruppe in einem Lösungsmittel oder Lösungsmittelgemisch mit entsprechenden 6-Oxo-7-nor-gibberellin der allgemeinen Formel I oxidiert, wobei in der allgemeinen Formel I R^1 , R^3 , R^5 und R^7 unabhängig voneinander für H, OH, OAc, OSiMe₃, OTHP, OAlkyl bzw. OAryl sowie R^2 , R^4 und R^6 für H oder $R^2 + R^4$ bzw. $R^5 + R^6$ gemeinsam für die Δ^1 - bzw. Δ^2 -Doppelbindung oder $R^1 + R^2$, $R^3 + R^4$ bzw. $R^5 + R^6$ gemeinsam für = O stehen.
2. Verfahren nach Anspruch 1, **dadurch gekennzeichnet**, daß man als Ausgangsstoff ein Gibberellin-Derivat mit 6ständiger Hydroxylgruppe einsetzt, das keine anderen oxidierbaren funktionellen Gruppen enthält bzw. in dem alle anderen oxidierbaren funktionellen Gruppen mit Schutzgruppen versehen sind.
3. Verfahren nach Anspruch 1 oder 2, **dadurch gekennzeichnet**, daß man die Umsetzung mit chromhaltigen Oxidationsmitteln durchführt.
4. Verfahren nach Anspruch 3, **dadurch gekennzeichnet**, daß man als Oxidationsmittel Pyridiniumdichromat, Pyridiniumchlorochromat, CrO₃ · Pyridin, CrO₃ · Me₃SiCl oder das Jones-Reagens einsetzt.
5. Verfahren nach Anspruch 1 oder 2, **dadurch gekennzeichnet**, daß man als Oxidationsmittel den N-Chlorsuccinimid-Dimethylsulfid-Komplex einsetzt.
6. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 5, **dadurch gekennzeichnet**, daß man bei Raumtemperatur arbeitet.

Hierzu 1 Seite Formeln

Anwendungsgebiet der Erfindung

Die Erfindung betrifft ein Verfahren zur Herstellung von 6-Oxo-7-nor-gibberellinen der allgemeinen Formel I. Die Erfindung ist für viele Gebiete bedeutungsvoll, z.B. können 6-Oxo-7-nor-gibberelline der allgemeinen Formel I für biotechnologische und analytische Verfahren, für Untersuchungen von Biosynthese, Metabolismus, Transport, Verteilung, Wirkungsweise und Struktur-Wirkungsbeziehungen dieser Phytohormongruppe und ihrer partialsynthetischen Analoga bzw. als Grundlage für die Synthese neuer Wirkstoffe eingesetzt werden. Weiterhin dienen solche Verbindungen als Ausgangsstoffe für die Synthese anderer strukturmodifizierter Gibberelline sowie radioaktiver und/oder stabilisotopmarkierter Substanzen.

Charakteristik des bekannten Standes der Technik

Es ist bekannt, daß ent-6-Oxo-5- β (H)-7-nor-gibberell-16-en-19-säure durch aldolartige Ringschlußreaktion, nachfolgende Oxidation und basische Decarboxylierung von Fufenal zugänglich ist (J.R. Hanson, K.P. Parry, C.L. Willis, J. Chem. Soc. Chem. Commun. 1981, 285 und Phytochemistry 21, 1955 [1982]). Die gleiche Verbindung wurde durch pyrolytische Ringverengung eines cyclischen 7-Ringanhydrids hergestellt (J.R. Hanson, C.L. Willis, K.P. Parry, J. Chem. Soc. 1981, 3020). Beide Synthesemethoden führen jedoch zu einer 6-Oxo-7-nor-Verbindung mit veränderter Konfiguration an C-5, die nicht der natürlichen Konfiguration entspricht. Sie sind nur auf C₂₀-Gibberelline anwendbar, die zudem keine gegenüber Basen bzw. Pyrolyse empfindliche Strukturen aufweisen dürfen. Dagegen existiert bisher noch kein Verfahren zur Herstellung von 6-Oxo-7-nor-gibberellinen der allgemeinen Formel I, bei dem die natürliche Konfiguration an C-5 erhalten bleibt und das auf base- und pyrolyseempfindliche C₁₉-Gibberelline anwendbar ist.

