

127. Über die Synthese des Muscaflavins¹⁾

Vorläufige Mitteilung

von **Hubert Barth, Makoto Kobayashi und Hans Musso**

Institut für Organische Chemie der Universität Karlsruhe, Richard-Willstätter-Allee 2,
D-7500 Karlsruhe

Prof. *A. S. Dreiding* zu seinem 60. Geburtstag gewidmet

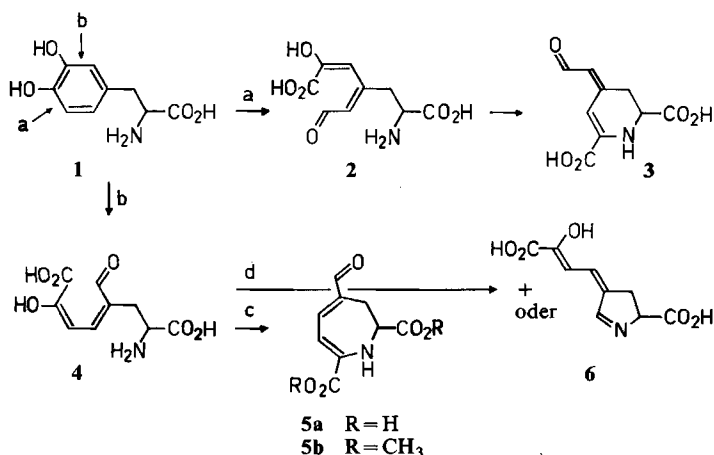
(8.1.79)

Synthesis of muscaflavin

Summary

A biomimetic type synthesis of the yellow dihydroazepine amino acid **5** isolated from fly agaric is achieved starting with carboxypyridyl alanine derivatives.

Die rote Huthaut des Fliegenpilzes (*Amanita muscaria*) enthält orangefarbene und rotviolette Farbstoffe vom Betalaintyp [2] sowie eine gelbe, empfindliche Aminosäure Muscaflavin, die auch in Hygrocyben vorkommt [1]. Die aus den Spektren des stabileren Dimethylesters **5b** abgeleitete Konstitution **5a** lässt auf eine zu derjenigen der isomeren Betalaminsäure **3** (**1**→**2**→**3**) [3] [4] analoge Biosynthese (**1**→**4**→**5**) schliessen. Dazu müsste der Brenzcatechinring im Dopa (**1**) auf



¹⁾ V. Mitt. über Fliegenpilzfarbstoffe. III. und IV. Mitt., s. [1].

dem Weg **b** geöffnet werden und die Zwischenstufe **4** sich nach **c** zum Siebenring **5a** cyclisieren, woneben auch die Bildung des Fünfringes **6** nach **d** möglich erscheint. Die Verbindungen **2** und **4** sind Derivate des Glutacondialdehyds und sollten sich aus Pyridiniumsalzen durch Öffnung des Ringes mit Nucleophilen gewinnen lassen. In dieser Mitteilung wird gezeigt, dass geeignete Derivate von **4** sich tatsächlich zu einem Gemisch aus **5** und **6** cyclisieren, in dem **6** stark überwiegt und dass **6**-Derivate sich säurekatalytisch über **4**-Derivate teilweise in **5** umwandeln lassen.

Die Kondensation von 5-Brommethyl-pyridin-2-carbonsäureäthylester mit Natrium-Acetaminomalonester liefert 43% des erwarteten **7** und bis zu 20% des bereits decarboxylierten **8a**. Saure Hydrolyse ergibt das freie 5-(2-Carboxypyridyl)-alanin **8b**.

