

## 120. Reaktionen von *o*-Chinonen mit Aminen und Proteinen

4. Mitteilung<sup>1)</sup>

### 7a-Methyl-5,6-dioxo-5,6,7,7a-tetrahydroindol-Derivate aus 4-Methylbrenzcatechin und Enaminen

von Martin G. Peter und Fritz Speckenbach<sup>2)</sup>

Institut für Organische Chemie und Biochemie der Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn,  
Gerhard-Domagk-Str. 1, D-5300 Bonn 1

(31.III.82)

---

#### Reactions of *o*-Quinones with Amines and Proteins. 7a-Methyl-5,6-dioxo-5,6,7,7a-tetrahydroindole Derivatives from 4-Methylcatechol and Enamines

##### Summary

Methyl 1-[2'-(methoxycarbonyl)ethyl]-7a-methyl-5,6-dioxo-5,6,7,7a-tetrahydroindole-3-carboxylate (**1**) was isolated after the oxidation of 4-methylcatechol with silver(I) oxide in the presence of  $\beta$ -alanine methyl ester in glacial acetic acid. The formation of **1** requires *in situ* dehydrogenation of the  $\beta$ -aminocarboxylate and addition of the resulting enamine to 4-methyl-1,2-benzoquinone. Reaction of ethyl 3-(phenylamino)crotonate with 4-methyl-1,2-benzoquinone afforded ethyl 2,7a-dimethyl-5,6-dioxo-1-phenyl-5,6,7,7a-tetrahydroindole-3-carboxylate (**6**). Despite the fact that the yields are low, the addition of enamines to *o*-quinones represents an interesting novel extension of the *Nenitzescu*-reaction which is well known in the *p*-quinone series. Compound **1** may be considered as a novel model for the crosslinking of proteins by *o*-quinones. Formation of **1** was, however, not observed under physiological conditions.

---

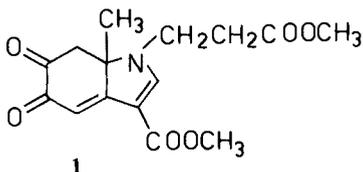
Naszierende Chinone interagieren in einigen biologischen Systemen mit Proteinen als Haptene oder Quervernetzungsagenzien [2]. Man nimmt allgemein an, dass dabei Bindungen durch vinyloge Additionen von nucleophilen, in Aminosäure-Resten vorhandenen Zentren ( $-\text{NH}_2$ ,  $-\text{SH}$ ) zustande kommen. Entsprechende Modellreaktionen sind in grosser Zahl in der *p*-Chinonreihe bekannt, während die Reaktionsweise von *o*-Chinonen mit Aminen nur an wenigen Beispielen untersucht wurde [3].

In früheren Mitteilungen [4] berichteten wir über Reaktionsprodukte der oxydativen Umsetzung von Brenzcatechin, 4-Methylbrenzcatechin und *N*-Acetyldopamin mit  $\beta$ -Alanin-methylester. Im Falle von 4-Methylbrenzcatechin wurde nach Oxyda-

<sup>1)</sup> 3. Mitt.: s. [1].

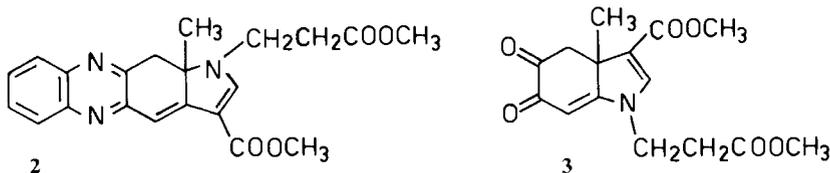
<sup>2)</sup> Teil der Diplomarbeit von F. S., Bonn 1981.

tion mit Silber(1)oxid in Eisessig aus der komplexen Reaktionsmischung als Hauptprodukt (4,4% Ausbeute) das 2-[2'-(Methoxycarbonyl)äthyl]amino-5-methyl-1,4-benzochinon isoliert [4a]. Daneben fiel eine unter UV.-Licht (366 nm) leuchtend gelb fluoreszierende Komponente auf, bei der es sich gemäss nachfolgender Begründung um 1-[2'-(Methoxycarbonyl)äthyl]-7a-methyl-5,6-dioxo-5,6,7,7a-tetrahydroindol-3-carbonsäuremethylester (**1**) handelt.

