

128. Über einige in 2-Stellung substituierte 5-Hydroxyindole

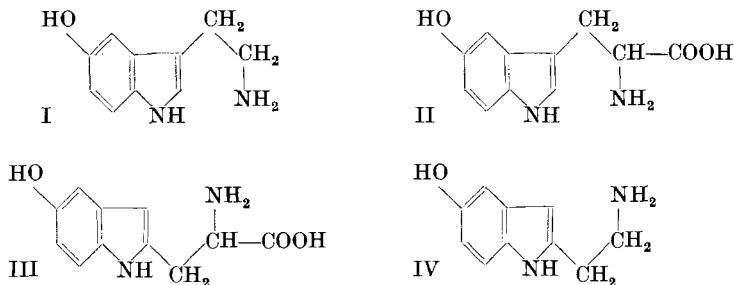
von W. Schindler.

Herrn Prof. Dr. T. Reichstein zum 60. Geburtstage gewidmet.

(27. IV. 57.)

Über die biologische Bedeutung von 3-(β -Aminoäthyl)-5-hydroxy-indol (I) (Serotonin, Enteramin) sind in den letzten Jahren eine Reihe wichtiger Beobachtungen gemacht worden¹⁾. Die biochemische Entstehung dieser Wirksubstanz soll nach *Udenfriend* und Mitarbeitern²⁾ durch enzymatische Oxydation von Tryptophan in der Niere erfolgen, wobei normalerweise in einer ersten Stufe 5-Hydroxy-tryptophan (II) gebildet wird. Durch Decarboxylierung mit Hilfe einer spezifischen Decarboxylase wird aus 5-Hydroxy-tryptophan (II) Serotonin (I) gebildet.

Es ist nun beobachtet worden, dass das sog. Isotryptophan, in dem der α -Alaninrest am C-2 des Indolgerüsts haftet, antagonistisch gegenüber Tryptophan wirkt³⁾. Für biochemische Vergleichsversuche in der Serotoninreihe benötigten wir *d,l*-5-(5'-Hydroxy-2'-indolyl)- α -aminopropionsäure (*d,l*-5-Hydroxy-isotryptophan, III) und 2-(β -Aminoäthyl)-5-hydroxy-indol (IV), das wir in Analogie zu Isotryptophan als Isoserotonin bezeichnen.



IV soll auf die Möglichkeit, als biologischer Antagonist zu Serotonin zu funktionieren, geprüft werden. Dass diese Möglichkeit besteht, mit strukturell verwandten Verbindungen die Wirkung von

¹⁾ *J. H. Page*, *Physiological Reviews* **34**, 563 (1954); *V. Erspamer*, *Il sistema enterocromaffini e l'Enteramina*, in „*Rendiconti Scientifici Farmitalia*“, Vol. I (1954); *V. Erspamer & B. Asero*, *Nature (London)* **169**, 800 (1952).

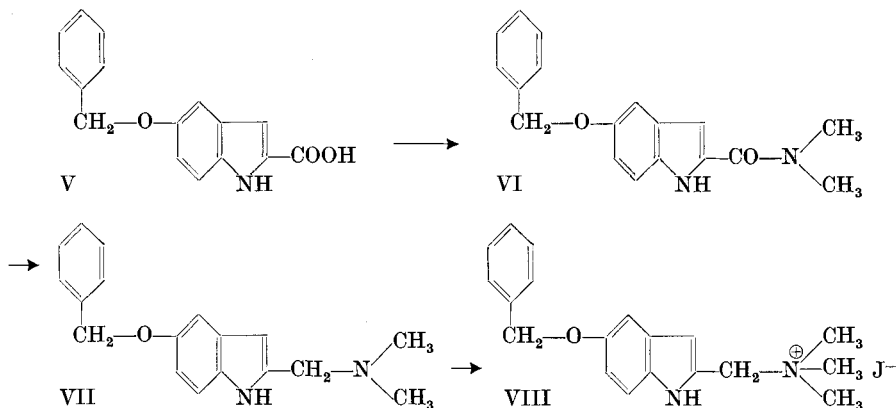
²⁾ *S. Udenfriend, C. T. Clark & E. Titus*, *J. Amer. chem. Soc.* **75**, 501 (1953); *Experientia* **8**, 379 (1952); *Fed. Proc.* **12**, 282 (1953).