Ziel der Erfindung

Ziel der Erfindung ist es, neue Gibberellin-Derivate für biotechnologische und analytische Verfahren, für Untersuchungen von Biosynthese, Metabolismus, Transport, Verteilung, Wirkungsweise und Struktur-Wirkungsbeziehungen bzw. als Grundlage für die Synthese neuer Wirkstoffe oder anderer strukturmodifizierter Gibberelline sowie radioaktiver und/oder stabilisotopmarkierter Substanzen zur Verfügung zu stellen.

Darlegung des Wesens der Erfindung

Die Aufgabe der Erfindung besteht darin, ein Verfahren zur Herstellung von 6-Oxo-7-nor-gibberellinen der allgemeinen Formel I zu entwickeln.

Erfindungsgemäß wird ein Gibberellin-Derivat mit 6ständiger Hydroxylgruppe, gegebenenfalls nach Schutz von anderen funktionellen Gruppen, in einem Lösungsmittel oder Lösungsmittelgemisch zum entsprechenden 6-Oxo-7-nor-gibberellin der allgemeinen Formel I oxidiert. In der allgemeinen Formel I stehen R^1 , R^3 , R^5 und R^7 unabhängig voneinander für H, OH, OAc, OSiMe₃, OTHP, OAlkyl bzw. OAryl sowie R^2 , R^4 und R^6 für H oder $R^2 + R^4$ bzw. $R^5 + R^6$ gemeinsam für die Δ^1 - bzw. Δ^2 -Doppelbindung oder $R^1 + R^2$, $R^3 + R^4$ bzw. $R^5 + R^6$ gemeinsam für = O.

Die als Ausgangsstoffe eingesetzten Gibberellin-Derivate mit beständiger Hydroxylgruppe werden auf bekannte Weise hergestellt (siehe M. Lischewski und G. Adam, DDR-Patentschrift 147 358, C07D 307/93).

Um zu gewährleisten, daß lediglich die beständige Hydroxylgruppe oxidiert wird, ist es zweckmäßig, andere oxidierbare funktionelle Gruppen vor der Oxidation mit Schutzgruppen zu versehen. So können andere Hydroxylgruppen z. B. durch Silylgruppen (z. B. Trimethylsilyl, t-Butyldimethylsilyl), Acylgruppen (z. B. Acetyl, Propionyl, Butyryl, Benzoyl, auch substituiertes Benzoyl), Alkyl- bzw. Arylgruppen oder durch die Tetrahydropyranylgruppe geschützt werden.

Geeignete Oxidationsmittel sind chromhaltige Reagenzien, wie PDC (Pyridiniumdichromat), PCC (Pyridiniumchlorochromat), $\text{CrO}_3 \cdot \text{Pyridin}$, $\text{CrO}_3 \cdot \text{Me}_3\text{SiCl}$ oder das Jones-Reagens.

Auch andere Oxidationsmittel sind brauchbar, wie der N-Chlor-succinimid-Dimethylsulfid-Komplex, mit nachfolgender Triethylaminzugabe.

Die Oxidation wird in einem unter den angewandten Bedingungen nicht oxidierbaren Lösungsmittel durchgeführt, z. B. Methylchlorid, Chloroform, Tetrahydrofuran, Dioxan, Pyridin, Dimethylformamid oder Acetonitril, oder es werden Lösungsmittelgemische, wie beispielsweise Dioxan/Wasser oder Dimethylformamid/Wasser eingesetzt. In speziellen Fällen kann auch in wäßrigem Milieu gearbeitet werden.

Die Reaktionstemperatur ist in einem weiten Bereich variierbar, wobei es am zweckmäßigsten ist, bei Raumtemperatur oder niedrigen Temperaturen zu arbeiten, um empfindliche Strukturmerkmale der Gibberelline zu schonen.

Die Aufarbeitung der Reaktionsprodukte erfolgt nach den üblichen Methoden, beispielsweise durch Extraktion und Säulenchromatographie.