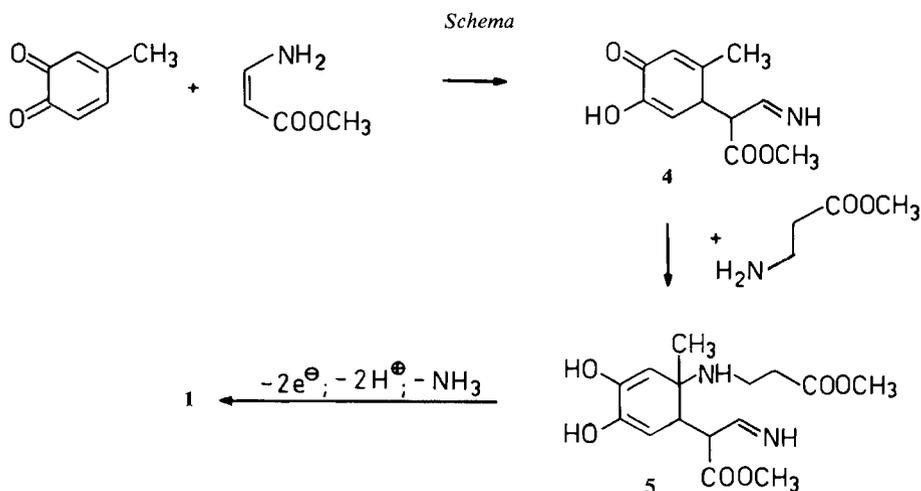


Im  $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum von **1** erscheinen zwei von Methoxygruppen stammende Singulette bei 3,81 und 3,76 ppm. Die Methylenregion weist das Triplet der  $2\text{H-C}(2')$  bei 2,76 ppm auf. Die Resonanzen der dem N-Atom benachbarten  $2\text{H-C}(1')$  sind von den Signalen der Methoxygruppen überlagert, wie Entkopplungsexperimente zeigen. Ausserdem erkennt man ein *AB*-System bei 3,36 und 2,85 ppm ( $J=15$  Hz), das von den beiden diastereotopen Protonen an C(7) stammt (vgl. [5]). Die bei höherem Feld liegende Resonanzlinie des *B*-Teils fällt mit dem Zentrum des Triplets bei 2,76 ppm zusammen, während die tiefer liegende aufgrund einer Kopplung mit der bei 1,56 ppm als Dublett beobachteten Methylgruppe an C(7a) eine Aufspaltung von *ca.* 1 Hz zeigt. Die beiden Protonen an C(2) und C(4) erscheinen als Singulette bei 8,00 bzw. 6,90 ppm. Im EI.-Massenspektrum von **1** findet man einen Molekular-Ionenpik der Elementarzusammensetzung  $\text{C}_{15}\text{H}_{17}\text{NO}_6$ . Intensive Fragment-Ionen entstehen durch Abspaltung von  $\text{CH}_3$ ,  $\text{CO}$ ,  $\text{CHO}$  und  $\text{C}_2\text{H}_2\text{O}$ .

Umsetzung von **1** mit 1,2-Benzoldiamin führt in saurer Lösung zum Phenazin-Derivat **2**, dessen EI.-Massenspektrum durch einen Molekular-Ionenpik  $\text{C}_{21}\text{H}_{21}\text{N}_3\text{O}_4$  und den zum Basispik führenden Verlust eines Methylradikals charakterisiert ist. Die nach den bisher beschriebenen Eigenschaften noch mögliche Konstitutionsformel **3** für das gelb fluoreszierende Produkt ist aufgrund des UV.-Spektrums auszuschliessen, das ein intensives Absorptionsmaximum bei 447 nm zeigt. Ein ähnliches UV.-Spektrum ist von 2-Acetyl-5-dimethylamino-2,4-hexadiencarbonsäuremethylester bekannt [6].



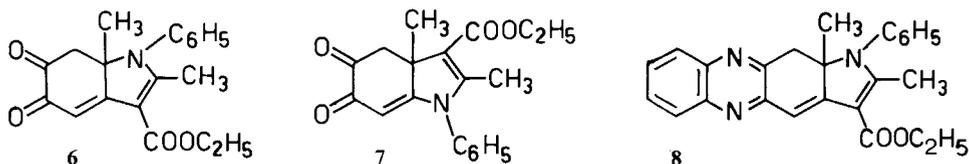
Zur Bildung von **1** schlagen wir den im *Schema* aufgezeigten Reaktionsablauf vor. Dehydrierung von  $\beta$ -Alanin-methylester führt *in situ* zu 3-Aminoacrylsäuremethylester (vgl. [7]), der sich als Enamin an 4-Methyl-1,2-benzochinon zum Zwischenprodukt **4** addiert. Das nach Anlagerung von  $\beta$ -Alanin-methylester entstandene Zwischenprodukt **5** cyclisiert sich unter Abspaltung von Ammoniak in Analogie zum Ringschluss der Indolsynthese nach *Fischer*. Alternative Mechanismen sind denkbar, solange die entsprechenden Experimente noch nicht geführt sind.