³⁾ *E. C. Kornfeld*, *J. org. Chemistry* **16**, 806 (1951).

Serotonin zu beeinflussen, ist an verschiedenen Indolderivaten geprüft worden⁴⁻⁶).

Über die Darstellung von III⁷) und IV⁸) soll im folgenden berichtet werden. Für den Aufbau der Alaninderivate benützten wir einen analogen Weg, wie er von *Snyder*⁹) ausgehend von Gramin durch Reaktion mit Acylaminomalonester und anschliessender Verseifung beschrieben wurde. Als Ausgangsmaterial hiez zu diente 2-Dimethylaminomethyl-5-benzyloxy-indol, dessen Darstellung auf folgendem Wege gelang.

5-Benzyloxyindol-2-carbonsäure¹⁰) (V) wird in benzolischer Lösung in das Säurechlorid übergeführt. Dieses wird, ohne isoliert zu werden, mit Dimethylamin ins Dimethylamid VI übergeführt. Die anschliessende Reduktion mit Lithiumaluminiumhydrid ergibt das 2-Dimethylaminomethyl-5-benzyloxy-indol (VII). Im Gegensatz zu Gramin, das sich schon als tertiäres Amin für C-Alkylierungen gut eignet¹¹), muss das 2-Dimethylaminomethyl-5-benzyloxy-indol für den Umsatz mit Formylaminomalonester quaterniert werden.



Das aus dem quaternären Salz VIII und Formylaminomalonester erhaltene Kondensationsprodukt war nicht der erwartete substituierte Malonester X, sondern der substituierte Propionsäureester IX. Im Gegensatz dazu konnte *Kornfeld*¹²) bei der Synthese des Isotryptophans den acylierten Malonester fassen. Dieser unterschiedliche Reak-

⁴) *E. Shaw & D. W. Woolley*, J. Amer. chem. Soc. **75**, 1877 (1953).

⁵) *D. W. Woolley & E. Shaw*, J. Amer. chem. Soc. **74**, 2948 (1952).

⁶) *E. Shaw*, J. Amer. chem. Soc. **77**, 4319 (1955).

⁷) Schweiz. Patentanmeldung vom 12. 4. 56.

⁸) Schweiz. Patentanmeldung vom 5. 5. 56.

⁹) *H. R. Snyder & C. W. Smith*, J. Amer. chem. Soc. **66**, 350 (1944); *E. E. Howe, A. J. Zambito, H. R. Snyder & M. Tishler*, J. Amer. chem. Soc. **67**, 38 (1945).

¹⁰) *W. R. Böhme*, J. Amer. chem. Soc. **76**, 5580 (1954).

¹¹) Cf. *H. Hellmann*, Angew. Chemie **65**, 473 (1953).

¹²) *E. C. Kornfeld*, J. org. Chemistry **16**, 806 (1951).

tionsverlauf ist eventuell durch Auftreten einer Alkoholyse und anschließender Decarboxylierung zu erklären¹³). Die anschließende alkalische Verseifung der Carbäthoxy- und der Formylamino-Gruppe liefert das *d,l*-5-Benzoyloxy-isotryptophan (XI), dessen Debenzylierung mit Wasserstoff in Gegenwart von Palladium zum *d,l*-5-Hydroxy-isotryptophan (III) führt.

