Natürliche Allergene, I

Das Auftreten von Falcarinol und Didehydrofalcarinol in Efeu (*Hedera helix* L.)

Natural Allergenes, I

The Occurrence of Falcarinol and Didehydrofalcarinol in Ivy (*Hedera helix* L.)

Gabriele Bruhn^a, Holger Faasch^a, Holger Hahn^a, Björn M. Hausen^b, Johann Bröhan^b und Wilfried A. König^{a,*}

^a Institut für Organische Chemie, Universität Hamburg, Martin-Luther-King-Platz 6, D-2000 Hamburg 13/FRG

^b Abteilung für Allergologie, Universitäts-Hautklinik, Martinistraße 52, D-2000 Hamburg 20/FRG

Z. Naturforsch. **42b**, 1328–1332 (1987); eingegangen am 13. März 1987

Allergenes, Falcarinol, ¹H NMR Spectra, Didehydrofalcarinol

From common ivy *Hedera helix*, subsp. *helix* and from *Hedera helix*, subsp. *canariensis* the highly unsaturated C₁₇-alcohols falcarinol (**1**) and the so far unknown didehydrofalcarinol (**2**) [(3R)-heptadeca-1,9(Z),11(Z),16-tetraene-4,6-diyne-3-ol] was isolated and its structures identified by mass spectrometry and NMR.

The (R)-configuration of falcarinol and didehydrofalcarinol was determined after catalytic hydrogenation to 3-heptadecanol by enantioselective capillary gas chromatography. Falcarinol and didehydrofalcarinol effect sensibilization and allergic skin reactions in minute concentrations.

Einleitung

Falcarinol (**1**) [(3R)-Heptadeca-1,9(Z)-dien-4,6-diin-3-ol] ist in Pflanzen weit verbreitet und wurde von M. Takahashi *et al.* [1] aus *Panax ginseng*, von F. Bohlmann *et al.* [2] aus Umbelliferen und von P. K. Larsen *et al.* [3] aus *Seseli gummiferum* isoliert. Larsen *et al.* konnten dem Falcarinol nach katalytischer Hydrierung durch Drehwert-Vergleich mit optisch aktivem 3-Heptadecanol die (R)-Konfiguration zuordnen. Die Allergen-Wirkung von Falcarinol aus *Schefflera arboricola* wurde kürzlich von L. Hansen und P. M. Boll [4] nachgewiesen.

Obgleich die allergen- und hautreizende Wirkung von Efeu (*Hedera helix*) seit langer Zeit bekannt ist, werden Efeu-Präparate in der Therapie und Kosmetik in vielfältiger Form (Salben, Tees, Haar-Lotionen) eingesetzt. Wir konnten nachweisen, daß die allergene Wirkung des Efeus auf die hoch ungesättigten C₁₇-Alkohole **1** und **2** zurückzuführen ist [6]. Die Struktur des bisher nicht bekannten Didehydrofalcarinols (**2**) wurde durch Massenspektrometrie, ¹H- und ¹³C-NMR-Untersuchungen sowie durch katalytische Hydrierung zu (R)-3-Heptadecanol bestimmt. Die (R)-Konfiguration ließ sich durch Kapillar-Gaschromatographie an der chiralen stationären Phase XE-60-L-Valin-(S)- α -phenylethylamid [7] nach Vergleich mit dem Isopropylurethan von racemischem 3-Heptadecanol zuordnen.

Isolierung von Falcarinol (1) und Didehydrofalcarinol (2)

Efeublätter und -stiele wurden zerkleinert, mit Diethylether übergossen und 3 min stehen gelassen. Nach Filtrieren und Trocknen der Etherlösung über Na₂SO₄ wurde der Extrakt eingengt, auf Kieselgelplatten (0,5 mm F₂₅₄, Merck, Darmstadt/FRG) aufgetragen und mit CHCl₃/CH₃OH (100:1; v,v) eluiert. In einem Vortest auf sensibilisierende Wirkung erwies sich die Fraktion III als aktiv, die auf der DC-Platte Fluoreszenzlösung zeigte. Diese Frak-

* Sonderdruckanforderungen an Prof. Dr. W. A. König.

tion III tritt, in Abhängigkeit vom Fundort und von der Jahreszeit, im Efeu in unterschiedlichen Mengen auf. Nach Auskratzen des Kieselgels wurde die Fraktion III mit Aceton/ CHCl_3 eluiert, der Extrakt eingengt und an einer semipräparativen HPLC-Säule mit μ -Porasil (R 18, Waters, Eschborn/FRG) chromatographiert. Als Laufmittel diente *n*-Hexan/Ethylacetat (4:1) bei einer Durchflußrate von 2 ml/min unter Verwendung eines UV-Detektors bei 254 nm.

