

BIS(3-INDOLYL-)-3H-INDOLYLIDEN-METHAN,
EIN VON SACCHAROMYCES CEREVISIAE GEBILDETER FARBSTOFF

H.Budzikiewicz und H.Eckau

Institut für Organische Chemie II der Universität zu Köln
und

M.Ehrenberg

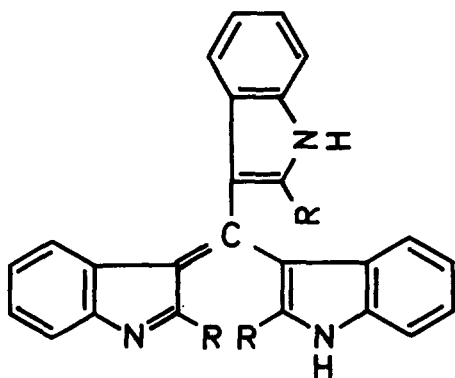
Botanisches Institut I der Universität Würzburg

(Received in Germany 26 July 1972; received in UK for publication 7 August 1972)

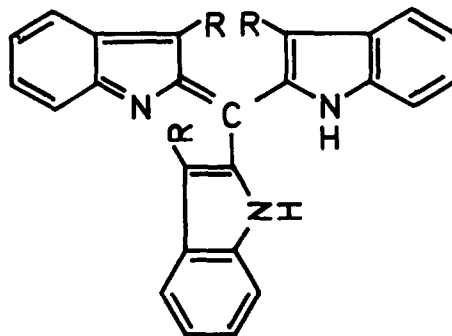
Einige Stämme von *Saccharomyces cerevisiae* bilden unter Einwirkung von Licht orange-gelbe Farbstoffe, über deren mögliche Strukturen in der Literatur unterschiedliche Ansichten zu finden sind.¹⁻⁸ Der von uns untersuchte Stamm *S.cerevisiae* var.ellipsoideus R59 zeigt bei Kultur in phosphatarmem bis-freiem Medium und unter aeroben Bedingungen Farbstoffbildung. Sie verläuft über farblose Vorstufen, die von den Hefezellen bei Dunkelheit unter semianaeroben (im Licht unter aeroben) Bedingungen gebildet und in das Nährmedium abgegeben werden, wo sie unter Einwirkung von Licht und Sauerstoff in die Farbstoffe übergehen, die dann von den Zellen teilweise wieder aufgenommen werden.

Extraktion des Mediums mit Essigester und mehrfache Säulenchromatographie des Extraktes an Kieselgel (Merck, unter 0,08 mm) mit dem Laufmittelgemisch Essigester-Aceton-Isopropanol-Wasser 12:6:1:1 liefert den Hauptfarbstoff als amorphes rotes Pulver vom Schmpkt. 196-199°. Weitere Reinigung kann über das Perchlorat (aus wässrigem Methanol durch Zugabe von Perchlorsäure) und Regeneration der freien Base (Schmp. 205-206°) mit Ammoniak erreicht werden.

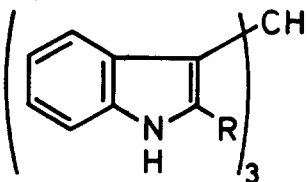
Aufgrund seiner spektroskopischen⁹ und chemischen Eigenschaften und der nachfolgend beschriebenen Synthese kommt dem Farbstoff die Struktur eines Bis(3-indolyl)-3H-indolyliden-methans (I) zu.



I : R = H
II : R = CH₃



III : R = CH₃



IV : R = H

V : R = CH₃

Das Massenspektrum von I zeigt Peaks bei m/e 359 (52%): M⁺, m/e 358 (57%): M⁺-1, m/e 243 (12%): M⁺-Indolyl, m/e 179,5 (13%): M⁺⁺, m/e 117 (100%): ionisiertes Indol, m/e 90 (53%): Indol-HCN. Genaue Massenmessung ergab für das Molekülion die Summenformel C₂₅H₁₇N₃ (gef. 359,14201, ber. 359,14224). Im EA-Spektrum von I treten Banden bei λ_{max} (ε) 465 (20000) und 286 nm (14800) auf. Bei Zugabe von HClO₄ zur Meßlösung erfährt das langwellige Maximum eine bathochrome Verschiebung von 4 nm. Im Einklang mit der Struktur I liegen die Signale des NMR-Spektrums (30 mg Perchlorat in 0,25 ml DMF-d₇, δ-Werte, innerer Standard TMS) bei 7,07(s), 7,12(s), 7,3,-7,5(m), 7,77(s), 7,84(s), 8,58(s,3H) und 13,4(m) ppm. Von besonderem Interesse sind die Signale bei 13,4 ppm (NH-Protonen; die Kopplung mit dem Stickstoff resultiert in einem breiten Multiplett) und bei 8,58 ppm. (die 3 α-Protonen der Indolringe, fehlt bei II, s.u.).