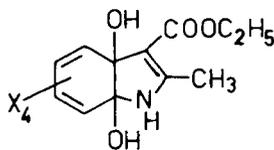
Wird 4-Methyl-1,2-benzochinon mit 3-(Phenylamino)crotonsäureäthylester umgesetzt, so entsteht 2,7a-Dimethyl-5,6-dioxo-1-phenyl-5,6,7,7a-tetrahydroindol-3-carbonsäureäthylester (**6**). Die spektroskopischen Daten sprechen dafür, dass es sich nicht um das Konstitutionsisomere **7** handelt.

Im  $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum von **6** wird eine Aufspaltung der Aromatenprotonen in zwei Multiplette bei 7,7–7,5 und 7,20–7,07 ppm (Integralverhältnis 3:2) beobachtet, die auf eine Abschirmung durch die Methylgruppe an C(7a) zurückgeführt wird. Das  $^{13}\text{C-NMR}$ -Spektrum zeigt C(7a) bei 72,2 ppm. Im UV.-Spektrum erscheint ein Absorptionsmaximum bei 443 nm. Die beiden diastereotopen Protonen an C(7) werden im  $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum als *AB*-System bei 3,05 und 2,96 ppm ( $J = 15$  Hz) beobachtet.

Beweisend für die Anwesenheit von zwei benachbarten Carbonylgruppen in **6** ist die Bildung des Phenazinderivates **8**, das durch sein Massenspektrum charakterisiert wurde.



Enamine reagieren mit *p*-Chinonen in der sogenannten *Nenitzescu*-Reaktion zu 5-Hydroxyindol- bzw. 5-Hydroxybenzofuran-Derivaten [8] [9]. In der *o*-Chinonreihe war bisher nur bekannt, dass Enamine an die Carbonylgruppen angelagert werden [10]: z. B. liefern 3,4,5,6-Tetrahalo-1,2-benzochinone mit 3-Aminocrotonsäureäthylester instabile Addukte des Typus **9** [11], während eine Reihe von anderen Enaminen mit substituierten bzw. kondensierten *o*-Chinonen unter Cycloaddition zu substituierten Dioxinen führen [12]. Die hier mitgeteilte Bildung von 7a-Alkyl-5,6-dioxotetrahydroindolen repräsentiert eine neuartige Variante der *Nenitzescu*-Reaktion. Eine präparative Anwendbarkeit erscheint allerdings aufgrund der



9, X = Cl, Br

unbefriedigenden Ausbeuten und der aufwendigen Isolierung aus den komplexen Reaktionsmischungen zur Zeit fraglich. Bisher ist es uns nicht gelungen, die Ausbeuten durch Variation der Reaktionsbedingungen zu verbessern.

Die Verbindung **1** eignet sich *pro forma* als Modell zur Beschreibung eines neuartigen Strukturtyps der Quervernetzung von Proteinen durch 4-Alkyl-1,2-benzochinone (vgl. [2]). Unter physiologischen Bedingungen, d. h. enzymatische Oxydation von 4-Methylbrenzcatechin in wässrigem Puffer in Gegenwart von  $\beta$ -Alanin-methylester, entsteht **1** jedoch nicht. Dieser Befund verdeutlicht einmal mehr, dass eine Übertragung von Ergebnissen aus unter nicht-physiologischen Bedingungen geführten Modellversuchen auf eine *in vivo* Situation nicht in allen Fällen gerechtfertigt ist.

Wir danken Herrn Dr. G. Eckhardt für Massenspektren und Herrn C. Schmidt für NMR.-Spektren.

