

173. Totalsynthese von Decarboxybetalainen durch photochemische Ringöffnung von 3-(4-Pyridyl)alanin¹⁾

von Hans Hilpert, Marc-André Siegfried und André S. Dreiding*

Organisch-Chemisches Institut der Universität Zürich, Winterthurerstrasse 190, CH-8057 Zürich

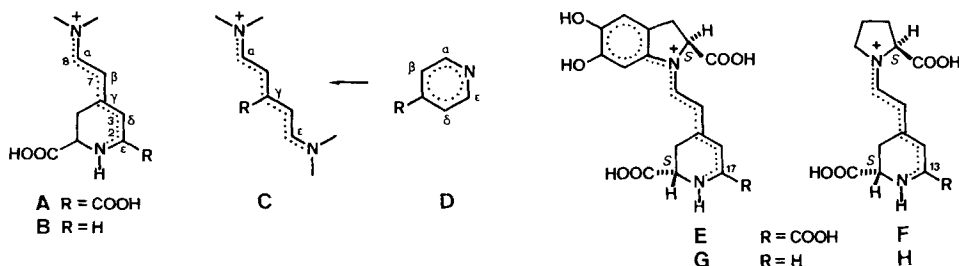
(27.VI.85)

Total Synthesis of Decarboxybetalaines by Photochemical Ring Opening of 3-(4-Pyridyl)alanine

A photochemical approach is presented for the total synthesis of the decarboxybetalaines, which were previously known from the mild decarboxylation of the natural plant colorants, the betalains: Irradiation of *rac*-3-(4-pyridyl)alanine (**1**) yielded the *rac*-2-decarboxybetalamic-acid-imine (**4**, 86%), presumably *via* a Dewar pyridine **2**, a cyclic amina **3** and an electrocyclic ring opening. The imine-zwitterion **4** was treated with three amines, namely (*S*)-cyclodopa (**6**), (*S*)-proline (**7**), and indoline (**8**), to afford three decarboxybetalaines, namely (2*S*)-17-decarboxybetanidine (**9**, red, 34%), (2*S*)-13-decarboxyindicanthine (**10**, yellow, 56%), and *rac*-16-decarboxyindobetalline (**11**, orange, 78%), respectively. The structures of these coloring matters were confirmed by their electrophoretic behavior and their spectroscopic properties. 17-Decarboxybetanidine **9** was shown to be a *ca.* 1:1 mixture of two C(15)-epimers **9a** and **9b**, separable by chromatography. The configuration of **9a** was determined as (2*S*,15*S*) and that of **9b** as (2*S*,15*R*), by correlating their optical rotations with those of betanidine (**12a**) and isobetanidine (**12b**), respectively. The decarboxybetalaines **9**, **10**, and **11** did not show the double-bond isomerism at C(β),C(γ) of the chromophore which had been found characteristic for the corresponding betalains **12**, **13**, and **14**.

1. Einleitung. – Bei den bisherigen Totalsynthesen der Betalain-Pflanzenfarbstoffe **A** [2] [3] wurde ihr chromophores 1,7-Diazaheptamethinium-System **C** durch Aufbau der C₅-Kette (C(α) bis C(ϵ)) zwischen den beiden N-Atomen in mindestens teilweise gesättigter Form mittels C,C-Verknüpfung und durch Einführung von Doppelbindungen aufgebaut. Vor einiger Zeit haben wir ein anderes Konzept präsentiert [1], bei welchem das voll ungesättigte chromophore System **C** direkt durch photochemische Ringöffnung [4] eines

Schema 1

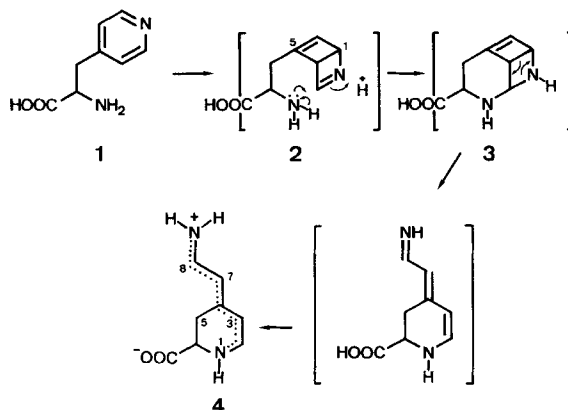


¹⁾ Teilweise vorgetragen von M.A.S. an der Sitzung der Schweizerischen Chemischen Gesellschaft vom 3./4. Oktober 1975 in Aarau [1].

geeigneten Pyridinderivates **D** erhalten wurde. Wir beschreiben hier die Anwendung dieses zweiten Weges zur Totalsynthese von gewissen Decarboxybetalainen **B**. 17-Decarboxybetanidin (**G**) und 13-Decarboxyindicaxanthin (**H**) sind als farbige (stereochemisch nicht definierte) Produkte milder Decarboxylierung [5] [6] der natürlichen Pflanzenfarbstoffe Betanidin (**E**) und Indicaxanthin (**F**) isoliert worden.

2. Photolyse von 3-(4-Pyridyl)alanin (1). – Bestrahlung von 3-(4-Pyridyl)alanin (**1**) (hergestellt nach [7]) in schwach basischer $\text{NH}_3/\text{H}_2\text{O}/\text{MeOH}$ -Lösung mit einer Hg-Niederdrucklampe (vgl. [4]) ergab 86% (UV-spektroskopisch bestimmt) 2-Decarboxybetalaminsäure-imin (**4**). Das nach chromatographischer Reinigung an *Sephadex* als gelbbrauner, amorpher Festkörper anfallende Zwitterion **4** (51%) war bei -20° während etwa zwei Wochen haltbar. Für die Struktur von **4** sprechen: *a*) die Elementaranalyse (zwei N-Atome), *b*) die elektrophoretische Wanderungstendenz als Kation (gelber Fleck mit $E_b = 0,28$ bei pH 6,8), *c*) das UV-Maximum bei 433 nm ($\epsilon = 50\,100$), ähnlich demjenigen (410–420 nm ($\epsilon = 113\,000$ – $123\,000$)) von terminal tetraalkylierten 1,7-Diazaheptamethinium-Systemen [8], und *d*) die zwei für die ungesättigte C-Kette charakteristischen ^1H -NMR-*AX*-Systeme, eines bei 7,97/5,77 ppm mit $J = 12$ Hz (die *trans*-ständigen H–C(8) und H–C(7)) und das andere bei 5,65/7,48 ppm mit $J = 6$ Hz (die *cis*-ständigen H–C(3) und H–C(2)).

