

- [5] B. H. Braun, M. Jacobson, M. Schwarz, P. E. Sonnet, N. Wakabayashi & R. M. Waters, *J. econom. Entomol.* **61**, 866 (1968).
- [6] K. Mori, B. Stella-Bourdillon, M. Ohki, M. Matsui & W. S. Bowers, *Tetrahedron* **25**, 1667 (1969).
- [7] J. A. Findlay & W. D. Mackay, *Chem. Commun.* **1969**, 753.
- [8] H. Schulz & J. Sprung, *Angew. Chem.* **81**, 258 (1969).
- [9] E. E. van Tamelen, M. A. Schwatz, E. A. Hessler & A. Stone, *Chem. Commun.* **1966**, 409.
- [10] A. Pfiffner in 'Aspects of Terpenoid Chemistry and Biochemistry' Academic Press Inc. (London) Ltd. 1971.
- [11] K. H. Dahm, B. M. Trost & H. Röller, *J. Amer. chem. Soc.* **89**, 5292 (1967).
- [12] W. von E. Doering & W. R. Roth, *Angew. Chem.* **75**, 27 (1963).
- [13] A. F. Thomas, *J. Amer. chem. Soc.* **91**, 328 (1969).
- [14] R. P. Lutz, S. Bernal, R. J. Boggio, R. O. Harris & M. W. McNicholas, *J. Amer. chem. Soc.* **93**, 3985 (1971).

### 53. Dopaldehyd: erstmalige Isolierung aus einer Pflanze in Form seines (Z)-Enol-(E)-Kaffeensäureesters

von Shigenobu Arihara, Peter Rüedi und Conrad Hans Eugster

Organisch-chemisches Institut der Universität Zürich, Rämistrasse 76, 8001 Zürich

(24. I. 75)

**Summary.** Dopaldehyd (homoprotocatechu aldehyd; 3,4-dihydroxyphenyl acetaldehyd), in form of its (Z)-enol-(E)-caffeic ester, has been detected for the first time as a natural occurring compound. It is a constituent of the yellow pigments of the glands on the leaves of *Plectranthus caninus* ROTH (Labiatae).

1910 hat E. Winterstein sein geniales Biogenese-Schema für Benzylisochinolin-Alkaloide aufgestellt, welches die Umwandlung von aromatischen  $\alpha$ -Aminosäuren in  $\beta$ -Aryläthylamine einerseits und  $\beta$ -Arylacetaldehyde andererseits und ihre Kondensation zu Tetrahydrobenzylisochinolin-Alkaloiden vorsieht [1]. Insbesondere wurde das Opium-Alkaloid Laudanosin aus DOPA (3,4-Dihydroxyphenylalanin), Dopamin und 3,4-Dihydroxyphenylacetaldehyd (= Homoprotocatechualdehyd<sup>1)</sup>) hergeleitet. Winterstein's Biogenese-Schema hat in der Folge allgemeine Zustimmung gefunden und steht heute auf experimentell gesicherter Grundlage<sup>2)</sup>.

Auch ist die zentrale Rolle, welche insbesondere den Laudanosin-Vorstufen *Norlaudanosolin*, *Norprotosinomenin* und *Reticulin* in der Biogenese von Morphin-, Sinomenin-, Protoaporphin-, Aporphin-, Papaverin-, Tetrahydroberberin-, Corydalis-, Berberin-, Chelidonin-, Sanguinarin-, Protopin-, Narcotin-, Erythrina- und anderen Alkaloidgruppen zukommt, durch zahlreiche Biogeneseexperimente evident geworden<sup>3)</sup>.

<sup>1)</sup> Wir schlagen vor, diese Substanz wegen des Zusammenhanges mit DOPA und Dopamin in Zukunft als *Dopaldehyd* zu benennen.

<sup>2)</sup> Ob die *Mannich*-Kondensation mit Dopaldehyd oder 3,4-Dihydroxyphenyl-brenztraubensäure eintritt, steht noch nicht fest.

<sup>3)</sup> Man vergleiche die einschlägige Alkaloid-Übersichtsliteratur, z. B. [2–5].