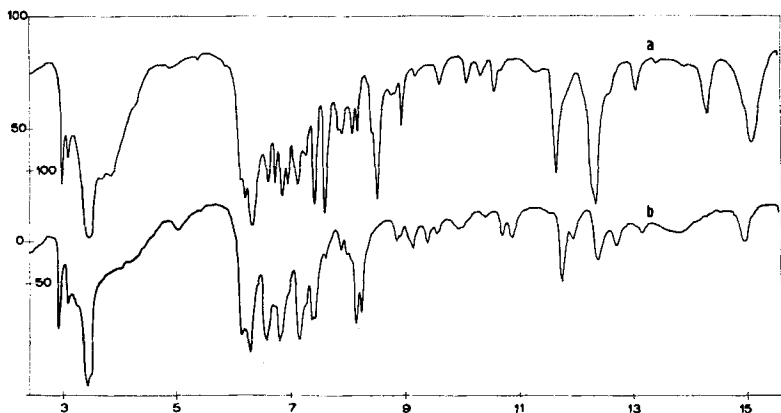
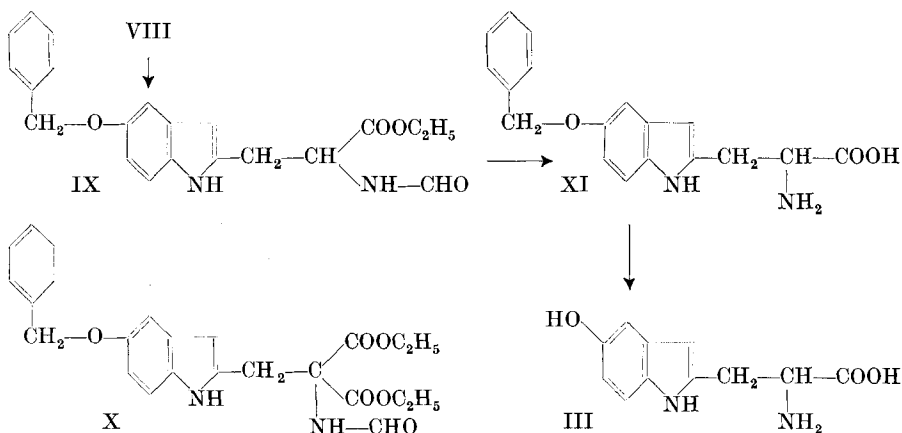


Fig. 1.

IR.-Spektren von a) 5-Hydroxy-isotryptophan (III) und
b) 5-Hydroxy-tryptophan (II), Nujolverreibungen.

Fig. 1 zeigt die IR.-Spektren von III und II¹⁵). Beide Verbindungen liegen, wie andere α -Aminosäuren¹⁴), in zwitterionischer Form vor. Dies ergibt sich aus dem Fehlen einer normalen Carboxyl-C=O-

¹³) Paul La Verne, Dissertation University of Illinois (1954).

¹⁴) Vgl. L. J. Bellamy, *Infrared Spectra of Complex Molecules*, S. 200ff., Methuen & Co., London 1954.

¹⁵) A. Ek & B. Witkop, *J. Amer. chem. Soc.* **76**, 5580 (1954).

Valenzschwingung, welche durch die starke Bande des Carboxylat-Ions bei $6,29\ \mu$ (II) bzw. $6,32\ \mu$ (III) ersetzt ist, und aus der Bande der NH_3^+ -Gruppe bei $6,58\ \mu$ (II) bzw. $6,59\ \mu$ (III). In bezug auf die kurzwelligere Bande der gleichen Gruppe (bei *Bellamy*¹⁴) als „Amino-Acid I“ bezeichnet) ist das Bild nicht klar, weil im gleichen Bereich noch zwei Banden des aromatischen Systems zu erwarten sind. Bei II scheinen diese mit den Absorptionen der Aminosäure zusammenzufallen, so dass nur ein Maximum bei $6,14\ \mu$ auftritt. Bei III werden dagegen zwei Maxima bei $6,13$ und $6,20\ \mu$ beobachtet.

