

Synthesen von Gallenfarbstoffen, VIII¹⁾**Totalsynthese des *racem.* Phycoerythrobilin-dimethylesters***Albert Gossauer* und Erhard Klahr²⁾*

Institut für Organische Chemie der Technischen Universität Braunschweig,
Schleinitzstraße, D-3300 Braunschweig

Eingegangen am 9. Oktober 1978

Durch Entschwefelung der Dithioacetale **3d** und **9c** an desaktiviertem Raney-Nickel wurden 4-Methyl-3-vinyl-3-pyrrolin-2-on (**3e**) bzw. 5'-*tert*-Butoxycarbonyl-[4-vinyl]isoneobilirubinsäuremethylester (**11a**) synthetisiert. Letzterer wurde in das entsprechende 5'-Formyl-Derivat **11c** übergeführt, dessen Kondensation mit dem bekannten 3,4-Dihydro-5(1*H*)-pyrromethenon **10** ein Gemisch aus zwei diastereomeren Gallenfarbstoffen, *racem.* **12a** und *racem.* **12b**, lieferte, die durch präparative Schichtchromatographie getrennt werden konnten. *racem.* **12b** erwies sich als identisch mit Phycoerythrobilin-dimethylester, der durch Behandlung von R-Phycoerythrin mit siedendem Methanol erhalten wird.

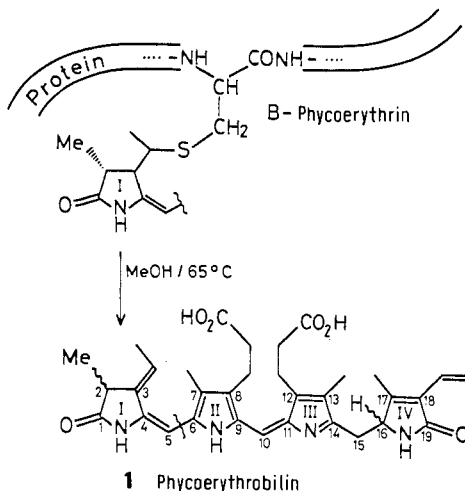
Syntheses of Bile Pigments, VIII¹⁾**Total Synthesis of Racemic Phycoerythrobilin Dimethyl Ester**

Desulfurization of the dithioacetals **3d** and **9c** on deactivated Raney nickel yielded 4-methyl-3-vinyl-3-pyrrolin-2-one (**3e**) and methyl 5'-*tert*-butoxycarbonyl-[4-vinyl]isoneobilirubinate (**11a**), respectively. The latter compound was transformed into the corresponding 5'-formyl derivative **11c** which reacted with the already known 3,4-dihydro-5(1*H*)-pyrromethenone **10** to yield a mixture of two diastereomeric bile pigments, *racem.* **12a** and *racem.* **12b**. After separation of the two components by preparative thin-layer chromatography, one of them, namely *racem.* **12b**, proved to be identical with phycoerythrobilin dimethyl ester which is obtained from R-phycoerythrin by treatment with boiling methanol.

Als Phycoerythrine bezeichnet man rot-violette Chromoproteide, die in Rot- und Blaualgen vorkommen; sie sind an der Photosynthese dieser Organismen beteiligt³⁾. Die prosthetische Gruppe der Phycoerythrine, die sowohl durch saure Hydrolyse^{4–6)} als auch durch Behandlung mit siedendem Methanol^{7, 8)} abgespalten werden kann, gehört konstitutiv der Verbindungsklasse der Gallenfarbstoffe an.

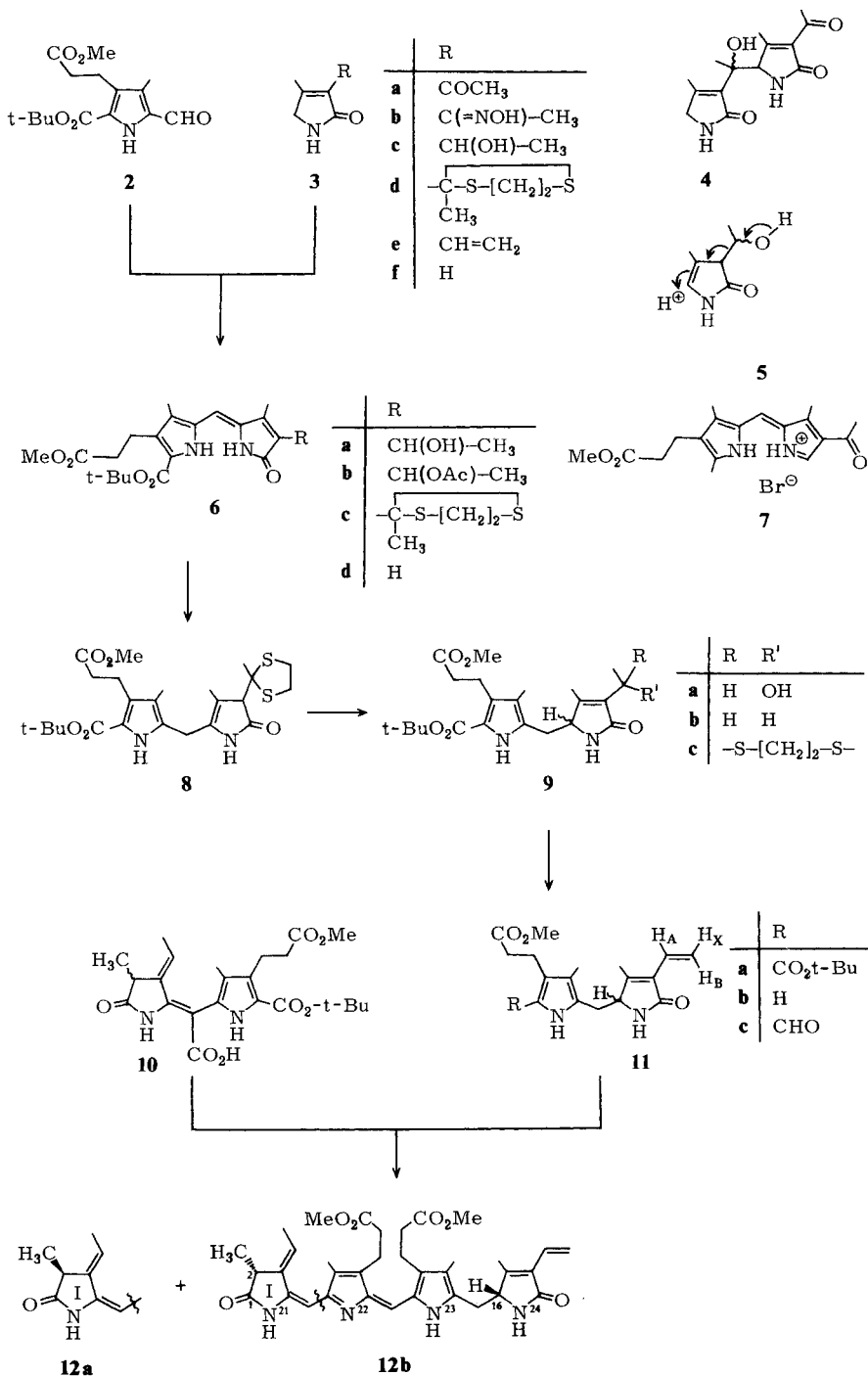
Es ist gegenwärtig bekannt, daß bei B-⁹⁾ und C-Phycoerythrin¹⁰⁾ – sowie vermutlich auch bei den anderen damit verwandten Chromoproteiden¹¹⁾ – die Polypeptid-Kette an der prosthetischen Gruppe kovalent gebunden ist, wobei eine der kovalenten Bindungen das Schwefelatom eines Cysteinmoleküls mit der Ethyl-Gruppe an C-3 des Chromophors verknüpft (s. Formel). Nach mehrstündigem Erhitzen in siedendem Methanol, wobei offensichtlich Spaltung der Thioether-Bindung unter Eliminierung des Protein-Teils stattfindet, läßt sich aus R-, B- und C-Phycoerythrin ein und derselbe Farbstoff, nämlich Phycoerythrobilin, isolieren^{7, 8)}, dessen Konstitutionsformel **1** aufgrund spektroskopischer Daten^{12, 13)} sowie der Konstitution der beim oxidativen Abbau des Farbstoffes entstandenen Produkte vorgeschlagen worden ist^{14, 15)}. Das Ziel der vor-

liegenden Arbeit war, die Richtigkeit der Konstitution von Phycoerythrobilin-dimethylester auf synthetischem Wege zu beweisen.



