

and IV were also found after a treatment with acid. In this way all the 18 carbon atoms of betanidin are accounted for by degradation.

The 2,3-dihydro-5,6-dihydroxyindole-2-carboxylic acid (IV) was characterized by its derivatives, its spectral properties and by the ease of its conversion *via* dopachrome (VIII) to 5,6-dihydroxyindole-2-carboxylic acid (X).

Organisch-chemisches Institut
der Universität Zürich

77. Die Struktur des Neobetandins

5. (vorläufige Mitteilung¹⁾)

Über die Konstitution des Randfarbstoffes Betanin

von T. J. Mabry²⁾, H. Wyler, G. Sassu, M. Mercier, I. Parikh
und André S. Dreiding

(18. I. 62)

Trotzdem das Betanin, der Farbstoff der Rande (*Beta vulgaris*, *var. rubra*) und die mit ihm verwandten anderen Betacyane³⁾ schon seit vielen Jahren bearbeitet worden sind⁴⁾, war es bis jetzt noch nicht möglich, einen Hinweis auf deren Struktur zu erhalten. Im allgemeinen wurde der Farbstoff bei den Anthocyanen eingereiht. Es ist uns nun gelungen, das Pigment sowie sein Aglukon, das Betanidin, unter *sehr milden* Bedingungen in verschiedene Derivate eines Umwandlungsproduktes (Neobetandin) zu überführen und deren Struktur aufzuklären.

Die Resultate zeigen, dass das Betanin ein neuer Strukturtyp unter den Naturfarbstoffen darstellt, der chemisch nahe verwandt ist mit den Alkaloiden. Für diese Art von Naturstoff könnte man den Ausdruck «Chromoalkaloid» verwenden.

1) *Umwandlungen in Neobetandinderivate*. Die Methanolyse des stark sauren Betandins lieferte als Endprodukt ein rohes Betanidin-trimethylester-hydrochlorid, $pK_a > 7$, das sich wieder zu Betanidin und Isobetandin hydrolysieren liess, und dessen Protonenresonanzspektrum in Trifluoressigsäure – abgesehen von den Methoxylsignalen – mit dem von Betanidin fast identisch war.

Bei der Behandlung dieses Esters mit Acetanhydrid und Pyridin erfolgte jedoch neben der Acetylierung noch eine Umwandlung in die Neobetandin-Struktur, denn der entstandene gelbe Di-O-acetyl-neobetandin-trimethylester (II) konnte weder in Betanidin noch in seinen Ester zurückverwandelt werden. Die methanolytische Desacetylierung führte vielmehr zum violetten Neobetandin-trimethylester-hydrochlorid (VII), $pK_a = 3,5$.

Die Neo-Umwandlung fand auch unter der Einwirkung von Diazomethan auf Betanidin oder seinen Trimethylester statt; es bildete sich dabei ein gelber Di-O-

¹⁾ 4. Mitteilung: Helv. 45, 638 (1962).

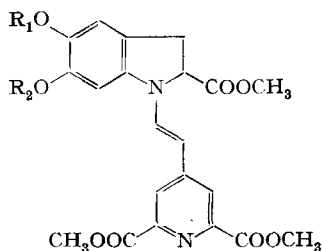
²⁾ Stipendiat des National Cancer Institute, United States Public Health Service.

³⁾ H. WYLER & A. S. DREIDING, *Experientia* 17, 23 (1961).

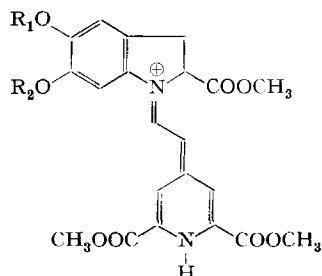
⁴⁾ Die frühen Arbeiten auf dem Gebiet der Betacyane wurden von A. S. DREIDING in Kapitel 11 von G. OLLIS, *Recent Developments in the Chemistry of Natural Phenolic Compounds*, Pergamon Press (1961), zusammengefasst.

methyl-neobetanidin-trimethylester (III). Aus Betanin entstand unter den gleichen Bedingungen Substanz IV, welche durch Methanolyse (\rightarrow V) und Acetylierung in O-Acetyl-O-methyl-neobetanidin-trimethylester (VI) überführt wurde.