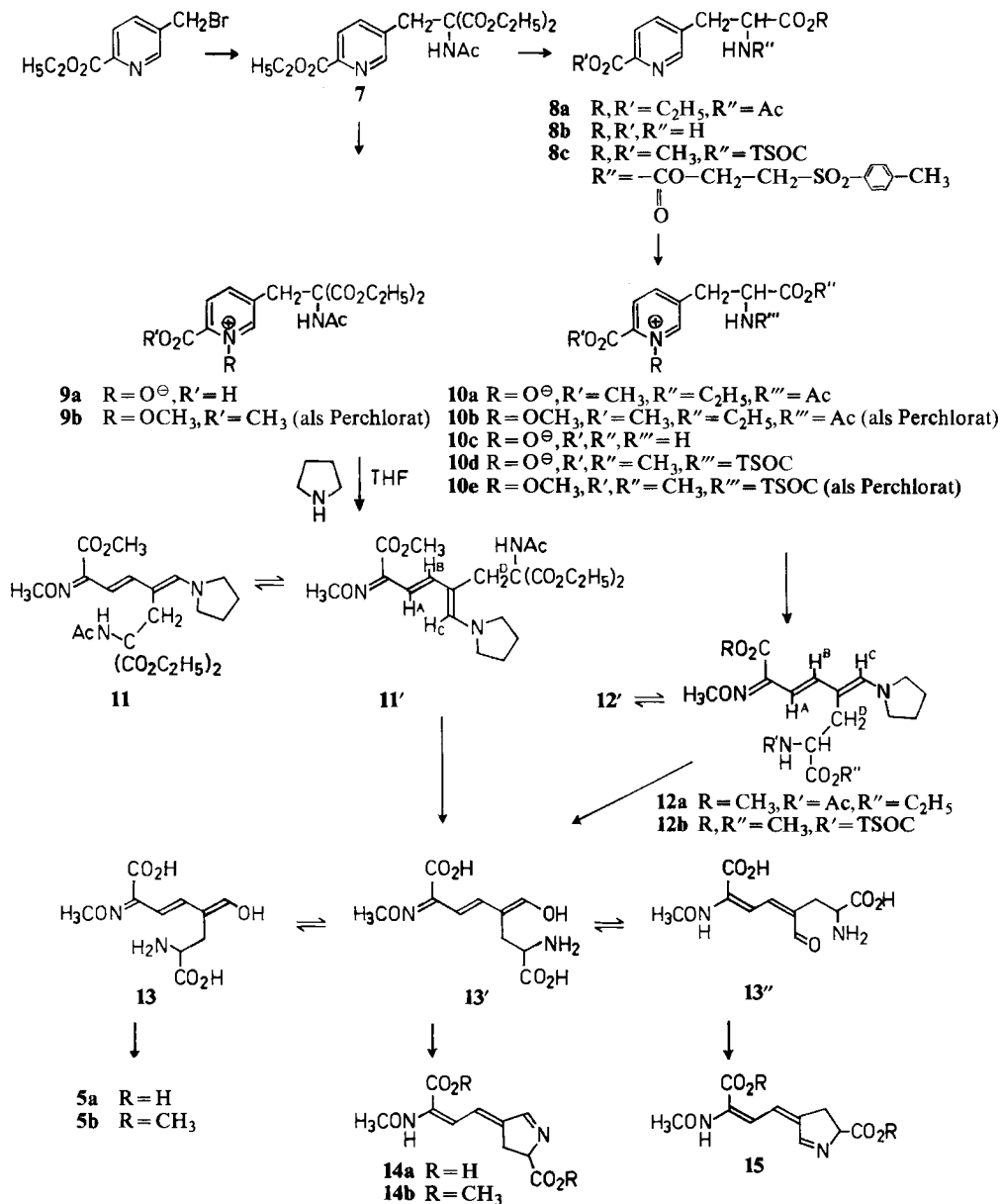
Die Verbindung **7** lässt sich mit Peressigsäure zum *N*-Oxid **9a** oxydieren, und dieses sich mit Dimethylsulfat zum *N*-Methoxy-pyridiniumsalz methylieren, das als kristallisiertes Perchlorat **9b** spektroskopisch eindeutig charakterisiert wird und analysenrein anfällt. Mit 2*N* NaOH ergibt **9b** eine gelbe Lösung (λ_{\max} 362 nm), deren Eindampfrückstand kurz mit konzentrierter Bromwasserstoffsäure aufgekocht wird, bis die CO₂-Entwicklung beendet ist. Aus dem braunen Produkt wird nach Veresterung mit Diazomethan kristallisierter Muscaflavindimethylester (**5b**) chromatographisch isoliert, jedoch nur mit 0,4% Ausbeute; die Hauptmenge des Ausgangsmaterials wird als freie Aminosäure **8b** und deren *N*-Oxid **10c** zurückgewonnen [5]. Die Abspaltung der Methoxygruppe, die am *N*-Atom eines Pyridiniumsalzes steht, als Formaldehyd ist bekannt [6] [7]. Ausserdem dürften die energischen Bedingungen der sauren Hydrolyse der *N*-Acetylgruppe und der Decarboxylierung des Malonsäurerestes in **9b** das meiste des gewünschten, frisch gebildeten **5a** zerstören. Deshalb wurde versucht a) die Ringöffnung mit einer schwächeren Base, aber besserem Nucleophil als OH[⊖] vorzunehmen und b) eine andere Schutzgruppe an der Aminogruppe einzuführen, die eine Methylierung dieser Gruppe verhindert, und sich bei oder nach der Ringöffnung, am besten alkalisch, viel leichter abspalten lässt, als der Acylrest in **9b** oder **10b**. Nach dem, was man aus den Arbeiten von *Katritzky* [7] sowie *Schnekenburger* [8] und nach eigenen Vorversuchen in verschiedenen Lösungsmitteln weiss, erhält man das Enaminderivat **11** in 70% Ausbeute, wenn das Salz **9b** in wasserfreiem THF bei 0° mit Pyrrolidin umgesetzt wird. Der Kern-*Overhauser*-Effekt zwischen den Signalen der H_A-H_D im NMR.-Spektrum zeigt an, dass in Lösung die *E, E*-Konfiguration und ein rasches Gleichgewicht zwischen den Konformationen **11** = **11'** vorliegt.