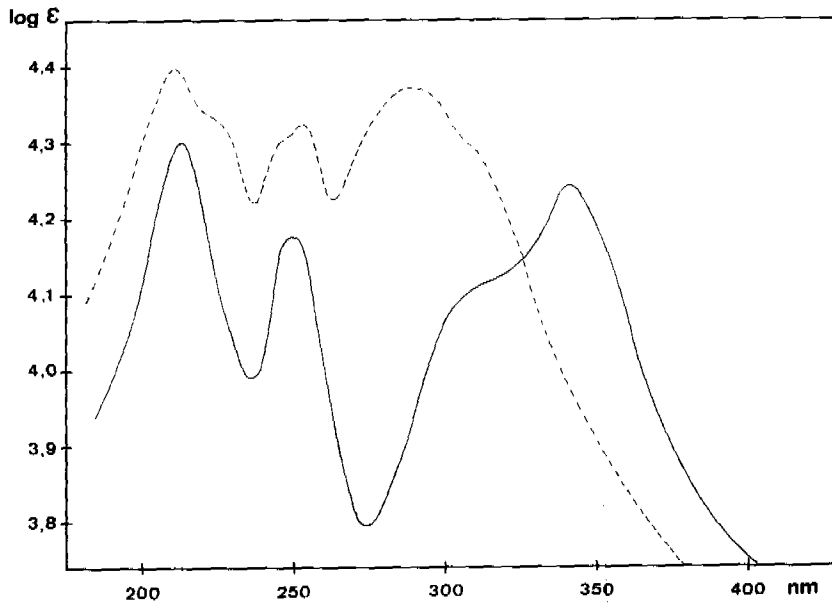


Fig. 1. UV-VIS-Spektren von **1a** (—) und **1b** (-----) in 95proz. Äthanol

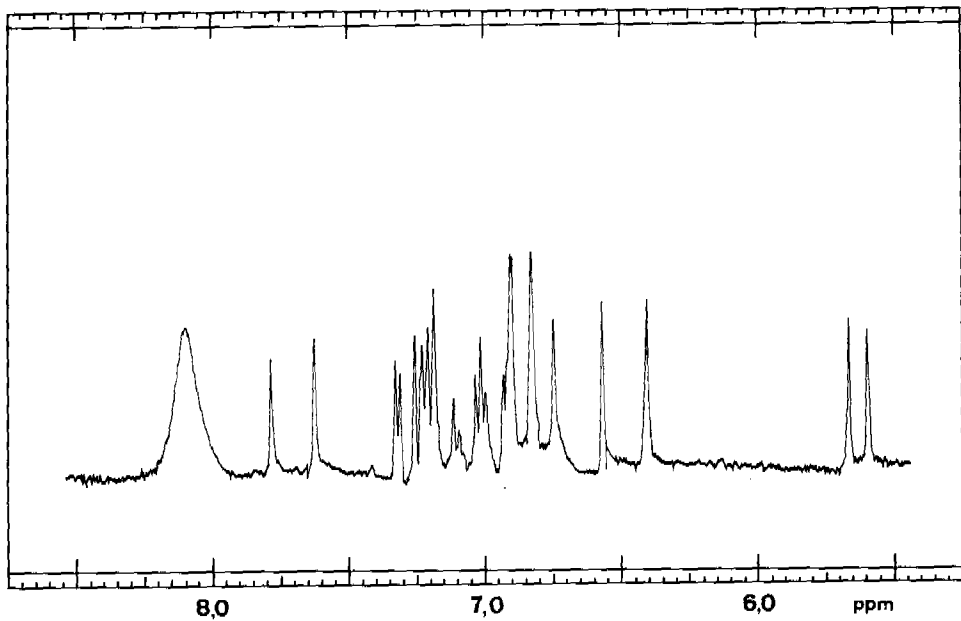


Fig. 2. 100 MHz <sup>1</sup>H-NMR-Spektrum von **1a** in *d*<sub>8</sub>-Aceton

Auch wenn die hohe Reaktionsbereitschaft von Dopaldehyd berücksichtigt wird, erstaunt doch einigermassen, dass es bisher noch nie gelungen ist, diesen als Naturprodukt nachzuweisen.

