

**Haematopodin, ein ungewöhnliches
Pyrrolochinolin-Derivat aus dem Blut-Helmling
(*Mycena haematopus*, Agaricales) ****

Von Carsten Baumann, Martin Bröckelmann,
Burkhard Fugmann, Bert Steffan, Wolfgang Steglich* und
William S. Sheldrick

Professor Meinhart H. Zenk zum 60. Geburtstag gewidmet

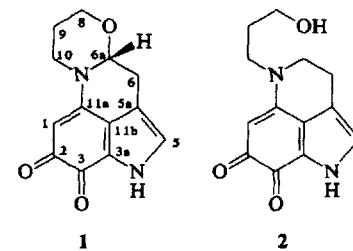
Der Blut-Helmling, *Mycena haematopus* (Pers. ex Fr.) Kummer, enthält einen braunroten Milchsaft, der bisher noch nicht chemisch untersucht worden ist. Wir haben nun aus dem Pilz einen Farbstoff isoliert, den wir Haematopodin nennen möchten.

Die Fruchtkörper werden sofort nach dem Sammeln in Methanol gegeben, wobei das Lösungsmittel eine rotviolette Farbe annimmt. Nach Entfernen des Methanols im Vakuum wird der rotbraune wässrige Rückstand an Sephadex LH-20 mit Methanol chromatographiert. Neben der rotvioletten Hauptfraktion erkennt man die langsamer laufende rosa Bande von Haematopodin, die sich bei jeder Rechromatographie des Hauptfarbstoffs von neuem bildet und auf diese Weise leicht in ausreichender Menge gewonnen werden kann. Abschließende Flash-Chromatographie (Kieselgel, $\text{CHCl}_3/\text{CH}_3\text{OH}$ 10/1) liefert reines Haematopodin, das aus Dichlormethan/Methanol als Monohydrat kristallisiert^[1].

Die Verbindung ist optisch aktiv ($[\alpha]_D^{23} + 571, c = 0.14$ in CH_3OH) und zeigt im UV/VIS-Spektrum (CH_3OH) Absorptionsmaxima bei 208 (log ϵ 3.99), 242 (4.27), 344 (4.03) und 514 nm (2.95, breit). Aus dem hochaufgelösten EI-Massenspektrum ergibt sich die Summenformel $\text{C}_{13}\text{H}_{12}\text{N}_2\text{O}_3$, die durch das FAB^+ -Massenspektrum bestätigt wird. Ein intensiver ($M^+ + 2\text{H}$)-Peak und der Verlust von CO aus dem Molekülion sprechen für das Vorliegen eines chinoiden Strukturelements.

Das $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum (Tabelle 1) weist im Bereich von Aliphaten Signale für die Strukturelemente $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}$ und $\text{CH}_2\text{CH}(\text{N},\text{O})$, Singulets bei $\delta = 5.37$ und 7.12 für Arenprotonen und ein breites NH-Signal bei

$\delta = 12.5$ auf. Die Analyse der Aren- und Carbonylsignale im ^1H -gekoppelten $^{13}\text{C-NMR}$ -Spektrum (Tabelle 1) lässt auf ein Indol-6,7-chinon-Chromophor schließen, wobei das Singulett bei $\delta = 180.28$ aufgrund fehlender H,C-Kopplungen der 6-Carbonylgruppe zugeordnet werden kann, während das Signal der 7-Carbonylgruppe bei $\delta = 169.50$ in $\text{CDCl}_3/\text{CD}_3\text{OD}$ (1/1) durch Kopplung mit dem Proton an C-5 zu einem Dublett ($^3J = 5.5$ Hz) aufgespalten wird. In $[\text{D}_6]\text{DMSO}$ ist nach Selektivkopplung dieses Protons eine zusätzliche 3J -Kopplung von 1.5 Hz zum Indol-NH zu erkennen. COLOC-Experimente^[2] ermöglichen die Verknüpfung dieser Strukturelemente, so daß Haematopodin mit 6,6a,9,10-Tetrahydro-4H,8H-[1,3]oxazino[3,2-a]pyrrolo[4,3,2-de]chinolin-2,3-dion 1 identisch ist.