Nach der Hydrolyse mit Bromwasserstoff (10 Min., 80°) und Veresterung mit Diazomethan wird aus **11** wieder **5b** (0,3%) erhalten; hier lässt sich jedoch als Hauptprodukt (3,3%) eine ebenfalls gelbe kristallisierte Verbindung abtrennen, der nach den Spektren eine der Formeln **14** oder **15** zukommen muss. Offenbar entsteht dabei die nicht isolierte Zwischenstufe **13**, die rascher den Fünfring zu **14a** schliesst als den Siebenring zu **5a**.

Etwas bessere Ausbeuten bringt der Weg, auf dem die Decarboxylierung vor der Ringspaltung erfolgt. Die Oxydation von **8a** mit *m*-Chlorperbenzoesäure in Methylenchlorid zum *N*-Oxid **10a** und dessen Methylierung mit Dimethylsulfat liefern das kristallisierte Perchlorat **10b**. Analog zu **11** erhält man aus **10b** das *E, E*-

Enamin **12a** ebenfalls kristallin in 50% Ausbeute. Nach kurzem Kochen in Ameisensäure mit Bromwasserstoff, Neutralisation, Eindampfen und Verestern mit Diazomethan werden aus **12a** 0,4% **5b** und 9% **14b** isoliert.

Eine weitere Verbesserung brachte die *p*-Toluolsulfonyläthoxycarbonylgruppe [9] (TSOC), die sich in wässriger Natronlauge bei Raumtemperatur innerhalb weniger Minuten abspalten lässt. Das aus der Aminosäure **8b** mit HCl/Methanol



leicht zugängliche Dimethylesterhydrochlorid reagiert mit Triäthylamin und TSOCl zum geschützten Aminosäureester **8c**, der mit *m*-Chlorperbenzoesäure in Methylenchlorid in das *N*-Oxid **10d** übergeführt wird. Aus **10d** entsteht in Acetonitril mit Dimethylsulfat das Methoxypyridiniumsalz, dessen Perchlorat **10e** als ein hygroskopisches Pulver isoliert wird. Die Ringspaltung mit Pyrrolidin in THF bei 0° ergibt **12b** in 50% Ausbeute als gelbes Öl, das nach den Spektren analog **11** und **12a** in *E,E*-Konfiguration vorliegen sollte. Beim Versuch einer chromatographischen Reinigung erfolgte teilweise Isomerisierung. Das Derivat **12b** zersetzt sich langsam unter Rotfärbung und wird sofort mit 0,5 *N* Kaliumhydroxid in Methanol/Wasser 6:1 12 Std. bei Raumtemperatur behandelt, die Bruchstücke der Schutzgruppe mit Chloroform ausgeschüttelt, die alkalische Lösung i.V. eingedampft und der Rückstand 10 Min. in Ameisensäure mit 48proz. Bromwasserstoffsäure gekocht. Nach Neutralisation mit Kaliumcarbonat, Eindampfen und Behandeln mit Diazomethan liefert die schichtchromatographische Trennung 1,6% **5b** und 11,5% **14b**. Führt man den Ringschluss statt mit 48proz. Bromwasserstoffsäure mit 70proz. Perchlorsäure aus, so erhält man aus **12b** kein **5b**, dafür 22% **14b**.