Wir haben nun Dopaldehyd unerwarteterweise unter den gelben Drüsenfarbstoffen von *Plectranthus caninus* ROTH (*Labiatae*)<sup>4)</sup> in Form seines (*Z*)-Enol-(*E*)-Kaffeensäureesters (**1a**) wie folgt isoliert und identifiziert: 1 kg frische Zweige<sup>5)</sup> wurden bei Raumtemperatur mit Äther 1 Std. stehen gelassen<sup>6)</sup>; der Extrakt wurde dann zwischen Benzol/Hexan 1:1 und 40proz. Äthanol verteilt und die gelbe alkoholische Lösung sofort an Amberlit XAD-2 (100–200 $\mu$ ) adsorbiert. Die gelben Farbstoffe liessen sich mit 42,5proz. Äthanol langsam eluieren. Eine vollständige Trennung von Coleon S<sup>7)</sup> wurde damit nicht erreicht und war auch nicht notwendig. Immerhin gelang es, den sehr empfindlichen Farbstoff soweit zu reinigen, dass seine Struktur aus den Spektren abgeleitet werden konnte (siehe Fig. 1 und 2).

Nach milder Acetylierung (Pyridin/Acetanhydrid, 0°) wurde das Gemisch der erhaltenen O-Acetate an einer Kieselgelsäule chromatographisch mit Benzol und steigenden Mengen Diisopropyläther aufgetrennt. Die gesuchte Substanz war in Lösung blassgelb, auf DC.-Platten farblos und die Fluoreszenz im UV<sub>254</sub> stark löschend. Aus Aceton/Diisopropyläther wurde sie in farblosen Kristallen, Smp. 126,2–127,1° (Zers.) erhalten; Ausbeute 80 mg; Summenformel C<sub>25</sub>H<sub>22</sub>O<sub>10</sub> (aus MS. und <sup>13</sup>C-NMR.-Spektren, s. exper. Teil). Hydrolyse einer nicht acetylierten Probe mit 5proz. Salzsäure und anschliessende Umsetzung mit 2,4-Dinitrophenylhydrazin liess einerseits Dopaldehyd-2,4-dinitrophenylhydrazon, isoliert durch Säulenchromatographie, identisch mit einer nach [7] hergestellten Probe und andererseits (*E*)-Kaffeensäure, isoliert durch Extraktion und Säulenchromatographie und umkristallisiert aus Aceton/Äther, entstehen.

Das Hauptfragmentierungsverhalten von **1b** (s. Schema) wird durch die Esterspaltung mit nachfolgenden Mehrfach-Ketenabspaltungen beherrscht. Für das Ion *m/e* 278 kommen Formeln **3** oder **4** in Frage. Letztere würde einer mitgeschleppten Verunreinigung von Kaffeensäuremethylester entsprechen, die wir jedoch im NMR.-Spektrum von **1b** nicht haben nachweisen können. Das Ion muss daher der Verbindung **3** entsprechen, welche ihre Entstehung einer thermischen Umesterung verdanken dürfte.

Das <sup>1</sup>H-NMR.-Spektrum (d<sub>6</sub>-Aceton) von **1b** (siehe Fig. 3) zeigt eine 1,2-disubstituierte (*Z*)- (5,85, 1H, *d*, *J* = 7 Hz; 7,44, 1H, *d*, *J* = 7 Hz) und eine 1,2-disubstituierte (*E*)-Doppelbindung (6,73, 1H, *d*, *J* = 16 Hz; 7,83, 1H, *d*, *J* = 16 Hz) an. Die Zuteilung im Sinn von Formel **1b** ((*Z*)-Enol-(*E*)-Kaffeensäureester) und nicht von **2** ((*E*)-Enol-(*Z*)-Kaffeensäureester) erfolgte aufgrund folgender Argumente:

a) Die chemischen Verschiebungen der Vinylprotonen können durch Vergleich mit Kaffeensäuremethylester zugeordnet werden: die Signale bei 6,73 und 7,83 ppm (*J* = 16 Hz) gehören zum (*E*)-Kaffeensäure-esterteil. Zudem lassen sich die gefundenen

<sup>4)</sup> Isolierung von *spiro*-Cyclopropyl-cyclohexendion-Diterpenen aus derselben Pflanze, siehe [6].

