

Gallenfarbstoffsynthesen, II¹⁾

Synthese zweier Vinyl-substituierter Urobiline IXa

von Hans Plieninger und Ralf Steinsträsser

Aus dem Organisch-Chemischen Institut der Universität, D-69 Heidelberg

Eingegangen am 26. September 1968

Durch Eliminierung von Trimethylamin aus **7** kann das unbeständige 3-Methyl-4-vinyl- Δ^3 -pyrrolon-(2) (**8**) gewonnen werden. Die isomere Verbindung **10** polymerisiert unter den Versuchsbedingungen. Aus den Oxodipyromethanen **20** und **22** wurden die Vinyl-substit. Urobiline **1** und **2** hergestellt und mit d-Urobilin verglichen.

Syntheses of Bile Pigments, II¹⁾. Synthesis of Two Vinyl Substituted Urobilins IXa

The unstable 3-methyl-4-vinyl- Δ^3 -pyrrolone-(2) (**8**) could be obtained by elimination of trimethylamine from **7**. The isomer **10** polymerises under the same reaction conditions. By condensation of the aldehydes **26** and **28** with **23** and **24** the two vinyl substituted urobilins **1** and **2** could be prepared. Comparison with natural d-urobilin by mass spectrometry is difficult because of disproportionation.

Durch die Darmflora entstehen aus dem Gallenfarbstoff Bilirubin infolge Reduktion neue Verbindungen. Diese liegen zuerst in der Leukoform (Bilane) vor. Durch Autoxydation entstehen daraus Farbstoffe, in denen die beiden mittleren Pyrrol-Ringe in Konjugation stehen, die beiden äußeren Pyrrolon-Ringe durch eine CH_2 -Gruppe vom Chromophor getrennt sind. Wegen des gemeinsamen identischen Chromophors gehören alle diese Farbstoffe zur Gruppe der Urobiline oder Bilene-b²⁻⁴⁾.

Bisher sind folgende Urobiline bekannt: 1) Monovinyl-substit. Urobilin (**1** oder **2**), rechtsdrehend = d-Urobilin⁴⁾. – 2) In den Seitenketten gesättigtes Urobilin (**3**): Wenn aus Faeces bzw. Urin isoliert oder synthetisch dargestellt⁵⁾, ist **3** optisch inaktiv (i-Urobilin); wenn aus d-Urobilin durch Hydrierung und Reoxydation gewonnen, ist es rechtsdrehend⁴⁾. – 3) In den

¹⁾ I. Mitteilung: H. Plieninger und U. Lerch, Liebigs Ann. Chem. **698**, 196 (1966).

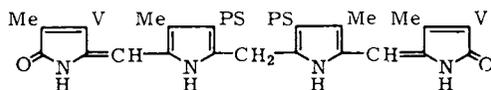
²⁾ H. Fischer und H. Orth, Die Chemie des Pyrrols, Bd. 2, S. 675, Akad. Verlagsges., Leipzig 1937.

³⁾ R. Lemberg und J. W. Legge, Hematin Compounds and Bile Pigments, Interscience Publ., Inc., New York 1949, S. 134.

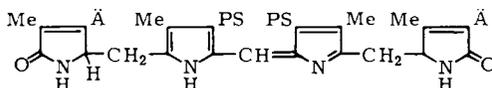
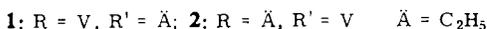
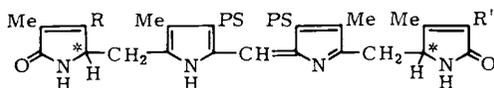
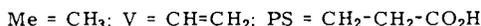
⁴⁾ C. H. Gray und D. C. Nicholson, J. chem. Soc. [London] **1958**, 3085, und dort referierte Literatur.

⁵⁾ W. Siedel und E. Meier, Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. **242**, 121 (1936).

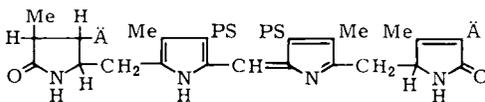
Seitenketten gesättigtes und in einem der äußeren Ringe reduziertes Urobilin (*Halbstercobilin*⁶⁾ 4 oder 5). — 4) In den Seitenketten gesättigtes und in beiden äußeren Ringen reduziertes Urobilin (*Stercobilin* 6, linksdrehend¹⁻⁴⁾).



