

## 70. Notiz über die Synthese von Iso-, Noriso- und Desäthyl-tuboflavin [1]

von H. J. Rosenkranz und H. Schmid

Organisch-chemisches Institut der Universität Zürich

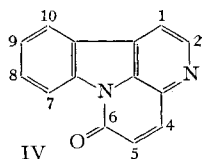
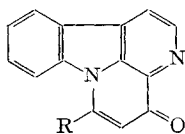
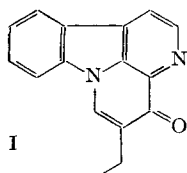
(22. III. 68)

*Summary.* Treatment of 4,5-dihydrocanthin-6-one (V) (prepared from synthetic canthinone (IV)) with ethyl or methyl magnesium iodide and methanolic hydrochloric acid yielded the ethyl or methyl compounds VI and IX. Oxidation of the latter compounds with selenium dioxide in dimethylformamide gave rise to the *Pleiocarpa* alkaloids isotuboflavine (II) and norisotuboflavine (III) in low yields. Deethyltuboflavine (VIII) was isolated as a byproduct from further oxidation of norisotuboflavine.

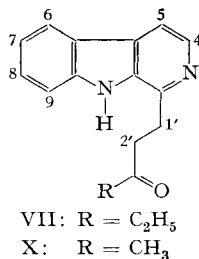
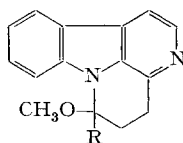
Aus der Apocynacee *Pleiocarpa nutica* BENTHAM sind bisher die folgenden vier  $\beta$ -Carbolin-Alkaloide isoliert worden: Flavocarpin [2], Tuboflavin (I) [3], Isotuboflavin (II) [4] und Norisotuboflavin (III) [4]. Die beiden erstgenannten Pflanzenbasen sind auch synthetisch erhalten worden ([2] bzw. [5]). Über die Synthese von II und III wird nachstehend berichtet.

Ausgehend vom Alkaloid Canthinon (IV) [6], das, wie berichtet [5], durch eine zweistufige Synthese aus Tryptophan leicht zugänglich ist, wurde durch katalytische Hydrierung das bereits von PRICE *et al.* [6] beschriebene 4,5-Dihydrocanthin-6-on (V) bereitet. Reaktion von V mit überschüssiger ätherischer Äthylmagnesiumjodid-Lösung, gefolgt von Einrühren des Reaktionsgemisches in überschüssigen 1,5N absolut methanolischen Chlorwasserstoff, gab in 48% Ausbeute 6-Äthyl-6-methoxy-4,5-dihydro-canthin (VI) als farbloses Öl. Daneben fielen 24% 2-(3-Oxopentyl)- $\beta$ -carbolin (VII) an, welches bei der Aufarbeitung des GRIGNARD-Reaktionsproduktes mit verdünnter wässriger Säure ausschliesslich gebildet wird. Die Recyclisierung von VII zu VI mit methanolischem Chlorwasserstoff gelang nicht.

VI zeigt die für  $\beta$ -Carboline charakteristische hellblaue Fluoreszenz im UV.; das UV.-Spektrum mit Maxima bei 237, 288, 342 und 355 nm unterscheidet sich aber deutlich von demjenigen des 4- und des 5-Äthyl-4,5-dihydro-canthins ( $\lambda_{max}$  235–36, 253–54, 291, 348–49 und 363–64 nm) [5]. Versuche, VI in Toluol mit Selendioxid – gleich wie bei der Synthese des Tuboflavins (I) das 5-Äthyl-4,5-dihydro-canthin – zu Isotuboflavin (II) zu oxydieren, schlugen fehl; als einziges Produkt isolierte man in sehr geringer Ausbeute nur das unten näher beschriebene Desäthyl-tuboflavin (VIII). Andere Oxydationsmittel erwiesen sich entweder als wirkungslos oder als zu weitgehend. Schliesslich gelang es, das gesuchte Isotuboflavin (II) in der allerdings bescheidenen Ausbeute von 6,3% durch Oxydation von VI mit Selendioxid in Dimethylformamid (DMF) bei 80° zu gewinnen. Wir nehmen an, dass dabei zunächst das 4-Oxo-Derivat von VI entsteht, welches unter Methanolabspaltung in II übergeht. Das synthetische Produkt, gelbe Nadeln vom Smp. 268–270°, erwies sich auf Grund des IR., UV.- und Massenspektrums als identisch mit natürlichem [4] Isotuboflavin.