#### Experimenteller Teil

*Allgemeine Bemerkungen.* – Schmelzpunkte (Smp.) mit einem Büchi SMP-20 Apparat; nicht korrigiert. Abdampfoperationen im Rotationsverdampfer unter Wasserstrahlvakuum; Badtemperatur  $30 \pm 5^\circ$ . Chromatographie: Offene Säulen mit Kieselgel (Macherey-Nagel; Korngrösse 0,065–0,1 mm); Dünnschichtchromatographie (DC.) an Kieselgel auf Aluminiumfolien (DC 60; Merck); präparative DC. (präp. DC.) an mit 0,1 cm Kieselgel PF<sub>254</sub> (Merck) beschichteten 20 × 20 cm Glasplatten; Hochleistungsflüssigkeitschromatographie (HPLC.) an Waters-Geräten: Pumpe Modell 6000 A, UV.-Detektor Modell 440 bei 254 nm, Differentialrefraktiometer Modell 600, Fertigsäule  $\mu$ -C<sub>18</sub>-Bondapak, Flussgeschwindigkeit 1,5 ml · min<sup>-1</sup>. – UV./VIS.-Spektren an einem Beckman Modell 25 Gerät; IR.-Spektren an einem Pye Unicam SP 1100 Gerät; NMR.-Spektren (<sup>1</sup>H-NMR. bzw. <sup>13</sup>C-NMR.) an einem Bruker WH-90 Gerät, Angaben der Signallagen in ppm bzgl. Tetramethylsilan (= 0 ppm) als internem Standard; Massenspektren (EI./MS.) an einem AEI MS-50 Gerät, Direkteinlass (180° oder 220°), Ionisierungsenergie 70 eV. – 4-Methylbrenzcatechin wurde durch Sublimation im Kugelrohr bei 0,1 Torr gereinigt.

*Herstellung von 1-[2'-(Methoxycarbonyl)äthyl]-7a-methyl-5,6-dioxo-5,6,7,7a-tetrahydroindol-3-carbonsäuremethylester (1).* Die Reaktionsführung und Aufarbeitung entspricht der in [4a] beschriebenen Arbeitsweise: Aus 1,0 g 4-Methylbrenzcatechin und 1,15 g  $\beta$ -Alanin-methylester-hydrochlorid wurden nach Oxydation mit 9,5 g Silber(I)oxid in 200 ml Eisessig und nachfolgender Chromatographie an Kieselgel (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/CH<sub>3</sub>OH 95:5) 167 mg gelbes Gemisch erhalten. Die Fraktionierung mittels präp. DC. (Kieselgel; CHCl<sub>3</sub>/CH<sub>3</sub>OH 9:1) und nachfolgender HPLC. (0,4 × 31 cm  $\mu$ -C<sub>18</sub>-Bondapak; Wasser/Methanol/Essigsäure 88,8:10:1,2) lieferte schliesslich 8,6 mg (0,4%) gelbes, lackartiges **1**. – UV. (Methanol): 260, 306, 447 (die Extinktionskoeffizienten wurden nicht exakt bestimmt; die relativen Intensitäten der Banden betragen 1:1,59:2,44). – IR. (CHCl<sub>3</sub>): 1740, 1728, 1708, 1638, 1545, 1534, 1440, 1380. – <sup>1</sup>H-NMR. (90 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 8,00 (s, H–C(2)); 6,90 (s, H–C(4)); ca. 3,8 (m, überlagert von 2 s bei 3,81 und 3,76, 2 H–C(1') und 2 CH<sub>3</sub>O); 3,36 (A-Teil von AB, J<sub>AB</sub> = 15, H–C(7)); 2,85 und 2,76 (B-Teil von AB mit J<sub>AB</sub> = 15 und J<sub>B,CH<sub>3</sub></sub> ca. 1 bzw. t mit J = 7, H–C(7) bzw. 2 H–C(2')); 1,56 (d, J<sub>CH<sub>3</sub>,B</sub> = 0,9, H<sub>3</sub>C–C(7a)); Entkopplungen: Einstrahlen bei 3,78 → 2,76 (s); 3,36 → 2,85 (br. s, überlagert von tieferliegender Resonanzlinie des t bei 2,76); 1,56 → 2,85 (Linienverschärfung der tiefer-

liegenden Resonanzlinie des *B*-Teils von H–C(7)). – EI./MS.: 307,1052 (54,  $M^+$ ; Ber. für  $C_{15}H_{17}NO_6$  307,1055), 297 (6), 292 (25,  $M^+ - CH_3$ ), 280 (6), 279 (33,  $M^+ - CO$ ), 270 (100,  $M^+ - CHO$ ), 277 (6), 276 (31,  $M^+ - OCH_3$ ), 266 (14), 265 (57,  $M^+ - C_2H_5O$ ), 264 (93,  $M^+ - CH_3 - CO$ ), 262 (21), 252 (26), 251 (11), 248 (14,  $M^+ - COOCH_3$ ), 238 (17), 236 (8), 234 (27,  $M^+ - CH_2COOCH_3$ ), 233 (9), 232 (9), 222 (22), 221 (8), 220 (11,  $M^+ - CH_2CH_2COOCH_3$ ), 208 (6), 206 (7), 181 (33), 174 (7), 169 (30), 87 (38), 59 (40), 55 (19), 51 (6).