Dieses Konzept zur Synthese des Muscaflavins verläuft also sehr unbefriedigend, denn offenbar hydrolysiert sich der Oximäther in **13** zu langsam und die Reaktion weicht unter Bildung eines Fünfringes zu **14a** aus. Alle Versuche zu einer selektiven Spaltung des Oximäthers in **11** und **12** scheiterten. Kocht man aber **14b** 30 Min. in einer verdünnten Perchlorsäurelösung in Ameisensäure unter Stickstoff und verestert wieder, so erhält man 12,5% **5b** und 40% Ausgangsmaterial zurück (also 21% **5b**).

Synthetischer *d*,1-Muscaflavinester **5b** stimmt im chromatographischen Verhalten und den UV.-, NMR.- sowie Massenspektren mit natürlichem überein. Der Smp. ist mit 98–99,5° etwas niedriger (99–102°) [1] und es gibt geringe Unterschiede im IR.-Spektrum der Kristalle, die verschwinden, wenn das Naturprodukt durch 3 Std. Erhitzen auf 80° racemisiert wird. Die Enantiomerentrennung von **5b**, **8b** und **10c** gelingt durch Chromatographie an Kartoffelstärke [10].

Der Deutschen Forschungsgemeinschaft und dem Fonds der Chemischen Industrie danken wir für die Unterstützung; M. K. dankt dem Deutschen Akademischen Austauschdienst für ein Stipendium.

Experimentelle Daten. – Alle neuen Verbindungen lieferten passende Elementaranalysen und spektroskopische Daten, von denen einige zur Charakterisierung wiedergegeben werden [IR.-Absorptionsbanden in cm^{-1} ; Signale der NMR. δ in ppm (*s* = Singulett, *d* = Dublett, *t* = Triplett, *qa* = Quadruplett, *m* = Multipllett)].

7. – Farblose Kristalle (72%) aus CCl_4 /Petroläther, Smp. 133–134°. – IR.: 1740, 1710. – NMR. (CDCl_3): 1,26 (*t*), 1,40 (*t*, 9 H); 2,01 (*s*, 3 H); 3,71 (*s*, 2 H); 4,23 (*qa*); 4,43 (*qa*, 6 H); 6,56 (*s*); 7,45 (*d* × *d*), 8,00 (*d*) und 8,36 (alle je 1 H). – MS.: 380 (M^+).

8a. – Farblose Kristalle (20%) aus CH_2Cl_2 /Äther, Smp. 100–101°. – IR.: 1740, 1705. – NMR. (CDCl_3): 1,26 (*t*, 3 H); 1,42 (*t*, 3 H); 2,00 (*s*, 3 H); 3,12 (*d* × *d*, 1 H); 3,31 (*d* × *d*, 1 H); 4,19 (*qa*, 2 H); 4,45 (*qa*, 2 H); 4,88 (*qa*, 1 H); 6,61 (*d*), 7,66 (*d* × *d*), 8,07 und 8,51 (*d*) (alle je 1 H). – MS.: 308 (M^+).

8b. – Farblose Kristalle (92%) aus Äthanol/Wasser, Smp. 250° (Zers.). – IR.: 1675, 1595, 1490. – NMR. (D_2O als Hydrobromid): 3,50 (*d*, 2 H); 4,50 (*t*); 7,93 (*d* × *d*); 8,30 und 8,56 (2*d*, je 1 H).

8c. – Farblose Kristalle (30–37%) aus CH_2Cl_2 /Äther, Smp. 141–142°. – IR.: 1725. – NMR. (CDCl_3): 2,44 (*s*, 3 H); 3,08 (*d* × *d*, 1 H); 3,28 (*d* × *d*, 1 H); 3,42 (*t*, 1 H); 3,75 (*s*, 3 H); 4,01 (*s*, 3 H); 4,40 (*t*, 2 H); 4,60 (*d* × *d*, 1 H); 7,37 (*d*, 2 H); 7,81 (*d*, 2 H); 7,66 (*d* × *d*); 8,09 und 8,51 (2*d*, je 1 H). – MS.: 464 (M^+).