Die Strukturformel von Haematopodin 1 wird durch die Röntgenstrukturanalyse (Abb. 1)^[3] bestätigt. Danach enthält die asymmetrische Einheit (Raumgruppe $P2_1$) neben zwei unabhängigen Molekülen 1 zwei Moleküle Wasser. Die Moleküle 1 sind über N-H ··· O(Wasser)- und O2 ··· H-O-

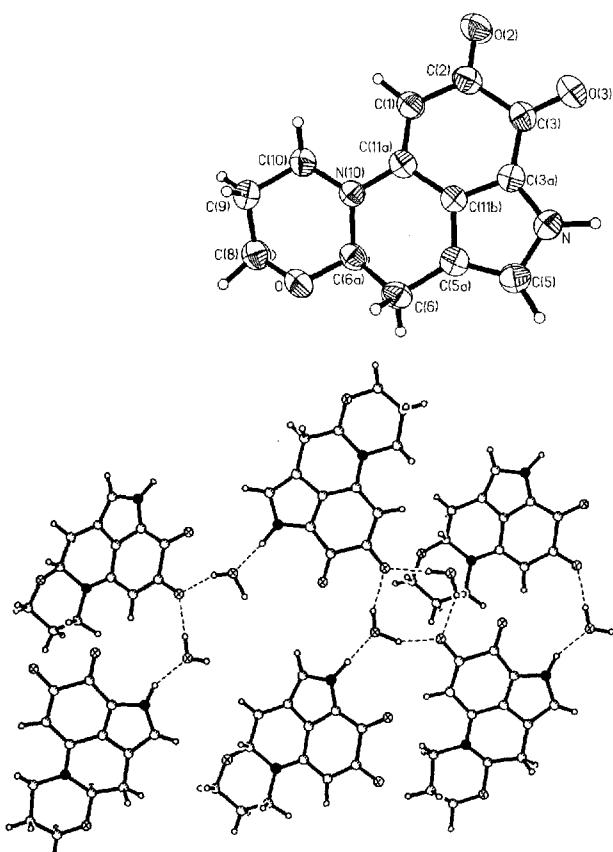


Abb. 1. Oben: Struktur des ersten unabhängigen Moleküls von 1 im Kristall (Projektion entsprechend IUPAC-Regeln). Unten: Verknüpfung der Moleküle von 1 über Wasserstoffbrückenbindungen.

Tabelle 1. ^1H - und $^{13}\text{C-NMR}$ -Daten von Haematopodin 1 (400 bzw. 100.6 MHz, in $[\text{D}_6]\text{DMSO}$, TMS).

$^1\text{H-NMR}$ ^[a]: $\delta = 1.53$ (m, 9b-H), 1.91 (ddddd, 9a-H), 2.78 (dd, 6b-H), 3.10 (dd, 6a-H), 3.40 (ddd, 10b-H), 3.86 (ddd, 8b-H), 3.95 (m, 10a-H), 3.96 (m, 8a-H), 5.10 (dd, 6a-H), 5.37 (s, 1-H), 7.12 (s, 5-H), 12.5 (br. s, NH).

$^{13}\text{C-NMR}$ ^[b]: $\delta = 24.76$ (t, $J = 130$ Hz, C-9), 26.13 (t, $J = 132$ Hz, C-6), 46.24 (tm, $J = 142$ Hz, C-10), 67.58 (tm, $J = 145$, 7 Hz, C-8), 87.88 (dq, $J = 161$, 7 Hz, C-6a), 94.87 (d, $J = 162$ Hz, C-1), 114.06 (m, C-5a^[c]), 123.11 (m, C-11b^[c]), 124.64 (d, $J = 8$ Hz, C-3a), 124.88 (d, $J = 188$ Hz, C-5), 151.43 (br. s, C-11a), 169.50 (d^[d], $J = 5.5$ Hz, C-3), 180.28 (s, C-2).