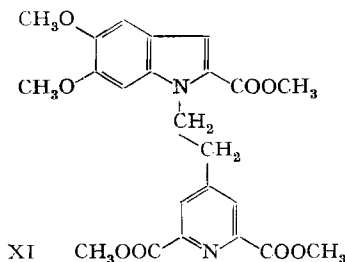
Eigene Eigenschaften der Neobetanidin-Derivate sind in der Tabelle angegeben. Erwähnenswert sind die optische Aktivität und die starke bathochrome Verschiebung der langwelligen Absorptionsbanden bei der Protonierung (I \rightarrow VII, II \rightarrow VIII, III \rightarrow IX, VI \rightarrow X). Solche Verschiebungen sind charakteristisch für basische Polymethinchromophore⁵⁾, wie sie in den hier vorgeschlagenen Strukturen vorkommen. Die Neobetanidinverbindungen sind Farbstoffe vom Cyanin-Typ.



- I $R_1 = R_2 = H$
- II $R_1 = R_2 = CH_3CO$
- III $R_1 = R_2 = CH_3$
- IV $R_1 = CH_3, R_2 = \text{Glucose oder}$
 $R_1 = \text{Glucose}, R_2 = CH_3$
- V $R_1 = CH_3, R_2 = H, \text{ oder}$
 $R_1 = H, R_2 = CH_3$
- VI $R_1 = CH_3, R_2 = CH_3CO \text{ oder}$
 $R_1 = CH_3CO, R_2 = CH_3$



- VII $R_1 = R_2 = H$
- VIII $R_1 = R_2 = CH_3CO$
- IX $R_1 = R_2 = CH_3$
- X $R_1 = CH_3, R_2 = CH_3CO \text{ oder}$
 $R_1 = CH_3CO, R_2 = CH_3$



Neobetanidin-Derivate

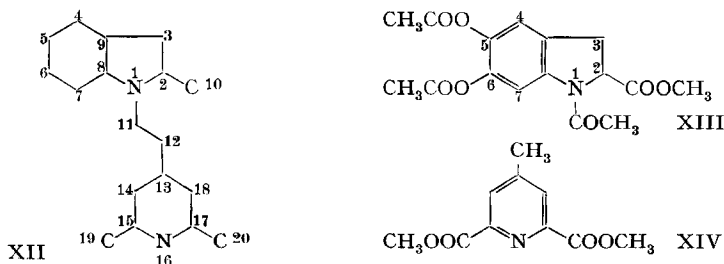
Substanz	Smp.	α_D	$\lambda_{\max}^{CH_3OH}$ (m μ)	$\lambda_{\max}^{H^+, CH_3OH}$ (m μ)	Bruttoformel aus Analysen
II	200,5°	-151°	383	483	C ₂₅ H ₂₄ O ₁₀ N ₂
VII	—	—	410	520	C ₂₁ H ₂₀ O ₈ N ₃ , HCl
III	254,5°	-181°	403	513	C ₂₃ H ₂₄ O ₈ N ₂
VI	240,5°	—	393	496	C ₂₄ H ₂₄ O ₉ N ₂
XI	188°	—	320	320	C ₂₃ H ₂₄ O ₈ N ₂

⁵⁾ H. A. СТААВ, Einführung in die theoretische organische Chemie, Verlag Chemie, Weinheim 1959, Seite 323 ff.

Mit Palladium und Tetralin wurde III zum farblosen XI disproportioniert, das sich mit Säure nicht färbte. Die massenspektrographischen Analysen⁶⁾ von III und XI bestätigten Molekulargewichte von 456.