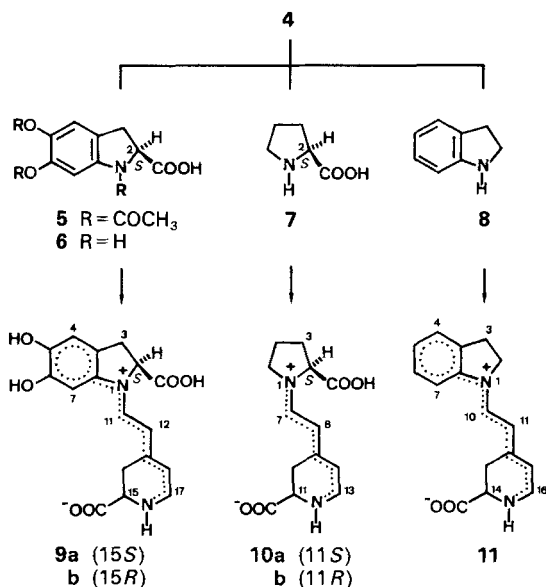
Schema 2



Das 2-Decarboxybetalaminsäure-Derivat **4** dürfte über das 5-substituierte *Dewar*-Pyridin **2**, cyclische Aminoalbildung zu **3**, elektrocyclische Ringöffnung und Umprotonierung zu **4** entstanden sein, eine Reaktionsfolge wie sie von *Wilzbach* und *Rausch* [9] für Pyridin gezeigt worden ist. Die in *Schema 2* der Einfachheit halber intramolekular formulierte Aminoalbildung könnte durchaus auch intermolekular mit anschliessendem Ringschluss verlaufen.

3. Basenaustausch. – Ähnlich den früher bei den Betalain-Umwandlungen ausgeführten Basenaustausch-Reaktionen [10], haben wir das rohe 2-Decarboxybetalaminsäure-imin (**4**) mit drei Basen, nämlich mit (*S*)-Cyclodopa (**6**), mit (*S*)-Prolin (**7**) und mit Indolin (**8**) umgesetzt.

Die Reaktion von **4** mit 5 Äquiv. frisch aus dem Triacetylderivat **5** [11] hergestelltem (*S*)-Cyclodopa **6** [12] in 1% HCl (16 h) lieferte nach *Sephadex*-Chromatographie 34%,

Schema 3²⁾

nach weiterem Umfällen aus HCOOH-Lösung mit H₂O 21% 17-Decarboxybetanidin (9) [5] [6] als nicht ganz wasserfreien, aber ¹H-NMR-reinen, blau-violetten Festkörper. Eine 10⁻³% Lösung in 0,1 M HCOOH war blutrot.

Für die Reaktion von 4 mit 10 Äquiv. (S)-Prolin (7) wählten wir neutrale Bedingungen (H₂O), da sich das Produkt 10 in saurem Milieu bereits während seiner Bildung zersetzte (s. *Exper. Teil*). Der in neutralem (im Vergleich zur Bildung von 9 in saurem) Medium langsamere Reaktionsablauf wurde durch hohe Konzentration des Prolins (7) und längere Reaktionszeit (10% Lösung, 66 h) wettgemacht. Nach Chromatographie an einem *Sephadex*-Anionenaustauscher (HCOO⁻-Form) mit 0,3 M HCOOH und Trocknen fiel das 13-Decarboxyindacanthin (10, 56%) [6] als nicht ganz wasserfreier, aber ¹H-NMR-reiner, gelber Festkörper an. Eine 10⁻³% Lösung in 0,1 M HCOOH war leuchtend gelb.

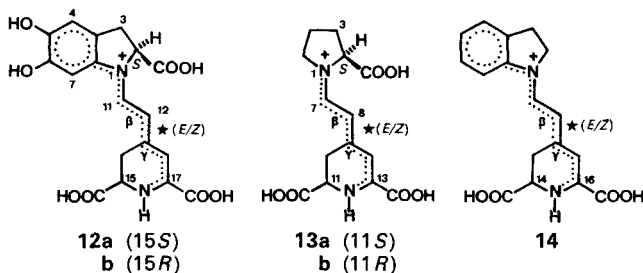
Die Reaktion von 4 mit 10 Äquiv. Indolin (8) in einer schwach sauren MeOH/H₂O-Lösung war bereits nach 1 ¼ h zu Ende. Nach extraktiver Entfernung des überschüssigen Indolins, gefolgt von *Sephadex*-Chromatographie und Trocknen, wurde 78% 16-Decarboxy-indo-betalain³⁾ (11) als orange-roter, amorpher Festkörper isoliert. Kristallisation aus H₂O/MeOH lieferte 26% wasserfreies 11 als rote Nadelchen. Eine 10⁻³% Lösung in H₂O war orange.

²⁾ Als deprotonierte Carboxylgruppe des jeweils als Zwitterion isolierten Betalains ist in 9 und 10 arbiträr diejenige am 6-Ring gewählt worden.