Strukturuntersuchungen

1 und **2** sind in unterschiedlicher Menge in Fraktion III enthalten (Verhältnis 1:2 bis 1:10).

Das gelbliche Didehydrofalcariol (**2**) ist relativ instabil und polymerisiert selbst bei -20°C . Die ^1H -NMR-Spektren wurden an einem Gerät Bruker WH 400 (400 MHz) bzw. Bruker WH 270 (270 MHz) in CDCl_3 mit Tetramethylsilan als internem Standard aufgenommen. Die Aufnahme der ^{13}C -Spektren erfolgte am Gerät WH 400 bei 100 MHz. Die Massenspektren wurden nach Herstellung der Trimethylsilylderivate (Derivatbildung: 0,5 mg Probe mit 100 μl *N*-Methyl-*N*-trimethylsilyltrifluoracetamid, MSTFA, 30 min bei 20°C) an einem Gerät Hewlett-Packard 5985 A mittels kombinierter Gaschromatographie-Massenspektrometrie unter Elektronenstoß- bzw. Chemischer Ionisation mit NH_3 als Reaktandgas aufgenommen; die Direkteinlaß-Messungen wurden an einem Gerät Finnigan MAT 311 A vorgenommen.

Konfigurationsbestimmung

Einige mg von **1** als auch von **2** wurden mit Pd/C in CH_3OH bei 20°C vollständig zu 3-Heptadecanol hydriert. Jeweils eine Probe von ca. 1 mg der hydrierten Produkte wurde in 100 μl CH_2Cl_2 mit 100 μl Isopropylisocyanat 1 h bei 100°C in einem Schraubdeckelglas erhitzt. Nach Abdampfen des überschüssigen Reagenzes wurde die Probe an einer 25-m-, fused-Silica“-Kapillarsäule, belegt mit XE-60-L-Valin-(S)- α -phenylethylamid [7, 8] bei 180°C chromatographiert und mit einer Probe des racemischen 3-Heptadecanol-isopropylurethans verglichen.

Synthese von *raz.*-3-Heptadecanol

1. 2-Tetradecyl-1,3-dithian

Eine Lösung von 200 mg (1,66 mmol) 1,3-Dithian in 2 ml trockenem Tetrahydrofuran wurde unter Stickstoff und Rühren bei -30°C mit 1,084 ml (1,66 mmol) einer 1,53 M Lösung von *n*-Butyl-

lithium in *n*-Hexan versetzt und 1,5 h bei -10 bis -30°C gerührt.

Nach beendeter Metallierung wurden unter Rühren bei -20°C 0,54 ml (1,82 mmol) *n*-Tetradecylbromid zugetropft. Die Lösung wurde noch 1 h bei -10°C gerührt und anschließend 14 h bei 0°C unter Stickstoff stehengelassen.

Die Reaktionsmischung wurde auf 20°C erwärmt und in das dreifache Volumen Wasser gegossen. Mit 1-proz. KHSO_4 -Lösung wurde der pH-Wert auf 5–6 eingestellt und fünfmal mit Chloroform extrahiert. Die vereinigten Extrakte wurden mit 3% NaHSO_3 -Lösung, 5% KOH-Lösung und H_2O gewaschen, danach die organische Phase mit Na_2SO_4 getrocknet und das Lösungsmittel abgezogen.

Ausbeute: 516 mg (98%). – MS (EI, 70 eV) Direkteinlaß: $m/z = 316$ (0,2%, M), 119 (20,3%, $\text{M}-\text{C}_{14}\text{H}_{29}$).

2. 2-Ethyl-2-tetradecyl-1,3-dithian

500 mg (1,58 mmol) 2-Tetradecyl-1,3-dithian wurden in 2 ml trockenem Tetrahydrofuran gelöst und unter Stickstoff bei -30°C mit 1,046 ml (1,58 mmol) einer Lösung von *n*-Butyllithium versetzt.