2) *Die Protonenresonanzspektren der Neobetamidinderivate.* Die Strukturen der Neobetamidinderivate wurden hauptsächlich aus den Protonenresonanzspektren abgeleitet⁷⁾. Es gelang, durch Vergleiche mit den Spektren von in ihren Strukturen aufklärten Abbauprodukten die Signale genau zu identifizieren.

Im folgenden werden die Spektren von Di-O-acetylneobetandin-trimethylester (II) und seines Kations VIII als Beispiele diskutiert, da die freie Base II in Deuteriochloroform und die protonisierte Form VIII in Trifluoressigsäure gut löslich waren. Andere Neobetamidinderivate (III, V und VI) waren nur als freie Basen gut löslich, zeigten aber in Deuteriochloroform fast dieselben Signale wie das Diacetylderivat II, mit Ausnahme natürlich der verschiedenen Substituenten.



Im Deuteriochloroform-Spektrum von II (Fig. 1) sehen wir die drei Protonen⁸⁾ H-3, H-3 und H-2 als ABX-System mit zwölf Signalen. Das Quartett von H-2 mit $J_{cis} = 10$ c/s und $J_{trans} = 5$ c/s⁹⁾ liegt bei $\tau = 5,16$. Die H-3 koppeln mit $J = 17$ c/s und bilden zwei Quartette bei $\tau = 6,35$ (*cis* zu H-2) und bei $\tau = 6,80$ (*trans*). Die Signale des gleichen ABX-Systems mit fast identischen chemischen Verschiebungen und Kopplungskonstanten (jedoch nicht so schön ausgeprägt) können auch im Spektrum von N-Acetyl-5,6-diacetoxy-2,3-dihydroindol-2-carbonsäure-methylester (XIII) erkannt werden¹⁰⁾.

⁶⁾ Diese Analysen wurden freundlicherweise von Dr. J. SEIBL am Physikalisch-chemischen Institut der ETH ausgeführt. Die genauen Resultate sollen später veröffentlicht werden.

⁷⁾ Die Protonenresonanzspektren wurden teils auf einem HR-60- und teils auf einem A-60-VARIAN-Spektrometer aufgenommen. Wir danken Dr. W. G. PROCTOR und der VARIAN AG., Zürich für den Gebrauch ihres HR-60-Instrumentes. Besonders sind wir Dr. C. VON PLANTA (HOFFMANN-LA ROCHE AG., Basel) und Dr. A. MELERA (VARIAN) für die frühen Messungen der Spektren von Betanidin und Abbauprodukten zu Dank verpflichtet. Die übrigen Spektren wurden von Dr. T. MABRY aufgenommen. Die Signale sind durch τ -Werte charakterisiert (TIERS, J. physic. Chemistry 62, 1151 (1958)).

⁸⁾ In Formel XII ist eine Numerierung des Betanidingerüsts angegeben. In der Diskussion sind die Protonen mit den Zahlen bezeichnet, welche der Numerierung der mit ihnen verbundenen Kohlenstoffatome entspricht.

⁹⁾ Die Zuordnung der 10 c/s Kopplungskonstante zu den *cis*-ständigen Protonen (H-2 und H-3) ist in Übereinstimmung mit den Beobachtungen von M. HESSE, H. HILTEBRAND, CH. WEISSMANN, W. VON PHILIPSBORN, K. BERNAUER, H. SCHMID & P. KARRER, Helv. 44, 2211 (1961), am Pyrrolidinring des Bisdesoxy-C-calebassins (siehe dort auch Fussnote 17)).

¹⁰⁾ Die Signale dieses Spektrums sind in der vorangehenden Publikation¹⁾ angegeben.

Die aromatischen Protonen H-4 und H-7 erscheinen als Singlette in der erwarteten Gegend bei $\tau = 3,14$ bzw. $3,02$. Es ist noch nicht abgeklärt, welches Signal zu welchem der beiden Protonen gehört. Im Abbauprodukt XIII gibt H-4 ein Singlett bei $\tau = 2,95$, während das Singlett von H-7 durch die N-Acetylgruppe nach $\tau = 1,86$ verschoben ist¹⁰⁾11).