³⁾ Gemäss einem Vorschlag von Wyler und Meuer [13] benennen wir die nicht mit einem Trivialnamen versehenen Betalaine unter Verwendung eines Präfixes, der die austauschbare Base (hier Indolin) kennzeichnet. Der im *Exper. Teil* für 11 verwendete systematische Name ist 1-[(2-Carboxy-2,3-dihydro-4(1H)-pyridinyliden)ethyliden]-2,3-dihydro-1H-indolium. Es kann auch als 14-Carboxy-Derivat des Ringsystems der Betalaine, des Betenamins [14], benannt werden (für Neobetenamin s. [15]). Demnach wäre 11 14-Carboxy-betenamin.

Die Decarboxybetalaine **9–11** liessen sich als Festkörper bei -20° mindestens einige Monate aufbewahren. In Lösung bei RT. waren **9** und **10** nicht stabil; nach 1 Tag in 0,1 M HCOOH (pH 2,3) stellten wir 16 bzw. 47% Abnahme des Farbstoffgehaltes fest. Das 16-Decarboxy-indo-betalain (**11**) war aber wesentlich stabiler; in H_2O -Lösung nahm der Farbstoffgehalt nach 1 Tag nur um 2% ab.

4. Konstitution der Decarboxybetalaine. – Nach den Elementaranalysen liegen die mit unseren Methoden gereinigten Decarboxybetalaine **9–11** zwitterionisch vor, d.h. ohne externes Kation. Was die schon bekannten Eigenschaften (UV, E_B , im Fall von **9** 1H -NMR) anbetrifft, sind die synthetischen Decarboxybetalaine **9** und **10** mit den aus den natürlichen Betalainen **12** und **13** gewonnenen Präparaten [5] [6] identisch. Die übrigen Eigenschaften von **9** und **10** sowie diejenigen des neuen Betalains **11** (s. *Tabelle*) sind mit den in *Schema 3* angegebenen Konstitutionen im Einklang: So bestätigen die elektrophoretischen Wanderungstendenzen bei pH 4,5 im Falle von **9** und **10** deren anionische Natur ($E_B + 0,40$ bis $+ 0,52$ bzw. $+ 1,11$)⁴⁾, im Fall von **11** die kationische Natur ($E_B - 0,06$). Die Decarboxybetalaine **9–11** sind gegenüber den entsprechenden natürlichen Betalainen **12** und **13** bzw. dem synthetischen Indo-betalain **14** (durch die fehlende Carboxylgruppe) in ihrer Mobilität zur Anode deutlich gehindert (s. *Tabelle*). In ihren UV-Spektren zeigen die synthetischen Decarboxybetalaine **9** (509 nm) und **10** (451 nm), im Vergleich zu den natürlichen Betalainen **12** (542–546 nm) [18] und **13** (483 nm) [22], eine durch die Abwesenheit der Carboxylgruppe am chromophoren System bedingte hypsochrome Verschiebung des langwelligsten Maximums von 32–35 nm; im Fall des neuen 16-Decarboxy-indo-betalains (**11**, 500 nm) ist diese Verschiebung gegenüber dem Indo-betalain (**14**, 518 nm) [3] nur 18 nm (s. *Tabelle*).

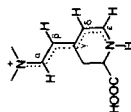


Wie im Fall des 2-Decarboxybetalaminsäure-imins (**4**) (s. *Kap. 2*), sind auch in **9–11** die zwei für die ungesättigte Kette $C(\alpha)-C(\epsilon)$ (vgl. **C**) charakteristischen 1H -NMR-*AX*-Systeme sichtbar, nämlich dasjenige bei 8,05–8,36/5,80–5,89 ppm mit $J = 12$ Hz (die *trans*-ständigen $H-C(\alpha)$ und $H-C(\beta)$) und dasjenige bei 5,70–5,95/7,44–7,70 ppm mit $J = 6$ Hz (die *cis*-ständigen $H-C(\delta)$ und $H-C(\epsilon)$) (s. *Tabelle*). Im Vergleich mit den entsprechenden Betalainen [3] [20] findet man in **9–11** eine deutliche (möglicherweise durch die Abwesenheit der elektronenziehenden Carboxylgruppe bewirkte) Verschiebung der Signale für diese vinyllischen H-Atome nach höherem Feld. Gegenüber den (*E*)-konfigurierten Betalainen (s. Stern in **12** bis **14**) (vgl. [3]) ist diese Verschiebung 0,5–0,9 ppm, gegenüber den (*Z*)-konfigurierten ist sie 0,2–1,3 ppm.

⁴⁾ Für die Bedeutung von E_B s. [16].

Tabelle. Spektroskopische Daten für den Vergleich zwischen den Decarboxybetalainen 9–11 und den Betalainen 12–14

Verbindung	$[\alpha]_D^{20a}$	UV [nm] ^b	E_B^c	¹ H-NMR [ppm] Lsgm.	H–C(α) ^d (E) ^h (Z)	H–C(β) ^e (E) (Z)	H–C(δ) ^f (E) (Z)	H–C(ϵ) ^g (E) (Z)	Ref.
4		433	– 0,12	D ₂ O/CD ₃ OD 5:1	7,97	5,77	5,65	7,48	^h
9a	+ 750	509	+ 0,40–0,52	CF ₃ CO ₂ H/CD ₃ CN 1:5	8,17	5,81	5,86	7,52	^h
9b	– 2370	509							
9a/9b		509	+ 0,40–0,52	CF ₃ CO ₂ H/CD ₃ CN 1:5	8,16	5,77	5,84	7,53	^k
9a/9b		509	+ 0,54–0,56	CF ₃ CO ₂ H	8,34	6,05	6,05	7,67	[6]
12a	+ 530	544	+ 1,03	CF ₃ CO ₂ H	8,68	8,96	6,69	7,10	[17–20]
12b	– 840	544	+ 0,87	CF ₃ CO ₂ H	8,70	8,97	6,69	7,10	[18–21]
10a/10b		451	+ 1,11	CF ₃ CO ₂ H/CD ₃ CN 1:3	8,05	5,80	5,70	7,44	^h
10a/10b		451							[6]
13a/13b		483	+ 1,68	CF ₃ CO ₂ H	8,61	8,90	6,64	6,90	[22] [20]
11		500	– 0,06	CD ₃ OD	8,36	5,89	5,95	7,70	^h
14		518	+ 0,41	CF ₃ CO ₂ H	8,84	9,13	6,68	7,09	[3]