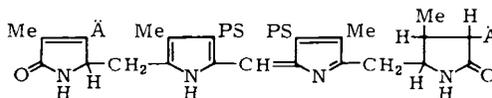
Bilirubin



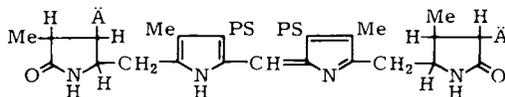
3



4



5



6

Uns interessierte zunächst das *d*-Urobilin, das erstmalig aus infizierter Fistelgalle isoliert wurde; außerdem wird es nach Behandlung mit Antibiotika in den Faeces gefunden und tritt bei Patienten mit Thalassaemie auf⁴⁾. Dieses Urobilin ist etwa ebenso stark rechtsdrehend ($\alpha_D = +4520$ als Hydrochlorid) wie Stercobilin 6 linksdrehend ist. *d*-Urobilin wird im Gegensatz zu Stercobilin mit Basen leicht racemisiert, was aufgrund der Pyrrolon/Hydroxypyrrol-Tautomerie der äußeren Ringe verständlich ist. Mit Basen verwandelt es sich, auch unter Luftausschluß, teilweise in Bilivioline.

⁶⁾ C. J. Watson, A. Moscowitz, D. A. Lightner, Z. J. Petryka, E. Davis und M. Weimer, Proc. nat. Acad. Sci. USA **58**, 1957 (1967).

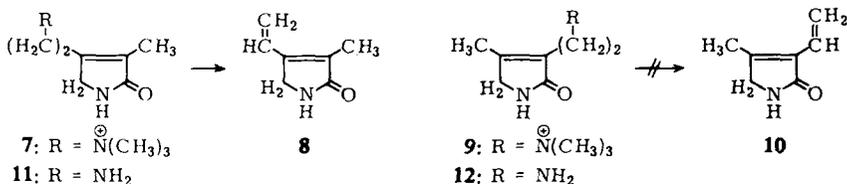
d-Urobilin hat nach Analyse und Massenspektrum⁷⁾ zwei Wasserstoff-Atome weniger als das in den Seitenketten gesättigte i-Urobilin **3**. Außer den Formeln **1** und **2** wurden für d-Urobilin auch Strukturen diskutiert, bei denen einer der äußeren Ringe als Azacyclopentadienon-Ring vorliegt, die Seitenketten dagegen gesättigt sind.

Für die Formulierung mit einer Vinylgruppe spricht die zwanglose Ableitung vom Bilirubin. Durch die Darmbakterien wäre in diesem Fall bei der Reduktion zum Bilan eine Vinylgruppe nicht reduziert worden.

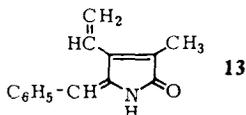
Gegen die Formulierung mit einem Azacyclopentadienon-Ring spricht die Beobachtung, daß das einzige bisher isolierte Derivat dieser Gruppe sehr leicht Wasser anlagert⁸⁾.

Da die *Struktur* von d-Urobilin bisher auf analytischem Wege nicht gesichert werden konnte, haben wir die Synthese der racem. Verbindungen **1** und **2** in Angriff genommen. Die Schwierigkeit besteht in der Einführung der Vinylgruppe in einen Pyrrolon-Ring, der durch eine CH₂-Gruppe vom Chromophor getrennt ist. Die Einführung von Vinylgruppen in konjugierte Pyrrolon-Ringe bereitet dagegen keine Schwierigkeiten⁹⁾.

Zuerst haben wir versucht, durch Abspaltung von Trimethylamin aus den quartären Ammoniumsalzen **7** und **9**¹⁰⁾ die Vinylpyrrolone **8** und **10** darzustellen. Dabei zeigte es sich, daß man **8** in 18proz. Ausbeute als kristallisierte, aber äußerst unbeständige Verbindung isolieren kann. Das UV-Spektrum des Vinylpyrrolons **8** ($\lambda_{\max} = 245 \text{ m}\mu$) ist gegenüber demjenigen eines Pyrrolons mit gesättigten Seitenketten ($\lambda_{\max} = 220 \text{ m}\mu$) deutlich langwellig verschoben. Mit Methanol/HCl-Gas verschwindet die Bande bei 245 m μ schnell, und es erscheint eine Absorption bei 220 m μ . Offenbar wird Methanol an die Doppelbindung angelagert.



Durch Kondensation von **8** mit Benzaldehyd und Alkali kann man das Benzyliden-vinyl-pyrrolon **13** darstellen, das einfacher durch Kondensation von **7** mit Benzaldehyd in alkalischer Lösung gewonnen wird. Da **8** wegen seiner Unbeständigkeit schlechte Analysenwerte liefert, ist dieser Strukturbeweis wichtig.



⁷⁾ A. H. Jackson, G. W. Kenner, H. Budzikiewicz, C. Djerassi und J. M. Wilson, Tetrahedron [London] **23**, 603 (1967); A. H. Jackson, K. M. Smith, C. H. Gray und D. C. Nicholson, Nature [London] **209**, 581 (1966).