V: 4,5-Dihydro-IV



Auf die gleiche Weise liess sich Norisotuboflavin (III) erhalten. Umsatz von V mit überschüssiger ätherischer Methylmagnesiumjodid-Lösung, gefolgt von Behandlung mit methanolischem Chlorwasserstoff, gab in 55% Ausbeute den Methyläther IX neben 2-(3-Oxobutyl)- $\beta$ -carbolin (X). IX liess sich mit SeO<sub>2</sub> in DMF nur in sehr schlechter Ausbeute (3,4%) in das bei 298–300° schmelzende Norisotuboflavin (III) umwandeln; die Identifizierung mit dem Naturprodukt [4] erfolgte anhand der Spektren. Nebenprodukt der Oxydation war wiederum VIII (2,7%). Diese Verbindung vom Smp. 270°, ein Isomeres des Canthinons (IV), zeigt ein UV.-Spektrum mit Maxima bei 260, 288, 320 und 390 nm, das den Spektren der drei Tuboflavin-Alkaloide sehr ähnlich ist. Auch im IR.-Spektrum (KBr) sind drei starke Absorptionen bei 1642, 1621 und 1553 cm<sup>-1</sup> sichtbar, wie man sie mit nur geringer Abweichung in den Spektren der Verbindungen I, II und III findet. Ebenso steht das Massenspektrum mit dieser Struktur im Einklang: Es zeigt den Molekularpik bei *m/e* 220, einen Pik für M<sup>+</sup>-CO bei *m/e* 192 (analog den Tuboflavin-Alkaloiden), sowie den allen Alkaloiden dieses Typs gemeinsamen Pik *m/e* 168.

Die Bildung von VIII verläuft vermutlich über 6-Carboxy-desäthyl-tuboflavin, das durch Weiteroxydation von II und III mit SeO<sub>2</sub>/DMF entsteht.

Dem SCHWEIZERISCHEN NATIONALFONDS danken wir für die Unterstützung der Arbeit. Den Herren Prof. W. v. PHILIPSBORN, PD Dr. M. HESSE und H. FROHOFER verdanken wir die NMR.-, Massen- und IR.-Spektren.

**Experimentelles.** – *Allgemeine Bemerkungen.* Die Smp. wurden auf dem KOFLER-Block bestimmt. Die UV.-Spektren wurden in 95proz. Äthanol aufgenommen; die Angaben verstehen sich in nm (log  $\epsilon$ ). IR.-Spektren in cm<sup>-1</sup>. Die NMR.-Spektren wurden bei 60 oder 100 MHz aufgenommen. Chem. Verschiebung in ppm relativ zu internem Tetramethylsilan. *S* = Singulett, *D* = Dublett, *T* = Triplett, *Q* = Quartett, *M* = Multipllett. Die Massenspektren wurden auf einem ATLAS-Gerät Typ CH 4 oder einem CEC-Gerät Typ 21-110 B gemessen. Bezüglich Aufnahmetechnik vgl. [7]. Präparative Dünnschichtchromatogramme an Kieselgel MERCK HF<sub>254</sub> oder MERCK H auf Platten von 25 × 25 cm, beschichtet mit jeweils 25 g Absorptionsmittel. Angaben über Fluoreszenzerscheinungen beziehen sich auf das Verhalten der Substanzen auf analytischen Kieselgel-MERCK-G-Platten bei Bestrahlung mit UV.-Licht. Destillationen im Kugelrohr mit

Angabe der Luftbadtemperatur. Abdampfoperationen im Rotationsverdampfer bei max. 40° Badtemperatur und 12 Torr. Sprühreagens: Kaliumjodoplatinat-Lösung [8].