*Umsetzung von 1 mit 1,2-Benzoldiamin zu 1-[2'-(Methoxycarbonyl)äthyl]-11a-methyl-11,11a-dihydro-1H-pyrrolo[2,3-b]phenazin-3-carbonsäuremethylester (2).* Ca. 0,1 mg **1** in 0,1 ml  $CHCl_3/CH_3COOH$  4:1 wurden mit 2 mg 1,2-Benzoldiamin versetzt. Fast augenblicklich verfärbte sich die Lösung von gelb nach tiefrot. Nach dem Eindampfen wurde aus dem Rückstand mittels DC. (Kieselgel;  $CHCl_3/CH_3OH$  9:1) **2** abgetrennt. – EI./MS.: 379,1528 (61,  $M^+$ ; Ber. für  $C_{21}H_{21}N_3O_4$  379,1532), 365 (22), 364 (100,  $M^+ - CH_3$ ), 332 (22), 320 (8), 290 (43), 232 (10).

*Herstellung von 2,7a-Dimethyl-5,6-dioxo-1-phenyl-5,6,7,7a-tetrahydroindol-3-carbonsäureäthylester (6).* Zur Herstellung von 4-Methyl-1,2-benzochinon wurden 1,24 g 4-Methylbrenzcatechin in 200 ml Toluol mit 28,5 g trockenem Silber(I)carbonat auf Celite (entspr. 50 mmol  $Ag_2CO_3$ ) oxydiert [13]. Nach 3 Std. Rühren bei 22° wurde filtriert, und zu der auf 0° gekühlten Lösung wurden 2,05 g 3-(Phenylamino)crotonsäure-äthylester in 50 ml Methanol getropft. Nach weiteren 2 Std. Rühren bei 0° und Eindampfen wurde der Rückstand an Kieselgel mit  $CH_2Cl_2/CH_3OH$  93:7 chromatographiert. Fraktion I (914 mg) bestand im wesentlichen aus nicht umgesetztem 3-(Phenylamino)crotonsäure-äthylester. Fraktion II (1,06 g) lieferte nach mehrfacher präp. DC. (Kieselgel;  $CH_2Cl_2/CH_3OH$  97:3 bis 95:5) 190 mg (5,8%) hellgelbes Öl, das im DC. keine Verunreinigungen zeigte. Umkristallisation aus  $CH_2Cl_2/C_5H_{12}$  ergab Kristalle vom Smp. 179–180°. – UV. ( $CHCl_3$ ): 280 (28600), 434 (11400). – IR. (KBr): 1740, 1720, 1695, 1615, 1600, 1580, 1560, 1500. –  $^1H$ -NMR. (90 MHz,  $CDCl_3$ ): 7,7–7,5 (*m*, 3 arom. H); 7,20–7,07 (*m*, 2 arom. H); 6,97 (*s*, H–C(4)); 4,33 (*qa*,  $J=7$ ,  $CH_3CH_2O$ ); 3,05 (*A*-Teil von *AB*,  $J_{AB}=15$ , H–C(7)); 2,96 (*B*-Teil von *AB*,  $J_{AB}=15$ , H–C(7)); 2,38 (*s*,  $H_3C-C(2)$ ); 1,49 (*br. s.*,  $H_3C-C(7a)$ ); 1,39 (*t*,  $J=7$ ,  $CH_3CH_2O$ ). –  $^{13}C$ -NMR. (22,12 MHz,  $CDCl_3$ ; vgl. [14]): 192,8 (*s*, C(6)); 177,9 (*s*, C(5)); 172,0 und 171,6 (je ein *s*, COOEt und C(2)); 164,8 (*s*, C(3a)); 134,2 (*s*), 131,1 (*d*), 130,4 (*d*), 129,1 (*d*; total 6 arom. C); 112,5 (*d*, C(4)); 101,8 (*s*, C(3)); 72,2 (*s*, C(7a)); 60,2 (*t*,  $OCH_2CH_3$ ); 50,4 (*t*, C(7)); 31,6 (*qa*,  $H_3C-C(7a)$ ); 15,7 und 14,5 (je ein *qa*,  $H_3C-C(2)$  und  $OCH_2CH_3$ ). – EI./MS.: 325,1328 (65,  $M^+$ ; Ber. für  $C_{19}H_{19}NO_4$  325,1314), 311 (11), 310 (24,  $M^+ - CH_3$ ), 297 (53,  $M^+ - CO$ ), 296 (68,  $M^+ - CHO$ ), 283 (32,  $M^+ - C_2H_5O$ ), 282 (17), 280 (25,  $M^+ - OC_2H_5$ ), 279 (14), 269 (18), 268 (100,  $M^+ - CO - CHO$ ), 264 (13), 254 (25), 252 (28), 240 (13), 224 (20), 182 (12), 118 (30), 77 (45).