^a) **9a**, **9b** in 30% HCO₂H; **12a**, **12b** [α]_D²² in KOAc/HOAc, pH 4,50.^b) Lsgm. s. Exper. Teil bzw. Lit.^c) In 0,05 M Pyridinium-formiat, pH 4,50.^d) Wegen unterschiedlicher Atomnummerierung der verschiedenen Decarboxybetalaine und Betalaine werden die C-Atome des konjugierten Systems der in der Tabelle aufgeführten Verbindungen einheitlich, wie in der Formel gezeigt, mit C(α) bis C(ϵ) gekennzeichnet.^e) d (J = 12 Hz).^f) d (J = 6 Hz) für **4** und **9–11**, ^s für **12–14**.^g) d (J = 6 Hz).^h) (E) und (Z) beziehen sich auf die Bindung zwischen C(β) und C(γ)^d. Verhältnis von (E)/(Z) bei **12a**, **12b**, **13a/13b** und **14** ca. 7:3.ⁱ) Durch Totalsynthese in dieser Arbeit erhaltenes Präparat.^k) In dieser Arbeit durch Decarboxylierung von **12** nach [6] erhaltenes Präparat.

5. Stereochemische Aspekte. – Das Schlüssel-Zwischenprodukt unserer Decarboxybetalain-Synthese, **4**, wurde bei den drei Basenaustausch-Reaktionen in racemischer Form eingesetzt (aus *rac*-**1** hergestellt). Somit muss das synthetische 16-Decarboxy-indobetelain (**11**) in racemischer Form, und das 17-Decarboxybetanidin (**9**) sowie das 13-Decarboxyindicaxanthin (**10**) in Form von jeweils zwei Epimeren, **9a** und **9b** bzw. **10a** und **10b** entstanden sein. Da **9** und **10** durch Basenaustausch mit enantiomerenreinen (*S*)-Aminosäuren (**6** und **7**) hergestellt wurden und da unter den Bedingungen des Basenaustausches bisher keine Isomerisierung an C(2) dieser Aminosäuren (entweder allein oder als Substruktur im Betalain) beobachtet wurde, müssen jeweils beide Epimeren der Paare **9a** und **9b** bzw. **10a** und **10b** praktisch enantiomerenrein sein. Unter den Bedingungen des Basenaustausches ist eine Epimerisierung an C(15) bzw. C(11) in den gebildeten Decarboxybetalainen **9** und **10** unwahrscheinlich⁵), so dass das Verhältnis von **9a/9b** und von **10a/10b** nicht weit von 1:1 entfernt sein dürfte. Die epimeren 17-Decarboxybetanidine **9a** und **9b** konnten durch anal. HPLC an Polyamid oder durch präp. Chromatographie an Cellulose in jeweils zwei Farbstoffbanden mit identischen UV-Spektren aufgetrennt werden. Das UV-bestimmte (ϵ_{509} für **9a** und **9b** sind fast gleich) Verhältnis der mit beiden Trennmethode erhaltenen Epimeren war tatsächlich etwa 1:1⁶).

Eine Zuordnung der Konfiguration an C(15) der beiden 17-Decarboxybetanidine **9a** und **9b** ergibt sich auf Grund der optischen Drehungen: Das in der Chromatographie (Polyamid und Cellulose) schneller wandernde, präparativ abgetrennte **9a** zeigte $[\alpha]_D^{20} = +750^\circ$ und das langsamere **9b** (mit 7% **9a** verunreinigt) $[\alpha]_D^{20} = -2060^\circ$ (beide in 30% HCOOH). Für Betanidin (**12a**) und für Isobetanidin (**12b**) sind die Drehwerte $[\alpha]_{580}^{22} = +530^\circ$ [17] bzw. $[\alpha]_{580}^{20} = -840^\circ$ [21] (beide in Acetatpuffer, pH 4,5) gemessen worden. Da die Konfiguration von **12a** an C(15) als (*S*) bestimmt worden ist [23], und da die (einander so ähnlichen) Paare von Chiralitätszentren die optischen Drehungen der Betanidine **12** und 17-Decarboxybetanidine **9** wahrscheinlich in ähnlicher Weise beeinflussen, schliessen wir, dass **9a** die (15*S*)- und **9b** die (15*R*)-Konfiguration besitzt. Unser synthetisches (**9a/9b**)-Gemisch zeigte eine optische Drehung von $[\alpha]_D^{20} = -900^\circ$, nahe bei dem für ein (1:1)-Verhältnis der 17-Decarboxybetanidine **9a** und **9b** erwarteten Wert.

Das Verhältnis der 13-Decarboxyindicaxanthine **10a** und **10b** konnte nicht eruiert werden, da sich diese beiden Epimeren in den von uns verwendeten chromatographischen Verfahren zu wenig unterschieden.

Bekannterweise [20] [3] tritt in den Betalainen ((*E*)/(*Z*))-Isomerie an der in den Formeln **12–14** mit einem Stern versehenen C(β), C(γ)-Bindung auf; die (βE)- und (βZ)-Isomeren sind dort ¹H-NMR-spektroskopisch (durch die sogenannten Nebensignale) [20] separat sichtbar. Wegen zu rascher Umwandlung (mindestens in stark sauren Medien) sind sie aber voneinander nicht trennbar. In den ¹H-NMR-Spektren der Decarboxybetalaine **4**, **9–11** findet man aber keine Nebensignale (s. *Tabelle*). Da auch beim Abkühlen

⁵) Mit konz. HCl, 4¼ h, 35° (Hydrolyse von Betanin zu Betanidin **12**) wurde nur ca. 4% Epimerisierung an C(15) beobachtet [23]).