I läßt sich in methanolischer Lösung mit Natriumborhydrid zum Triindolylmethan IV reduzieren, das mit einem aus 3-Formylindol und Indol dargestellten Präparat ^{10,11} identisch ist (DC, EA- und Massenspektrum). Die Struktur des Triindolylmethans (β-Verknüpfung) ergibt sich aus der Darstellungsweise (unter schwach sauren Bedingungen der Kondensation reagiert 3-Formylindol nur mit der β-Stellung von Indol), sowie aus den spektroskopischen Befunden: Das Massenspektrum zeigt Peaks bei m/e 361 (100%): M⁺, m/e 360 (45%): M⁺-1, m/e 245 (9%): M⁺-Indolyl, m/e 244 (21%), m/e 243 (26%), m/e 180,5 (4%): M⁺⁺, m/e 117 (5%): ionisiertes Indol. Das EA-Spektrum von IV zeigt große Ähnlichkeit mit dem von Indol, jedoch etwa die dreifache molare Extinktion. Im NMR-Spektrum beobachtet man neben den typischen Indolsignalen ein Singulett bei δ=6,24 ppm (1H), das der CH-Gruppe entspricht (für Triphenylmethan liegt das entsprechende Signal bei 5,4 ppm).

Das Triindolylmethan IV läßt sich mit Chloranil in ätherischer Lösung zu I oxydieren (Ausbeute nach chromatographischer Aufarbeitung und Reinigung wie beim Naturprodukt 29%). Das Syntheseprodukt (I) ist mit dem aus Hefe gewonnenen Farbstoff identisch (EA-, IR-, NMR (freie Base und Perchlorat) -Spektrern, DC-Verhalten).

Zur Bestätigung der β -Verknüpfung von I und IV wurde II (durch Oxydation von ν 10) und III ¹¹ dargestellt. Das EA-Spektrum von II unterscheidet sich von dem von I nur wenig: λ_{\max} (ϵ) 495 (20000), 286 (12900), 265 (12400) und zeigt die gleiche geringfügige bathochrome Verschiebung bei Zusatz von Perchlorsäure. Zum Unterschied davon macht sich bei dem EA-Spektrum von III die α -Verknüpfung eindeutig bemerkbar: Das Spektrum der freien Base zeigt Maxima bei 283, 293 und 226 nm und einen kontinuierlichen Extinktionsabfall von 350 bis 600 nm. Zugabe von HClO_4 färbt die vorher schwach gelbe Lösung tiefblau: Im EA-Spektrum erscheint ein breites Maximum zwischen 500 und 600 nm (die Extinktion in diesem Bereich ist 10-20 mal so hoch wie bei der Base) und im UV-Bereich eine Schulter bei 260 und ein Maximum bei 217 nm. Es scheint, als ob sich α - bzw. β -verknüpfte Triindolylmethen-Systeme in ihren EA-Spektren ebenso voneinander unterscheiden, wie dies von Diindolylmethenen bereits bekannt ist. ^{12, 13}

Bestens danken möchten wir der Deutschen Forschungsgemeinschaft für Mittel zur Beschaffung des Massenspektrometers, dem Fonds der Chemischen Industrie für finanzielle Unterstützung, Herrn Prof. L. Jaenicke für seine Hilfe bei der Aufzucht größerer Mengen an Hefe und Herrn Prof. H. Günther und seinen Mitarbeitern für die Aufnahme der NMR-Spektren.

Literatur und Anmerkungen

1. P. Slonimski und J. Tavlitzki, *Comptes Rend.*, 232, 2263 (1951)
2. M. Ehrenberg und G. Keup, *Naturwissenschaften*, 51, 21 (1964)
3. W. Stoya, Dissertation, Univ. Würzburg, 1968
4. M. Ehrenberg und W. Stoya, *Z. Naturforsch.*, 24b, 243 (1969)
5. M. Ehrenberg und G. Halbach-Keup, *Arch. Mikrobiol.*, 69, 127 (1969)
6. M. Ehrenberg und G. Halbach-Keup, *Antonie v. Leeuwenhoek* 35, Suppl. Yeast Symposium (1969)
7. C. Zambonelli und M. E. Guerzoni, *Arch. Mikrobiol.*, 64, 272 (1969)
8. C. Zambonelli und M. E. Guerzoni, *Arch. Mikrobiol.*, 70, 288 (1970)
9. Die Massenspektren wurden mit dem Gerät SM-731 (Varian-MAT), die NMR-Spektren mit einem HA-100-Spektrometer (Varian) bzw. mit einem Brucker HX-90-Gerät, die EA-Spektren mit einem Carry-14 Recording Spectrophotometer (Applied Physics Corporation) und die IR-Spektren mit einem Gitterspektrometer Perkin-Elmer 125.
10. A. Calvaire und R. Pallaud, *Comptes Rend.*, 258, 606 (1964)
11. J. Bergmann, *J. Heterocyclic Chem.*, 8, 329 (1971)
12. H. v. Dobeneck und H. Prietzel, *Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem.*, 299, 214 (1955)
13. Die Möglichkeit einer Verknüpfung von 2 Indolringen in β und einem in α -Stellung (oder umgekehrt) wird u. a. ausgeschlossen durch das ¹³C-NMR-Spektrum von IV, das im Indol-Bereich 8 Signale zeigt, von denen nur 3 nicht durch H-Kopplung aufspalten (3, 3a und 7a). Selbst für den an sich äußerst

unwahrscheinlichen Fall, daß die ^{13}C -Signale von α - und β -substituierten Indolringen zusammenfallen (vergl. R.G.Parker und J.D.Robert, J.Org.Chem., 35, 996 (1970)) müßten bei "gemischter" Verknüpfung nur mehr 2 Signale durch H-Kopplung nicht aufspalten (3a und 7a).