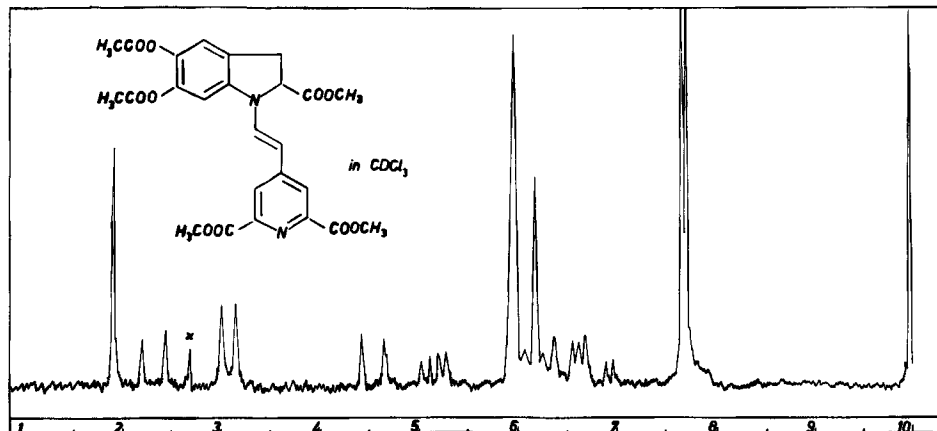


Fig. 1. Protonenresonanzspektrum von Di-O-acetyl-neobetandin-trimethylester (II) in Deuteriochloroform
(Das mit «x» bezeichnete Signal gehört zu Chloroform.) Skala in τ -Werten

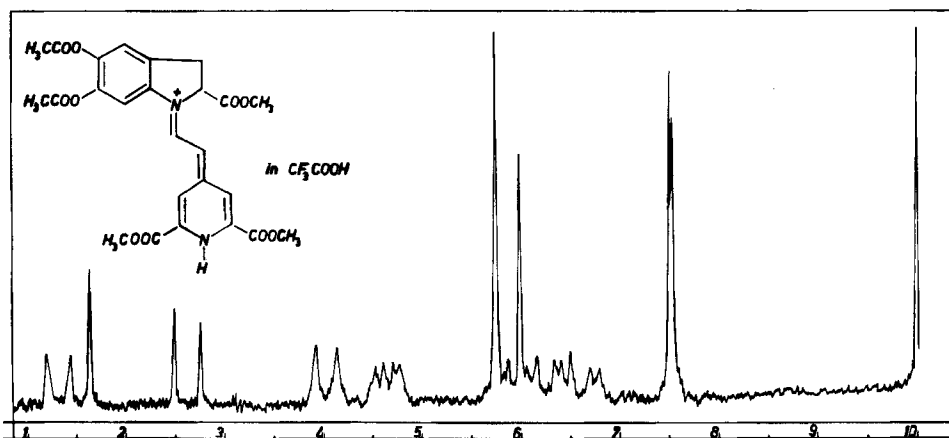


Fig. 2. Protonenresonanzspektrum der protonierten Form von Di-O-acetyl-neobetandin-trimethylester (VIII) in Trifluoressigsäure. Skala in τ -Werten

Die beiden β -Protonen des symmetrisch substituierten Pyridinringes in II, H-14 und H-18, sind für das Singlett bei $\tau = 1,90$ verantwortlich. Ein eben solches Singlett (zwei Protonen) bei $\tau = 1,89$ wird im Spektrum des Abbauproduktes (XIV) angetroffen.

¹¹⁾ Ein ähnlicher Effekt wurde von Dr. W. VON PHILIPSBORN (private Mitteilung) bei 18-Desoxyisostrychnin beobachtet, wo das ortho zum Stickstoff gelegene aromatische Proton ebenfalls nach $\tau = 1,88$ verschoben ist.