Nachdem im Rahmen der Totalsynthese von Phycocyanobilin-dimethylester das 3,4-Dihydro-5(1*H*)-pyrromethanon-Derivat **10**, ein ebenfalls geeigneter Vorläufer der linken Molekülhälfte des Phycoerythrobilins (s. Formel 1), dargestellt werden konnte^{1, 16)}, hing die Durchführbarkeit der Totalsynthese des letzteren von der Zugänglichkeit eines geeigneten Derivats der [4-Vinyl]isoneobilirubinsäure ab¹⁷⁾. [4-Vinyl]isoneobilirubinsäure (**11b**, CO₂H statt CO₂Me) konnte jedoch unter den Bedingungen, die zur Synthese der isomeren [3-Vinyl]neobilirubinsäure dienten¹⁸⁾, nicht hergestellt werden^{19, 20)}. Bei der Suche nach alternativen Möglichkeiten wurde zunächst die Synthese des 5(2*H*)-Dipyrrylmethanons **9a**, das unter Wasserabspaltung in das gewünschte [4-Vinyl]isoneobilirubinsäure-Derivat **11a** übergehen sollte, in Betracht gezogen. Ein ähnliches Konzept ist bereits im Hinblick auf die Synthese von [4-Vinyl]isoxanthobilirubinsäure bearbeitet worden²¹⁾. Da aber die Versuche zur Überführung des Acetylpyrromethens **7** in das entsprechende 5(1*H*)-Pyrromethanon-Derivat erfolglos geblieben waren, schien die Kondensation des mittlerweile bekannten²²⁾ 3-Acetyl-4-methyl-3-pyrrolin-2-ons (**3a**) mit dem Pyrrolcarbaldehyd **2**²³⁾ nach der vielfach bewährten Methode von *Pleninger* und *Lichtenwald*²⁴⁾ ein zweckmäßiger Weg zum Zwischenprodukt **6** (R = COCH₃) zu sein.

Das Edukt **3a** wird durch basenkatalysierte Cyclisierung von *N*-(Acetonyl)acetoacetamid dargestellt. Allerdings wurde unter den in der Literatur²²⁾ angegebenen Bedingungen hauptsächlich das Dimere **4** als Kondensationsprodukt von zwei Molekülen des gewünschten Acetyl-pyrrolinons **3a** erhalten. Erst in Gegenwart eines vielfachen Überschusses an 10proz. Natronlauge ließ sich die Ausbeute des letzteren auf 56% steigern. **3a** wurde spektroskopisch und durch Überführung in das Oxim **3b** eindeutig charakterisiert. Wegen der Tendenz von **3a** zur Selbstkondensation in alkalischem Medium kam die geplante Reaktion mit dem Pyrrolcarbaldehyd **2** in Gegenwart von Base nicht in Frage. Infolgedessen wurde zunächst die Acetyl-Gruppe von **3a** mit Diisobutylaluminiumhydrid²⁵⁾ reduziert und das erhaltene Carbinol **3c** mit **2** kondensiert. Überraschender-



weise setzt sich das Reaktionsprodukt aus einem Gemisch des 5(1*H*)-Pyrromethenon-Derivats **6d** und dessen erwarteten 4-(1-Hydroxyethyl)-Derivats **6a** zusammen. Die Bildung des ersteren, dessen Konstitution durch Kondensation des Pyrrolcarbaldehyds **2** mit **3f**²⁶⁾ bewiesen wurde, läßt sich durch Retroaldol-Kondensation des 3-Pyrrolin-2-ons **3c** (bzw. dessen Tautomeren **5**) und darauffolgende Reaktion des dabei entstandenen 4-Methyl-3-pyrrolin-2-ons (**3f**) mit **2** am plausibelsten erklären. Durch katalytische Hydrierung der exocyclischen Doppelbindung von **6a** in Gegenwart von Base wurde das entsprechende 5(2*H*)-Dipyrrylmethanon-Derivat **9a** erhalten. Wider Erwarten entstanden jedoch bei den Versuchen zur Darstellung des gewünschten [4-Vinyl]isoneobilirubinsäure-Derivats **11** durch Wasserabspaltung aus dem sekundären Carbinol **9a** lediglich komplexe Reaktionsgemische, deren Komponenten nicht näher untersucht wurden.

Versuche, **9a** in das Tosylat, Mesylat oder in das entsprechende Chlorid umzuwandeln, schlugen ebenfalls fehl. Infolgedessen wurde das 5(1*H*)-Pyrromethenon-Derivat **6a** in dessen Acetat **6b** übergeführt und letzteres unter den zur Reduktion von **6a** angewandten Bedingungen katalytisch hydriert. Es wurde jedoch nicht das entsprechende 5(2*H*)-Dipyrrylmethanon erhalten, sondern es fand reduktive Eliminierung der Acetoxy-Gruppe unter Bildung des bereits bekannten²³⁾ 5'-(*tert*-Butoxycarbonyl)isoneobilirubinsäure-methylesters (**9b**) statt.

Die Synthese des [4-Vinyl]isoneobilirubinsäure-Derivats **11a** gelang schließlich durch Entschwefelung des Dithioacetals **9c** an desaktiviertem Raney-Nickel (vgl. Lit.^{27–30)}). Als Edukt diente ebenfalls das Acetylpyrrolin-2-on **3a**, dessen leicht zugängliches Dithioacetal **3d** mit dem Pyrrolcarbaldehyd **2** zum 5(1*H*)-Pyrromethenon-Derivat **6c** kondensiert wurde. Da die katalytische Hydrierung der exocyclischen Doppelbindung von **6c** nicht in Frage kam, wurde versucht, unter Verwendung von Natriumamalgam das gewünschte 5(2*H*)-Dipyrrylmethanon **9c** zu erhalten. Unter den in der Literatur¹⁹⁾ zur Reduktion von 5(1*H*)-Pyrromethenonen angegebenen Bedingungen fand jedoch hauptsächlich Spaltung der Dithioacetal-Gruppe von **6c** unter Bildung von 5'-(*tert*-Butoxycarbonyl)isoneobilirubinsäure-methylester (**9b**) statt. Die selektive Hydrierung der exocyclischen Doppelbindung von **6c** gelang dagegen in schwach saurem Medium (pH = 5). Das erhaltene Reaktionsprodukt war jedoch nicht **9c**, sondern das isomere 5(4*H*)-Dipyrrylmethanon **8**, das analytisch eindeutig charakterisiert werden konnte. Die Isolierung von **8** bestätigt den Befund von *Plieninger* und Mitarbb.³¹⁾, daß 5(4*H*)-Dipyrrylmethanone als Primärprodukte der chemischen Reduktion von 5(1*H*)-Pyrromethenonen zu 5(2*H*)-Dipyrrylmethanonen mit Aluminiumamalgam gebildet werden.

In basischem Medium (1proz. Natriummethylat in Methanol) lagert sich das 5(4*H*)-Dipyrrylmethanon **8** quantitativ in dessen Isomeres **9c** um, das – wie bereits erwähnt – bei der Behandlung mit desaktiviertem Raney-Nickel das gewünschte [4-Vinyl]isoneobilirubinsäure-Derivat **11a** in 44proz. Ausbeute lieferte. Als Nebenprodukt wird 5'-(*tert*-Butoxycarbonyl)isoneobilirubinsäure-methylester (**9b**) isoliert, dessen Anteil von der Einhaltung der zur Desaktivierung des Katalysators angegebenen Bedingungen stark abhängt (s. Exp. Teil).