<sup>5)</sup> Getrocknetes Pflanzenmaterial enthält nur noch wenig Dopaldehyd-kaffeat; der Gehalt nimmt beim Lagern rasch ab.

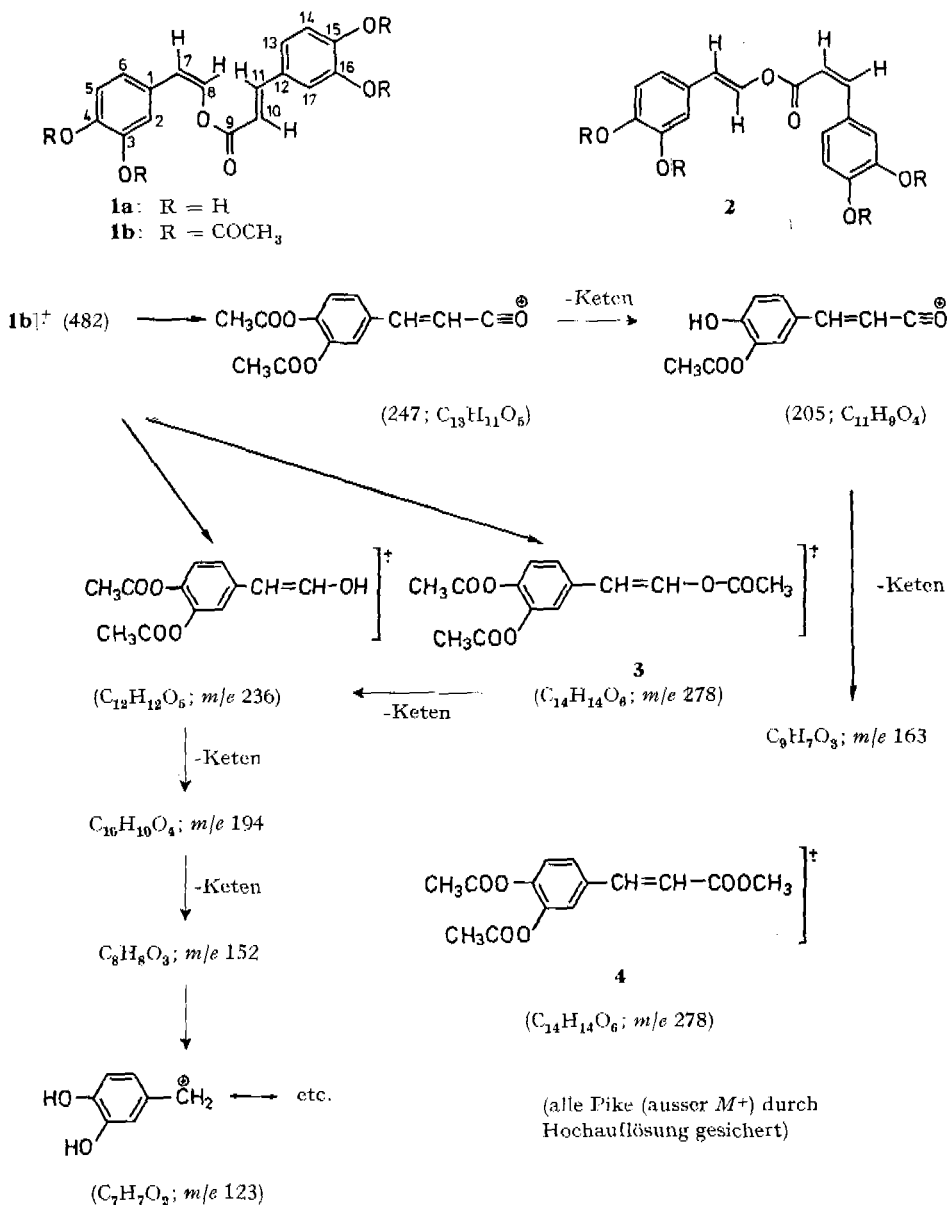
<sup>6)</sup> Extraktion und alle Aufarbeitungsschritte wurden unter Ausschluss von direkter Lichtwirkung ausgeführt.