⁶) In dem von uns durch Decarboxylierung von Betanidin **12** nach [6] als Vergleichspräparat hergestellten 17-Decarboxybetanidin **9** fanden wir mit unseren Analysemethoden ein (**9a/9b**)-Verhältnis von etwa 1:1. Dies steht im Gegensatz zum (3:1)-Epimerenverhältnis (Konfiguration nicht zugeordnet), welches mittels Elektrophorese bei pH 4,5 und mit Polyamid-Chromatographie in [6] gefunden worden war. Diese Diskrepanz ist von Interesse, da der in [5] für die Decarboxylierung von **12** gezeigte Mechanismus nahelegt, dass ein solches Verhältnis das thermodynamische Gleichgewicht der Epimeren **9a** und **9b** darstellt.

auf -60° im Fall von **11** (in neutralem Milieu) keine Veränderung der für diese Isomerie erwarteten Signale (vgl. [20]) auftritt, muss die C(β), C(γ)-Bindung auch bei tiefer Temperatur noch rasch rotieren, oder aber es liegt eine starre, aus thermodynamischen Gründen vermutlich (E)-Anordnung an dieser Bindung vor.

Diese Arbeit wurde vom Schweizerischen Nationalfonds zur Förderung der wissenschaftlichen Forschung und von der Firma F. Hoffmann-La Roche & Co. AG, Basel, unterstützt.

Experimenteller Teil

1. Allgemeines. – S. [3]. Elektrophorese: E_B -Werte geben die Wanderungstendenz relativ zu Betanin [16] an. Die Fraktionen der *Sephadex*-Chromatographie wurden mit einem Differenzialrefraktometer *Waters R-401* erfasst.

2. Photolyse von rac-3-(4-Pyridyl)alanin (1). – Eine durch Rühren während 30 min bei RT. hergestellte Lsg. von 50 mg (0,30 mmol) **1** [7] in 180 ml H_2O wurde mit 900 ml MeOH verdünnt, auf 10° gekühlt und mit 2,5% NH_3 von pH 6,70 auf 9,80 gebracht. Die Lsg. wurde unter ständiger N_2 -Begasung mit einer Hg-Niederdrucklampe (*Hanau, TNN 15/32*) durch eine Kühlwasserschicht zwischen Quarzwänden solange bei 10° ($\pm 0,5$) bestrahlt, bis die Absorption bei 434 nm von entnommenen Proben ein Maximum erreicht hatte. Nach 70 min enthielt die Lsg. UV-spektroskopisch (auf der ϵ -Basis von 50 100) 43 mg (0,26 mmol, 86%) von rac-2-Decarboxybetalaminsäureimin (= rac-4-(Iminoethyliden)-1,2,3,4-tetrahydro-6-pyridincarbonsäure; **4**). Diese Lsg. wurde in den *Exper. 3–5* eingesetzt. Zur Charakterisierung von **4** wurde die Lsg. bei RT./11 Torr auf 5 ml eingeeengt und an 130 g *Sephadex G-10* (H_2O , 0,22 ml/min) bei 10° chromatographiert. Nach einer breiten, schwach gelb-braunen Zone wurde die stark gelbe Hauptzone aufgefangen, bei RT./11 Torr auf 3 ml konzentriert und zuletzt lyophilisiert: 27,6 mg (51%)⁷⁾ **4** als gelb-brauner, amorpher Festkörper, Schmp. 225° (Zers.). E_B $-0,12$ in 0,05 M Pyridinium-formiat (pH 4,5); E_B $-0,28$ in 0,05 M Phosphat-Puffer (pH 6,8). UV (H_2O): 433 (50 100), 277 (3230), 234 (4600)⁷⁾; nach 26 h in dieser Lsg. bei RT. war der ϵ -Wert bei 433 nm um 14%, nach 4 Wochen als Festkörper unter Ar bei -20° um 7% abgesunken. IR (KBr): 3050s (br.), 1625s (br.), 1505s (br.), 1375s (br.), 1325m, 1260s (sh), 1325s, 1195s. 1H -NMR (80 Mz, D_2O/CD_3OD 5:1): 7,97 (*d*, $J = 12$, H-C(8)); 7,48 (*d*, $J = 6$, H-C(2)); 5,77 (br. *d*, $J = 12$, H-C(7)); 5,65 (*d*, $J = 6$, H-C(3)); 4,15 (*t*, $J = 8$, H-C(6)); 3,10 (*d*, $J = 8$, 2H-C(5)). Anal. ber. für $C_8H_{10}N_2O_2 \cdot 0,8 H_2O$ (180,59): C 53,20, H 6,47, N 15,51; gef.: C 53,87, H 5,79, N 14,77.