Die einzigen Signale in II, deren Analoga man in den Abbauprodukten XIII und XIV nicht vorfindet, sind zwei Dublette bei $\tau = 4,54$ und $2,32$, welche dem AX-System von H-11 und H-12 zugeschrieben werden. Die Kopplungskonstante von $J = 14$ c/s deutet auf eine *trans*-Konfiguration der 11,12-Doppelbindung hin. Ein ähnliches AX-System wird auch im Spektrum von N-(β -Styryl)-2,3-dihydroindol (XV) beobachtet, das zu Vergleichszwecken synthetisiert wurde. Die Herstellungsmethode von XV, welche thermodynamisch kontrollierter Natur ist, lässt auf eine *trans*-Konfiguration der Doppelbindung schliessen.

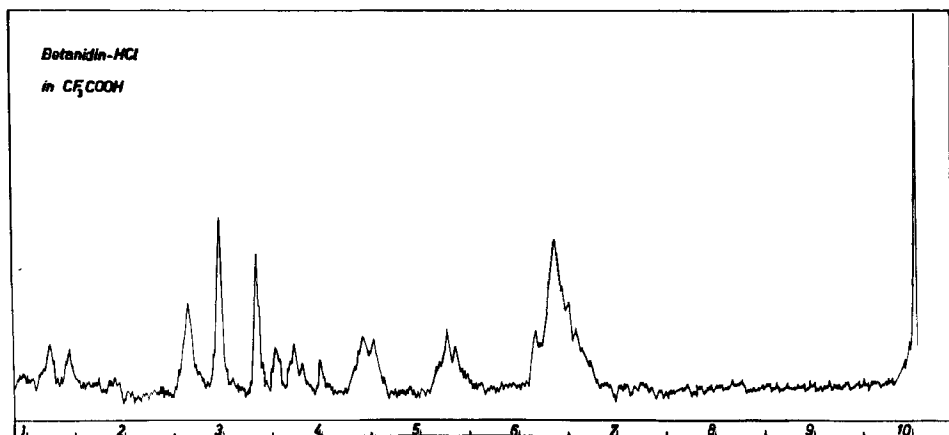
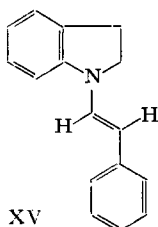


Fig. 3. Protonenresonanzspektrum von Betanidin-hydrochlorid in Trifluoressigsäure
Skala in τ -Werten

Die zwei Vinylprotonen in XV entsprechen zwei Dubletten bei $\tau = 4,64$ und $2,75$ (das letztere unter den Aromaten) mit $J = 14$ c/s. Das Signal bei tieferer Feldstärke wird in beiden Fällen dem Proton neben dem Stickstoff zugeschrieben¹²).

Die sechs Protonen der Acetoxygruppen an C-5 und C-6 in II zeigen sich als zwei Singlette bei $\tau = 7,72$ und $7,68$. Die Signale der Acetoxy-Protonen im Abbauprodukt XIII sind bei $\tau = 7,79$ zentriert¹⁰).



Die gesättigten und ungesättigten Methylestergruppen lassen sich durch die chemische Verschiebung der Methoxyprotonenresonanz unterscheiden. Das Singlett von sechs Protonen bei $\tau = 5,97$, welches in den Spektren aller Neobetanidin-tri-

¹²) Eine analoge, obschon nicht so starke Verschiebung wurde von W. ARNOLD, M. HESSE, H. HILTEBRAND, A. MELERA, W. VON PHILIPSBORN, H. SCHMID & P. KARRER, *Helv.* 44, 620 (1961), bei den Toxiferin-Alkaloiden und verwandten Substanzen beobachtet.

methylester auftritt, findet sich auch im Abbauprodukt XIV. Es gehört also zu den ungesättigten Estergruppen an C-19 und C-20. Die gesättigte Methylestergruppe an C-10 bildet ein drei-Protonen-Singlett bei $\tau = 6,20$; im Abbauprodukt XIII liegt dieses bei $\tau = 6,31$.