Die dargestellten Verbindungen der allgemeinen Formel I sind bedeutungsvoll für biotechnologische und analytische Verfahren, für Untersuchungen von Biosynthese, Metabolismus, Transport, Verteilung, Wirkungsweise und Struktur-Wirkungsbeziehungen bzw. als Grundlage für die Synthese neuer Wirkstoffe oder anderer strukturmodifizierter Gibberelline sowie radioaktiver und/oder stabilisotopmarkierter Substanzen.

Nachfolgende Beispiele erläutern die Erfindung, wobei die darin angegebenen speziellen Bedingungen die Erfindung nicht einschränken.

Ausführungsbeispiele

Beispiel 1

444,4 mg (1 mmol) O(3), O(13) Diacetyl-6 β -acetoxy-7-nor-gibberellin-A₃ werden mit 2,5 ml (0,5 mmol) einer 0,2 N NaOCH₃-Lösung in abs. CH₃OH 5 Min. bei 20°C stehengelassen. Anschließend säuert man mit Eisessig an, engt im Vakuum ein, fügt H₂O hinzu und extrahiert mit Ether. Trocknen und Einengen der organischen Phase liefern nach SiO₂-Chromatographie bei Elution mit Benzin/CHCl₃ 4:6 v/v 314 mg $\pm$ 78% d. Th. O(13) Acetyl-6 β -acetoxy-7-nor-gibberellin-A₃: Schmp. 193–194°C (Ether); $[\alpha]_D^{25} + 90,8^\circ$ (c = 0,39 in Ethanol); IR (CHCl₃): ν_{max} 3410 (br. OH), 1775 (γ -Lacton-CO), 1740 (Acetyl-CO), 1665 (= CH₂) und 1245 cm⁻¹ (Acetyl-C-O); Kationen- und Anionen-MS: m/z 402 (M⁺ bzw. M⁻).

402,5 mg (1 mmol) O(13)-Acetyl-6 β -acetoxy-7-nor-gibberellin-A₃ werden in 7 ml CH₂Cl₂ gelöst und mit 126 mg Dihydropyran und 25 mg p-Toluolsulfonsäure · Pyridin versetzt. Nach 4 h Stehenlassen bei 20°C engt man ein, fügt H₂O zu und extrahiert mit Ether. Einengen der organischen Phase ergibt den rohen O(3)-Tetrahydropyranylether vom O(13)-Acetyl-6 β -acetoxy-7-nor-gibberellin-A₃, welcher danach mit 10 ml (2 mmol) einer 0,2 N NaOCH₃-Lösung in abs. CH₃OH entacetyliert wird. Nach 4 h bei 20°C neutralisiert man mit Eisessig, engt ein, fügt H₂O zu und extrahiert mit EtOAc. Einengen der organischen Phase und SiO₂-Chromatographie liefern 261 mg $\pm$ 55% d. Th. des O(3) Tetrahydropyranylethers vom 6 β -Hydroxy-7-nor-gibberellin-A₃. 261 mg des O(3) Tetrahydropyranylethers vom 6 β -Hydroxy-7-nor-gibberellin-A₃ werden in 3 ml DMF gelöst und mit 486 mg PDC versetzt. Nach 4 h bei 20°C gibt man H₂O zu und extrahiert erschöpfend mit EtOAc. Nach Trocknung der organischen Phase mit Na₂SO₄ wird eingengt und der Rückstand in 4 ml EtOH gelöst und mit 13 mg p-Toluolsulfonsäure · Pyridin versetzt. Nach 8 h bei 55°C engt man im Vakuum ein, fügt H₂O zu und extrahiert mit EtOAc. SiO₂-Chromatographie des Rückstandes der EtOAc-Phase liefert bei Elution mit CHCl₃/EtOAc 8:2 v/v 127 mg $\pm$ 62% d. Th. 6-Oxo-7-nor-gibberellin-A₃ (Formel I; R¹ = R³ = H, R² + R⁴ = Δ^1 -Doppelbindung, R⁵ = β OH, R⁶ = α H, R⁷ = OH); Schmp. 190–192°C (EtOAc); $[\alpha]_D^{25} + 43,0^\circ$ (c = 0,33 in Ethanol); IR (Nujol): ν_{max} 3480 (br. OH), 1770 (γ -Lacton-CO) und 1740 cm⁻¹ (Keton); UV (c = 0,66): λ_{max} 305 nm; ϵ_{max} 760; ORD (c = 0,63): [M]₃₃₂ = -643°, [M]₂₇₈ = +950° (a = -15,9); Kationen- und Anionen-MS: m/z 316 (M⁺ bzw. M⁻); ¹H-NMR (Pyridin-d₅): 1,98 (s, 18-H₃), 3,60 (s, 5-H), 4,51 (d, J = 3,8 Hz, 3-H), 5,03 und 5,60 (2m, 17-H₂), 6,20 (dd, J = 9,3 Hz, J' = 3,8 Hz, 2-H) und 6,52 ppm (d, J = 9,3 Hz, 1-H).