[a] J -Werte [Hz]: $J_{6a,6b} = 17$ Hz, $J_{6a,6a} = 6$, $J_{6b,6a} = 3.5$, $J_{8a,8b} = 11.5$, $J_{8a,9a} = 5$, $J_{8b,9a} = 12$, $J_{8b,8b} = 2.5$, $J_{9a,9b} = 13$, $J_{9a,10a} = 5$, $J_{9a,10b} = 13.2$, $J_{9b,10b} = 3.2$, $J_{10a,10b} = 13.5$. [b] 2J - und 3J -Beziehungen im 2D-COLOC-Spektrum: C-3: 1-H; C-3a: 5-H; C-5: 6b-H; C-5a: 5-H, 6a-H, 6b-H; C-6a: 6b-H, 8a-H, 8b-H, 10a-H; C-8: 10a-H; C-9: 10a-H, 10b-H; C-11a: 10a-H, 10b-H; C-11b: 1-H, 5-H, 6b-H. [c] Signale nicht eindeutig zuzuordnen. [d] In $\text{CDCl}_3/\text{CD}_3\text{OD}$ (1/1).

[*] Prof. Dr. W. Steglich, Dipl.-Chem. C. Baumann, Dr. M. Bröckelmann, Dr. B. Fugmann, Dr. B. Steffan
Institut für Organische Chemie der Universität
Karlstraße 23, D-80333 München
Telefax: Int. + 89/5902-604

Prof. Dr. W. S. Sheldrick
Lehrstuhl für Analytische Chemie der Ruhr-Universität Bochum, NC 4/72

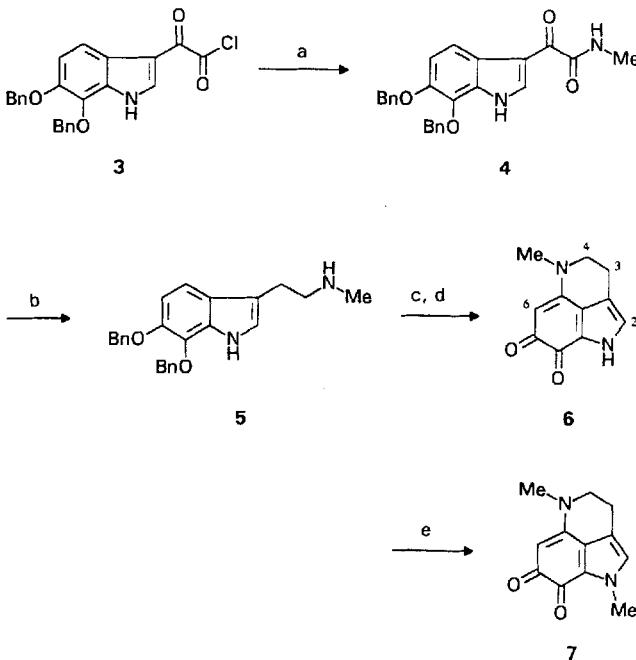
[**] Pilzfarbstoffe, 62. Mitteilung. Diese Arbeit wurde vom Bundesministerium für Wissenschaft und Technologie und vom Fonds der Chemischen Industrie gefördert. – 61. Mitteilung: H. Besl, A. Bresinsky, G. Geigenmüller, R. Herrmann, C. Kilpert, W. Steglich, *Liebigs Ann. Chem.* **1989**, 803.

(Wasser)-Wasserstoffbrücken miteinander verknüpft und bilden auf diese Weise eine Raumnetzstruktur. Nach dem Ergebnis der Röntgenstrukturanalyse können beide Moleküle von **1** der (6a*R*)-Konfiguration zugeordnet werden^[3].