Unter den zur Entschwefelung von **9c** angewandten Bedingungen läßt sich aus **3d** das schwer zugängliche¹⁹⁾ 4-Methyl-3-vinyl-3-pyrrolin-2-on (**3e**), das mit einem auf unabhängigen Wege²⁰⁾ synthetisierten Präparat identifiziert wurde, in 60proz. Ausbeute darstellen. Die Bildung des entsprechenden 3-Ethyl-Derivats ist in diesem Falle weniger ausgeprägt als bei der Darstellung von **11a**.

Bei der Behandlung von **11a** mit Trifluoressigsäure findet Abspaltung von Isobuten und Decarboxylierung der primär gebildeten 5'-Carbonsäure unter Bildung von [4-Vinyl]-isoneobilirubinsäure-methylester (**11b**) statt. Letzterer erwies sich jedoch als unbeständig, so daß für präparative Zwecke die direkte Überführung des 5'-*tert*-Butoxycarbonyl-Derivats **11a** in den Aldehyd **11c** durch Reaktion des ersteren mit Triethylorthoformiat geeigneter ist ²⁰⁾.

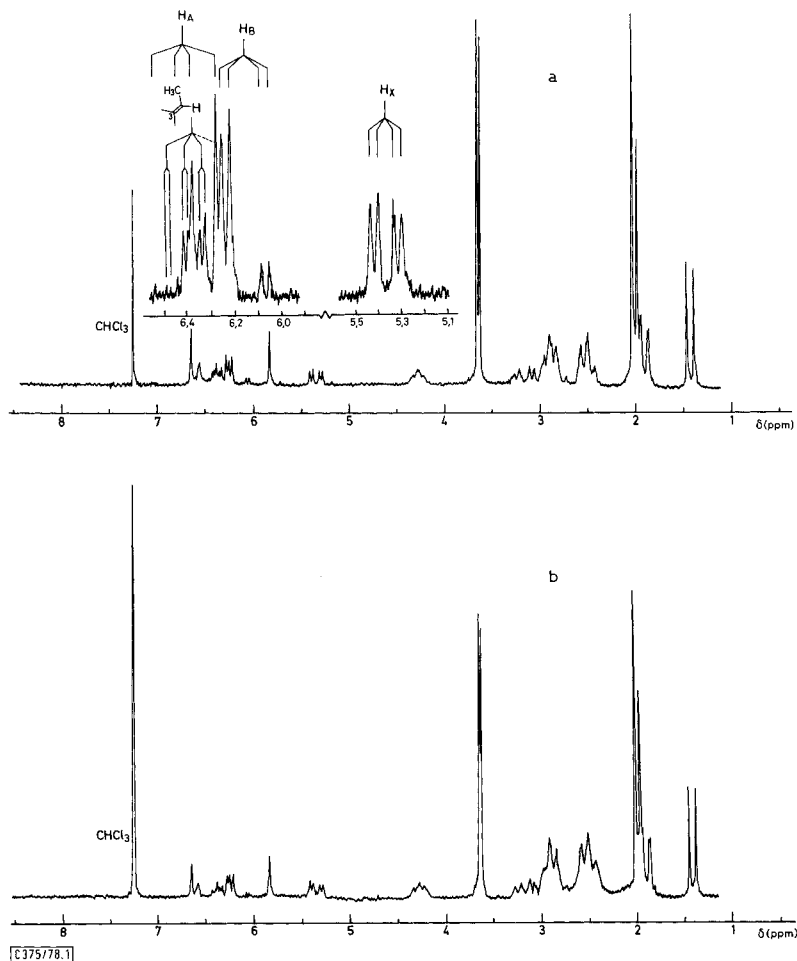


Abb. 1. 100 MHz-¹H-NMR-Spektrum von a) synthetischem **12b** und b) aus R-Phycoerythrin isoliertem Phycoerythrobilin-dimethylester (0,05- bzw. 0,01-M-Lösungen in CDCl₃; Tetramethylsilan als interner Standard)

Die Kondensation des 5'-Formyl-[4-vinyl]isoneobilirubinsäure-methylesters (**11c**) mit dem bekannten ^{1,16)} 3,4-Dihydro-5(1*H*)-pyrromethenon-Derivat **10** in Gegenwart von Methanol lieferte ein Gemisch aus den beiden Diastereomeren *racem.* **12a** und *racem.* **12b**, die durch präparative Schichtchromatographie an Kieselgel getrennt werden konnten.

Der Vergleich der entsprechenden R_F -Werte ergab, daß der aus R-Phycoerythrin³²⁾ durch Behandlung mit siedendem Methanol und Veresterung mit Diazomethan gewonnene Phycoerythrobilin-dimethylester identisch mit der *schneller* laufenden Komponente des Gemisches aus *racem.* **12a** und *racem.* **12b** ist. Die spektroskopischen Daten beider Diastereomeren sind untereinander sowie mit denjenigen des Naturproduktes innerhalb der Meßgenauigkeit gleich. In Abb. 1 sind beispielsweise die ^1H -NMR-Spektren des letzteren und des synthetischen Produktes gleichen R_F -Wertes gegenübergestellt. Somit ist die Konstitution des durch Abbau des Phycoerythrins mit siedendem Methanol isolierten Farbstoffes auf synthetischem Wege bewiesen. Es war allerdings prinzipiell nicht möglich, dem Naturprodukt aufgrund der mit racemischen Vorläufern durchgeführten Synthese eine der beiden diastereomeren Formeln *racem.* **12a** oder *racem.* **12b** zuzuordnen. Erst nachdem die absolute Konfiguration des Phycoerythrobilins an C-2 und C-16 durch stereoselektive Totalsynthese von dessen optisch aktivem Dimethylester aufgeklärt werden konnte³³⁾, läßt sich für das racemische Präparat die in Formel *racem.* **12b** dargestellte relative Konfiguration angeben.

Die vorliegende Arbeit wurde durch Mittel des *Niedersächsischen Vorabs der Stiftung Volkswagenwerk* gefördert. Der *Deutschen Forschungsgemeinschaft* und dem *Fonds der Chemischen Industrie* danken wir für die Gewährung von Sachbeihilfen. Wir danken Herrn Dr. L. Grotjahn (Abteilung für Physikalische Meßtechnik der Gesellschaft für Biotechnologische Forschung mbH., Braunschweig-Stöckheim) und Herrn Dr. H. M. Schiebel für die Messung der EI-Massenspektren sowie Herrn Dr. R. Kutschen für die Aufnahme der 90-MHz- ^1H -NMR-Spektren. Herrn Dr. L. Ernst und Herrn Dr. V. Wray (Gesellschaft für Biotechnologische Forschung mbH.) gilt unser Dank für die Aufnahme und Interpretation der 100-MHz- ^1H -NMR- und 25.2-MHz- ^{13}C -NMR-Spektren.

Experimenteller Teil

Schmelzpunkte: Kofler-Heiztischmikroskop der Fa. Reichert, nicht korrigiert. — Elementaranalysen: I. Beetz (D-8640 Kronach) und F. Pascher (D-5300 Bonn). — Massenspektren (MS): Spektrometer MS 9 und MS 30 der Fa. AEI sowie CH-4 der Fa. Varian-MAT. Die Zuordnungen der Fragment-Ionen entsprechen plausiblen, z.T. bekannten Fragmentierungsprozessen³⁴⁾, die mit der Konstitution der untersuchten Verbindungen zu vereinbaren sind. Sie sind jedoch weder durch hochaufgelöste Massenspektren noch durch Messung isotope-markierter Derivate belegt. — UV/VIS-Spektren: In Methanol, Spektralphotometer SP 800 B der Fa. Leitz-Unicam. — IR-Spektren: Spektralphotometer IR-5 der Fa. Beckman oder 157 G der Fa. Perkin-Elmer. — ^1H -NMR-Spektren: Wenn nicht anders angegeben, in CDCl_3 , Geräte T-60 und XL-100 der Fa. Varian sowie HFX 90 der Fa. Bruker-Physik AG, Tetramethylsilan interner Standard. Präparative Schichtchromatographie (PSC): Glasplatten 20×100 cm (Schichtdicke 1–2 mm, Aktivierung 4 h bei 140°C , Beladung pro Platte 0.1–1 g Komponentengemisch), Kieselgel H (bei farbigen Produkten) sowie Kieselgel 60 PF₂₅₄₊₃₆₆ (bei farblosen Produkten) der Fa. Merck. — Analytische Dünnschichtchromatographie: DC-Aluminiumfolien der Fa. Woelm, beschichtet mit Kieselgel bzw. mit Kieselgel F 254/366. Säulenchromatographie: Kieselgel 60, Korngröße 0.063–0.200 mm, Fa. Merck.