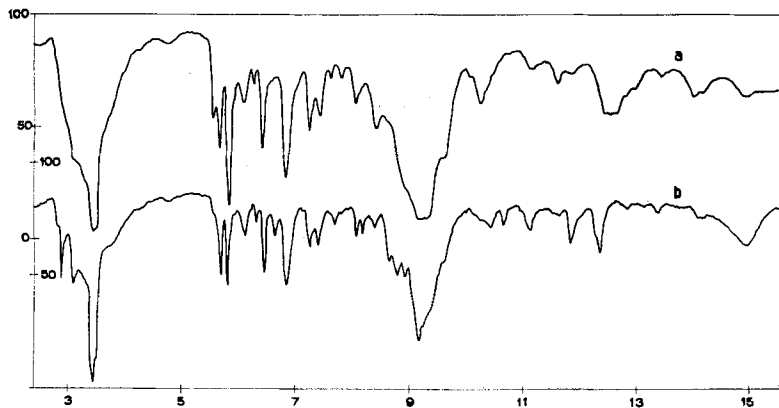


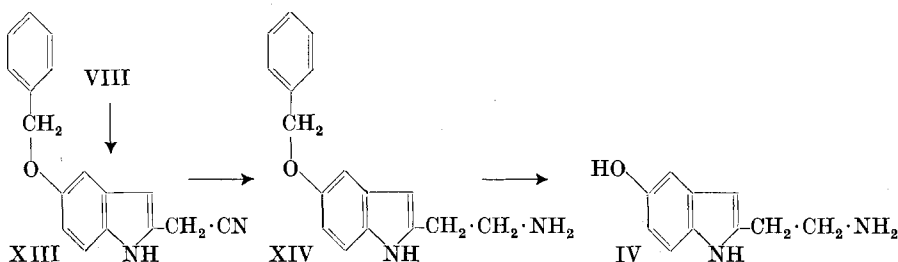
Fig. 2.

IR.-Spektren von a) Isoserotonin-kreatininsulfat-Doppelsalz und
b) Serotonin-kreatininsulfat-Doppelsalz, Nujolverreibungen.

Die kurzwelligste Bande ($2,94\ \mu$ bei II, $3,00\ \mu$ bei III) ist wahrscheinlich der NH-Valenzschwingung des Indols zuzuschreiben, die benachbarte ($3,09\ \mu$ bei II, $3,10\ \mu$ bei III) vermutlich der phenolischen Hydroxylgruppe.

Für die Darstellung des Isoserotonins (IV) gingen wir vom quaternären Salz VIII aus, das mit Kaliumcyanid in mässiger Ausbeute in das substituierte Acetonitril XIII umgesetzt werden konnte. Bei analogen Reaktionsstufen zur Synthese von Serotonin konnte *Witkop*¹⁵) neben 5-Benzyloxy-indol-3-acetonitril das entsprechende substituierte Acetamid fassen; in unserer Reihe konnte neben XIII und viel harzigen Produkten kein einheitlicher Stoff mit den Eigenschaften von 5-Benzyloxy-indol-2-acetamid gefunden werden. Die Reduktion des Acetonitrils XIII mit Lithiumaluminiumhydrid in Tetrahydrofuran lieferte 5-Benzyloxy-2-(β -aminoäthyl)-indol (XIV), dessen katalytische Debenzylierung das 5-Hydroxy-2-(β -aminoäthyl)-indol (IV) gab. Da die Base als solche nicht kristallisiert erhalten werden konnte, wurde sie als salzsaures Salz isoliert. Dieses ist sehr luftempfindlich

und färbt sich nach kurzer Zeit tiefviolett. Beständiger ist das Kreatininsulfat-Doppelsalz, das gut kristallisiert.



In Fig. 2 sind die IR.-Spektren der Kreatininsulfat-Doppelsalze von Isoserotonin und von Serotonin wiedergegeben. Soweit sich beurteilen lässt, stimmt unsere Aufnahme mit dem bereits bekannten¹⁶⁾ Spektrum des Serotonins befriedigend überein.

Die IR.-Spektren verdanken wir Herrn Dr. E. Girod. Sie wurden auf einem Spektrographen Perkin-Elmer Modell 21 aufgenommen (NaCl-Prisma, Resolution 927, Speed 1 Min./ μ , Suppr. 2, Response 1—1).

Experimenteller Teil.

Alle Smp. sind auf dem Kofler-Block bestimmt und korrigiert. Fehlergrenze $\pm 2^\circ$.