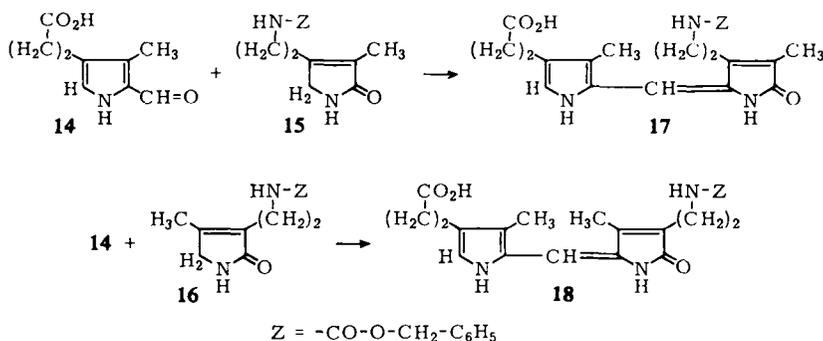
⁸⁾ H. v. Dobeneck, E. Hägel, F. Schnierle und E. Brunner, Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. **341**, 27 (1965).

⁹⁾ H. Fischer und H. Plieninger, Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. **274**, 231 (1942).

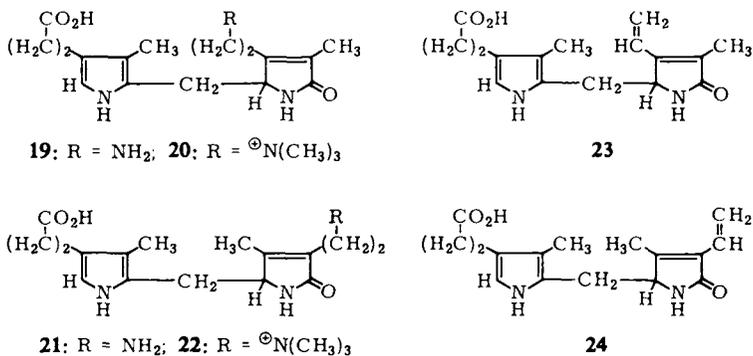
¹⁰⁾ H. Plieninger und J. Kurze, Liebigs Ann. Chem. **680**, 60 (1964).

Alle Bemühungen, auf ähnliche Weise das Vinyl-pyrrolon **10** darzustellen, blieben bisher erfolglos; stets wurden polymere, farblose Pulver gefunden¹¹⁾. Offenbar ist **8** wegen der durchlaufenden Konjugation von der Vinylgruppe zur Carbonylgruppe beständiger als **10**.

Zur Darstellung Vinyl-substit. Urobiline mußten Oxodipyrrromethane mit Vinylgruppen am Pyrrolon-Ring dargestellt werden. Hierzu wurde zuerst die freie Amino-Gruppe in den Pyrrolonen **11** und **12** mit der Benzyloxycarbonylgruppe (**Z**) geschützt. Die entstandenen Pyrrolone **15** und **16** können mit 2-Formyl-3-methyl-4-carboxy-äthyl-pyrrol (**14**, Opsopyrrolcarbonsäure-aldehyd) ohne Hydrolyse der Urethan-Gruppe zu den Oxodipyrrromethenen **17** und **18** kondensiert werden. **17** wird als Methylester analysiert.



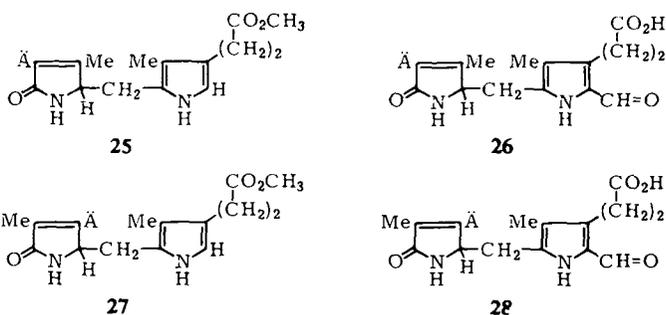
Bei der katalytischen Hydrierung von **17** und **18** in alkalischer Lösung werden in einem Schritt die Benzyloxycarbonylgruppe abgespalten und die gelben Oxodipyrrromethene zu den farblosen Amino-oxodipyrrromethanen **19** und **21** reduziert.



¹¹⁾ Diplomarbeit R. Steinsträsser, Univ. Heidelberg 1965.