9a. - Farblose Kristalle (74%) aus Äthanol, Smp. 148-149°. - IR.: 1762, 1740. - NMR. (CDCl₃): 1,26 (*t*, 6 H); 2,03 (*s*, 3 H); 3,68 (*s*, 2 H); 4,21 (*qa*, 4 H); 6,86 (*s*); 7,26 (*d*); 7,96 (*s*, 1 H); 8,12 (*d*, 1 H). - MS.: 368 (*M*⁺).

9b. - Farblose Kristalle (66%) aus Äthanol, Smp. 118-119°. - IR.: 1748, 1664. - NMR. (CDCl₃): 1,25 (*t*, 6 H); 1,93 (*s*, 3 H); 3,73 (*s*, 2 H); 4,03 (*s*), 4,18 (*qa*), 4,45 (*s*) (zus. 10 H); 7,26 (*s*), 8,26 (*d*), 8,45 (*d*) und 8,93 (*s*) (alle je 1 H).

10a. - Lichtempfindlicher nicht krist. Lack (65-70%). - IR.: 1740. - NMR. (CDCl₃): 1,26 (*t*, 3 H); 1,98 (*s*, 3 H); 3,16 (*m*, 2 H); 3,97 (*s*, 3 H); 4,21 (*qa*, 2 H); 4,91 (*m*), 7,27 (*d* × *d*), 7,63 (*d*), 8,25 (*d*) (alle je 1 H).

10b. - Farblose Kristalle (74%) aus Äthanol/Äther, Smp. 131-132°. - IR.: 1750, 1660. - NMR. (CDCl₃): 1,29 (*t*, 3 H); 1,93 (*s*, 3 H); 3,35 und 3,60 (*2d* × *d*, je 1 H); 4,13 (*s*, 3 H); 4,23 (*qa*, 2 H); 4,57 (*s*, 3 H); 4,84 (*d* × *d* × *d*), 7,16 (*d*), 8,38 (*d*), 8,59 (*d* × *d*) und 9,22 (*d*) (alle je 1 H). - MS.: 324 (*M*⁺ - HClO₄).

10c. - Farblose Kristalle (82%) aus Äthanol/Wasser, Smp. 215-217° (Zers.). - IR.: 1785.

10d. - Farbloser lichtempfindlicher Lack (90%), der sofort zu **10e** verarbeitet wurde. - IR. (CHCl₃): 1725. - NMR. (CDCl₃): 2,44 (*s*, 3 H); 3,0-3,2 (*m*, 2 H); 3,41 (*t*, 2 H); 3,73 (*s*, 3 H); 3,96 (*s*, 3 H); 4,33 (*t*, 2 H); 4,51 (*m*); 6,28 (*d*); 7,20 (*d* × *d*); 7,58 und 8,19 (*2d*, je 1 H); 7,36 und 7,98 (*2d*, je 2 H).

10e. - Farbloses Pulver (70%) aus CH₂Cl₂/Methanol/Äther, Smp. 65-70°. - IR. (CHCl₃): 1750-1725. - NMR. (CDCl₃): 2,44 (*s*, 3 H); 3,73 (*s*, 3 H); 4,04 (*s*, 3 H); 4,53 (*s*, 3 H); 6,33 (*d*, 1 H); 7,40 (*d*, 2 H); 7,75 (*d*, 2 H); 8,40 (*d*), 8,64 (*d*) und 9,26 (*s*), (alle je 1 H). - MS.: 464, (*M*⁺ - 130).

11. - Gelbe Kristalle (75%) aus Essigester/Äther, Smp. 123-125° (Zers.). - UV. (CH₃OH): 360 nm ($\epsilon = 29440$). - IR.: 1755, 1735, 1717. - NMR. (CDCl₃): 1,24 (*t*, 6 H); 1,91 (*t*, 4 H); 1,99 (*s*, 3 H); 3,15 (*t*, 4 H); 3,28 (*s*, 2 H); 3,81 (*s*, 3 H); 3,86 (*s*, 3 H); 4,18 (*qa*, 2 H); 4,23 (*qa*, 2 H); 5,29 (*d*), 6,13 (*d*), 6,78 (*s*) und 8,09 (*s*), (alle je 1 H). - MS.: 467 (*M*⁺).