Wie eingangs erwähnt, kommt Haematopodin im frischen Pilz, wenn überhaupt, nur in Spuren vor. Es bildet sich durch Zersetzung des äußerst empfindlichen nativen Farbstoffs, dessen Reinigung uns bisher noch nicht gelungen ist^[4]. Läßt man den Pilzextrakt in Methanol einige Wochen in einem geschlossenen Kolben am Tageslicht stehen, so ist nur noch Haematopodin nachzuweisen.

Verwandte 1,3,4,5-Tetrahydropyrrolo[4,3,2-*de*]chinolin-Farbstoffe wie Batzelline^[5] und Damiron^[6] wurden aus Meeresschwämmen isoliert. Für diese Verbindungen kann als Schlüsselschritt der Biosynthese die intramolekulare Cyclisierung eines Tryptamin-6,7-chinons angenommen werden. Im Falle von Haematopodin dürfte dabei zunächst die offenkettige Verbindung **2** entstehen, die dann oxidativ zum Oxazinderivat **1** cyclisiert wird.

Auf diese Weise ist eine einfache biomimetische Synthese von Damiron B **6** und Verbindung **2** möglich (Schema 1, Tabelle 2). Man geht dabei vom literaturbekannten 6,7-Di-



Schema 1. Synthese der Damiron B **6** und A **7**. Reagenzien und Reaktionsbedingungen: a) 1.0 Äquiv. **3**, 2.0 Äquiv. $\text{MeNH}_2 \cdot \text{HCl}$, 4.0 Äquiv. Et_3N , CH_2Cl_2 , Raumtemperatur (RT), 0.5 h (91%). b) 10 Äquiv. LiAlH_4 , THF, Rückfluß, 4 h (51%). c) H_2 , 10%-Pd-BaSO₄, MeOH, RT, 1.5 h. d) Luft-O₂, Et_3N , MeOH, RT, 1 h (76%, 2 Schritte). e) 1.0 Äquiv. **6**, 1.0 Äquiv. K_2CO_3 , 3.0 Äquiv. CH_3I , EtOH, Rückfluß, 1.5 h (89%).

benzyloxyindolyl-2-glyoxylsäurechlorid **3**^[7] aus, das im Falle von **6** mit Methylamin zum Amid **4** umgesetzt wird. Nach Reduktion zum Amin **5** werden die Benzylschutzgruppen hydrogenolytisch entfernt und das entstandene Dihydroxyindol-Derivat durch Röhren in Methanol unter Zusatz von etwas Triethylamin durch Luftsauerstoff zu Damiron B **6** cyclisiert. Die Verbindung erweist sich nach ihren spektroskopischen Daten als identisch mit dem Naturstoff^[6] und liefert bei der Methylierung mit Methyliodid und Zugabe von Kaliumcarbonat Damiron A **7**. Analog wurde ausgehend vom Säurechlorid **3** und 3-Aminopropanol die hypothetische Haematopodin-Vorstufe **2** hergestellt. Versuche,

Tabelle 2. Ausgewählte physikalische und spektroskopische Daten der Verbindungen **4**–**7** und **2**