Nach 3 h Rühren bei -25°C wurden 140 μl (1,74 mmol) Ethyliodid zugetropft. Es wurde noch 1 h bei dieser Temperatur gerührt und anschließend 12 h bei -25°C stehengelassen.

Die Aufarbeitung erfolgte wie beim monoalkylierten 1,3-Dithian. Das kristalline Produkt wurde säulenchromatographisch von nicht umgesetztem Edukt getrennt.

Ausbeute: 252 mg (46,3%). – MS (EI, 70 eV) Direkteinlaß: $m/z = 346$ (2%, $\text{M}+2$), 344 (15%, M), 147 (100%, $\text{M}-\text{C}_{14}\text{H}_{29}$).

3. 3-Oxoheptadecan

Neutrale Hg-Hydrolyse [9]: 197 mg (0,57 mmol) 2-Ethyl-2-tetradecyl-1,3-dithian wurden mit 351 mg (1,29 mmol) Quecksilber(II)-chlorid und 71 mg (0,71 mmol) Calciumcarbonat in 6 ml 90-proz. Methanol gelöst. Die Lösung wurde unter heftigem Rühren 3 h unter Rückfluß erhitzt. Anschließend wurde vom unlöslichen Quecksilbermercaptid abfiltriert, mit Dichlormethan gewaschen, das Filtrat mit der dreifachen Menge Wasser verdünnt und mit Dichlormethan dreimal extrahiert. Die organischen Lösungen wurden vereinigt und nacheinander mit

Wasser, 1-proz. Ammoniumacetatlösung, 1-proz. NH_4Cl -Lösung und Wasser gewaschen. Die organische Phase wurde über Na_2SO_4 getrocknet und das Lösungsmittel abdestilliert. Die Reinigung erfolgte durch Säulenchromatographie an Kieselgel.

Ausbeute: 95 mg (65,5%), Schmp. 48 °C. – MS (EI, 70 eV) Direkteinlaß: $m/z = 254$ (2,3%, M), 225 (26,7%, $\text{M}-\text{C}_2\text{H}_5$). – $^1\text{H-NMR}$ (270 MHz), CDCl_3 : $\delta = 0,88$ (t; $J = 7,0$ Hz, 3H, $\text{CH}_3-(\text{CH}_2)_3-\text{CO}$), 1,04 (t; $J = 7,4$ Hz, 3H, $\text{CH}_3-\text{CH}_2-\text{CO}$), 1,25 (m; 22H, $\text{CO}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-(\text{CH}_2)_{11}$), 1,57 (m; $J_1 = 7,0$ Hz, $J_2 = 7,4$ Hz, 2H, $\text{CO}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-(\text{CH}_2)_{11}$), 2,40 (m; $J = 7,4$ Hz, 4H, $\text{CH}_2-\text{CO}-\text{CH}_2$).

4. *raz.-3-Heptadecanol*

50 mg (0,2 mmol) 3-Oxoheptadecan wurden in Methanol suspendiert. Unter Rühren wurden 4 mg (0,12 mmol) NaBH_4 in Methanol zugeben und die Reaktionslösung 1 h auf 70 °C erhitzt.

Anschließend wurde das Methanol abdestilliert, der Rückstand in Chloroform aufgenommen und die Lösung mit 1-proz. KHSO_4 -Lösung (1×) und H_2O (2×) gewaschen. Nach dem Trocknen über Na_2SO_4 wurde die organische Phase eingengt und einer säulenchromatographischen Trennung unterworfen.

Ausbeute: 17 mg (33,7%), Schmp. 39–41 °C. – MS (EI, 70 eV) Direkteinlaß: $m/z = 238$ (1,5%, $\text{M}-\text{H}_2\text{O}$), 227 (16,6%, $\text{M}-\text{C}_2\text{H}_5$). – $^1\text{H-NMR}$ (270 MHz), CDCl_3 : $\delta = 0,88$ (t; $J = 7,0$ Hz, 3H, $\text{CH}_3-(\text{CH}_2)_{13}-\text{CH}$), 0,94 (t; $J = 7,4$ Hz, 3H, $\text{CH}_3-\text{CH}_2-\text{CH}$), 1,27 (m; 24H, $\text{CH}_3-(\text{CH}_2)_{12}-\text{CH}_2$), 1,44 (m; $J_1 = 7,0$ Hz, $J_2 = 7,4$ Hz, 4H, $\text{CH}_2-\text{CH}-\text{CH}_2$), 1,91 (s; breit, 1H, OH), 3,52 (m; 1H, $\text{CH}-\text{OH}$).