3. (2S,15S)- und (2S,15R)-17-Decarboxybetanidin (9a und 9b) (= (2S,2'S)- und (2S,2'R)-2-Carboxy-1-[(2-carboxy-2,3-dihydro-4-(1H-pyridinyliden)ethyliden]-2,3-dihydro-5,6-dihydroxy-1H-indolium). – Nach der in [12] beschriebenen Methode wurde 482 mg (1,50 mmol) (S)-1-Acetyl-5,6-diacetoxy-2,3-dihydroindol-2-carbonsäure (**5**) [11] in fl. N_2 gekühlt, mit 80 ml 18% HCl versetzt, das Gemisch 2mal entgast und während 15 h auf 90° ($\pm 2^\circ$) erhitzt. Die Lsg. wurde bei 40°/11 Torr eingeeengt und der Rückstand 3 h i.HV. getrocknet. Das als Hydrochlorid zurückbleibende 1H -NMR-reine (S)-Cyclodopa (**6** = (S)-2,3-Dihydro-5,6-dihydroxy-2-indolcarbonsäure) [12] wurde in fl. N_2 gekühlt, mit der i.V. auf 10 ml eingedampften Bestrahlungslsg. aus *Exper. 2* und mit 5 ml 3% HCl versetzt, das Gemisch 2mal entgast und während 16 h bei RT. i.HV. stehen gelassen. Die langsam rot gewordene Lsg. wurde bei RT./11 Torr auf 1,5 ml konzentriert und an 100 g *Sephadex LH-20* (MeOH/0,1 M HCOOH 1:1, 1 ml/min) bei 10° chromatographiert. Nach einer engen, schwach rot-violetten, im Refraktometer stark registrierten Zone (60 ml, enthielt 3 mg) eluierte eine schwach violette, im Refraktometer stark registrierte Zone (50 ml), welche nach Eindampfen und Trocknen i.HV. 291 mg zurückgewonnenes **6** als (schwach violett gefärbten) Festkörper, Schmp. 175° (Zers.), lieferte. Die darauf folgende stark rote Zone, welche im Refraktometer nur als mittelstarker Peak erschien, enthielt nach dem Einengen und Trocknen i.HV. 41,3 mg (34%, berechnet auf 0,30 mmol eingesetztes **1**)⁷⁾ 1H -NMR-reines, nach UV 94%-reines als blau-schwarzen Festkörper. $[\alpha]_D^{20} = -900^\circ$, $[\alpha]_{365}^{20} = +145^\circ$ ($c = 0,0062$, 30% HCOOH)⁸⁾. E_B 0,40–0,52 in 0,05 M Pyridinium-formiat pH 4,5 als verlängerter Fleck, E_B 0,33–0,51 in 0,05 M Phosphat-Puffer pH 6,8 ([6]: E_B 0,54 und 0,56 im Verhältnis 3:1 in 0,05 M Pyridinium-formiat). Anal.-HPLC (Polyamid-6, 20–32 μm , *Macherey-Nagel*, 8 $\times$ 250 mm, 509 nm, 0,1 M HCOOH, 5 ml/min, Probe in

⁷⁾ Die Ausbeute und der UV- ϵ -Wert sind unter Berücksichtigung der bei der Elementaranalyse aufgeführten Zusammensetzung berechnet worden.

⁸⁾ Wegen seiner schlechten Löslichkeit in verd. HCOOH-Lsg. wurde **9** zuerst in HCOOH gelöst und anschließend mit H_2O verdünnt.

HCOOH gelöst) zeigte im UV-Detektor bei 509 nm ein (55:45)-Gemisch von **9a** und **9b**. Um ein analytisch reines Präparat zu erhalten, wurde 10 mg dieses Festkörpers in 0,5 ml HCOOH gelöst (Ultraschallbad), die Lsg. filtriert, mit 2 ml H₂O verdünnt und über Nacht bei 4° stehen gelassen: 6 mg (21%)⁷⁾ **9** als blau-violetter, amorpher Festkörper, Schmp. 214–216° (Zers.). UV (0,1 M HCOOH-Lsg.⁸⁾): 509 (57400), 320 sh (2700), 290 sh (5300), 262 (7800)⁷⁾ ([6]: UV (H₂O): 508–510); nach 24 h in Lsg. bei RT. war der ϵ -Wert bei 509 nm um 16% gesunken. IR (KBr): 3590w, 3210m (br.), 3080w, 3000w, 2930w, 2860w, 1725w, 1625s, 1590m, 1515s, 1495s, 1425s, 1385s, 1370s, 1325s, 1295s, 1270s, 1210s (br.), 1115m, 1010m, 940w, 855m. ¹H-NMR (80 MHz, CF₃COOH/CD₃CN 1:5, 33°): 8,17 (*d*, *J* = 12, H–C(11)); 7,52 (*d*, *J* = 6, H–C(17)); 7,06 (*s*, H–C(7)); 6,82 (*s*, H–C(4)); 5,86 (br. *d*, *J* = 6, H–C(18)); 5,81 (br. *d*, *J* = 12, H–C(12)); 5,10 (*dd*, *J* = 10, 3,5, H–C(2)); 4,47 (*dd*, *J* = 9, 8, H–C(15)); 3,85–3,10 (*m*, 2H–C(3), 2H–C(14)). ¹H-NMR (80 MHz, CF₃COOH/CD₃CN 1:5, 33°): 8,17 (*s*, H–C(11)); 7,52 (*s*, H–C(17)); 7,06 (*s*, H–C(7)); 6,82 (*s*, H–C(4)); 5,10 (*dd*, *J* = 10, 3,5, H–C(2)); 4,47 (*dd*, *J* = 9, 8, H–C(15)); 3,85–3,10 (*m*, 2H–C(3), 2H–C(14)) ([6] ¹H-NMR in CF₃COOH). Anal. ber. für C₁₇H₁₆N₂O₆ · 2,3 H₂O (385,76): C 52,92, H 5,38, N 7,26; gef.: C 52,87, H 5,22, N 7,22.