<sup>7)</sup> Weiterer oranger Drüsenfarbstoff, über den wir später berichten werden.

chemischen Verschiebungen der Enolätherprotonen besser mit den nach [8] für die (*Z*)-Konfiguration berechneten Werten in Übereinstimmung bringen.

b) Die Grösse von *J* von vicinalen Protonen in (*Z*)- und (*E*)-konfigurierten Äthylenderivaten ist von der Elektronegativität der Substituenten abhängig. Im Fall der Zimtsäure ist nach [9] ein *J* = 15,5 Hz für die (*E*)- und von 11,4 Hz für die (*Z*)-Form

Schema



zu erwarten; im Fall des Enoläthers jedoch  $J = 12,5$  für die (*E*)- und 7,0 Hz für die (*Z*)-Form.

Die (*Z*)-Enoldoppelbindung in **1a** (und **1b**) ist überraschend. Eine Isomerisierung während der Aufarbeitung und Acetylierung glauben wir wegen der Milde des Isolierungsverfahrens ausschliessen zu können. Auch ist bei anderen Zimtsäurederivaten (Holzbestandteile aus Leguminosen) das Auftreten von (*Z*)- und (*E*)-Verbindungen festgestellt worden [10].

Unsere Untersuchungen an Terpendrüsen von Labiaten haben im Verlauf der letzten Jahre eine Reihe von labilen und reaktionsfreudigen Verbindungen zutage ge-

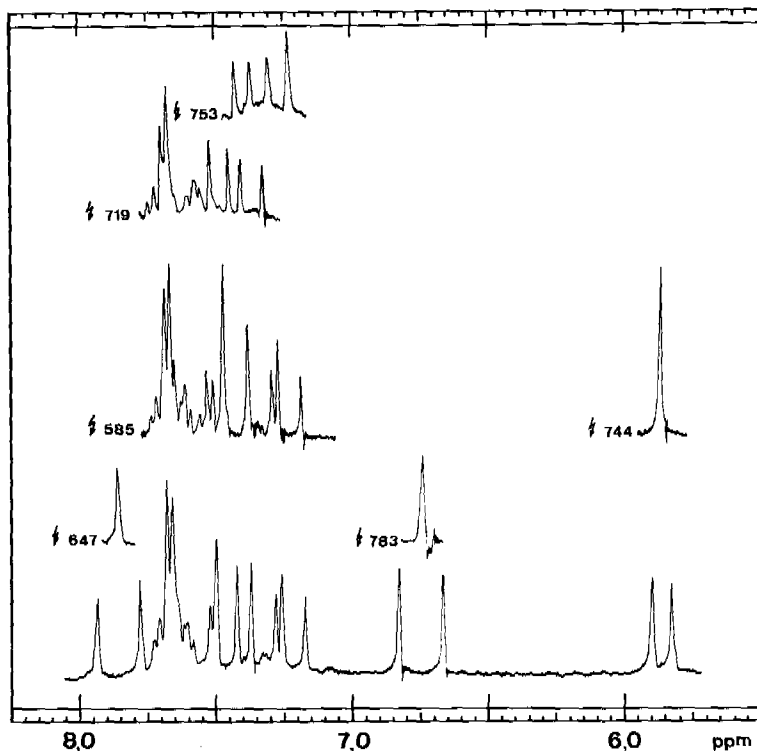


Fig. 3. 100 MHz <sup>1</sup>H-NMR.-Spektrum der Aromatenregion von **1b** mit Entkopplungen (Angaben in Hz) in *d*<sub>6</sub>-Aceton

bracht (z.B. Fucriston, Coleone D,E,F, *spiro*-Cyclopropylcyclohexendion-Verbindungen). Offensichtlich erlaubt das von Nucleophilen und Elektrophilen freie Zellmedium die Anreicherung und Speicherung von labilen Metaboliten in so hoher Konzentration, dass ihr Nachweis und ihre Isolierung mit den üblichen phytochemischen Methoden möglich wird.