Ergebnisse und Diskussion

Das $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum, die ^{13}C -Daten und das Massenspektrum des aus Efeu isolierten **1** stimmen gut mit den von Bohlmann *et al.* [2] bzw. Hansen und Boll [6] berichteten Ergebnissen überein. Der Drehwert des isolierten Falcarinols ($[\alpha]_D^{20} = -26,5$; $c = 0,4$ in CHCl_3) liegt etwas höher als der von Bohlmann *et al.* [2] gemessene Wert ($[\alpha]_D^{20} = -22,5$; $c = 1$ in Ether).

Das $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum von **2** ist in Abb. 1 dargestellt. Die chemischen Verschiebungswerte und Kopplungskonstanten, sowie die Zuordnung der Protonensignale sind Tab. I zu entnehmen. Auf die Z-Konfiguration der olefinischen Doppelbindungen

Tab. I. $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum (400 MHz, CDCl_3) von Didehydrofalcarinol (**2**).

Anzahl der Protonen/ Zuordnung (vgl. Abb. 1)	Chem. Verschiebung δ -Werte	Multiplizität/Kopplungskonstanten [Hz]
2 H-k	1,5	quint.; $J_1 = 7,2$, $J_2 = 7,6$
2 H-l	2,06	m; $J_1 = 7,2$, $J_2 = 6,8$, $J_3 = 1,4$
2 H-j	2,20	m; $J_1 = 7,4$, $J_2 = 7,6$, $J_3 = 1,4$
2 H-e	3,17	d; $J = 7,4$
1 H-d	4,91	d; $J = 5,4$
1 H-n	4,97	m; $J_1 = 10,2$, $J_2 = 3,4$, $J_3 = 1,8$
1 H-o	5,0	m; $J_1 = 17,0$, $J_2 = 3,4$, $J_3 = 1,8$
1 H-b	5,25	ddd; $J_1 = 10,2$, $J_2 = 2,3$, $J_3 = 1,0$
1 H-i	5,42	m; $J_1 = 10,8$, $J_2 = 7,4$, $J_3 = 1,4$
1 H-a	5,46	ddd; $J_1 = 17,0$, $J_2 = 2,3$, $J_3 = 1,0$
1 H-f	5,57	m; $J_1 = 10,8$, $J_2 = 7,4$, $J_3 = 1,4$
1 H-m	5,80	m; $J_1 = 17,0$, $J_2 = 10,2$, $J_3 = 6,8$
1 H-c	5,94	ddd; $J_1 = 17,0$, $J_2 = 10,2$, $J_3 = 5,4$
1 H-h	6,16	m; $J_1 = 10,8$, $J_2 = 2,6$, $J_3 = 1,1$
1 H-g	6,35	m; $J_1 = 10,8$, $J_2 = 2,6$, $J_3 = 1,1$

zwischen C-9 und C-10 bzw. C-11 und C-12 kann aus der Tatsache geschlossen werden, daß die Kopplungskonstanten der betreffenden Protonen <11 Hz sind. Aufgrund dieser Konfiguration liegt eine relativ starre Anordnung im Molekül vor, woraus sich die Vielzahl der Fernkopplungen mit Kopplungskonstanten >1 Hz und das komplizierte Aufspaltungsmuster (z. B. bei H-f und H-i) erklären.

Das ^{13}C -Spektrum von **2** (Tab. II) mit 8 Signalen im Bereich zwischen 115 und 140 ppm unterstreicht den gegenüber **1** stärker ungesättigten Charakter.

Im Massenspektrum von **2** tritt kein Moleküllionen-Signal auf, dagegen kann nach Herstellung des

Tab. II. ^{13}C -Daten von **2** und Zuordnung der Signale.