3-Pyrrolin-2-one

3-Acetyl-4-methyl-3-pyrrolin-2-on (**3a**): *N*-(Acetyl)acetoacetamid²²⁾ (6.4 g) wird mit 200 ml 10proz. Natronlauge 10 min bei Raumtemp. gerührt. Anschließend wird die Lösung unter Eiskühlung mit 10proz. Salzsäure neutralisiert und mit CHCl_3 extrahiert. Die organische Phase wird

filtriert und das Lösungsmittel im Rotationsverdampfer eingedampft. Der feste Rückstand wird aus Essigester kristallisiert. Ausb. 3.2 g (56%), Schmp. 126–128°C (Zers.) [Lit.²²⁾ 123–125°C (Zers.)].

IR(CHCl₃): 3450 (NH), 3220 (ass. NH), 3000 (CH), 1690 (CO), 1610 cm⁻¹, u. a. – 90-MHz-¹H-NMR: δ 2.36 und 2.55 (je ein s; CH₃), 3.99 (s, 2 H, CH₂), 7.75 ppm (br. s, NH). – MS (70 eV): m/e (%) = 139 (100) M⁺, 124 (38) M⁺ – CH₃, 96 (28), u. a.

3-[1-(Hydroxyimino)ethyl]-4-methyl-3-pyrrolin-2-on (3b): Zur Lösung von 104 mg Hydroxylamin-hydrochlorid und 94 mg Natriumacetat in 0.4 ml Wasser werden bei 60°C langsam 139 mg **3a** gegeben. Nach 10 min wird das Gemisch mit 10 ml Wasser verdünnt und die wäßr. Lösung mit Methylenchlorid extrahiert. Das Lösungsmittel wird i. Vak. eingedampft und der Rückstand aus Methanol umkristallisiert. Ausb. 115 mg (75%), Schmp. 171–174°C.

IR (KBr): 3350 (OH), 3100 (NH), 2870 (CH), 1670 (C=O), 1650 (C=N), 1630 (C=C), 1510, 1450, 1390, 995, 913 cm⁻¹ u. a. – 90-MHz-¹H-NMR (DMSO): δ = 1.99 und 2.05 (je ein s; CH₃), 3.86 (s; 2 H, CH₂), 8.01 (br.s; 1 H, NH), 11.00 (s; 1 H, OH). – MS (70 eV): m/e (%) = 154 (84) M⁺, 137 (100) M⁺ – OH, 122 (28) 137 – CH₃, 96 (39) u. a.

3-(1-Hydroxyethyl)-4-methyl-3-pyrrolin-2-on (3c): Eine gerührte Lösung von 139 mg **3a** in 20 ml wasserfreiem Benzol wird bei 0–5°C unter Stickstoff mit 1.5 ml 20proz. Diisobutylaluminiumhydrid tropfenweise versetzt. Nach 2stündigem Rühren bei gleicher Temp. gibt man 10 ml Methanol hinzu und läßt weitere 2 h stehen. Die ausgefallenen Aluminiumsalze werden abfiltriert und mit heißem Methanol gewaschen. Der nach Eindampfen des Lösungsmittels i. Vak. erhaltene Rückstand kann ohne weitere Reinigung zur Darstellung von **6** eingesetzt werden. Ausb. 130 mg (92%).

IR (Nujol): 3450 (OH), 3350 (NH), 2970 (CH), 1680 cm⁻¹ (C=O) u. a. – 60-MHz-¹H-NMR (DMSO): δ = 1.20 (d, J = 7 Hz; 3 H, Hydroxyethyl-CH₃), 1.97 (s; 3 H, 4-CH₃), 3.63 (s; 2 H, CH₂), 4.48 (q, J = 7 Hz; 1 H, CH), 4.70 (s; 1 H, OH), 7.80 (br. s; NH).

4-Methyl-3-(2-methyl-1,3-dithiolan-2-yl)-3-pyrrolin-2-on (3d): 1.6 g **3a** werden unter Eiskühlung mit 1.7 ml 1,2-Ethandithiol und 2 ml BF₃-Etherat versetzt und zuerst 50 min bei 0°C, danach 4 h bei Raumtemp. gerührt. Anschließend wird das ausgefallene Produkt abgenutscht, mit Ether gewaschen, getrocknet und aus CH₂Cl₂/Ether/n-Hexan umkristallisiert. Schmp. 160–163°C, Ausb. 1.8 g (75%).

IR (KBr): 3370 (NH), 2930 (CH), 1630 (C=O), 1620 (C=C), 1480, 1177, 1075, 906 cm⁻¹ u. a. – 90-MHz-¹H-NMR (DMSO): δ = 1.95 (s; 3 H, 4-CH₃), 2.22 (s; 3 H, Dithioacetal-CH₃), 3.25 (m; 4 H, Dithioacetal-CH₂), 3.75 (s; 2 H, 5-H), 8.00 (br.s; 1 H, NH). – MS (70 eV): m/e (%) = 215 (29) M⁺, 200 (4) M⁺ – CH₃, 182 (3), 172 (1) M⁺ – HNCO, 156 (100), 122 (21), 94 (6) u. a.

C₉H₁₃NOS₂ (215.3) Ber. C 50.20 H 6.09 N 6.50 S 29.78

Gef. C 49.67 H 6.04 N 6.35 S 29.39

4-Methyl-3-vinyl-3-pyrrolin-2-on (3e): Eine gerührte Suspension von Raney-Nickel W7³⁵⁾ in Aceton wird während 40 h unter Stickstoff am Sieden gehalten. Nach dem Abkühlen wird das Lösungsmittel mehrmals dekantiert und durch wasserfreies Ethanol ersetzt. Der so erhaltene desaktivierte Katalysator (6 g) wird in eine Lösung von 400 mg **3d** in 60 ml wasserfreiem Ethanol gegeben und das gerührte Reaktionsgemisch 24 h unter Stickstoff am Sieden gehalten. Zur Entfernung des Katalysators wird anschließend durch eine kurze Kieselgelsäule mit Methanol als Elutionsmittel filtriert. Das Lösungsmittel wird i. Vak. abgedampft und der Rückstand durch PSC an Kieselgel mit Methylenchlorid/Methanol (95:5) gereinigt. Ausb. 137 mg (60%), Schmp. 98–100°C. Die spektroskopischen Daten stimmen mit den in Lit.²⁰⁾ angegebenen Werten überein.

3-Acetyl-5-[1-hydroxy-1-(4-methyl-2-oxo-3-pyrrolin-3-yl)ethyl]-4-methyl-3-pyrrolin-2-on (**4**): Entsteht als Nebenprodukt bei der Darstellung von **3a**. Aus der Mutterlauge der Kristallisation des letzteren wurden 1.4 g (24%) isoliert. Schmp. 134–136°C (aus Essigester).

60-MHz-¹H-NMR (DMSO): δ = 1.48 (s; 3 H, Ethyl-CH₃), 1.82, 2.02 und 2.23 (je ein s; Pyrrolin- und Acetyl-CH₃), 2.68 (s; 1 H, 2-H) 3.25 und 3.32 (2 s; 2 H, 5'-H), 6.60 und 7.72 (je ein br.s; NH). – MS (70 eV): m/e (%) = 278 (22) M⁺, 260 (100) M⁺ – H₂O, 245 (3) 260 – CH₃, 204 (72), 188 (25) u. a.