1. *4,5-Dihydrocanthin-6-on (V)*. 712 mg Canthin-6-on in 30 ml Äthanol wurden mit 600 mg 10-proz. Pd-Kohle bei 20°/725,4 Torr hydriert. Nach 12 Std. kam die Hydrierung nach Aufnahme von 83,2 ml Wasserstoff zum Stillstand. Ber. für 1 Mol-Äqu. 86,4 ml. Nach Aufarbeitung und zweimaliger Umkristallisation aus Äther: 487 mg (67,8%) farblose Nadeln vom Smp. 130°. IR. (CCl<sub>4</sub>): 1712 (Amid), 1631 (Aromatenbande). UV.:  $\lambda_{max}$  227 (4,60), 263 (4,22), 274 (4,14), 283 (4,19), 316 (3,89), 328 (3,95);  $\lambda_{min}$  244 (3,92), 272 (4,14), 279 (4,00), 294 (3,36), 321 (3,83). Massenspektrum: *m/e* 222 (*M*<sup>+</sup>, 97%), 194 (73%), 193 (100%), 168 (27%), 140 (19%), 97 (21%), 96,5 (*M*-29<sup>++</sup>, 24%). C<sub>14</sub>H<sub>10</sub>N<sub>2</sub>O: Mol.-Gew. ber. 222, gef. 222.

2. *6-Äthyl-6-methoxy-4,5-dihydro-canthin (VI) und 2-(3-Oxopentyl)- $\beta$ -carbolin (VII)*. 200 mg 4,5-Dihydrocanthin-6-on in 40 ml Äther wurden bei 25° solange mit Äthylmagnesiumjodid in Äther versetzt, bis die Zugabe weiterer GRIGNARD-Lösung keine Fällung mehr hervorrief. Anschliessend wurde 15 Min. unter Rückfluss erhitzt. Die Mischung wurde bei Zimmertemperatur in 200 ml absoluten 1,5*N* methanolischen Chlorwasserstoff gerührt und anschliessend unter Wasser-ausschluss abgedampft. Der Rückstand wurde schnell mit 150 ml ges. Dinatriumphosphat-Lösung versetzt und erschöpfend mit Methylchlorid extrahiert. Nach dem Aufarbeiten wurde das Rohprodukt auf zwei präparativen Dünnschichtplatten mit Aceton/Hexan (3/7) chromatographiert, wobei man zwei Komponenten mit hellblauer Fluoreszenz erhielt. Die schneller wandernde Bande lieferte nach Extraktion mit Aceton und Destillation bei 190°/0,01 Torr 115,2 mg (48%) chromatographisch einheitliches *6-Äthyl-6-methoxy-4,5-dihydro-canthin (VI)* als farbloses Öl. IR. (CCl<sub>4</sub>): 1621 (Aromatenbande). UV.:  $\lambda_{max}$  237 (4,60), 288 (4,19), 342 (3,72), 355 (3,73);  $\lambda_{min}$  272 (3,68), 302 (2,68), 350 (3,71); Inflexionen: 251 (4,33), 266 (3,71), 310 (2,91). NMR. (CCl<sub>4</sub>): 8,20 (*D*; *J*  $\approx$  5,5 Hz; C(2)-H), 7,59 (*D*; *J*  $\approx$  5,5 Hz; C(1)-H), 7,05–8,08 (*M*; Aromatenprotonen an C(7), C(8), C(9), C(10), 7,05–8,30 (6 H), 3,26 (*S*; OCH<sub>3</sub>), 3,10–3,32 (*M*; H-Atome an C(4), der Bereich 3,10–3,32 entspricht 5 H, 1,88–2,44 (*M*; H-Atome an C(5); -CH<sub>2</sub>-CH<sub>3</sub>; 4 H), 1,01 (*T*; *J*  $\approx$  7,5 Hz; -CH<sub>2</sub>-CH<sub>3</sub>; 3 H). Massenspektrum: *m/e* 266 (*M*<sup>+</sup>, 74%), 251 (60%), 235 (100%), 221 (22%), 206 (14%), 195 (10%), 193 (14%), 182 (21%). C<sub>17</sub>H<sub>18</sub>N<sub>2</sub>O: Mol.-Gew. ber. 266, gef. 266.