Beispiel 2

402,5 mg (1 mmol) O(13) Acetyl-6 β -acetoxy-7-nor-gibberellin-A₃ (analog Beispiel 1 dargestellt) werden in 2 ml DMF gelöst und mit 230 mg Imidazol und 181 mg t.BuMe₂SiCl versetzt. Nach 16 h bei 20°C fügt man 20 ml H₂O zu und extrahiert mehrfach mit Ether. Trocknung der Etherphase mit Na₂SO₄ und Einengen im Vakuum liefern einen Rückstand, der an SiO₂ chromatographiert wird. Elution mit Benzin/CHCl₃ 8:2 v/v ergibt 407 mg $\pm$ 79% O(3) t-Butyldimethylsilyl, O(13) acetyl, 6 β -acetoxy-7-nor-gibberellin-A₃: Schmp. 153–155°C (Hexan).

407 mg O(3) t-Butyldimethylsilyl-O(13)acetyl, 6 β -acetoxy-7-nor-gibberellin-A₃ werden mit 8 ml einer 0,2 N NaOCH₃-Lösung in CH₃OH entacetyliert (4 h bei 20°C). Analoge Aufarbeitung und Chromatographie führen zu 181 mg $\pm$ 53% O(3) t-Butyldimethylsilyl-6 β -hydroxy-7-nor-gibberellin-A₃: Schmp. 200–201°C (Ether); $[\alpha]_D^{25} + 126,2^\circ$ (c = 0,40 in Ethanol); IR (CHCl₃): ν_{max} 3420 (br. OH), 1775 (γ -Lacton-CO) und 1660 cm⁻¹ (= C=C); Kationen- und Anionen-MS: m/z 432 (M⁺ bzw. M⁻); ¹H-NMR (CDCl₃/TMS): 0,12 und 0,14 (2 $\times$ s, Me₂Si), 0,92 (s, t-Bu), 1,38 (s, 18-H₃), 2,65 (d, J = 8,5 Hz, 5-H), 2,72 (dt, J = 16 Hz, J' = 3 Hz, 15 α -H), 3,95 (d, J = 8,5 Hz, 6-H), 4,13 (d, J = 3,5 Hz, 3-H), 5,26 und 4,96 (2 $\times$ m, 17-H₂), 5,72 (dd, J = 9,3 Hz, J' = 3,5 Hz, 2-H) und 6,19 ppm (d, J = 9,3 Hz, 1-H).

108,1 mg (0,25 mmol) O(3) t-Butyldimethylsilyl-6 β -hydroxy-7-nor-gibberellin-A₃ werden in 2 ml DMF gelöst und mit 188,1 mg (0,5 mmol) PDC oxidiert. Nach 4 h bei 20°C wird analog Beispiel 1 aufgearbeitet. SiO₂-Chromatographie bei Elution mit Benzin/CHCl₃ 7:3 v/v liefert 64,5 mg $\pm$ 60% d. Th. O(3) t-Butyldimethylsilyl-6-oxo-7-nor-gibberellin-A₃: Schmp. 207–208°C (Ether/Hexan); $[\alpha]_D^{25} + 100,3^\circ$ (c = 0,40 in Ethanol);

43,1 mg (0,1 mMol) O(3)t-Butyldimethylsilyl-6-oxo-7-nor-glibberellin-A₃ werden unter Inertgas in 1 ml abs. THF gelöst und mit 63,3 mg (0,2 mMol) Bu₄NF · 3H₂O versetzt. Nach 3 h bei 25°C engt man im Vakuum ein, fügt H₂O zu und extrahiert mit EtOAc. Analoge Chromatographie ergibt 7,6 mg Δ 24% d. Th. 6-Oxo-7-nor-glibberellin-A₃ (Formel I; R¹ = R³ = H, R² + R⁴ = Δ¹. Doppelbindung, R⁵ = βOH, R⁶ = αH, R⁷ = OH).