5(1H)-Pyrromethenone

5'-tert-Butoxycarbonyl-1,5-dihydro-4-(1-hydroxyethyl)-3,3'-dimethyl-5-oxo-2,2'-pyrromethen-4'-propionsäure-methylester (**6a**): Eine Lösung von 141 mg rohem Carbinol **3c** und 295 mg **2**²³⁾ in 5 ml Methanol wird mit 10 ml 4 N KOH versetzt, 2 h bei 0°C gerührt und anschließend 12 h bei der gleichen Temp. stehengelassen. Danach wird durch Einleiten von SO₂ neutralisiert und das Lösungsmittel i. Vak. entfernt. Der Rückstand wird in Methanol aufgenommen, die nicht löslichen anorganischen Bestandteile werden abfiltriert, und die Lösung wird erneut im Rotationsverdampfer eingedampft. Der Rückstand wird in Methylenchlorid aufgenommen und an einer kurzen Kieselgelsäule mit Methylenchlorid/Methanol (9 : 1) als Elutionsmittel chromatographiert. Der nach Entfernen des Lösungsmittels verbleibende Rückstand wird in 20 ml Methanol gelöst und bei 0°C mit einer aus 2 g N-Nitrosomethylharnstoff hergestellten etherischen Diazomethan-Lösung versetzt. Das Lösungsmittel wird entfernt und der Rückstand durch PSC an Kieselgel mit Methylenchlorid/Methanol (93 : 7) gereinigt. Aus der langsamer laufenden intensiv gelben Zone werden 105 mg **6a** (25%) mit Methanol eluiert. Schmp. 191–193°C (aus Ether/n-Hexan).

OV: λ_{\max} (log ϵ) = 254 (sh), 260 (4.37), 388 (4.56), 406 nm (sh). – IR (CCl₄): 3500 (OH), 3320 (NH), 2930 (CH), 1745, 1690 und 1677 (C=O), 1396 und 1371 (tert-Butyl-CH), 1280, 1170, 1140 cm⁻¹ u. a. – 90-MHz-¹H-NMR: δ = 1.55 (d, J = 7 Hz; 3 H, Hydroxyethyl-CH₃), 1.60 (s; 9 H, tert-Butyl-CH₃), 2.13 und 2.15 (je ein s; 3- und 3'-CH₃), 2.48 (m; 2 H, Propionsäure- α -CH₂), 2.97 (m; 2 H, Propionsäure- β -CH₂), 3.66 (s; 3 H, OCH₃), 4.60 (q, J = 7 Hz; 1 H, Hydroxyethyl-CH), 4.80 (br. s; 1 H, OH), 6.08 (s; 1 H, Methin-H), 10.30 und 12.70 (je ein br. s; 2 H, NH). – MS (70 eV): m/e (%) = 418 (27) M⁺, 400 (11) M⁺ – H₂O, 362 (100) M⁺ – Isobuten, 344 (53) 362 – H₂O, 302 (31) 362 – HCO₂CH₃, 284 (31) 344 – HCO₂CH₃, u. a.

Aus der schneller laufenden intensiv gelben Zone isoliert man 21 mg (6%) eines Nebenproduktes, das mit synthetischem **6d** identifiziert wurde.

4-(1-Acetoxyethyl)-5'-tert-butoxycarbonyl-1,5-dihydro-3,3'-dimethyl-5-oxo-2,2'-pyrromethen-4'-propionsäure-methylester (**6b**): Die Lösung von 100 mg **6a** in einem Gemisch aus 10 ml Benzol und 4 ml Pyridin wird bei 0°C unter Rühren mit 0.1 ml Acetylchlorid versetzt. Die gekühlte Lösung wird 2 h gerührt und danach das überschüssige Acetylchlorid durch Zugabe von 1 ml Methanol zerstört. Nach Abdampfen des Lösungsmittels i. Vak. wird das noch vorhandene Pyridin durch mehrmalige Zugabe von Benzol und Eindampfen der Lösung im Rotationsverdampfer vollständig entfernt. Die Lösung des Rückstands in Methylenchlorid wird filtriert und das Lösungsmittel erneut entfernt. Das Rohprodukt wird durch PSC an Kieselgel mit Methylenchlorid/Methanol (95 : 5) gereinigt und aus Ether/n-Hexan umkristallisiert. Ausb. 80 mg (75%), Schmp. 150–152°C.

UV: λ_{\max} (log ϵ) = 253 (sh), 260 (4.35), 390 (4.55), 408 nm (sh). – IR (KBr): 3290 (NH), 2900 (CH), 1730, 1690 und 1660 (C = O), 1400 und 1370 (tert-Butyl-CH), 1280, 1250 („Acetat-Bande“), 1168, 1140, 1070 cm⁻¹ u. a. – 90-MHz-¹H-NMR: δ = 1.56 (d, J = 7 Hz; 3 H, Ethyl-CH₃), 1.56 (s; 9 H, tert-Butyl-CH₃), 2.03 (s; 3 H, COCH₃), 2.10 und 2.27 (je ein s; 3- und 3'-CH₃), 2.50 (m; 2 H, Propionsäure- α -CH₂), 3.00 (m; 2 H, Propionsäure- β -CH₂), 3.70 (s; 3 H, OCH₃), 5.95 (q, J = 7 Hz; 1 H, Ethyl-CH), 6.10 (s; 1 H, Methin-H), 9.55 und 9.80 (je ein br. s; NH). – MS (70 eV): m/e (%) = 460

(11) M^+ , 404 (45), $M^+ - \text{Isobuten}$, 400 (41) $M^+ - \text{HCO}_2\text{CH}_3$, 344 (100) 400 – Isobuten, 300 (78) 344 – CO_2 , 284 (96) 344 – HCO_2CH_3 u.a.

5'-tert-Butoxycarbonyl-1,5-dihydro-3,3'-dimethyl-4-(2-methyl-1,3-dithiolan-2-yl)-5-oxo-2,2'-pyrromethen-4'-propionsäure-methylester (6c): Eine Lösung von 2.15 g **3d** und 2.95 g **2**²³⁾ in 35 ml Methanol wird unter Rühren bei 0°C mit 100 ml 4 N KOH versetzt, 1 h bei 0°C gerührt und danach 12 h bei 4°C stehengelassen. Anschließend wird mit 50 ml Methanol versetzt und 7 h bei 0°C gerührt. Nach Zugabe von 1.5 l Wasser wird die entstandene 5(1H)-Pyrromethenon-propionsäure mit 50proz. Essigsäure gefällt. Der Niederschlag wird abgenutscht, mit kaltem Wasser gewaschen und getrocknet. Die Säure wird in 300 ml Methanol gelöst und bei 0°C portionsweise mit etherischer Diazomethan-Lösung (hergestellt aus 15 g Nitrosomethylharnstoff) versetzt. Das nach Abdampfen des Lösungsmittels erhaltene Produkt wird durch Säulenchromatographie an Kieselgel mit Methylenchlorid/Methanol (95:5) als Elutionsmittel gereinigt und kann aus viel n-Hexan kristallisiert werden. Ausb. 2.8 g (58%), Schmp. 76–78°C.

UV: λ_{max} (log ϵ) = 253 (sh), 261 (4.36), 393 (4.57), 410 nm (sh). – IR (KBr): 3370 (NH), 2900 (CH), 1730 und 1650 (C=O), 1450, 1393 und 1372 (*tert*-Butyl-CH), 1287, 1175, 1145 cm^{-1} u.a. – 90-MHz-¹H-NMR: δ = 1.53 (s; 9 H, *tert*-Butyl-CH₃), 2.08 (s; 3- und 3'-CH₃), 2.44 (s; 3 H, Dithioacetal-CH₃), 2.52 (m; 2 H, Propionsäure- α -CH₂), 3.02 (m; 2 H, Propionsäure- β -CH₂), 3.34 (m; 4 H, Dithioacetal-CH₂), 3.68 (s; 3 H, OCH₃), 6.08 (s; 1 H, Methin-H), 8.54 und 9.38 (je ein br.s; NH). – MS (70 eV): m/e (%) = 492 (38) M^+ , 436 (13) $M^+ - \text{Isobuten}$, 433 (13) $M^+ - \text{CO}_2\text{CH}_3$, 377 (100) 436 – CO_2CH_3 , 333 (27) u.a.