Aus der langsamer laufenden Bande wurden mit Aceton 54,5 mg (24%) *2-(3-Oxopentyl)- $\beta$ -carbolin (VII)* extrahiert. Nach Destillation bei 150°/0,01 Torr und dreimaliger Umkristallisation aus Methylchlorid/Äther Smp. 141°. IR. (CHCl<sub>3</sub>): 3380 (NH), 1712 (Carbonylabsorption), 1631 (Aromatenbande). UV.:  $\lambda_{max}$  236 (4,52), 289 (4,17), 304 (3,89), 348 (3,65);  $\lambda_{min}$  274 (3,83), 298 (3,81), 320 (3,36); Inflexionen: 241 (4,51), 249 (4,44), 283 (3,99). NMR. (CDCl<sub>3</sub>): 9,40 (*S*; NH), 8,33 (*D*; *J*  $\approx$  5 Hz; C(4)-H; 1 H), 7,79 (*D*; *J*  $\approx$  5 Hz; C(5)-H), 7,14–8,15 (*M*; C(6)-H, C(7)-H, C(8)-H, C(9)-H), 7,14–8,15 (5 H), 3,38 (*T*; *J*  $\approx$  6 Hz; H-Atome an C(1'); 2 H), 3,07 (*T*; *J*  $\approx$  6 Hz; H-Atome an C(2'); 2 H), 2,43 (*Q*; *J*  $\approx$  7 Hz; -CH<sub>2</sub>-CH<sub>3</sub>; 2 H), 1,00 (*T*; *J*  $\approx$  7 Hz; -CH<sub>2</sub>-CH<sub>3</sub>; 3 H). Massenspektrum: *m/e* 252 (*M*<sup>+</sup>, 26%), 223 (12%), 195 (100%), 181 (5%). C<sub>16</sub>H<sub>16</sub>N<sub>2</sub>O: Mol.-Gew. ber. 252, gef. 252.

3. *Isotuboflavin (II)*. 88 mg 6-Äthyl-6-methoxy-4,5-dihydro-canthin (VI) wurden in 15 ml Dimethylformamid mit 500 mg Selendioxyd 1 Std. bei 80° gerührt. Nach Zugabe weiterer 200 mg Selendioxyd wurde nochmals 1 Std. bei 80° gerührt. Die Lösung wurde filtriert, im Hochvakuum abgedampft und der Rückstand mit 1*N* Salzsäure aufgenommen. Diese Lösung wurde fünfmal mit Chloroform extrahiert (Abtrennung des Se) und mit überschüssigem Natriumhydrogencarbonat versetzt, worauf die Alkaloide mit Chloroform extrahiert wurden. Nach der Aufarbeitung wurde an einer präparativen Dünnschichtplatte mit Methanol/Chloroform (1/20) chromatographiert, wobei die Bande mit grünblauer Fluoreszenz isoliert wurde. Dieses Produkt wurde noch einmal auf einer präparativen Dünnschichtplatte mit Aceton/Chloroform (2/3) chromatographiert. Nach Extraktion mit Aceton/Methanol (1/1) wurde das nun chromatographisch einheitliche Isotuboflavin bei 180°/0,01 Torr sublimiert und zweimal aus Methanol umkristallisiert: 5,2 mg (6,2%) vom Smp. 268–270° (Zers.). IR. (KBr): 1645, 1616, 1563 (Carbonylabsorption). UV.:  $\lambda_{max}$  261 (4,37), 283 (4,36), 322 (3,73), 387 (4,00);  $\lambda_{min}$  239 (3,96), 269 (4,21), 306 (3,63), 344 (3,37); Massenspektrum: *m/e* 248 (*M*<sup>+</sup>, 100%), 219 (15%), 205 (12%), 168 (21%), 140 (5%), 139 (6%), 109,5 (*M*-29<sup>++</sup>, 10%), 81 (18%).