Das Protonenresonanzspektrum von Di-O-acetyl-neobetanidin-trimethylester (VIII) in Trifluoressigsäure (Figur 2) zeigt ein sehr ähnliches Bild wie das Spektrum von II in Deuteriochloroform; nur sind alle Signale um 0,2 bis 0,5 ppm gegen ein tieferes Feld verschoben. Von besonderer Bedeutung ist die grössere Abwärtsverschiebung (1,0 ppm) des H-11-Dublettes das in II bei $\tau = 2,32$, in VIII jedoch bei 1,30 zentriert ist. Die Kopplungskonstante ist fast unverändert. Eine solche Verschiebung ist nicht unerwartet, wenn man in Betracht zieht, dass die bei der Protonierung von II am Pyridinstickstoff entstandene positive Ladung sich auch auf den Dihydroindolstickstoff verteilen kann. Das Spektrum von VIII wurde in Figur 2 aufgezeichnet, um den Vergleich mit Betanidin und seinem Trimethylester, welche nur in Trifluoressigsäure löslich sind, zu ermöglichen.

3) *Über die Struktur des Betanidins.* Die Leichtigkeit, mit der sich Betanidin in die Neostruktur umwandeln lässt, macht die Abspaltung eines Kohlenstoffes bei diesem Vorgang unwahrscheinlich, so dass jetzt für Betanidin eine Bruttoformel von $C_{18}H_{14-16}N_2O_8$ angenommen werden kann. Betanin wäre demnach $C_{24}H_{24-26}N_2O_{18}$. Diese Formeln stehen nicht in krassem Widerspruch zu den veröffentlichten Analysen von Betanin, Betanidin und deren Salzen, obschon früher aus Durchschnittswerten eine C_{25} -Formel für Betanin und eine C_{19} -Formel für Betanidin vorgezogen wurde¹³⁾ 14). Schon SCHMIDT, BECHER & HÜBNER¹⁴⁾ haben auf die Unsicherheit der Analysen hingewiesen.

Wenn man annimmt, dass die Betanidin \rightarrow Neobetanidin-Überführung keine Umlagerung des Gerüsts verursacht hat, so lässt sich aus einem Vergleich der Protonenresonanzspektren einiges über die Struktur des Betanidins ableiten:

Das in Figur 3 abgebildete Spektrum von Betanidin-hydrochlorid in Trifluoressigsäure zeigt eine schlechtere Auflösung als das entsprechende Spektrum von VIII, so dass eine genaue Zuordnung der Signale erschwert ist. Dasselbe gilt für das Spektrum von Betanidin-trimethylester-hydrochlorid in Trifluoressigsäure, das sich vom ersteren, neben einer kleinen Verschiebung aller Signale (um etwa 0,1 bis 0,15 ppm feldaufwärts), nur durch die zusätzlichen zwei Methoxysinglette bei $\tau = 6,03$ (6 Protonen) und bei $\tau = 5,92$ (3 Protonen) unterscheidet. Diese Methoxysignale sind interessant, da das 6-Protonen-Singlett sich auf der hohen Feldseite des 3-Protonen-Singletts befindet, während bei den Neo-estern immer das Umgekehrte der Fall ist. Dies weist auf die Gegenwart von zwei gesättigten und einer ungesättigten Estergruppe in Betanidin-trimethylester hin.

Zum gleichen Schluss – nämlich, dass Betanidin nur *eine* $\alpha\beta$ -ungesättigte Carboxylgruppe, dafür aber deren *zwei* gesättigte besitzt – führt auch das Auftreten im Betanidin eines Multipletts bei $\tau = 5,30$, das dem α -Proton einer protonisierten α -Aminosäure (H-15) entsprechen könnte. So zeigt z. B. 5,6-Dihydroxyphenylalanin (Dopa) in Trifluoressigsäure ein solches Multiplett bei $\tau = 5,25$.