4: gelbe Kristalle, Schmp. = 186 °C; ¹ H-NMR (400 MHz, $[\text{D}_6]\text{DMSO}$): δ = 2.75 (d, J = 4.8 Hz, 3H), 5.18 (s, 2H), 5.21 (s, 2H), 7.17 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 7.31–7.52 (m, 10H), 7.87 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 8.64 (s, 1H), 8.65 (q, J = 4.8 Hz, Amid-NH); EI-MS (70 eV): m/z 414.1582 (15%, M^+), ber. ($\text{C}_{25}\text{H}_{22}\text{N}_2\text{O}_4$) 414.1579.
5-Oxalat: Schmp. = 156 °C; ¹ H-NMR (400 MHz, $[\text{D}_6]\text{DMSO}$): δ = 2.56 (s, 3H), 2.99 (t, J = 8.0 Hz, 2H), 3.15 (t, J = 8.0 Hz, 2H), 5.13 (s, 2H), 5.15 (s, 2H), 6.93 (d, J = 8.8 Hz, 1H), 7.12 (d, J = 2.5 Hz, 1H), 7.23 (d, J = 8.8 Hz, 1H), 7.32–7.53 (m, 10H), 10.87 (d, J = 2.5 Hz, Indol-NH).
6: dunkelviolette Kristalle, Schmp. = 250 °C (Zers.); R_f = 0.28 (Kieselgel, $\text{CHCl}_3/\text{CH}_3\text{OH}$ 10/1); ¹ H-NMR (400 MHz, $\text{CDCl}_3/[\text{D}_6]\text{DMSO}$): δ = 2.92 (t, J = 6.8 Hz, 2H), 3.14 (s, 3H), 3.67 (t, J = 6.8 Hz, 2H), 4.00 (s, 1H, NH), 5.29 (s, 1H), 6.89 (s, 1H); ¹³ C-NMR (100.6 MHz, $\text{CDCl}_3/[\text{D}_6]\text{DMSO}$): δ = 20.3, 38.2, 51.7, 92.9, 116.7, 124.3, 125.0, 125.3, 154.0, 170.9, 179.1.
7: dunkelviolette Kristalle, Schmp. = 240 °C (Zers.); R_f = 0.38 (Kieselgel, $\text{CHCl}_3/\text{CH}_3\text{OH}$ 15/1); ¹ H-NMR (400 MHz, $\text{CDCl}_3/[\text{D}_6]\text{DMSO}$): δ = 2.86 (t, J = 6.8 Hz, 2H), 3.09 (s, 3H), 3.61 (t, J = 6.8 Hz, 2H), 3.91 (s, 3H), 5.27 (s, 1H), 6.67 (s, 1H); ¹³ C-NMR (100.6 MHz, $\text{CDCl}_3/[\text{D}_6]\text{DMSO}$): δ = 20.3, 36.0, 38.4, 51.9, 93.2, 115.9, 124.8, 125.0, 127.6, 154.5, 171.7, 179.4.
2: dunkelviolette Kristalle, Schmp. = 230 °C (Zers.); R_f = 0.31 (Kieselgel, $\text{CHCl}_3/\text{CH}_3\text{OH}$ 5/1); ¹ H-NMR (400 MHz, $[\text{D}_6]\text{DMSO}$): δ = 1.77 (quint, J = 6.8 Hz, 2H), 2.80 (t, J = 6.8 Hz, 2H), 3.45 (t, J = 6.8 Hz, 2H), 3.49 (t, J = 6.8 Hz, 2H), 3.63 (t, J = 6.8 Hz, 2H), 4.63 (s, 1H, OH), 5.20 (s, 1H), 7.08 (s, 1H), 12.36 (s, 1H, Indol-NH); ¹³ C-NMR (100.6 MHz, $[\text{D}_6]\text{DMSO}$): δ = 19.7, 29.7, 47.5, 49.4, 58.0, 92.0, 116.4, 123.8, 124.5, 125.0, 152.6, 170.5, 178.4; IR (KBr): $\tilde{\nu}_{\text{max}}$ = 3423, 3117, 2934, 2866, 1670, 1608, 1587, 1543, 1432, 1417, 1323, 1241, 1078, 762, 745 cm^{-1} ; EI-MS (70 eV): m/z 248 (68%, $M^+ + 2\text{H}$), 247 (44, $M^+ + \text{H}$), 246.1006 (42, M^+), ber. ($\text{C}_{13}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}_3$) 246.1004, 232 (26), 203 (100), 202 (88), 187 (54), 174 (50), 146 (79); UV/VIS: λ_{max} (CH_3OH) = 207, 245, 349, 521 nm.

diese Verbindung mit $\text{Hg}(\text{OAc})_2$ oder anderen Reagentien oxidativ zu **1** zu cyclisieren, blieben bisher erfolglos.

Diese Synthesen zeigen, daß 6,7-Dihydroxytryptamin-Derivate von Luftsauerstoff glatt in Pyrrolochinoline überführt werden. Weitere Untersuchungen zur Chemie der *Mycena*-Farbstoffe und zur Synthese von Haematopodin werden derzeit durchgeführt.