Wir danken dem Schweizerischen Nationalfonds für die Förderung der wissenschaftlichen Forschung (Gesuch Nr. 2.434.71) für die Unterstützung dieser Arbeit; Herrn Prof. Dr. M. Hesse und Mitarbeitern für Aufnahme und Diskussion von Massenspektren, insbesondere für die Hochauflösung an **1b**; Herrn dipl. chem. R. Hollenstein für <sup>13</sup>C-NMR.-Spektren.

### Experimenteller Teil

1. – Betreffs verwendeter Instrumente und Arbeitstechniken siehe die Angaben in früheren Publikationen. Die Smp. wurden auf einem *Mettler* FP 5/52 gemessen. UV./VIS.-Spektren wurden in 95proz. Äthanol aufgenommen; Angabe:  $\lambda_{\max}$  in nm ( $\log \epsilon_{\max}$ ). NMR.-Spektren sind wie folgt beschrieben: (Lösungsmittel),  $\delta$  in ppm gegen TMS = 0 (Multiplizität, Kopplungskonstante in Hz, Zuordnung).

2. – 1 kg frische Zweige von *P. caninus* (Ernte 1974, in der Nähe von Zürich aufgezogen) wurden grob zerschnitten, mit 2,8 l reinstem Äther bedeckt und im Dunkeln während 1 Std. stehen gelassen. Nach Abgiessen der grünen Lösung wurde sie im Teilvakuum eingedampft und der Rückstand in Benzol/Hexan 1:1 aufgenommen und die Lösung sofort mit 40proz. wässrigem Äthanol in 3–4 Portionen ausgeschüttelt. Es wurden 150 ml einer gelb-orangen Lösung erhalten, die ohne Verzug auf eine 4 × 9 cm-Säule vom Amberlit XAD-2 (100–200 $\mu$ ; gründlich vorgewaschen a) mit reinem Aceton, b) mit reinem Äthanol, c) mit 40proz. wässrigem Äthanol) aufgebracht wurden. Die Farbstoffe haften als hellorange gefärbte Zone oben in der Säule. Auswaschen mit 200 ml 40proz. Äthanol, denn eluieren mit 42,5proz. Äthanol, Fraktionen à 150 ml, Kontrolle der Trennung auf Kieselgel-DC-Folien *Merck* mit Diisopropyläther/Aceton 10:1. Die Fraktion mit Dopaldehydkaffeat (Rf ca. 0,12) und wenig Coleon S<sup>7)</sup> (Rf ca. 0,06) wurden zusammengenommen, im Vakuum eingedampft und ergaben 100 mg Dopaldehyd-(Z)-enol-(E)-kaffeat (**1a**) als schr labiles gelbes Öl. – MS.:  $M^+$  314 (C<sub>17</sub>H<sub>14</sub>O<sub>6</sub>). – UV./VIS.: 213 (4,32), 250 (4,20), ~305<sup>8)</sup> (4,11), 340 (4,28). – <sup>1</sup>H-NMR. (d<sub>6</sub>-Aceton): 5,63 (*d*, 7, H(7)); 6,48 (*d*, 16, H(10)); 6,78 (*d*, 8, H(5)); 6,87 (*d*, 8, H(14)); 6,96 (*d* × *d*, 2 und 8, H(6)); 7,06 (*d* × *d*, 2 und 8, H(13)); 7,22 (*d*, 2 und *d*, 7, H(2) und H(8)); 7,32 (*d*, 2, H(17)); 7,70 (*d*, 16, H(11)); 8,12 (br. s, 4 × OH).