Da die Methane wegen ihres Zwitterionen-Charakters und ihrer Luftempfindlichkeit nicht zu isolieren sind, werden die Aminogruppen mit Dimethylsulfat in Natriumcarbonat-Lösung zu **20** und **22** methyliert. Beim kurzen Erhitzen auf 60° wird Trimethylamin abgespalten, wobei die gesuchten Vinyl-substit. Oxidipyrrromethane **23** und **24** entstehen. Leider beobachtet man neben der Trimethylamin-Abspaltung in dem alkalischen Medium eine Disproportionierung. Die Lösungen färben sich auch unter strengem Luftabschluß gelb, und es lassen sich neben den Verbindungen **23** und **24** Oxidipyrrromethene nachweisen, die im Dünnschichtchromatogramm mit Neoxantho- und Isonoxanthobilirubinsäure identisch sind. Offenbar ist hierbei ein Wasserstoff-Atom der Methan-Brücke an die Vinylgruppe abgegeben worden. Die Reaktion findet eine Analogie in der Umwandlung von d-Urobilin in alkalischem Medium in Mesobilivoline; auch der Mechanismus dürfte analog sein⁴⁾.

Da **23** und **24** außerordentlich empfindlich sind, kann man hier keine Trennung von den Beimengungen vornehmen sondern muß die Rohprodukte direkt weiterverarbeiten.



Zur Darstellung von **1** und **2** aus **23** und **24** benötigt man die *Aldehyde 26 und 28*. Man kann sie in guter Ausbeute aus Neobilirubinsäuremethylester **25** und Isonobilirubinsäuremethylester **27** nach Vilsmeier darstellen, was einen wesentlichen Fortschritt gegenüber der älteren Darstellungsweise⁵⁾ bedeutet. Die *Aldehyde sind wichtige Ausgangsverbindungen für Urobiline und Bilivoline*. Während **25** und **27** nur eine kurzweilige Absorption bei $216\text{ m}\mu$ aufweisen, zeigen die *Aldehyde* außerdem eine ausgeprägte Absorption bei $312\text{ m}\mu$ ($\log \epsilon = 4.08$).

Die Kondensation von **23** mit **26** und von **24** mit **28** wird in Bromwasserstoff/Eisessig unter Argon vorgenommen. Die entstandenen *Urobiline 1 und 2* können infolge ihrer Basizität von den in der vorletzten Stufe mitentstandenen Oxidipyrrromethenen abgetrennt werden; sie werden mit Chloroform/Aceton kristallisiert. **1** wird nochmals aus Chloroform/Essigester und **2** aus Methanol/Aceton umkristallisiert. — Beide *Urobiline* zeigen im sichtbaren Spektrum die charakteristische Urobilin-Bande bei $490\text{ m}\mu$. Wichtig ist die Verwendung ganz reinen Methanols als Lösungsmittel für die Messung, da Verunreinigungen (Zink?) die Lage dieser Bande nach $509\text{ m}\mu$ verschieben.

Die *UV-Spektren* von **1** und **2** unterscheiden sich merklich. Während das Urobilin **2** mit der Vinylgruppe „außen“ im meßbaren Bereich (bis 220 $m\mu$) kein Maximum zeigt, sieht man bei dem isomeren Urobilin **1** mit der Vinylgruppe „innen“ ein Maximum bei 230 $m\mu$. Dieses bleibt auch bei mehrfachem Umkristallisieren erhalten, so daß es nicht von Verunreinigungen herrühren kann.

Eine Erklärung für die Unterschiede der *UV-Spektren* kann man in der unterschiedlichen Stellung der Vinylgruppen sehen. Im Falle des Urobilins **1** steht die Vinylgruppe nicht nur in Konjugation zur Doppelbindung des Pyrrolons, sondern ist darüber hinaus auch direkt mit der Carbonylgruppe konjugiert. Diese zusätzliche Konjugation besteht bei dem isomeren Urobilin **2** nicht. Es sei daran erinnert (S. 151), daß das Vinylpyrrolon **8** mit der Vinylgruppe in 4-Stellung ebenfalls langwelliger als normale Pyrrolone absorbiert.

Wir können also die Bande des Urobilins **1** bei 230 $m\mu$ dem Vinyl-substit. Pyrrolon-Ring zuordnen. Wichtig ist nun, daß natürliches *d-Urobilin* *) ein *UV-Spektrum ohne Schulter* bei 230 $m\mu$ ergibt. Die Absorption im *UV-Spektrum* ist praktisch deckungsgleich mit dem Urobilin **2**, unterscheidet sich aber auch nicht von Urobilinen mit gesättigten Seitenketten.

Wie schon früher^{6,7)} beobachtet, disproportionieren die Hydrochloride der Urobiline im *Massenspektrometer*, so daß neben dem Molekül-Peak stets $M + 2$ und $M - 2$, durch weitere Umsetzung¹²⁾ auch $M + 4$ gefunden werden.