δ -Wert	Zuordnung	δ -Wert	Zuordnung
17,90	C-8	116,93	C-1
26,98	C-14	117,71	C-17
28,65	C-15	122,64	C-12
33,19	C-13	123,02	C-16
63,46	C-3	125,88	C-9
64,45	C-6	134,16	C-11
71,17	C-5	136,18	C-2
74,57	C-7	138,44	C-10
79,59	C-4

Abb. 1. 400-MHz-¹H-NMR-Spektrum von Didehydrofalcarinol (2) in CDCl₃. Zuordnung der Signale s. Tab. I.

Abb. 2. Konfigurationszuordnung von 2 nach Hydrierung zu 3-Heptadecanol und Derivatbildung mit Isopropylisocyanat. 25-m-„fused-Silica“-Kapillarsäule, belegt mit XE-60-L-Valin-(S)-α-phenylethylamid, Säulentemperatur 180 °C.

Trimethylsilylderivates ein Molekülion mit geringer Intensität bei $m/z = 312$ beobachtet werden. Weitere charakteristische Signale sind bei $m/z = 243$ (1,8%, $M - CH_2-CH_2-CH_2-CH=CH_2$), 153 (2,0%, 243-TMSOH), 129 (5,7%, $CH_2=CH-CH-OTMS$) und 73 (100%, TMS) zu beobachten. Unter den Bedingungen der chemischen Ionisation mit NH_3 als Reaktandgas tritt ein sehr intensives Signal bei $m/z = 330$ auf (71%, $M+NH_4$).

Die katalytische Hydrierung von **1** bzw. **2** führte zu optisch aktivem 3-Heptadecanol. Die Zuordnung der absoluten Konfiguration erfolgte durch enantio-selektive Kapillar-Gaschromatographie an der chiralen stationären Phase XE-60-L-Valin-(S)- α -phenylethylamid [7, 8].

An dieser Phase werden, wie Abb. 2 zeigt, die Enantiomeren in Form der Isopropylurethane getrennt. Aus früheren Untersuchungen [8] ist bekannt, daß bei sekundären Alkoholen nach Herstellung der Iso-

propylurethane die R-Enantiomeren vor den S-Enantiomeren eluiert werden. Im direkten Vergleich des synthetischen Razemates von 3-Heptadecanol und dem durch katalytische Hydrierung von **1** und **2** erhaltenen 3-Heptadecanol (Abb. 2) erkennt man, daß die Derivate von **1** und **2** mit der Retentionszeit des R-Enantiomers eluiert werden und praktisch enantiomerenrein vorliegen. Die R-Konfiguration von Falcarinol aus *Seseli gummiferum* wurde auch von Larsen *et al.* [3] festgestellt.

Abgesehen von der weiten Verbreitung von Falcarinol (**1**) in *Umbelliferae* und *Araliaceae* ist lediglich Dehydrofalcarinol von Bohlmann und Zdero [10] aus *Calea integrifolia* (*Compositae*) beschrieben worden. Das aus Efeu isolierte Didehydrofalcarinol (**2**) ist als Naturstoff bisher nicht bekannt.

Der Deutschen Forschungsgemeinschaft danken wir für die Förderung dieser Arbeit.

-
- [1] M. Takahashi, K. Isoi, Y. Kimura und M. Yoshikura, J. Pharm. Soc. Jpn. **84**, 752 (1964).
 - [2] F. Bohlmann, U. Niedballa und K.-M. Rode, Chem. Ber. **99**, 3522 (1966).
 - [3] P. K. Larsen, B. E. Nielsen und J. Lemmich, Acta Chem. Scand. **23**, 2552 (1969).
 - [4] L. Hansen und P. M. Boll, Phytochem. **25**, 529 (1986).
 - [5] W. J. Munro, Austr. Med. Gaz. **19**, 25 (1900).
 - [6] B. M. Hausen, J. Bröhan, W. A. König, H. Faasch, H. Hahn und G. Bruhn, Cont. Derm. **17**, 1 (1987).
 - [7] W. A. König, I. Benecke und H. Bretting, Angew. Chem. **93**, 688 (1981); Angew. Chem., Int. Ed. Engl. **20**, 693 (1981).
 - [8] W. A. König, W. Francke und I. Benecke, J. Chromatogr. **239**, 227 (1982).
 - [9] D. Seebach, Synthesis **1**, 17 (1969).
 - [10] F. Bohlmann und Ch. Zdero, Phytochem. **15**, 1177 (1976).