Nach Acetylierung von **1a** mit Acetanhydrid/Pyridin während 1 Std. bei 0°<sup>9)</sup> und üblicher Aufarbeitung wurde an 10 g SiO<sub>2</sub> (*Merck*, Korngrösse 0,063–0,125 mm; 120–230 mesh ASTM) mit Benzol aufgezogen und dann mit steigenden Mengen an Diisopropyläther eluiert. Die Zonen waren hellgelb und gut zu erkennen. Die mit Benzol/Diisopropyläther 10:1 erhaltenen Fraktionen wurden zusammengenommen, i. V. eingedampft und der Rückstand (80 mg) aus Aceton/Diisopropyläther kristallisiert. Farblose Nadeln, Smp. 126,2–127,1° (Zers.). – MS.:  $M^+$  482 (C<sub>25</sub>H<sub>22</sub>O<sub>10</sub>); Fragmentierungsverhalten:

<i>m/e</i>	Gef.	Ber.	Bruttoformel
123	123,0447	123,0446	C <sub>7</sub> H <sub>7</sub> O <sub>2</sub>
152	152,0476	152,0473	C <sub>8</sub> H <sub>8</sub> O <sub>3</sub>
163	163,0397	163,0395	C <sub>8</sub> H <sub>7</sub> O <sub>3</sub>
194	194,0578	194,0579	C <sub>10</sub> H <sub>10</sub> O <sub>4</sub>
205	205,0500	205,0501	C <sub>11</sub> H <sub>9</sub> O <sub>4</sub>
236	236,0683	236,0685	C <sub>12</sub> H <sub>12</sub> O <sub>5</sub>
247	247,0604	247,0606	C <sub>13</sub> H <sub>11</sub> O <sub>5</sub>
278	278,0789	278,0790	C <sub>14</sub> H <sub>14</sub> O <sub>6</sub>

UV./VIS.: 211 (4,40), ~225 (4,33), ~247 (4,30), 253 (4,32), 288 (4,37). – IR. (KBr): 1773, ~1765, 1724, 1668, 1638, 1615, 1505, 1210, 1120, 1050, 950, 915, 888, 839, 728 cm<sup>-1</sup>. – <sup>1</sup>H-NMR. (d<sub>6</sub>-Aceton): 2,26 und 2,28 (je s, 4 × OAc); 5,85 (*d*, 7, H(7)); 6,73 (*d*, 16, H(10)); 7,19 (*d*, 8, 5, H(14)); 7,31 (*d*, 9, H(5)); 7,44 (*d*, 7, H(8)); 7,53 (*d* × *d*, 2, 5 und 8, H(13)); 7,65 (*d*, 2, 5, H(17)), überlagert von *d* × *d*, 2 und 9, H(6) und *d*, 2, H(2)); 7,83 (*d*, 16, H(11)). – <sup>1</sup>H-NMR. (CDCl<sub>3</sub>): 2,26 und 2,28 (je s, 4 × OAc); 5,70 (*d*, 7, H(7)); 6,47 (*d*, 16, H(10)); 7,74 (*d*, 16, H(11)); 7,10–7,55 (je ABC-Multiplett der Aromaten-H, sowie H(8)).

Breitband-entkoppeltes <sup>13</sup>C-NMR. (CDCl<sub>3</sub>)<sup>10)</sup>: 20,6 (4 × Acetat-CH<sub>3</sub>); 110,89 (C(7)); 117,75 (C(10)); 123,36 und 124,19 (C(5, 6, 13 und 14)); 126,93 und 127,42 (C(2 und 17)); 133,10 (C(1 und

<sup>8)</sup> ~ bedeutet Schulter.

<sup>9)</sup> Dopaldehyd-kaffeat ist gegenüber Säuren und Basen instabil und zersetzt sich beim Chromatographieren an SiO<sub>2</sub>.

<sup>10)</sup> Zuordnungen mit off-Resonance bei 4,00 ppm.

12)); 134,90 (C(11)); 141,17, 142,16, 142,79 und 144,26 (C(3, 4, 15 und 16)); 145,52 (C(8)); 163,08 (C(9)); 168,05, 168,15 und 168,40 (doppelte Intensität) ( $4 \times$  Acetat-CO).