Das chromatographisch gereinigte (**9a/9b**)-Gemisch (11,4 mg) wurde in 0,5 ml CF₃COOH gelöst, mit 4,5 ml H₂O verdünnt und sofort (Tendenz zur Kristallisation) auf eine, durch Strömungssedimentation (bei 1 bar) von 450 g *Whatman*-Papierpulver (*CF-11*) in 4 l 0,1 M HCOOH vorbereitete, vorangehend mit 4 l 0,1% *Komplexon III* gewaschene [22] Säule (200 × 3,5 cm) aufgetragen und bei 4° chromatographiert. In der Elution (1 ml/min) folgten die knapp, aber deutlich voneinander getrennten roten Zonen von **9a** (voran) und **9b** (dahinter), die nach 2 1/4 Tagen die Säule verlassen hatten. Jede dieser beiden Fraktionen (360 ml bzw. 960 ml) wurde vollständig eingengt, in je 0,5 ml HCOOH gelöst, mit je 2,5 ml MeOH/0,1 M HCOOH 1:1 verdünnt und je an 40 g *Sephadex LH-20* (MeOH/0,1 M HCOOH 1:1, 1 ml/min) bei RT. chromatographiert: Ausbeute aus der ersten Fraktion: 3,4 mg, nach anal. HPLC an Polyamid, reines **9a** als blau-violetter, mikrokristalliner Festkörper, Schmp. 215° (Zers.). [α]_D²⁰ = +750°, [α]_D²⁰ = –875° (*c* = 0,0072, 30% HCOOH-Lsg.⁸⁾). UV (3% HCOOH-Lsg.⁸⁾): 509 (57000), 320 sh (2700), 290 sh (4800), 262 (6900)⁷⁾. Ausbeute aus der zweiten Fraktion: 5,7 mg, nach anal. HPLC an Polyamid (7:93)-Gemisch von **9a** und **9b** als blau-violetter, mikrokristalliner Festkörper, Schmp. 217° (Zers.). [α]_D²⁰ = –2060°, [α]_D²⁰ = +980° (*c* = 0,0051, 30% HCOOH-Lsg.⁸⁾). UV (3% HCOOH-Lsg.⁸⁾): 509 (53900), 320 sh (2500), 290 sh (4500), 261 (6400)⁷⁾.

4. (2S,11S)- und (2S,11R)-13-Decarboxyindicananthin (10a und 10b) (= (2S,2'S)- und (2S,2'R)-2-Carboxy-1-[(2-carboxy-2,3-dihydro-4(1H)-pyridinyliden)ethyliden]pyrrolidinium). Die 4-enhaltende Bestrahlungslsg. aus *Exper. 2* wurde mit 345 mg (3,0 mmol) (*S*)-Prolin (**7**) versetzt, bei RT./11 Torr auf 4,0 ml eingengt und 66 h bei RT. stehen gelassen. Die langsam gold-gelb gewordene Lsg. wurde auf 1,5 ml konzentriert und bei 10° an 15 g *DEAE-A25-Sephadex*-Ionenaustauscher (0,3 M HCOOH, 1,8 ml/min) chromatographiert. Nach einer schwach gelben, im Refraktometer stark registrierten Zone mit **7**, folgte eine stark gelbe, im Refraktometer mittelstark registrierte Zone (80 ml), welche auf ca. 1 ml eingengt und danach lyophilisiert wurde: 49,2 mg (56%, berechnet auf 0,30 mmol eingesetztes **1**)⁷⁾ **10** als gelber, amorpher Festkörper, Schmp. 166–168° (Gasentwicklung). *E*_B 1,02 in 0,05 M Phosphat-Puffer pH 6,8, *E*_B 1,11 in 0,05 M Pyridinium-formiat pH 4,5, ([6]: *E*_B 0,90 in 0,05 M Phosphat-Puffer). UV (0,1 M HCOOH): 451 (58300), 281 (2600), 238 (3900)⁷⁾ ([6]: UV (H₂O): 450–452); nach 24 h in Lsg. bei RT. war der ϵ -Wert bei 451 nm um 47% abgesunken. IR (KBr): 3240m (br.), 2980m (br.), 2890m, 1725m, 1635s, 1585s, 1525s (br.), 1420s, 1385s, 1325s, 1205s (br.), 1085m, 990m, 920m, 885m, 855m. ¹H-NMR (80 MHz, CF₃COOH/CD₃CN 1:3, 33°): 8,05 (*d*, *J* = 12, H–C(7)); 7,44 (br. *d*, *J* = 6, H–C(13)); 5,80 (*d*, *J* = 12, H–C(8)); 5,70 (*d*, *J* = 6, H–C(14)); 4,65 (br. *t*, *J* = 6, H–C(2)); 4,42 (*t*, *J* = 8, H–C(11)); 3,85, 3,60 (je br. *t*, *J* = je 7, 2H–C(5)); 3,17 (*d*, *J* = 8, 2H–C(10)); 2,50–2,00 (*m*, 2H–C(3), 2H–C(4)). Anal. ber. für C₁₃H₁₆N₂O₄ · 1,6 H₂O (293,11): C 53,27, H 6,60, N 9,56; gef.: C 53,17, H 5,88, N 8,36.

Versuche zur Auftrennung der Epimeren **10a** und **10b** mittels anal. HPLC an Polyamid (0,005 M HCOOH) oder mittels Säulenchromatographie an Cellulose (0,1 M HCOOH) waren nicht erfolgreich.

5. rac-16-Decarboxy-indo-betalain (11) (= rac-1-[(2-Carboxy-2,3-dihydro-4(1H)-pyridinyliden)ethyliden]-2,3-dihydro-1H-indolium). – Die 4-enhaltende Bestrahlungslsg. aus *Exper. 2* wurde bei RT./11 Torr auf 15 ml eingengt, mit 13 ml MeOH verdünnt und unter Rühren mit einer Lsg. von 358 mg (3,0 mmol) Indolin (**8**) und 180 mg AcOH in 2 ml MeOH versetzt. Nach 1 1/4 h bei RT. wurde die orange-rote Lösung bei RT./11 Torr auf 10 ml konzentriert, die wässr. Lsg. 3mal mit je 10 ml Hexan ausgeschüttelt und vollständig eingengt. Der Rückstand wurde bei 10° an 100 g *Sephadex-LH-20* (MeOH, 0,77 ml/min) chromatographiert. Nach zwei orange-roten, im Refraktometer schwach registrierten Zonen, eluierte eine stark orange-rote, im Refraktometer stark registrierte Hauptzone, welche eingengt und i.H.V. getrocknet wurde: 74,9 mg (78%, berechnet auf der Basis von 0,30 mmol eingesetztem **1**) ¹H-NMR-reines, nach UV 84%-reines **11** als orange-roter, amorpher Festkörper. Darauf folgte eine farblose, im Refraktometer mittelstark registrierte, nicht weiter untersuchte Zone (evtl. Indolin). Um ein