A. *d,l*-5-Hydroxy-isotryptophan (III). — 1. 5-Benzoyloxy-indolcarbonsäure(2)-dimethylamid (VI). 24 g 5-Benzoyloxy-indolcarbonsäure¹⁰⁾ werden in 600 cm³ abs. Benzol suspendiert und tropfenweise unter Einleiten von Stickstoff mit 25 cm³ Thionylchlorid versetzt. Die Carbonsäure geht dabei langsam in Lösung. Nach dem Zutropfen wird noch 2 Std. unter Rückfluss gehalten; anschliessend werden ca. 250 cm³ Benzol abdestilliert. Die benzolische Lösung des Säurechlorids wird unter Eiskühlung mit einem Überschuss an Dimethylamin in Benzol versetzt, wobei neben Dimethylaminhydrochlorid das Dimethylamid VI ausfällt. Nach einiger Zeit wird abgesaugt und der Filtrückstand mit Wasser gründlich gewaschen, wobei das Dimethylamid VI ungelöst bleibt; dieses wird aus Alkohol umkristallisiert. Smp. 203—204°, Ausbeute 16 g. Aus der benzolischen Mutterlauge können durch Einengen weitere 5 g VI von gleicher Reinheit gewonnen werden. Totalausbeute 21 g = 80%.

$\text{C}_{18}\text{H}_{18}\text{O}_2\text{N}_2$	Ber. C 73,47	H 6,27	N 9,52%
(294,25)	Gef. „ 73,51	„ 6,17	„ 9,49%

2. 2-Dimethylaminomethyl-5-benzyloxy-indol (VII). Zu einer Suspension von 2,0 g Lithiumaluminiumhydrid in 110 cm³ abs. Tetrahydro-furan wird eine Lösung von 5,0 g VI in 150 cm³ Tetrahydro-furan innerhalb $\frac{1}{2}$ Std. getropft. Die Temperatur steigt dabei auf 35—40°. Man hält noch 6 Std. bei 40° und kühlt auf 0° ab, worauf vorsichtig mit Wasser zerlegt wird. Die ausgeschiedenen Hydroxyde werden abgesaugt und das klare Filtrat im Vakuum eingedampft. Der Rückstand wird in Äther aufgenommen und mit Wasser gründlich gewaschen. Der ätherischen Lösung werden die basischen Anteile durch 3maliges Ausschütteln mit verd. Essigsäure entzogen. Die essigsäure Lösung wird mit konz. Natronlauge alkalisch gestellt und wieder mit Äther extrahiert. Nach dem Trocknen über Natriumsulfat wird eingedampft und der ölige Rückstand im Hochvakuum

¹⁶⁾ M. E. Speeter, R. V. Heinzelmann & D. I. Weisblat, J. Amer. chem. Soc. **73**, 5514 (1951).

destilliert. Sdp. 185—190°/0,003 Torr; 3,1 g (65%). Auf Zusatz von Pentan kristallisiert das Öl. Smp. 80°.

$C_{18}H_{20}ON_2$	Ber. C 77,14	H 7,14	N 10,0 %
(280,27)	Gef. , 76,98	, 7,05	, 10,20%

3. *d,l*-β-(5'-Benzyloxy-2'-indolyl)-α-formylamino-propionsäureester (IX). 5,0 g 2-Dimethylaminomethyl-5-benzyloxy-indol (VII) werden in 15 cm³ Äthylacetat warm gelöst und mit 2,5 g Methyljodid versetzt. Die Abscheidung des quaternären Salzes VIII beginnt innerhalb weniger Min. und wird durch halbstündiges Sieden vervollständigt. Man kühlt ab, saugt das ausgefallene quaternäre Salz ab und wäscht mit wenig Äthylacetat und etwas abs. Äther. Smp. 178—179°.

8,44 g (2/100 Mol) des quaternären Salzes VIII und 4,06 g Formylaminomalonester¹⁷⁾ werden in 20 cm³ abs. Alkohol unter starkem Rühren suspendiert. Bei 40° tropft man eine Lösung von 0,4 g Na in 10 cm³ abs. Äthanol langsam zu und hält dann 4 Std. bei 70—72°. Die etwas trübe Lösung wird auf Eis und wenig verd. Essigsäure gegossen und dreimal mit Äther ausgeschüttelt. Man wäscht mit Wasser, trocknet über Na₂SO₄ und engt im Vakuum auf ein kleines Volumen ein, wobei Kristallisation von IX eintritt. Man saugt ab und wäscht mit wenig kaltem abs. Alkohol und trocknet im Vakuum. Smp. 136—138°, 6 g (83%).