Die Substanz erwies sich auf Grund ihrer spektroskopischen Daten als identisch mit natürlichem Isotuboflavin [4].

4. *6-Methyl-6-methoxy-4,5-dihydro-canthin (IX) und 2-(3-Oxobutyl)- $\beta$ -carbolin (X)*. 232 mg 4,5-Dihydro-canthin-6-on (V) wurden in 50 ml Äther analog, wie für VI und VII beschrieben, mit Methylmagnesiumjodid in Äther versetzt und aufgearbeitet. Anschliessend wurde auf zwei präparativen Dünnschichtplatten mit Aceton/Hexan (2/3) chromatographiert. Man erhielt zwei Banden mit hellblauer Fluoreszenz. Die schneller wandernde Bande lieferte nach Extraktion mit Aceton und Destillation bei 135°/0,01 Torr 144,4 mg (55%) reines *6-Methyl-6-methoxy-4,5-dihydro-canthin (IX)* als farbloses Öl. IR. (CCl<sub>4</sub>): 1626 (Aromatenbande). UV.:  $\lambda_{max}$  237 (4,66), 288 (4,25), 310 (3,07), 342 (3,78), 356 (3,78);  $\lambda_{min}$  272 (3,70), 302 (2,42), 312 (3,02), 350 (3,75); Inflexionen: 252 (4,38), 266 (3,75). NMR. (CCl<sub>4</sub>): 8,20 (D;  $J \approx 5,5$  Hz; C(2)-H), 7,62 (D;  $J \approx 5,5$  Hz; C(1)-H), 7,06–8,08 (M; C(7)-H, C(8)-H, C(9)-H, C(10)-H), 7,06–8,30 (6 H), 3,22 (S; OCH<sub>3</sub>), 3,09–3,36 (M; H-Atome an C(4)), 2,03–2,29 (M; H-Atome an C(5)), 2,03–3,22 (7 H), 1,73 (CH<sub>3</sub>; 3 H). Massenspektrum:  $m/e$  252 (M<sup>+</sup>, 59%), 237 (58%), 222 (31%), 221 (100%), 204 (14%), 197 (18%), 180 (19%). C<sub>16</sub>H<sub>16</sub>N<sub>2</sub>O: Mol.-Gew. ber. 252, gef. 252.

Die zweite Bande lieferte nach Extraktion mit Aceton und Destillation bei 135°/0,01 Torr 66,8 mg (27%) *2-(3-Oxobutyl)- $\beta$ -carbolin (X)* als farblose Kristalle; nach zweimaliger Umkristallisation aus Methylenchlorid/Äther Smp. 152–153°. IR. (CHCl<sub>3</sub>): 3390 (NH), 1715 (Carbonylabsorption), 1629 (Aromatenbande). UV.:  $\lambda_{max}$  236 (4,48), 290 (4,15), 346 (3,69);  $\lambda_{min}$  270 (3,71), 302 (3,02); Inflexionen: 249 (4,33), 283 (3,99). In 0,05N äthanol. Chlorwasserstoff:  $\lambda_{max}$  250 (4,50), 304 (4,24), 374 (3,67);  $\lambda_{min}$  224 (4,14), 278 (3,72), 324 (3,00). NMR. (CDCl<sub>3</sub>): 9,20 (S; NH; 1 H), 8,33 (D;  $J \approx 5$  Hz; C(4)-H; 1 H), 7,80 (D;  $J \approx 5$  Hz; C(5)-H), 7,14–8,19 (M; C(6)-H, C(7)-H, C(8)-H, C(9)-H), 3,35 (T;  $J \approx 5,5$  Hz; H-Atome an C(1')); 2 H), 3,11 (T;  $J \approx 5,5$  Hz; H-Atome an C(2')); 2 H), 2,17 (–CH<sub>3</sub>; 3 H). Massenspektrum:  $m/e$  238 (M<sup>+</sup>, 34%), 223 (11%), 195 (100%), 193 (7%), 181 (6%), 168 (7%), 140 (7%), 115 (5%). C<sub>15</sub>H<sub>14</sub>N<sub>2</sub>O: Mol.-Gew. ber. 238, gef. 238.