So wurde beim natürlichen (–)-Stercobilin (Mol.-Gew. 594) nur ein kleiner Peak der richtigen Masse gefunden, während die Massen 592 und 596 sehr stark waren. Racemische Stercobiline mit gesichertem Mol.-Gew. geben zwar den erwarteten Massenpeak 594, jedoch daneben erhebliche Anteile 592 und 596⁷⁾. Das Ausmaß der Disproportionierung scheint von sterischen Faktoren abzuhängen.

Nach unseren neuen Untersuchungen gibt synthet. *racem. Urobilin IXa* (i-Urobilin, Mol.-Gew. 590) die Massen 590 : 592 : 594 = 10 : 3 : 1. Eine Probe natürliches *d-Urobilin* (Mol.-Gew. 588) zeigt die Massen 588 : 590 : 592 = 10 : 7 : 2. Das synthet. *racem. Urobilin 1* (Vinylgruppe „innen“; Mol.-Gew. 588) zeigt die Massen 588 : 590 : 592 = 10 : 4 : 4. Während bei den zuletzt genannten Urobilinen die richtige Massenzahl den stärksten Peak gibt, finden wir beim synthet. *racem. Urobilin 2* (Vinylgruppe „außen“; Mol.-Gew. 588) das Verhältnis 588 : 590 : 592 = 10 : 60 : 40. Ein zweites Spektrum gab ein ähnliches Verhältnis, d. h., die Masse $M + 2$ überwiegt den Massen-Peak erheblich.

Wir stehen jetzt vor dem Problem, Urobilin-Derivate zu finden, die eindeutige Massenzahlen liefern. Nach den bisherigen Ergebnissen läßt sich die Struktur von *d-Urobilin* noch nicht bestimmen.

*) Herrn Dr. D. Nicholson, London, danken wir für eine Probe *d-Urobilin*.

¹²⁾ Vgl. H. Budzikiewicz und E. Drewes, Liebigs Ann. Chem. 716, 222 (1968).

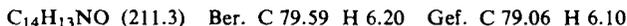
Der Deutschen Forschungsgemeinschaft danken wir für Personal- und Sachmittel, dem Verband der Chemischen Industrie und der Badischen Anilin- & Soda-Fabrik für finanzielle Hilfe und für Chemikalien. Die massenspektrometrischen Untersuchungen verdanken wir der Freundlichkeit von Fräulein Dr. D. Krauss, Heidelberg; sie wurden mit einem Massenspektrometer SM 1 der Fa. Varian MAT, Bremen, ausgeführt.

Beschreibung der Versuche

3-Methyl-4-vinyl- Δ^3 -pyrrolon-(2) (**8**). — In einem Dreihalskolben, der mit einem Einleitungsrohr für Argon und einem Rückflußkühler versehen ist, werden 700 mg (5 mMol) *3-Methyl-4-aminoäthyl- Δ^3 -pyrrolon-(2)*¹³ (**11**) in 150 ccm kalt gesättigter K_2CO_3 -Lösung unter Zusatz von so viel Methanol, daß gerade eine Trübung von ausfallendem K_2CO_3 entsteht, magnetisch gerührt. Dazu tropft man 2.5 g (20 mMol) *Dimethylsulfat* (1.9 ccm). Während der Reaktion läßt man einen langsamen Ar-Strom durch die Apparatur fließen. Hinter den Rückflußkühler schaltet man einen mit *Salzsäure* bekannter Konzentration gefüllten Kolben. Am Verbrauch der Salzsäure läßt sich durch Rücktitration mit eingestellter Natronlauge der Verlauf der Eliminierungsreaktion kontrollieren. Nach 35 Stdn. bei Raumtemperatur ist die Reaktion beendet. Man kocht kurz auf, neutralisiert unter Eiskühlung mit verd. Schwefelsäure und schüttelt dreimal mit je 50 ccm Chloroform aus. Die vereinigten Extrakte trocknet man durch mehrmaliges Filtrieren (trockene Faltenfilter), verdampft das Lösungsmittel und nimmt den weißen, kristallinen Rückstand so weit wie möglich in 50 ccm Peroxid-freiem Äther auf. Dabei geht nur das Vinylpyrrolon in Lösung. Ungelöst bleiben höhermolekulare Substanzen. Die ätherische Lösung wird auf 25 ccm eingengt und mit 20 ccm Petroläther (60–70°) tropfenweise versetzt, wobei **8** in farblosen Nadeln auskristallisiert. Man kann aus Äther/Petroläther umkristallisieren. Schmp. 86–88°; Ausb. 112 mg (18%). — Wegen der Unbeständigkeit konnten keine guten Analysenwerte erhalten werden.