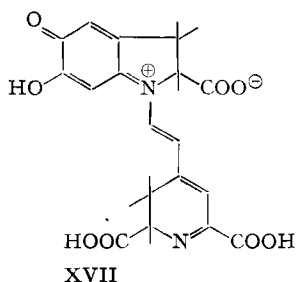
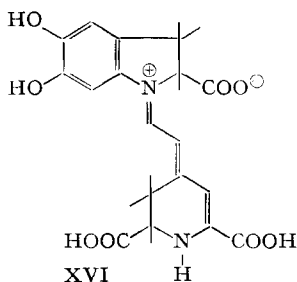
¹³⁾ H. WYLER, G. VINCENTI, M. MERCIER, G. SASSU & A. S. DREIDING, Helv. 42, 1696 (1959); H. WYLER & A. S. DREIDING, Helv. 42, 1699 (1959).

¹⁴⁾ O. TH. SCHMIDT, P. BECHER & M. HÜBNER, Chem. Ber. 93, 1296 (1960).

Der Pyridinring im Betanidin muss also partiell hydriert sein. Dieser Schluss lässt sich mit Hilfe von drei weiteren Aspekten der Protonenresonanzspektren von Betanidin und seinem Ester bekräftigen: Erstens fehlt in diesen Spektren das bei den Neoverbindungen stark hervorstechende Singlett ($\tau = 1,6$) der zwei β -Pyridinprotonen; zweitens ist das Multiplett der gesättigten Protonen in der Gegend von $\tau = 6,3$ um etwa zwei Protonen (H-14, H-14) verstärkt und drittens erscheint beim Betanidin ein neues 1-Protonen-Singlett bei $\tau = 3,32$, welches dem β -Proton einer $\alpha\beta$ -ungesättigten Säure (H-18) zugeschrieben werden kann. (In CDCl_3 hat Diäthylfumarat ein Signal bei $\tau = 3,26$.)

Auf Grund dieser Vergleiche können für Betanidin die zwei Formeln XVI oder XVII als Alternative zur Diskussion gestellt werden.

Die Signale in Figur 3 würden demnach die folgenden vorläufigen Zuordnungen erhalten (von links nach rechts): Dublett bei $\tau = 1,33$ ($J = 13$):H-11; Singlette bei $\tau = 2,63$ und $2,93$:H-7 und H-4 (oder umgekehrt); Singlett bei $\tau = 3,32$:H-18; Dublett bei $\tau = 3,60$ ($J = 13$):H-12; Multiplett bei $\tau = 4,45$:H-2; Multiplett bei $\tau = 5,30$:H-15; breites Multiplett bei $\tau = 6,35$:H-3, H-3, H-14 und H-14. Die Bedeutung des Signals bei $\tau = 4,00$ ist nicht klar.



Bei der Struktur XVI wäre die Umwandlung in Neobetainidin eine Dehydrierung, bei Struktur XVII eine prototropische Umlagerung. Die Wasserstoffanalysen^{13) 14)} sprechen bei einer C_{18} -Formel eher für H_{16} (XVI). Versuche sind im Gange, um zwischen diesen zwei alternativen Strukturen für Betanidin zu unterscheiden.

Wir danken der Firma F. HOFFMANN-LA ROCHE & Co. AG., Basel, für die grosszügige Unterstützung dieser Arbeit. Danken möchten wir auch der JUBILÄUMSSPENDE DER UNIVERSITÄT ZÜRICH für einen Beitrag zur Anschaffung von Apparaturen.

SUMMARY

Betanin, the violet-red pigment of the beet, and its aglucone, *betanidin*, were converted by mild methods to several derivatives of a new structure, called *neobetainidin*. On the basis of elementary analyses, transformations, color changes with acid, mass-spectrographic evidence and especially nmr-spectra it was possible to assign structures II to X to these derivatives of neobetainidin. As examples of the nmr-spectra in which all signals could be identified those of II and VIII are discussed in detail and compared with model compounds. It is evident that neobetainidin incorporates a dihydroindol- and a pyridin-ring, an enamin bond, three carboxyl functions, two phenolic hydroxyl groups and a weakly basic nitrogenous polymethine system of the cyanin type.