$C_{21}H_{22}O_4N_2$	Ber. C 68,85	H 6,01	N 7,65%
(366,29)	Gef. , 69,34	, 5,83	, 7,70%

4. *d,l*-5-Benzyloxy-isotryptophan (XI). 2,34 g der Formylaminoverbindung IX werden in 15 cm³ 2-n. Natronlauge 14 Std. unter Rückfluss gekocht. Man versetzt die fast klare Lösung mit Eisessig und saugt die ausgeschiedenen Kristalle ab. Zur Reinigung löst man die Kristalle in 2 cm³ 2-n. Natronlauge und 6 cm³ Wasser, erwärmt zum Sieden und saugt durch ein mit Kohle gedichtetes Filter ab. Nach Ansäuern mit Eisessig auf pH = 4 wird die ausgefallene Säure abgesaugt, mit wenig Wasser gewaschen und im Exsikkator getrocknet. Zur Reinigung wird aus 5 cm³ Eisessig umkristallisiert. Smp. 227—229° (Zers.). Die Ninhydrinreaktion ist rosa. Ausbeute 1,52 g (77%).

$C_{18}H_{18}O_3N_2$	Ber. C 69,67	H 5,81	N 9,03%
(310,25)	Gef. , 69,36	, 5,93	, 8,97%

5. *d,l*-5-Hydroxy-isotryptophan (III). 1,15 g *d,l*-5-Benzyloxy-isotryptophan (XI) werden in 25 cm³ Wasser und 25 cm³ Äthanol gelöst und in Gegenwart von 0,7 g Palladiumkohle bei Raumtemperatur bis zur Aufnahme der berechneten Wasserstoffmenge geschüttelt. Nach der Hydrierung gibt man 20 cm³ Wasser zu und erwärmt zum Sieden. Der Katalysator wird heiss abgesaugt und das wässrig-alkoholische Filtrat im Vakuum auf ca. 5 cm³ eingedampft, wobei beim Abkühlen das *d,l*-5-Hydroxy-isotryptophan auskristallisiert. Smp. 238—240° (Zers.). Ausbeute 0,6 g. FeCl₃-Reaktion positiv; Ninhydrinreaktion violett. Rf = 0,38 (Partridge-Mischung)¹⁸⁾. Zur Analyse wird am vorteilhaftesten aus 70-proz. Alkohol umkristallisiert.

$C_{11}H_{13}O_3N_2$	Ber. C 60,00	H 5,46	N 12,73%
(220,16)	Gef. , 59,70	, 5,33	, 12,72%

B. Isoserotonin (IV). — 1. 5-Benzyloxy-indolyl-(2)-acetonitril (XIII). 18 g VIII und 18 g fein gepulvertes Kaliumcyanid werden in 540 cm³ reinem Methanol suspendiert und stark unter Einleiten von Stickstoff 15 Std. unter Rückfluss gekocht. Man engt auf ca. 50 cm³ ein, gibt 100 cm³ Wasser zu und saugt den ausgefallenen Niederschlag ab. Nach dem Trocknen wird dieser zweimal aus Methanol umkristallisiert, wobei das 5-Benzyloxy-indolyl-(2)-acetonitril in Kristallen vom Smp. 182—184° erhalten wird. Ausbeute 5,5 g (50%).

$C_{17}H_{14}ON_2$	Ber. C 77,86	H 5,34	N 10,69%
(262,22)	Gef. , 77,75	, 5,45	, 10,70%

¹⁷⁾ A. Galat, J. Amer. chem. Soc. **69**, 965 (1947).

¹⁸⁾ S. M. Partridge, Biochem. J. **42**, 238 (1948). *d,l*-5-Hydroxytryptophan zeigt mit dem gleichen Lösungsmittelgemisch ein Rf von 0,25.