3-Methyl-4-vinyl-5-benzyliden- Δ^3 -pyrrolon-(2) (**13**). — a) 50 mg **8** werden mit etwa 50 mg *Benzaldehyd* und 2 ccm 2*n* NaOH kurz auf 80° erhitzt. Beim Ansäuern fällt **13** in farblosen Blättchen aus. Schmp. 119° (aus Methanol); Misch-Schmp. mit der nach b) hergestellten Probe 119°.

b) Die Darstellung folgt dem für das isomere Vinylpyrrolon beschriebenen Verfahren (Lit.¹⁰, dort S. 68). Schmp. 119–120° (aus Methanol); Ausb. 78% d. Th.



3-Methyl-4-[2-benzoyloxycarbonylamino-äthyl]- Δ^3 -pyrrolon-(2) (**15**). — Man tropft unter Eiskühlung und starkem Rühren zu einer Lösung von 2.1 g (15 mMol) *Amin 11*¹³ in 50 ccm 3*n* NaOH 3.5 ccm (19 mMol) 5.6*m* *Chlorameisensäurebenzylester*-Lösung in Toluol. Nach 15 Min. scheiden sich an der Kolbenwand Kristalle von **15** ab. Man rührt noch 20 Min. bei 5°, saugt scharf ab, wäscht mit Wasser neutral und löst durch zweimaliges Aufschlänmen mit Äther *Verunreinigungen* heraus. Der feste Rückstand wird im Exsikkator über $CaCl_2$ bei Normaldruck bis zur Gewichtskonstanz getrocknet. Trocknet man im Vakuumexsikkator, so zerfließen die Kristalle ölig. **15** kann sehr gut aus Wasser — notfalls unter Zusatz von etwas

¹³ Das Amin **11** wird analog **12**¹⁰ dargestellt. Es ist ein hygroskopisches Öl, das ohne weitere Reinigung verwendet wird.

Aktivkohle — umkristallisiert werden. Hierbei ist zu beachten, daß man die Lösung so langsam wie möglich abkühlen läßt, weil sonst das Produkt sich nicht kristallin, sondern ölig abscheidet. Schmp. 100°; Ausb. 3.2 g (78%).

$C_{15}H_{18}N_2O_3$ (274.3) Ber. C 65.67 H 6.62 N 10.21 Gef. C 65.11 H 6.65 N 10.44

3-[2-Benzoyloxycarbonylamino-äthyl]-4-methyl- Δ^3 -pyrrolon-(2) (16). — Analog 15 wird auch das Isomere 16 aus dem Pyrrolon 12 synthetisiert. Das Produkt kann im Vakuumexsikkator getrocknet werden. Schmp. 118° (aus Wasser); Ausb. 4.0 g (98%).

$C_{15}H_{18}N_2O_3$ (274.3) Ber. C 65.67 H 6.62 N 10.21 Gef. C 65.76 H 6.64 N 10.25

5'-Oxo-4-[2-carboxy-äthyl]-4.3-dimethyl-3'-[2-benzyloxycarbonylamino-äthyl]-1'.5'-dihydro-dipyrromethen-(2.2') (17). — 275 mg (1 mMol) Urethan 15 werden mit 181 mg (1 mMol) Opsopyrrolcarbonsäurealdehyd 14 unter Zusatz von 1 ccm 4*n* NaOH in 5 ccm Methanol auf dem Wasserbad so lange erhitzt, bis das Methanol verdampft ist. Man verdünnt die tiefrote Lösung mit 20 ccm Wasser, setzt 20 ccm Methanol zu und erwärmt auf 70°. In die heiße Lösung gibt man tropfenweise eine der eingesetzten Natronlauge äquivalente Menge verdünnter Essigsäure (1 ccm 4*n* Essigsäure), wobei noch kein Niederschlag in der Hitze entstehen darf. Die klare Lösung hält man so lange auf 70°, bis sich ein Tropfen beim Abkühlen trübt. Danach läßt man 1 Stde. im Kühlschrank stehen, wobei sich Kristallkeime von 17 bilden. Durch Zugabe von 0.5 ccm 4*n* Essigsäure wird die Fällung vervollständigt. Wenn man ohne Zusatz von Methanol ansäuert, fällt 17 amorph aus. Der gelbe, kristalline Niederschlag wird abgesaugt, mit Wasser neutral gewaschen und getrocknet. Man kann ihn aus Methanol, dem man einige Tropfen Eisessig zusetzt, nur unter großen Verlusten umkristallisieren. Schmp. 183–185° (Zers.); Ausb. 160 mg (36%). — Die geringe Ausbeute beruht darauf, daß die *N*-Benzyloxycarbonyl-Gruppe teilweise hydrolysiert wurde. Eine Probe der Verbindung wird in Äther mit Diazomethan verestert. Schmp. 180° (aus Methanol); Ausb. 87% d. Th. Methylester.