Eingegangen am 13. März 1993 [Z 5921]

[1] **1** $\times \text{H}_2\text{O}$: schwarze Kristalle; R_f = 0.61 (Kieselgel, $\text{CHCl}_3/\text{CH}_3\text{OH}$ 10/1); CD (CH_3OH): $[\theta]_{256} = 0$, $[\theta]_{307} = +2.35 \times 10^3$, $[\theta]_{320} = 0$, $[\theta]_{350} = -6.30 \times 10^3$, $[\theta]_{392} = 0$, $[\theta]_{505} = +5.32 \times 10^3$, $[\theta]_{530} = 0$; IR (KBr): $\tilde{\nu}_{\text{max}}$ = 3440 (sst), 3120, 3060, 2980, 2950, 2840, 2820 (alle m), 1680 (sst), 1640 (w), 1590, 1560, 1520 (br), 1490, 1455 (alle sst), 1420 (st), 1400, 1380, 1350 (alle w), 1340 (sst), 1300 (m), 1290 (m), 1250 (st), 1180, 1150, 1120 (alle m), 1060 (sst), 1090 (st), 1050 (st), 1000, 940, 910 (alle w), 900 (m), 870 (m), 800 (w), 680 (w) cm^{-1} ; EI-MS: (180 °C, DE): m/z 244.0850 (42%, M^+), ber. ($\text{C}_{13}\text{H}_{12}\text{N}_2\text{O}_3$): 244.0848.

[2] H. Kessler, C. Gricsinger, Z. Zarbock, H. R. Loosli, *J. Magn. Reson.* **1984**, 57, 331.

[3] Kristallstrukturdaten für **1**: $\text{C}_{13}\text{H}_{12}\text{N}_2\text{O}_3 \times \text{H}_2\text{O}$, monoklin, Raumgruppe $P2_1$, $a = 8.030(2)$, $b = 11.603(4)$, $c = 12.751(2)$ Å, $\beta = 92.79(5)$ °, $V = 1186.6(9)$ Å³, $M = 262.3$, $Z = 4$, $\rho_{\text{ber.}} = 1.47 \text{ g cm}^{-3}$; 4115 beobachtete Reflexe (einschließlich Friedel-Paare), Enraf-Nonius-CAD4-Diffraktometer, $\text{Cu}_{\text{K}\alpha}$ -Strahlung, ω -Abtastung, $2\theta_{\text{max}} = 140$ °. Die Verfeinerung ergab $R = 0.054$, $R_w = 0.053$. Der η -Faktor von Rogers wurde für die 6a-(*R*)-Konfiguration zu 0.8(6) verfeinert. Weitere Einzelheiten zur Kristallstrukturuntersuchung können beim Fachinformationszentrum Karlsruhe, Gesellschaft für wissenschaftlich-technische Information mbH, D-76344 Eggenstein-Leopoldshafen, unter Angabe der Hinterlegungsnummer CSD-57095, der Autoren und des Zeitschriftenzitats angefordert werden.

[4] Das UV/VIS-Spektrum des Rohextrakts stimmt mit dem von **1** weitgehend überein, ist aber im langwelligen Bereich deutlich bathochrom verschoben (λ_{max} (CH_3OH) = 242, 356, 530 nm).

[5] S. Sakemi, H. H. Sun, C. W. Jefford, G. Bernardinelli, *Tetrahedron Lett.* **1989**, 30, 2517; Synthese von Batzellin C: X. L. Tao, S. Nishiyama, S. Yamamura, *Chem. Lett.* **1991**, 1785.

[6] D. B. Stierle, D. J. Faulkner, *J. Nat. Prod.* **1991**, 54, 1131.

[7] F. G. Lee, D. E. Dickson, J. Suzuki, A. Zirnis, A. A. Manian, *J. Heterocycl. Chem.* **1973**, 10, 649.