*Umsetzung von 6 mit 1,2-Benzoldiamin zu 2,11a-Dimethyl-1-phenyl-11,11a-dihydro-1H-pyrrolo-[2,3-b]phenazin-3-carbonsäureäthylester (8).* Eine Lösung von 11,6 mg **6** in 10 ml Eisessig wurde mit 38 mg 1,2-Benzoldiamin versetzt und 1 Std. bei 22° gerührt. Eindampfen und präp. DC. des Rückstandes an Kieselgel (Essigester sowie  $CH_2Cl_2/CH_3OH$  95:5) ergaben **8** als gelben Lack. – EI./MS.: 397 (68,  $M^+$ ), 383 (24), 382 (100,  $M^+ - CH_3$ ), 368 (6), 354 (18), 353 (20,  $M^+ - CH_3 - CH_2CH_3$ ), 338 (8), 337 (10), 336 (38,  $M^+ - CH_3 - C_2H_6O$ ), 324 (18), 310 (17), 309 (23,  $M^+ - CH_3 - COOEt$ ), 308 (18), 307 (12), 306 (9), 77 (17).

## LITERATURVERZEICHNIS

- [1] *M. G. Peter*, in Vorbereitung.
- [2] Siehe z. B. *J. S. Byck & C. R. Dawson*, *Anal. Biochem.* **25**, 123 (1968); *R. Davies & J. L. Frahn*, *J. Chem. Soc., Perkin I* 1977, 2295; *S. O. Andersen*, *Annu. Rev. Entomol.* **24**, 29 (1979); *J. Eagles, J. F. March & R. L. M. Synge*, *Phytochemistry* **19**, 1771 (1980).
- [3] *H. W. Wanzlick*, *Angew. Chem.* **76**, 313 (1964); *K. T. Finley*, in 'The Chemistry of Quinonoid Compounds', Herausgeber S. Patai, Wiley, London 1974.
- [4] a) *M. G. Peter*, *Z. Naturforsch. C* **33**, 912 (1978); b) *M. G. Peter*, *Insect Biochem.* **10**, 221 (1980).
- [5] *M. G. Peter, G. Snatzke, F. Snatzke, K. N. Nagarajan & H. Schmid*, *Helv. Chim. Acta* **57**, 32 (1974).
- [6] *J. P. Phillips, D. Bates, F. Feuer & B. S. Thyagarajan*, Herausgeber, 'Electronic Spectral Data', Band 15, Wiley, London 1979, S. 306.
- [7] *H.-D. Becker*, in 'The Chemistry of Quinonoid Compounds', Herausgeber S. Patai, Wiley, London 1974.
- [8] *G. R. Allen*, *Org. React.* **20**, 337 (1973).
- [9] *T. F. Spande*, in 'The Chemistry of Heterocyclic Compounds', Band 25, Teil 3, Herausgeber A. Weissberger & E. C. Taylor, Wiley, New York 1979.
- [10] *C. Grundmann*, in «Methoden der Organischen Chemie (Houben Weyl)», Band 7, Teil 3b, Thieme, Stuttgart 1979, S. 139ff.
- [11] *W. Ried & P. Weidemann*, *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **102**, 2684 (1969).
- [12] *W. Ried & E. Torok*, *Justus Liebigs Ann. Chem.* **687**, 187 (1965).
- [13] *V. Balogh, M. Fétizon & M. Golfier*, *J. Org. Chem.* **36**, 1339 (1971).
- [14] *U. Kuckländer & E. J. Edoho*, *Arch. Pharm.* **313**, 582 (1980).