5. *Desäthyl-tuboflavin (VIII) und Norisotuboflavin (III)*. 126 mg 6-Methyl-6-methoxy-4,5-dihydro-canthin (IX) wurden in 20 ml Dimethylformamid mit 500 mg Selendioxid 1 Std. bei 80° gerührt. Nach Zugabe von weiteren 200 mg Selendioxid wurde nochmals 30 Min. bei 80° gerührt. Nach Aufarbeitung wie für II beschrieben wurde an einer präparativen Dünnschichtplatte mit Methanol/Chloroform (1/20) chromatographiert und die Bande mit grünblauer Fluoreszenz isoliert. Nach der Extraktion mit Methanol wurde erneut auf einer präparativen Dünnschichtplatte mit Aceton/Chloroform (2/3) chromatographiert. Man erhielt zwei Banden mit leicht verschiedener grünblauer Fluoreszenz. Nach Extraktion mit Aceton/Methanol (1/1) lieferte die schneller wandernde Bande 3 mg (2,7%) *Desäthyl-tuboflavin (VIII)*; nach Destillation bei 180°/0,01 Torr und zweimaliger Druckumkristallisation aus Äther Smp. 270°. IR. (KBr): 1642, 1621, 1553 (Carbonylabsorption). UV.:  $\lambda_{max}$  260 (4,35), 288 (4,30), 320 (3,72), 390 (4,03);  $\lambda_{min}$  236 (3,94), 270 (4,10), 306 (3,64), 344 (3,31). Massenspektrum:  $m/e$  220 (M<sup>+</sup>, 100%), 192 (22%), 168 (11%), 165 (8%), 164 (7%), 139 (8%), 96 (14%). C<sub>14</sub>H<sub>8</sub>N<sub>2</sub>O: Mol.-Gew. ber. 220, gef. 220.

Aus der langsamer laufenden Bande wurden nach Extraktion mit Aceton/Methanol (1/1) 4 mg (3,4%) *Norisotuboflavin (III)* erhalten. Nach Destillation bei 180°/0,01 Torr und zweimaliger Druckumkristallisation aus Äther, Smp. 298–300°. IR. (KBr): 1634, 1610, 1558 (Carbonylabsorption). UV.:  $\lambda_{max}$  260 (4,41), 282 (4,37), 320 (3,75), 386 (4,01);  $\lambda_{min}$  239 (3,96), 269 (4,22), 305 (3,65), 344 (3,34). Massenspektrum:  $m/e$  234 (M<sup>+</sup>, 100%), 206 (8%), 205 (14%), 168 (33%), 139 (7%), 103 (12%), 67 (18%).

Die Substanz erwies sich auf Grund ihrer spektroskopischen Eigenschaften als identisch mit natürlichem Norisotuboflavin [4].

#### LITERATURVERZEICHNIS

- [1] 126. Mitteilung über Alkaloide. Vgl. Dissertation H. J. ROSENKRANZ, Universität Zürich 1967.
- [2] G. BÜCHI, R. E. MANNING & F. A. HOCHSTEIN, J. Amer. chem. Soc. **84**, 3393 (1962).
- [3] CH. KUMP, J. SEIBL & H. SCHMID, Helv. **46**, 498 (1963).
- [4] H. ACHENBACH & K. BIEMANN, J. Amer. chem. Soc. **87**, 4177 (1965).
- [5] H. J. ROSENKRANZ, G. BOYOS & H. SCHMID, Liebigs Ann. Chem. **691**, 159 (1966).
- [6] H. F. HAYNES, E. R. NELSON & J. R. PRICE, Austral. J. Chemistry **5**, 387 (1952).
- [7] M. HESSE, W. VETTER & H. SCHMID, Helv. **48**, 674 (1965).
- [8] E. SCHLITTLER & J. HOHL, Helv. **35**, 29 (1952).