$C_{25}H_{29}N_3O_5$ (451.5) Ber. C 66.50 H 6.48 N 9.31 Gef. C 66.12 H 6.47 N 9.57

5'-Oxo-4-[2-carboxy-äthyl]-4'-[2-benzyloxycarbonylamino-äthyl]-3.3'-dimethyl-1'.5'-dihydro-dipyrromethen-(2.2') (18). — Entsprechend 17 wird 18 aus 16 synthetisiert. Schmp. 217–218° (unter Dunkelfärbung ab 190°); Ausb. 238 mg (54%) Säure.

$C_{24}H_{27}N_3O_5$ (437.5) Ber. C 65.89 H 6.24 N 9.60 Gef. C 65.30 H 6.25 N 9.04

Methylester: Er schmilzt bei 196°.

Hydrierung der Urethane 17 und 18: Man hydriert 500 mg Palladiumoxid/Bariumsulfat in 5 ccm Na_2CO_3 -Lösung bis zum Ende der Wasserstoffaufnahme. Dazu gibt man 110 mg (0.25 mMol) Urethan 17 oder 18 in 30 ccm 2*n* Na_2CO_3 und hydriert bei Normaldruck. Nach etwa 2 Stdn. ist die Hydrierung beendet. Es sind 2 Äquivalente Wasserstoff verbraucht worden, und die gelbe Lösung hat sich entfärbt. 5'-Oxo-4-[2-carboxy-äthyl]-4'.3-dimethyl-3'-[2-amino-äthyl]-2'.5'-dihydro-dipyrromethan-(2.2') (19) bzw. -3'.3-dimethyl-4'-[2-amino-äthyl]-2'.5'-dihydro-dipyrromethan-(2.2') (21) werden nicht isoliert.

Permethylierung der Amine 19 und 21 und Umwandlung zu den Vinyloxodipyrromethanen 23 und 24: Unter Argon filtriert man die farblose Lösung der Amine vom Katalysator in einen 100-ccm-Dreihalskolben, der mit einem Einleitungsrohr für Argon, mit einem Rückflußkühler und magnetischem Rührer versehen ist. Vom Rückflußkühler durch einen kleinen

Sicherheitskolben getrennt, ist ein Gefäß mit Salzsäure bekannter Konzentration vorgelegt, durch das der Ar-Strom bei geschlossener Apparatur perlt. Die Lösung des Hydrierungsproduktes wird mit Na_2CO_3 gesättigt. Unter Rühren werden 126 mg (1 mMol) *Dimethylsulfat* (0.1 ccm) und so viel Methanol zugegeben, daß sich das Dimethylsulfat möglichst weitgehend löst, andererseits noch nicht zuviel Soda ausfällt. — Nach 6stdg. Rühren bei 20° setzt man 4 ccm 2*n* NaOH zu und kocht 30 Min. unter Rückfluß. Anschließend wird die vorgelegte Salzsäure mit Natronlauge zurücktitriert, und so das abgespaltene *Trimethylamin* bestimmt. Im allgemeinen werden 60–75% der ber. Menge *Trimethylamin* nachgewiesen. Findet man weniger als 50%, so ist es erforderlich, erneut 2 ccm 2*n* NaOH zuzusetzen und 15 Min. unter Rückfluß zu erhitzen.

Unter Argon säuert man die durch das *Isomerisierungsprodukt* gelb gefärbte, eisgekühlte Lösung mit 2*n* H_2SO_4 auf pH 2–3 an und schüttelt dreimal mit je 40–50 ccm Chloroform aus. Ohne Verzögerung wird der gelbliche Extrakt durch Filtrieren über trockene Faltenfilter unter Argon getrocknet und das Lösungsmittel i. Vak. abdestilliert. Das zurückbleibende gelbliche Öl, das neben 23 bzw. 24 gelbe *Isomerisierungsprodukte* enthält, wird nicht aufgetrennt, sondern sofort zu den Vinyl-substit. *Urobilinen* kondensiert. Gesamtausbeute 40–50 mg (55–69%).