2. 2-(β -Aminoäthyl)-5-benzyloxy-indol (XIV). In eine Soxhlet-Hülse werden 1,0 g Acetonitril XIII eingefüllt; im Kolben werden 200 cm³ abs. Äther mit 1,0 g LiAlH₄ versetzt und 24 Std. unter Rückfluss gehalten. Nach dieser Zeit ist alle Substanz aus der Hülse gelöst. Man kühlt mit Eis ab und zersetzt vorsichtig mit Wasser. Nach Zugabe von 20 cm³ 2-n. Natronlauge wird die ätherische Lösung abgetrennt und die wässrige Phase nochmals ausgeäthert. Die vereinigten Ätherlösungen werden nach dem Waschen mit Wasser über Kaliumcarbonat getrocknet. Nach Abdestillieren des Äthers wird der Rückstand zweckmässigerweise aus abs. Alkohol umkristallisiert. Smp. 151—152°. Ausbeute 560 mg.

C ₁₇ H ₁₉ ON ₂	Ber. C 76,69	H 6,77	N 10,53%
(266,24)	Gef. „ 76,70	„ 6,90	„ 10,47%

3. 2-(β -Aminoäthyl)-5-hydroxy-indol (Isoserotonin) (IV). 1,18 g Benzyl-oxyverbindung XIV werden in 30 cm³ abs. Äthylalkohol gelöst und in Gegenwart von 0,97 g Palladiumkohle bei Raumtemperatur mit Wasserstoff geschüttelt. Nach ca. 22 Std. ist die berechnete Menge Wasserstoff (99 cm³) aufgenommen. Man erwärmt die Lösung auf dem Dampfbad und nutscht vom Katalysator ab. Das alkoholische Filtrat wird im Vakuum auf die Hälfte eingengt und mit alkoholischer Salzsäure bis zur schwach kongosauren Reaktion versetzt. Durch Zusatz von abs. Äther bis zur beginnenden Trübung kristallisiert bei 0° das Hydrochlorid des 2-(β -Aminoäthyl)-5-hydroxy-indols aus. Dieses wird zur Analyse aus Alkohol-Äther umkristallisiert. Smp. 190—191°. Ausbeute 650 mg.

C ₁₀ H ₁₃ ON ₂ Cl	Ber. C 56,47	H 6,12	N 13,17%
(212,5)	Gef. „ 55,81	„ 5,96	„ 12,95%

Kreatininsulfat-Doppelsalz des 5-Hydroxy-isoserotonins. 300 mg Benzyloxyverbindung XIV werden in 25 cm³ abs. Alkohol gelöst, mit 0,06 cm³ (115 mg) reinster Schwefelsäure versetzt und in Gegenwart von Palladiumkohle bis zur Aufnahme von 1 Mol. Wasserstoff hydriert. Man saugt vom Katalysator ab und engt völlig ein. Der Rückstand wird in 3 cm³ Wasser gelöst und mit 100 mg Kreatinin versetzt, auf ca. 60° erwärmt und mit 100 cm³ abs. Alkohol versetzt. Nach 14stündigem Stehen bei 0° werden die ausgefallenen Kristalle abgesaugt und mit etwas Alkohol und Äther gewaschen. Zur Reinigung löst man die Kristalle in 1 cm³ Wasser und versetzt heiss mit 2 cm³ abs. Alkohol. Das Kreatinin-Doppelsalz kristallisiert dabei aus. Man saugt ab und wäscht mit wenig abs. Alkohol und trocknet. Smp. 182—184°. Rf = 0,51 (Partridge-Mischung); Serotonin zeigt ein Rf von 0,43 im gleichen Lösungsmittelgemisch.

C ₁₀ H ₁₂ ON ₂ , C ₄ H ₇ ON ₃ , H ₂ SO ₄ , H ₂ O	Ber. C 41,48	H 5,66	N 17,20%
(405,36)	Gef. „ 41,78	„ 5,57	„ 16,80%

Ich verdanke die Analysen unserm Mikroanalytischen Laboratorium (Leitung Herr Dr. H. Wagner) und die Hydrierungen Herrn Dr. Ch. Simon. Fernerhin möchte ich Herrn H. Blattner für die wertvolle Mitarbeit aufrichtig danken.

Zusammenfassung.

Es wird die Synthese von *d,l*-(5-Hydroxy-indolyl)-2- α -aminopropionsäure (*d,l*-5-Hydroxy-isotryptophan) und 2-(β -Aminoäthyl)-5-hydroxy-indol (Isoserotonin) beschrieben.

Pharmazeutisch-wissenschaftliche Laboratorien
der J. R. Geigy AG., Basel.