3. 100 mg frisch isolierte Fraktion von Dopaldehyd-kaffecat wurden in 1 ml Äthanol gelöst und mit 2 ml 5proz. Salzsäure versetzt und während 4 Std. auf  $80^\circ$  erwärmt. Darauf Zugabe von 2,4-Dinitrophenylhydrazin(DNP)-Lösung in Salzsäure, darauf verdünnen mit Wasser, abfiltrieren, aufnehmen des Rückstandes mit Chloroform und chromatographieren an 30 g  $\text{SiO}_2$ . Das gesuchte Produkt befand sich in der oberen Zone (die untere bestand aus Reagens). Nach Elution und Umkristallisation aus Äthanol, Nadeln, Smp. 173,8-174,4° (Zers.) identisch in Smp., Mischsmp., DC., IR. und MS. mit einem authentischen Präparat.

Das Filtrat des DNP-Niederschlags wurde mit Essigester extrahiert, die Extrakte mit wenig Wasser gewaschen, getrocknet und aus Chloroformlösung an 10 g  $\text{SiO}_2$  chromatographiert. Es wurden zuerst 20 Fraktionen à 8 ml aufgefangen (verworfen), darauf mit Chloroform/Äther 5:1 weiterchromatographiert und 240 ml aufgefangen. Diese Eluate enthielten 10 mg Kaffeesäure, die aus Aceton/Äther kristallisiert wurde; Smp. 185-186° (Zers.); Handelsprod. unter gleichen Bedingungen Smp. 195-196° (Zers.), Misch-Smp. 190-191° (Zers.). (IR. deckungsgleich, sowie identisches DC.-Verhalten bei beiden Proben).

#### LITERATURVERZEICHNIS

- [1] E. Winterstein & G. Trier, Die Alkaloide, S. 307, Borntraeger Berlin 1910.
- [2] I. D. Spenser in Chemistry of the Alkaloids, S. W. Pelletier Ed., S. 669ff, Van Nostrand Reinhold Co. N. Y. 1970.
- [3] H. Metzner, Biochemie der Pflanzen, S. 243ff, Ferdinand Enke Stuttgart 1973.
- [4] E. Leete in Biogenesis of natural Compounds, P. Bernfeld Ed., 2. Edition, Pergamon Press Oxford 1967.
- [5] K. Mothes & H. R. Schütte (Ed.), Biosynthese der Alkaloide, VEB Deutscher Verlag der Wissenschaften Berlin 1969.
- [6] S. Arihara, P. Rüedi & C. H. Eugster, Helv. 58, 343 (1975).
- [7] J. H. Fellman, Nature 182, 311 (1958).
- [8] C. Pascual, J. Meier & W. Simon, Helv. 49, 164 (1966); T. A. Wittstruck & E. N. Trachtenberg, J. Amer. chem. Soc. 89, 3803 (1967).
- [9] L. M. Jackman & S. Sternhell, Applications of Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy in Organic Chemistry, 2. Ed., S. 278,302, Pergamon Press Oxford 1969.
- [10] M. Gregson, K. Kurosawa, W. D. Ollis, H. T. Redman, R. J. Roberts, I. O. Sutherland & A. Braga de Oliveira, W. V. Eytton, O. R. Gottlieb & H. H. Dietrichs, Chem. Commun. 1968, 1390.

## 54. Biosynthese der Verrucarine und Roridine. Teil 2

### Der Einbau von Acetat in die *cis,trans*-Muconsäure und von Mevalonat in die Roridinsäure<sup>1)</sup>

Verrucarine und Roridine, 28. Mitteilung [2]

von Beat Müller, Roland Achini und Christoph Tamm

Institut für Organische Chemie der Universität, 4056 Basel

(17. XII. 74)

*Summary.* Incorporation experiments using sodium [1- $^{14}\text{C}$ ]-acetate and sodium [2- $^{14}\text{C}$ ]- and [2- $^{14}\text{C}$ ,2- $^3\text{H}$ ]-mevalonate and degradations of the verrucaric acid (1) and roridin A (2) so produced demonstrate that *cis,trans*-muconic acid (3) is formed from 3 acetate units. The *cis,trans*-muconic acid and the  $\text{C}_2$ -side-chain structural elements of roridinic acid (6) are built up from 4 acetate

<sup>1)</sup> Ein Teil der Resultate wurde am XXIIIrd International Congress of Pure and Applied Chemistry, Boston, Mass. USA, 26-30th July 1971 [1] vorgetragen.