$\text{C}_{24}\text{H}_{32}\text{N}_2\text{O}_5\text{S}_2$ (492.7) Ber. C 58.51 H 6.55 N 5.69 S 13.02
Gef. C 58.41 H 6.73 N 5.98 S 13.02

5'-tert-Butoxycarbonyl-1,5-dihydro-3,3'-dimethyl-5-oxo-2,2'-pyrromethen-4'-propionsäure-methylester (6d): Ein eisgekühltes Gemisch aus 58 mg **2**²³⁾ und 194 mg **3f**²⁶⁾ wird mit 20 ml 4 N KOH und 7 ml Methanol versetzt und über Nacht bei 0°C gerührt. Die entstandene 5(1H)-Pyrromethenon-propionsäure wird mit Essigsäure ausgefällt, abfiltriert, getrocknet, danach in 100 ml Methanol gelöst und bei 0°C mit einer aus 2 g Nitrosomethylharnstoff hergestellten etherischen Diazomethan-Lösung verestert. Das Produkt wird durch PSC an Kieselgel mit Methylenchlorid/Methanol (95:5) gereinigt. Ausb. 480 mg (61%), Schmp. 205–206°C (aus Methylenchlorid/Ether).

UV: λ_{max} (log ϵ) = 228 (sh), 230 (4.26), 390 (4.43), 406 nm (sh). – IR (KBr): 3330 und 3320 (NH), 2910 (CH), 1730 und 1675 (C=O), 1400 und 1388 (*tert*-Butyl-CH), 1283, 1140 cm^{-1} u.a. – 90-MHz-¹H-NMR: δ = 1.58 (s; 9 H, *tert*-Butyl-CH₃), 2.11 (s; 3 H, 3'-CH₃), 2.22 (d, ⁴*J* = 1.5 Hz; 3 H, 3-CH₃), 2.50 (m; 2 H, Propionsäure- α -CH₂), 3.02 (m; 2 H, Propionsäure- β -CH₂), 3.67 (s; 3 H, OCH₃), 5.97 (q, ⁴*J* = 1.5 Hz; 1 H, 4-H), 6.03 (s; 1 H, =CH-Brücke), 9.98 und 10.30 (je ein br. s; NH). – MS (70 eV): m/e (%) = 374 (40) M^+ , 318 (100) $M^+ - \text{Isobuten}$, 258 (72) 318 – HCO_2CH_3 , 197 (34) u.a.

5(4H)-Dipyrromethanone

5'-tert-Butoxycarbonyl-4,5-dihydro-3,3'-dimethyl-4-(2-methyl-1,3-dithiolan-2-yl)-5-oxo-2,2'-dipyrromethan-4'-propionsäure-methylester (8): Eine Lösung von 1.0 g **6c** in 150 ml Methanol wird bei –10°C mit 1 g Natriumacetat und 2 ml Essigsäure versetzt. Anschließend wird unter Rühren portionsweise 5proz. Natriumamalgam bis zur Entfärbung der Lösung zugegeben, wobei die Protonenkonzentration des Reaktionsgemisches durch mehrmalige Zugabe von Essigsäure bei pH \approx 5 einzustellen ist. Nach Beendigung der Reaktion wird die Lösung vom Quecksilber dekantiert und i. Vak. eingengt. Der Rückstand wird in Methylenchlorid aufgenommen und die Lösung mit Wasser geschüttelt. Die organische Phase wird abgetrennt, durch ein trockenes Faltenfilter filtriert und i. Vak. eingedampft. Das erhaltene Produkt wird durch PSC an Kieselgel mit Methylenchlorid/Methanol (95:5) gereinigt. Ausb. 950 mg (94%), Schmp. 84–88°C (aus n-Hexan).

UV: $\lambda_{\max}(\log \epsilon) = 282 \text{ nm}$ (4.10). — IR (KBr): 3260 (NH), 2880 (CH), 1730 und 1670 (C=O), 1392 und 1370 (*tert*-Butyl-CH), 1280, 1170, 1140 cm^{-1} u.a. — 90-MHz- ^1H -NMR: $\delta = 1.51$ (s; 9H, *tert*-Butyl-CH₃), 1.68 (s; 3H, Dithioacetal-CH₃), 1.95 und 2.00 (je ein s; 3- und 3'-CH₃), 2.47 (m; 2H, Propionsäure- α -CH₂), 2.96 (m; 2H, Propionsäure- β -CH₂), 3.30 (m; 4H, Dithioacetal-CH₂), 3.44 (s; 1H, 4-H), 3.57 (s; 2H, CH₂-Brücke), 3.65 (s; 3H, OCH₃), 7.88 (br.s; 1H, Lactam-NH), 9.43 (br.s; 1H, Pyrrol-NH). — MS (70 eV): m/e (%) = 494 (8) M⁺, 438 (18) M⁺ — Isobuten, 407 (4) 438 — CH₃O, 376 (2) M⁺ — 2-Methylen-1,3-dithiolan, 320 (5) 376 — Isobuten, 280 (38) substituiertes Azafulvenium-Ion³⁶⁾, 224 (100) 280 — Isobuten u.a.

5(2H)-Dipyrlylmethanone

5'-*tert*-Butoxycarbonyl-2,5-dihydro-4-(1-hydroxyethyl)-3,3'-dimethyl-5-oxo-2,2'-dipyrlylmethan-4'-propionsäure-methylester (**9a**): 42 mg **6a** werden in 200 ml 10proz. methanolischer Natriumethylat-Lösung in Gegenwart von 40 mg Pd/C (10% Pd) bei Raumtemp. und Normaldruck solange hydriert, bis die stöchiometrische Wasserstoffmenge aufgenommen worden ist. Die Lösung wird filtriert, der Katalysator mit Methanol gewaschen und die vereinigten Filtrate werden durch

6H, Propionsäuren- β -CH₂, davon überlagert CH₂-Brücke), 3.24 (q, $J = 7 \text{ Hz}$; 2-H), 3.64 und 3.66 (je ein s; OCH₃), 4.28 (m; 16-H), 5.36 (dd, $J_{\text{AX}} = 12$, $J_{\text{BX}} = 2 \text{ Hz}$, $\text{H}_\text{X}^{37)$), 5.84 (s; 5-H), 6.15 (dd, $J_{\text{AB}} = 18$, $J_{\text{BX}} = 2 \text{ Hz}$; $\text{H}_\text{B}^{37)$), 6.39 (dq, $^3J = 7.6$, $^4J = 2.2 \text{ Hz}$; Ethyliden-H), 6.42 (dd, $J_{\text{AB}} = 18$, $J_{\text{AX}} = 12 \text{ Hz}$; $\text{H}_\text{A}^{37)$), 6.65 (s; 10-H). — 25.2-MHz- ^{13}C -NMR (CD₂Cl₂): $\delta = 9.29$, 9.84, 12.45, 15.00 und 19.29 (je ein q; CH₃), 20.34 (t; Propionsäuren- α -C), 29.26 (t; C-15), 35.67 (t; Propionsäuren- β -C), 38.89 (d; C-2), 51.80 (q; OCH₃), 59.28 (d; C-16), 88.09 (d; C-5), 113.62 (d; C-10), 118.79 (t; Vinyl-CH₂), 123.43 (d; Ethyliden-CH), 126.39 (d; Vinyl-CH), 118.94, 128.16, 128.98, 131.35, 131.93, 133.68, 136.25, 143.15, 145.90, 147.65 und 154.21 (je ein s; quartäre Ring-C-Atome), 166.54 (s; C-1), 173.40 und 173.45 (je ein s; Ester-CO), 179.33 (s; C-19). — MS (70 eV): m/e (%) = 614 (51) M⁺, 599 (8) M⁺ — CH₃, 492 (100) M⁺ — 4-Methyl-2-oxo-3-vinyl-3-pyrrolinyl-Radikal, 478 (12) 492 — (4-Methyl-2-oxo-3-vinyl-3-pyrrolin-5-yl)methyl-Radikal, 302 (78), 180 (80) substituiertes Azafulvenium-Ion³⁶⁾ — [Isobuten + CO₂] u.a.