From an analysis of the nmr-spectra of betanidin and its trimethyl ester in the light of the new experience with the neobetandin-derivatives it can be concluded that betanidin differs from the neo-series essentially in that it has a dihydropyridin ring. Two alternative formulae (XVI and XVII) are offered as a basis for discussing the structure of betanidin. In any case, betanidin appears to be closely related to the alkaloids.

Organisch-chemisches Institut
der Universität Zürich

78. Kristallstruktur des Benzol-Addukts des 1,2,3,4-Tetramethylcyclobutadien-nickel(II)-chlorids, $(C_8H_{12}, NiCl_2)_2, C_6H_6^1$

von J. D. Dunitz²⁾, H. C. Mez³⁾, O. S. Mills³⁾ und H. M. M. Shearer⁴⁾

(18. I. 62)

Nach den Voraussagen von LONGUET-HIGGINS & ORGEL⁵⁾, dass die instabile Cyclobutadien-Molekel durch Verbindung mit einem geeigneten Übergangsmetall-Ion stabilisiert werden, und dass insbesondere ein Komplex vom Typ $C_4H_4NiX_2$ stabil sein könnte, gelang CRIEGEE & SCHROEDER⁶⁾ durch Umsetzung von Dichlortetramethylcyclobuten mit Nickeltriacarbonyl die Darstellung eines Komplexes der Zusammensetzung $C_8H_{12}NiCl_2$. Auf Grund ihrer physikalischen und chemischen Eigenschaften wurde diese Substanz von ihnen als der Nickelchlorid-Komplex des Tetramethylcyclobutadiens formuliert. Die Synthese dieser Verbindung schien somit die Krönung einer langen Reihe von erfolglosen Versuchen zur Darstellung von Cyclobutadienderivaten⁷⁾ zu sein, und es erschien uns interessant und wichtig, die Substanz mit RÖNTGEN-Beugungsmethoden zu untersuchen, um Gewissheit über die Struktur und möglichst genaue Kenntnis der molekularen Geometrie im einzelnen zu erhalten.

Herr Prof. CRIEGEE hatte die Güte, uns eine Probe der Substanz zur Verfügung zu stellen, aus der wir Einkristalle der reinen Substanz und eines Benzol-Addukts herstellen konnten. Die einleitende Analyse zeigte, dass die Kristalle des Addukts, von der Zusammensetzung $(C_8H_{12}NiCl_2)_2, C_6H_6$, einer RÖNTGEN-Strukturanalyse besser zugänglich sind, und wir haben daher unsere Bemühungen auf diese konzentriert. Unsere Resultate, welche unten eingehend beschrieben sind, bestätigen die Folgerungen von CRIEGEE & SCHROEDER und beweisen den Cyclobutadiencharakter der Verbindung.

¹⁾ Teile aus H. C. MEZ, Dissertation ETH, Zürich 1961.

²⁾ Organisch-chemisches Laboratorium der Eidg. Technischen Hochschule, Zürich.

³⁾ Chemistry Department, University of Manchester.

⁴⁾ Organisch-chemisches Laboratorium der Eidg. Technischen Hochschule, Zürich; jetzige Adresse: Durham Colleges Science Laboratories, University of Durham.

⁵⁾ H. C. LONGUET-HIGGINS & L. E. ORGEL, J. chem. Soc. 1956, 1969.

⁶⁾ R. CRIEGEE & G. SCHROEDER, Liebigs Ann. Chem. 623, 1 (1959).

⁷⁾ Eine gute Übersicht über diese Versuche findet sich bei M. AVRAM, C. D. NENITZESCU & E. MARICA, Chem. Ber. 90, 1857 (1957).