12a. - Gelbe Kristalle (50%) wie **11**, Smp. 107-108°. - UV. (CH₃OH): 360 nm ($\epsilon = 26980$). - IR.: 1720, 1660. - NMR. (CDCl₃): 1,25 (*t*, 3 H); 1,91 (*t*, 4 H); 1,99 (*s*, 3 H); 2,27 (*d*, 2 H); 3,17 (*t*, 4 H); 3,88 (*s*, 3 H); 3,90 (*s*, 3 H); 4,14 (*qa*, 2 H); 4,57 (*qa*), 5,27 (*d*), 6,24 (*d*), 6,82 (*d*) und 8,71 (*s*), (alle je 1 H). - MS.: 395 (*M*⁺).

12b. - Gelbes Öl, das sich selbst bei -10° langsam rot färbt (46-56%). - IR. (Film): 1720. - NMR. (CDCl₃): 1,92 (*t*, 4 H); 2,44 (*s*, 3 H); 3,18 (*t*, 4 H); 3,44 (*t*, 2 H); 3,70 (*s*, 3 H); 3,88 (*s*, 3 H); 3,90 (*s*, 3 H); 4,33 (*t*, 2 H); 5,26, 6,00 und 6,19 (*3d*, je 1 H); 7,35 und 7,78 (*2d*, je 2 H); 8,18 (*s*, 1 H).

14b. - Gelbe Kristalle (22%) aus Äther/Hexan, Smp. 94-95°. - IR.: 1720. - NMR. (CDCl₃): 2,66 (*d* × *d* × *d*, 1 H); 3,50 (*d*, 1 H); 3,82 (*s*, 3 H); 3,84 (*s*, 3 H); 3,91 (*s*, 3 H); 4,02 (*m*, 1 H); 5,95 (*d* × *d*), 6,13 (*d*), 6,11 (*s*, NH) und 7,69 (*s*), (alle je 1 H). - MS.: 268 (*M*⁺).

5b. - Gelbe Kristalle (aus **14b** 21%) aus Methanol/Äther, Smp. 98-99,5°. - UV., IR., NMR.- und Massen-Spektren mit natürlichem Material übereinstimmend [1].

LITERATURVERZEICHNIS

- [1] H. Döpp & H. Musso, *Z. Naturforsch.* 29c, 637 und 640 (1974).
- [2] T.J. Mabry & J.A. Mears in S.W. Pelletier, 'Chemistry of the Alkaloids', p.367, van Norstrand Reinhold Comp., New York 1970.
- [3] H.E. Müller, H. Rösler, A. Wohlpart, H. Wyler, M. Wilcox, H. Frohofer, T.J. Mabry & A.S. Dreiding, *Helv.* 51, 1470 (1968); F. Dunkelblum, H.E. Müller & A.S. Dreiding, *ibid.* 55, 642 (1972); N. Fischer & A.S. Dreiding, *ibid.* 55, 649 (1972).
- [4] G. Impellizzeri & M. Piattelli, *Phytochemistry* 11, 2499 (1972).
- [5] H. Barth, Dissertation Universität Karlsruhe 1976.
- [6] E. Ochiai, M. Katada & T. Naito, *J. Pharm. Soc. Japan* 64, 210 (1944); *Chem. Abstr.* 45, 5154 (1951); W.E. Feely, W.L. Lehn & V. Boekelheide, *J. org. Chemistry* 22, 1135 (1957); V.J. Traynelis & J.P. Kimball, *J. org. Chemistry* 40, 2365 (1975).
- [7] A.R. Katritzky & E. Lunt, *Tetrahedron* 25, 4291 (1969).
- [8] J. Schnekenburger & D. Heber, *Chem. Ber.* 107, 3408 (1974); J. Schnekenburger, D. Heber & E. Heber-Brunschweiler, *Liebigs Ann. Chem.* 1976, 1799; *Tetrahedron* 33, 457 (1977).
- [9] A.T. Kader & C.J.M. Stirling, *J. chem. Soc.* 1968, 258.
- [10] G. Burger, Dissertation Universität Karlsruhe 1979.