C₃₅H₄₂N₄O₆ (614.7) Ber. C 68.38 H 6.89 N 9.11

Gef. C 68.36 H 6.85 N 9.00

Phycoerythrin-dimethylester aus R-Phycoerythrin: Eine Lösung von 500 mg denaturiertem R-Phycoerythrin³²⁾ in 75 ml Methanol wird 16 h unter Rückfluß gekocht. Zur Abtrennung der Proteinanteile wird die dunkelrote Lösung durch eine Kieselgelsäule filtriert. Das Filtrat wird auf 40 ml i. Vak. eingengt und mit einer aus 200 mg Nitrosomethylharnstoff hergestellten etherischen Diazomethan-Lösung versetzt. Danach wird das Lösungsmittel i. Vak. entfernt, der Rückstand in 20 ml Wasser aufgenommen und die Lösung mit Methylenchlorid extrahiert. Die organische Phase wird trocken filtriert, das Lösungsmittel i. Vak. abgedampft und das erhaltene Produkt durch PSC an Kieselgel mit Ether/Essigester (1:1) gereinigt. Ausb. 4 mg, Schmp. 183–186 °C (aus Methylenchlorid/Ether/n-Hexan) (Lit.¹²⁾ 183–184 °C, aus Aceton/Wasser), R_F 0.23 und 0.36 (an Kieselgel mit Ether/Essigester (1:1) bzw. Essigester). R_F -Wert sowie Spektren stimmen mit denjenigen von **12b** überein.

5'-tert-Butoxycarbonyl-2,5-dihydro-3,3'-dimethyl-5-oxo-4-vinyl-2,2'-dipyrromethan-4'-propionsäure-methylester = 5'-tert-Butoxycarbonyl-[4-vinyl]isoneobilirubinsäure-methylester (**11a**): Entsprechend der Vorschrift zur Darstellung von **3e** wird eine Lösung von 1.0 g **9c** in 200 ml wasserfreiem Ethanol mit 14 g desaktiviertem Raney-Nickel 20 h unter Rückfluß gekocht. Das nach Aufarbeitung des Reaktionsgemisches erhaltene Produkt wird durch PSC an Kieselgel mit Ether/Essigester (85 : 15) gereinigt. Ausb. 360 mg (44%), Schmp. 168–170°C (aus Methylenchlorid/Ether/n-Hexan). Die spektroskopischen Daten stimmen mit den in Lit.²⁰⁾ angegebenen Werten überein. Als Nebenprodukt isoliert man **9b**, das bei der chromatographischen Trennung einen etwas kleineren R_F -Wert als **11a** aufweist.

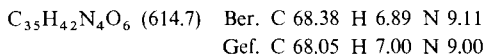
2,5-Dihydro-3,3'-dimethyl-5-oxo-4-vinyl-2,2'-dipyrromethan-4'-propionsäure-methylester = [4-Vinyl]isoneobilirubinsäure-methylester (**11b**): In eine Lösung von 32 mg **11a** in 2 ml Trifluoressigsäure wird 15 min Argon eingeleitet. Das Lösungsmittel wird anschließend durch Überleiten eines Stickstoffstroms vertrieben. Der Rückstand gibt nach PSC an Kieselgel mit Essigester/Ether (1 : 1) 15 mg (63%) **11b**, dessen Kristallisation nicht gelang.

IR (CHCl₃): 3423 und 3342 (NH), 3004 (Vinyl-CH), 2959 und 2925 (CH), 1728 und 1682 (C=O), 1470, 1170 cm⁻¹ u. a. – 100-MHz-¹H-NMR: δ = 1.98 und 2.07 (je ein s; 3- und 3'-CH₃), 2.2–2.8 (m; 5H, Propionsäure-CH₂, davon überlagert ein H der CH₂-Brücke), 3.1 (dd; 1H, ²J = 15, ³J \approx 4 Hz; ein H der CH₂-Brücke), 3.68 (s; 3H, OCH₃), 4.00 (m; 1H, 2-H), 5.41 (dd; J_{AX} = 11, J_{BX} = 2 Hz; H_X), 6.23 (dd; J_{AB} = 18, J_{BX} = 2 Hz; H_B), 6.41 (dd; J_{AB} = 18, J_{AX} = 11 Hz; H_A), 6.41 (s; 1H, 5'-H), 6.82 (br. s; 1H, Lactam-NH), 8.40 (br. s; 1H, Pyrrol-NH). – MS (70 eV): m/e (%) = 302 (16) M⁺, 271 (13) M⁺ – OCH₃, 180 (100) substituiertes Azafulvenium-Ion³⁶⁾ – [Isobuten + CO₂] u. a.

Phycoerythrobiline

racem. (2S,16R)- und *racem.* (2R,16R)-3-Ethyliden-2,7,13,17-tetramethyl-18-vinyl-1,19-dioxo-1,2,3,15,16,19,21,24-octahydro-23H-bilin-8,12-dipropionsäure-dimethylester = *racem.* (2S,16R)- und *racem.* (2R,16R)-Phycoerythrobilin-dimethylester (*racem.* **12a** bzw. *racem.* **12b**): Eine Lösung von 20 mg 5'-Formyl-[4-vinyl]isoneobilirubinsäure-methylester (**11c**), der aus **11a** gemäß Lit.²⁰⁾ dargestellt wurde, und 30 mg **10**¹¹⁾ in 2 ml Trifluoressigsäure wird unter Argon 15 min bei Raumtemp. stehengelassen. Danach werden 6 ml Methanol hinzugegeben, wobei die Lösungsfarbe von gelbbraun nach violett umschlägt. Nach 30 min Stehenlassen bei Raumtemp. wird das Gemisch mit 20 ml Methylenchlorid verdünnt und mit wäBr. NaHCO₃-Lösung neutral gewaschen. Die organische Phase wird abgetrennt, durch ein trockenes Faltenfilter filtriert und i. Vak. eingedampft. Der Rückstand wird durch PSC an Kieselgel mit Ether/Essigester (1 : 1) in die diastereomeren Produkte aufgetrennt.

Aus der langsamer laufenden Zone wurden 22 mg (30%) *racem.* **12a** isoliert, Schmp. 153–156°C (aus Methylenchlorid/Ether/n-Hexan), R_F = 0.18 und 0.31 (an Kieselgel mit Ether/Essigester (1 : 1) bzw. Essigester). Die spektroskopischen Daten stimmen mit denjenigen von *racem.* **12b** überein (s. nachstehend).



Aus der schneller laufenden Zone wurden 22 mg (30%) *racem.* **12b** isoliert, Schmp. 196–198°C (aus Aceton), R_F = 0.23 und 0.36 (an Kieselgel mit Ether/Essigester (1 : 1) bzw. Essigester).

UV/VIS: λ_{max} (log ϵ) = 305 (sh), 318 (4.28), 331 (sh), 500 (sh), 530 nm (4.53). UV/VIS (5proz. methanol. HCl): λ_{max} (log ϵ) = 328 (4.27), 386 (sh), 600 (sh), 594 nm (4.69). – IR (CCl₄): 3440 und 3230 (NH), 2950 und 2910 (CH), 1730 und 1695 (C=O), 1600, 1430 cm⁻¹ u. a. – 100-MHz-¹H-NMR: δ = 1.43 (d, J = 7 Hz; 3H, 2-CH₃), 1.91 (dd, ³J = 7.6, ⁵J = 1.2 Hz; 3H, Ethyliden-CH₃), 1.98 (3H) und 2.03 (6H) (je ein s; CH₃), 2.4–2.7 (m; 4H, Propionsäuren- α -CH₂), 2.8–3.0 (m;