analytisch reines Präparat von **11** zu erhalten, wurde der Festkörper aus der Hauptzone in 6 ml MeOH gelöst (Ultraschallbad), mit 10 ml H₂O verdünnt, bei RT./11 Torr auf 5 ml konzentriert und 5 Tage bei 4° stehen gelassen: 20,7 mg (26%) **11** als rote Nadelchen, Schmp. 134,5–136,5°. $E_B = 0,12$ in 0,05 M Phosphat-Puffer pH 6,8, $E_B = 0,06$ in 0,05 M Pyridinium-formiat. UV (H₂O): 500 (63400), 304 (2420), 265 (9300); nach 28 h in Lsg. bei RT. war der ϵ -Wert bei 500 nm um 2,5% abgesunken. IR (KBr): 3200m (br.), 2930m (br.), 2850m (sh), 1630s, 1605s, 1590m, 1515s, 1480s, 1465s, 1415s, 1360s, 1320m, 1300s, 1270s, 1255s, 1220s, 1200s, 1110m, 750m. ¹H-NMR (200 MHz, MeOD, 24°): 8,36 (*d*, *J* = 12, H–C(10)); 7,70 (*dd*, *J* = 5,5, 1, H–C(16)); 7,48 (br. *d*, *J* = 8, H–C(7)); 7,36–7,24 (*m*, H–C(4), H–C(6)); 7,14 (*ddd*, *J* = 8, 8, 1,5, H–C(5)); 5,95 (br. *d*, *J* = 5,5, H–C(17)); 5,89 (br. *d*, *J* = 12, H–C(11)); 4,19 (br. *t*, *J* = 8, H–C(14)); 4,13 (br. *t*, *J* = 8, 2 H–C(2)); 3,42–3,08 (*m*, 2 H–C(3), 2 H–C(13)). Einstrahlen bei 7,70 (H–C(16)) ergab: 5,95 (br. *s*, H–C(17)); 4,19 (*t*, *J* = 8, H–C(14)). Einstrahlen bei 7,14 (H–C(5)) ergab: 7,48 (*d*, *J* = 8, H–C(7)); 7,31 (verändertes *m*, H–C(4), H–C(6)). Einstrahlen bei 5,92 (H–C(17), H–C(11)) ergab: 8,36 (*s*, H–C(10)); 7,70 (br. *s*, H–C(16)). Einstrahlen bei 4,16 (H–C(14), 2 H–C(2)) ergab: 7,70 (*d*, *J* = 5,5, H–C(16)); 3,42–3,08 (verändertes *m*, 2 H–C(3), 2 H–C(13)). Beim Abkühlen auf –60° blieb dieses ¹H-NMR praktisch unverändert. Anal. ber. für C₁₆H₁₆N₂O₂ (268,32): C 71,62, H 6,01, N 10,44; gef.: C 71,37, H 6,21, N 10,44.

LITERATURVERZEICHNIS

- [1] Autoreferat eines Vortrags von M.-A. Siegfried, *Chimia* **1975**, 29, 527.
- [2] K. Hermann, A. S. Dreiding, *Helv. Chim. Acta* **1975**, 58, 1805; *ibid.* **1977**, 60, 673; G. Büchi, H. Fliri, R. Shapiro, *J. Org. Chem.* **1978**, 43, 4765.
- [3] H. Hilpert, A. S. Dreiding, *Helv. Chim. Acta* **1984**, 67, 1547; korr. **1984**, 67, 2028.
- [4] H. Freytag, W. Neudert, *J. Prakt. Chem.* **1932**, 135, 15.
- [5] E. Dunkelblum, H. E. Miller, A. S. Dreiding, *Helv. Chim. Acta* **1972**, 55, 642.
- [6] L. Minale, M. Piattelli, *Rend. Accad. Sci. Fis. Mat.* **1965**, 32, 165 (*Chem. Abstr.* **1967**, 67, 54007).
- [7] R. L. Bixler, C. Niemann, *J. Org. Chem.* **1958**, 23, 575.
- [8] S. Dähne, J. Ranft, *Z. Phys. Chem.* **1963**, 224, 65.
- [9] K. E. Wilzbach, D. J. Rausch, *J. Am. Chem. Soc.* **1970**, 92, 2178.
- [10] M. E. Wilcox, H. Wyler, A. S. Dreiding, *Helv. Chim. Acta* **1965**, 48, 1922.
- [11] U. Wölcke, A. Kaiser, W. Koch, M. Scheer, *Helv. Chim. Acta* **1970**, 53, 1704.
- [12] H. Wyler, J. Chiovini, *Helv. Chim. Acta* **1968**, 51, 1476.
- [13] H. Wyler, U. Meuer, *Helv. Chim. Acta* **1979**, 62, 1330.
- [14] I. Parikh, Dissertation, Universität Zürich, 1966.
- [15] B. Badgett, I. Parikh, A. S. Dreiding, *Helv. Chim. Acta* **1970**, 53, 433.
- [16] H. Wyler, A. S. Dreiding, *Helv. Chim. Acta* **1957**, 40, 191.
- [17] O. Th. Schmidt, P. Becher, M. Hübner, *Chem. Ber.* **1960**, 93, 1296.
- [18] H. Wyler, A. S. Dreiding, *Helv. Chim. Acta* **1959**, 42, 1699.
- [19] H. Wyler, A. S. Dreiding, *Helv. Chim. Acta* **1961**, 44, 249.
- [20] H. Wyler, A. S. Dreiding, *Helv. Chim. Acta* **1984**, 67, 1793.
- [21] H. Wyler, T. J. Mabry, A. S. Dreiding, *Helv. Chim. Acta* **1963**, 46, 1745.
- [22] H. Wyler, M. E. Wilcox, A. S. Dreiding, *Helv. Chim. Acta* **1965**, 48, 361.
- [23] M. E. Wilcox, H. Wyler, A. S. Dreiding, *Helv. Chim. Acta* **1965**, 48, 1134.