5'-Oxo-4-[2-carboxy-äthyl]-3,3'-dimethyl-4'-äthyl-5-formyl-2'.5'-dihydro-dipyrromethan-(2.2') (Formylisoneobilirubinsäure, 26). — 604 mg (2 mMol) *Isonobilirubinsäuremethylester*¹⁴⁾ (25) werden unter Argon in 20 ccm Dimethylformamid gelöst. Dazu wird unter Eiskühlung die gut gekühlte Lösung aus 5 ccm *Dimethylformamid* + 306 mg (2 mMol) *Phosphoroxotrichlorid* (0.19 ccm) innerhalb 10 Min. getropft. Die dunkelrote Lösung wird 40 Min. bei Raumtemperatur unter Argon gerührt. Dann gibt man auf 50 g Eis, setzt 20 ccm gesätt. Na_2CO_3 -Lösung zu, läßt 20 Min. unter Argon bei Raumtemperatur stehen und kocht 5 Min. Dabei werden der Vilsmeier-Komplex und die Methylestergruppe hydrolysiert. Nach dem Abkühlen säuert man mit verd. Schwefelsäure bis pH 2 an, kühlt und schüttelt die saure Lösung viermal mit je 100 ccm Chloroform aus. Der rote Extrakt wird durch mehrmaliges Filtrieren über trockene Faltenfilter getrocknet und das Lösungsmittel i. Vak. (Rotationsverdampfer) abgedampft. Da neben 26 noch Dimethylformamid in der Chloroformlösung enthalten ist, heizt man, nachdem das Chloroform abdestilliert ist, das Wasserbad 30 Min. auf 70°; der tiefrote ölige Rückstand wird mit 2 ccm Chloroform verdünnt. Durch Petroläther wird die *Formylisoneobilirubinsäure* 26 ausgefällt. Man saugt ab, wäscht mit Äther/Petroläther (1 : 1) und erhält 26 sehr rein als weißes Pulver. Die Substanz kann aus Methanol umkristallisiert werden. Schmp. 205° (Zers.); Ausb. 379 mg (59%).

$\text{C}_{17}\text{H}_{22}\text{N}_2\text{O}_4$ (318.4) Ber. C 64.13 H 6.97 N 8.80 Gef. C 64.20 N 7.20 H 8.55

5'-Oxo-4-[2-carboxy-äthyl]-3,4'-dimethyl-3'-äthyl-5-formyl-2'.5'-dihydro-dipyrromethan-(2.2') (Formylneobilirubinsäure, 28). — Dieser Aldehyd wird analog 26 dargestellt. Es empfiehlt sich, die Lösungsmittel vor der Reaktion unter Argon zu schütteln, um Sauerstoff möglichst fernzuhalten. Zers.-P. 215°, Ausb. 52% d. Th.

$\text{C}_{17}\text{H}_{22}\text{N}_2\text{O}_4$ (318.4) Ber. C 64.13 H 6.97 N 8.80 Gef. C 63.91 H 7.05 N 9.09

¹⁴⁾ W. Siedel und H. Fischer, Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. 214, 165 (1933). Eine neue Vorschrift zur Darstellung von Neo- und Isonoxanthobilirubinsäure findet sich unter Lit¹⁾.

1'.8'-Dioxo-1.3.6.7-tetramethyl-2-vinyl-4.5-bis-[2-carboxy-äthyl]-8-äthyl-bilen-b-hydrochlorid (1·HCl) — Man löst 41 mg (0.14 mMol) rohe Verbindung **23** sowie 39 mg (0.14 mMol) **26** in 10 ccm Eisessig und gibt aus einer Kapillare einen Tropfen 48proz. Bromwasserstoff-Lösung in Eisessig zu. Kurz danach wird die Lösung rotbraun. Man läßt 10 Min. unter Argon bei 20° stehen und erwärmt anschließend 10 Min. auf 50°. Nach dem Abkühlen verdünnt man mit 20 ccm reinstem, Peroxid-freiem Äther. Unmittelbar danach zieht man zweimal mit je 20 ccm 25proz. Salzsäure aus, die man anschließend dreimal mit Peroxid-freiem Äther durch Ausschütteln nachwäscht. Nach Verdünnen der salzsauren Lösung auf das doppelte Vol. mit Wasser und Entfernen restlichen Äthers schüttelt man dreimal mit je 40 ccm Chloroform (reinst) aus, wobei die Urobiline als *Hydrochloride* in Chloroform gelöst werden. Man trocknet den Extrakt durch Filtrieren, entfernt das Lösungsmittel i. Vak. und reibt den Rückstand mit 2 ccm Aceton an, wobei **1** als Hydrochlorid entweder sofort oder nach 10 Min. bei 4° als orangefarbenes Pulver auskristallisiert. Zers.-P. 141°; Rohausb. 6.8 mg (9%). Ausbeute nach Umkristallisieren aus Chloroform/Essigester 4.7 mg (6%).

1'.8'-Dioxo-1.3.6.7-tetramethyl-2-äthyl-8-vinyl-4.5-bis-[2-carboxy-äthyl]-bilen-b-hydrochlorid (2·HCl). — Es wird analog **1** durch Kondensation von **24** mit **28** gewonnen. Zers.-P. 148°; Rohausb. 5.3 mg (7%). Ausbeute nach Umkristallisieren aus Methanol/Aceton 3.4 mg (5%).
[182/68]