6H, Propionsäuren- β -CH₂, davon überlagert CH₂-Brücke), 3.24 (q, $J = 7$ Hz; 2-H), 3.64 und 3.66 (je ein s; OCH₃), 4.28 (m; 16-H), 5.36 (dd, $J_{AX} = 12$, $J_{BX} = 2$ Hz, H_X³⁷), 5.84 (s; 5-H), 6.15 (dd, $J_{AB} = 18$, $J_{BX} = 2$ Hz; H_B³⁷), 6.39 (dq, $^3J = 7.6$, $^4J = 2.2$ Hz; Ethyliden-H), 6.42 (dd, $J_{AB} = 18$, $J_{AX} = 12$ Hz; H_A³⁷), 6.65 (s; 10-H). — 25.2-MHz-¹³C-NMR (CD₂Cl₂); $\delta = 9.29$, 9.84, 12.45, 15.00 und 19.29 (je ein q; CH₃), 20.34 (t; Propionsäuren- α -C), 29.26 (t; C-15), 35.67 (t; Propionsäuren- β -C), 38.89 (d; C-2), 51.80 (q; OCH₃), 59.28 (d; C-16), 88.09 (d; C-5), 113.62 (d; C-10), 118.79 (t; Vinyl-CH₂), 123.43 (d; Ethyliden-CH), 126.39 (d; Vinyl-CH), 118.94, 128.16, 128.98, 131.35, 131.93, 133.68, 136.25, 143.15, 145.90, 147.65 und 154.21 (je ein s; quartäre Ring-C-Atome), 166.54 (s; C-1), 173.40 und 173.45 (je ein s; Ester-CO), 179.33 (s; C-19). — MS (70 eV); m/e (%) = 614 (51) M⁺, 599 (78) M⁺ - CH₃, 492 (100) M⁺ - 4-Methyl-2-oxo-3-vinyl-3-pyrrolinyl-Radikal, 478 (12) 492 - (4-Methyl-2-oxo-3-vinyl-3-pyrrolin-5-yl)methyl-Radikal, 302 (78), 180 (80) substituiertes Azafulvenium-Ion³⁰ - [Isobuten + CO₂] u. a.

C₃₅H₄₂N₄O₆ (614.7) Ber. C 68.38 H 6.89 N 9.11

Gef. C 68.36 H 6.85 N 9.00

Phycocerythrin-dimethylester aus R-Phycocerythrin: Eine Lösung von 500 mg denaturiertem R-Phycocerythrin³² in 75 ml Methanol wird 16 h unter Rückfluß gekocht. Zur Abtrennung der Proteinanteile wird die dunkelrote Lösung durch eine Kieselgelsäule filtriert. Das Filtrat wird auf 40 ml i. Vak. eingengt und mit einer aus 200 mg Nitrosomethylharnstoff hergestellten etherischen Diazomethan-Lösung versetzt. Danach wird das Lösungsmittel i. Vak. entfernt, der Rückstand in 20 ml Wasser aufgenommen und die Lösung mit Methylenchlorid extrahiert. Die organische Phase wird trocken filtriert, das Lösungsmittel i. Vak. abgedampft und das erhaltene Produkt durch PSC an Kieselgel mit Ether/Essigester (1:1) gereinigt. Ausb. 4 mg. Schmp. 183–186 °C (aus Methylenchlorid/Ether/n-Hexan) (Lit.¹²) 183–184 °C, aus Aceton/Wasser), R_F 0.23 und 0.36 (an Kieselgel mit Ether/Essigester (1:1) bzw. Essigester). R_F -Wert sowie Spektren stimmen mit denjenigen von **12b** überein.

Literatur

- ¹¹ VII. Mitteil.: A. Gossauer und R.-P. Hinze, J. Org. Chem. **43**, 283 (1978).
- ²² Teil der Dissertation von E. Klahr, Techn. Univ. Braunschweig, Dezember 1976.
- ²³ L. N. M. Duysens, J. Ames und B. M. Kamp, Nature (London) **190**, 510 (1961).
- ³¹ R. Lemberg und G. Bader, Liebigs Ann. Chem. **505**, 151 (1933).
- ⁵³ C. O'hEocha, Arch. Biochem. Biophys. **73**, 207 (1958).
- ⁶⁴ P. O'Carra, C. O'hEocha und D. M. Carroll, Biochemistry **3**, 1343 (1964).
- ⁷¹ D. J. Chapman, W. J. Cole und H. W. Siegelman, Phytochemistry **7**, 1831 (1968), und dort zitierte Literatur.
- ⁸² J. Pecci und E. Fujimori, Phytochemistry **9**, 637 (1970).
- ⁹¹ E. Köst-Reyes, H.-P. Köst und W. Rüdiger, Liebigs Ann. Chem. **1975**, 1594.
- ¹⁰² G. Muckle, J. Otto und W. Rüdiger, Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem. **359**, 345 (1978).
- ¹¹¹ H.-P. Köst, W. Rüdiger und D. J. Chapman, Liebigs Ann. Chem. **1975**, 1582.
- ¹²² D. J. Chapman, W. J. Cole und H. W. Siegelman, J. Am. Chem. Soc. **89**, 5976 (1967).
- ¹³³ H. L. Crespi und J. J. Katz, Phytochemistry **8**, 759 (1969).
- ¹⁴⁴ W. Rüdiger, P. O'Carra und C. O'hEocha, Nature (London) **215**, 1477 (1967).
- ¹⁵⁵ W. Rüdiger und P. O'Carra, Eur. J. Biochem. **7**, 509 (1969).
- ¹⁶⁶ A. Gossauer und W. Hirsch, Liebigs Ann. Chem. **1974**, 1496.
- ¹⁷⁷ In der vorliegenden Arbeit wird die sogenannte Austauschnomenklatur verwendet (s. R. Bonnett, Ann. N. Y. Acad. Sci. **206**, 745 (1973)). Demnach wird der Substituent, der sich in der Formel der durch den Trivialnamen bezeichneten Verbindung befindet, durch die in eckigen Klammern angegebene funktionelle Gruppe an der betreffenden Position ersetzt.
- ¹⁸⁸ H. Plieninger und R. Steinsträsser, Liebigs Ann. Chem. **723**, 149 (1969).
- ¹⁹⁹ H. Plieninger, K.-M. Hentschel und R.-D. Kohler, Liebigs Ann. Chem. **1974**, 1522.
- ²⁰⁰ A. Gossauer und J.-P. Weller, Chem. Ber. **111**, 486 (1978).
- ²¹¹ H. Lichtenwald, Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem. **273**, 118 (1942).
- ²²² T. Kato, M. Sato und T. Yoshida, Chem. Pharm. Bull. **19**, 292 (1971).

- ²³⁾ A. Gossauer und D. Miede, Liebigs Ann. Chem. **1974**, 352.
- ²⁴⁾ H. Plieninger und H. Lichtenwald, Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem. **273**, 206 (1942).
- ²⁵⁾ R. J. P. Corrin und J. P. Masse, J. Chem. Soc. D **1970**, 213.
- ²⁶⁾ H. Plieninger und M. Decker, Liebigs Ann. Chem. **598**, 198 (1956).
- ²⁷⁾ J. Fishman, M. Torigoe und H. Guzik, J. Org. Chem. **28**, 1443 (1963).
- ²⁸⁾ J. A. Steele, L. A. Cohen und E. Mosettig, J. Am. Chem. Soc. **85**, 1134 (1963).
- ²⁹⁾ C. Djerassi und D. H. Williams, J. Chem. Soc. **1963**, 4046.
- ³⁰⁾ D. A. Ben-Efraim und F. Sondheimer, Tetrahedron **25**, 2823 (1969).
- ³¹⁾ H. Plieninger, K. H. Hentschel und A. Siddiqui, unveröffentlicht (vgl. Fußnote auf S. 1525 in Lit.¹⁹⁾).
- ³²⁾ Wir danken Herrn Prof. H. W. Siegelman (Brookhaven National Laboratory, Upton, N. Y.) für die freundliche Überlassung von denaturiertem R-Phycoerythrin aus *Phormidium luridum*.
- ³³⁾ A. Gossauer und J.-P. Weller, J. Am. Chem. Soc. **100**, 5928 (1978).
- ³⁴⁾ H. Budzikiewicz, C. Djerassi, A. H. Jackson, G. W. Kenner, D. J. Newman und J. M. Wilson, J. Chem. Soc. **1964**, 1949.
- ³⁵⁾ H. R. Billica und H. Adkins, Org. Synth. **29**, 24 (1949), Org. Synth., Coll. Vol. 3, S. 176, J. Wiley and Sons, Inc. New York 1955.
- ³⁶⁾ 5-*tert*-Butoxycarbonyl-4-(2-methoxycarbonylethyl)-3-methyl-2-methylen-2*H*-pyrrolium-Ion.
- ³⁷⁾ Die Protonen der Vinyl-Gruppe wurden entsprechend Formel **11** zugeordnet.

[375/78]