Beispiel 3

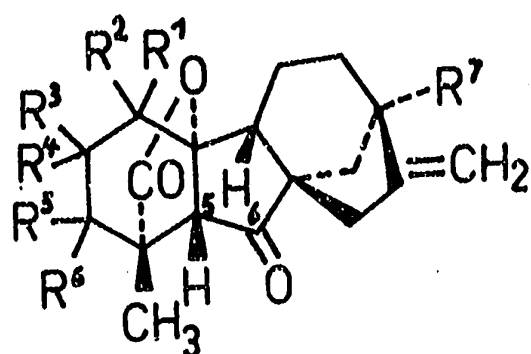
302,4 mg (1 mMol) 6β-Hydroxy-7-nor-glibberellin-A₅ werden in 3 ml DMF gelöst und mit 752,4 mg (2 mMol) PDC oxidiert. Nach 4 h bei 20°C wird analog Beispiel 1 aufgearbeitet. Ausbeute: 141 mg Δ 47% d. Th. 6-Oxo-7-nor-glibberellin-A₅ (Formel I; R¹ = R² = R³ = R⁵ = H, R⁴ + R⁶ = Δ²-Doppelbindung, R⁷ = OH); amorph; IR (Nujol): ν_{max} 3420 (br. OH), 1770 (γ-Lacton-CO) und 1740 cm⁻¹ (Keton); Kationen- und Anionen MS: m/z 300 (M⁺ bzw. M⁻).

Beispiel 4

In 172 mg N-Chlorsuccinimid in 4 ml trockenem CH₂Cl₂ werden bei 0°C und unter Argon 0,125 ml CH₃-S-CH₃ gegeben. Nach zehnminütigem Rühren gibt man bei -25°C 28,8 mg 6β-Hydroxy-7-nor-glibberellin-A₉ und nach weiteren 2 h 130 mg Triethylamin zu. Anschließend wird 10 Minuten bei 20°C gerührt und im Vakuum eingeengt. Nach Zugabe von H₂O und Ausschütteln mit Ether wird die Etherphase getrocknet, eingeengt und der Rückstand chromatographiert. Elution mit Benzin/CHCl₃ 9:1 v/v ergibt 11,7 mg Δ 41% d. Th. 6-Oxo-7-nor-glibberellin-A₉ (Formel I; R¹ = R² = R³ = R⁴ = R⁵ = R⁶ = R⁷ = H); amorph; IR (Nujol): ν_{max} 1775 (γ-Lacton-CO), 1740 (Keton) und 1660 cm⁻¹ (= CH₂); Kationen- und Anionen-MS: m/z 286 (M⁺ bzw. M⁻).

Beispiel 5

31,8 mg (0,1 mMol) 2-Oxo-6β-hydroxy-7-nor-glibberellin-A₂₀ werden in 5 ml Pyridin gelöst und mit 50 mg CrO₃ oxidiert. Nach 5 h bei 20°C engt man im Vakuum ein, fügt H₂O zu und extrahiert mit Ether. SiO₂-Chromatographie des Rückstandes der eingeengten Etherphase führt zu 12,7 mg Δ 40% d. Th. 2,6-Dioxo-7-nor-glibberellin-A₂₀ (Formel I; R¹ = R² = R⁵ = R⁶ = H, R³ + R⁴ = O, R⁷ = OH); amorph; IR (Nujol): ν_{max} 3380 (br. OH); 1770 (γ-Lacton-CO), 1740 (Keton) und 1665 cm⁻¹ (= CH₂); Kationen- und Anionen-MS: m/z 316 (M⁺ bzw. M⁻).



Formel I