

HYSODRICANIN-A, MAURITIN-H, SCUTIANIN-F UND ARALIONIN-C, VIER WEITERE CYCLOPEPTIDALKALOIDE AUS *ZIZIPHUS*, *SCUTIA* UND *ARALIORHAMNUS**

RUDOLF TSCHESCHE, DIRK HILLEBRAND, HEINZ WILHELM, EBERHARD AMMERMANN und GERT ECKHARDT
Institut für Organische Chemie und Biochemie der Universität Bonn, Max-Planck-Str. 1, D-5300 Bonn, Germany

(Received 21 January 1977)

Key Word Index—*Araliorhamnus*; *Scutia*; *Ziziphus*; Rhamnaceae; bark extracts; peptide alkaloids; hysodricanine-A; mauritine-G; scutianine-C; aralionine-C.

Abstract—From the bark extracts of *Ziziphus hysodrica*, *Z. mauritiana*, *Scutia buxifolia* and *Araliorhamnus vaginata*, in addition to known peptide alkaloids, four new compounds of this class, Hysodricanine-A, Mauritine-H, Scutianine-F, and Aralionine-C, have been isolated and their structures elucidated. All alkaloids contain a 14-membered ring system: two belong to the Amphibine-B-type, one to the Frangulanine-type, and one to the Integerrine-type [2].

Im Rahmen unserer Untersuchungen von Rhamnaceen auf Cyclopeptidalkaloide konnten weitere, bisher unbekannte Alkaloide isoliert und in ihrer Struktur identifiziert werden. Die Rinden von *Z. hysodrica*, *Z. mauritiana*, *S. buxifolia* und *A. vaginata* wurden wie üblich extrahiert [3] und die erhaltenen Rohbasengemische durch mehrstufige Säulen- und Schichtchromatographie an Kieselgel in die Komponenten aufgetrennt.

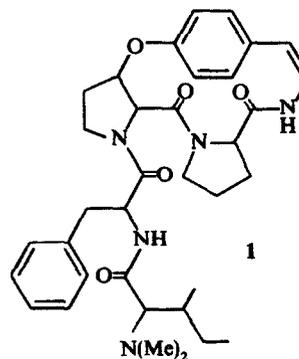
Das aus *Z. hysodrica* isolierte Hauptalkaloid wird Hysodricanin-A genannt (1). Aus dem Extrakt von *Z. mauritiana* wurde neben den bereits beschriebenen Mauritinen A, B [4], C-F [5] und G [6] ein bisher nicht bekanntes Alkaloid, Mauritin-H (2), erhalten. Aus *S. buxifolia* wurde neben Scutianin-A [7], -B [8] und -C-E [9] Scutianin-F (3) und aus *A. vaginata* zusätzlich zu Aralionin-A [10], -B [11] und Desbenzoyl-Aralionin-A [10] das Alkaloid Aralionin-C (4) isoliert. Die Summenformeln der neu erhaltenen Verbindungen wurden durch hochauflösende Massenspektrometrie zu $C_{35}H_{45}N_5O_5$ (1), $C_{33}H_{43}N_5O_5$ (2), $C_{38}H_{45}N_5O_5$ (3) und $C_{34}H_{40}O_4O_5$ (4) ermittelt.

Spektroskopische Untersuchungen.

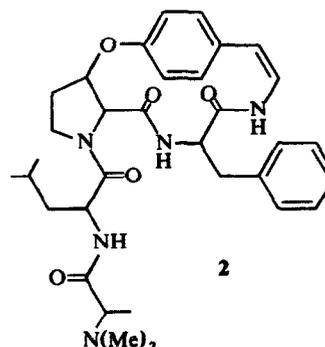
Die IR-Spektren von 1-4 zeigen die für 14-gliedrige Cyclopeptidalkaloide charakteristischen Banden für sekundäre Amide (3300 und 1670 cm^{-1}), *N*-Methylgruppen (2780), C=C-Doppelbindungen (1620) und Phenolether (1220 und 1040). 4 zeigt bei 3500 cm^{-1} eine OH-Absorption.

Die UV-Spektren zeigen nur starke Aromatenendabsorptionen. Die erwartete Absorption des Styrylaminchromophors tritt wegen zu hoher Ringspannung nicht auf, wie die Röntgenstrukturanalyse einer analogen Verbindung, des Mauritins-A [12, 13], beweisen konnte. Die elektronenstoßinduzierten Zerfälle von 1 und 2 entsprechen denen der bisher beschriebenen Alkaloide vom Amphibin-B-Typ [14] und ermöglichen eine weitgehende Strukturermittlung.

Hysodricanin-A



Mauritin-H



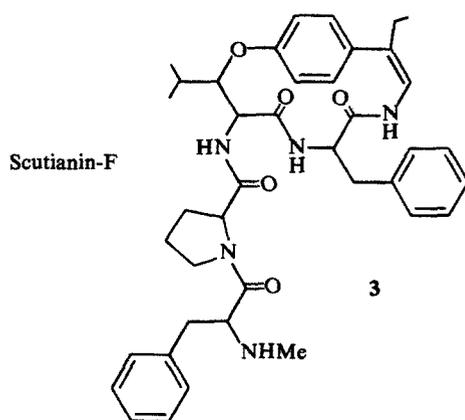
Der Basispeak bei m/e 114 sowie der Peak b (m/e 558) im Massenspektrum von 1 beweisen das Vorliegen einer *N,N*-dimethylierten C_6 -Aminosäure. Die Peaks bei m/e 96 und m/e 68 deuten auf Hydroxyprolin, m/e 120 auf Phenylalanin und m/e 135 auf *p*-Hydroxystyrylamin hin. Die Ionen r (m/e 229), s (m/e 203), t (m/e 186) sowie u (m/e 258) zeigen, daß *p*-Hydroxystyrylamin einerseits mit Hydroxyprolin verethert, andererseits mit Prolin amidartig verbunden ist. Die Verknüpfung der Hydroxyprolin- und Prolinereinheit ergibt sich aus den Fragmenten

* Alkaloide aus Rhamnaceen, Part 29, for Part 28, see ref. [1].

p (*m/e*) und q (*m/e* 165). Für das komplette Ringsystem ohne die Seitenkette sind die Fragmente h, i und j (*m/e* 328, 327, 326) charakteristisch. Die Aminosäuresequenz der Seitenkette bis zum Hydroxyprolin ergibt sich aus den Peaks h (*m/e* 358), l (*m/e* 258), m (*m/e* 257), n (*m/e* 243) und o (*m/e* 269).

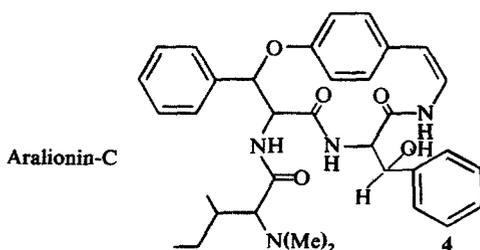
2 enthält, wie die Peaks a (*m/e* 72) und b (*m/e* 574) ausweisen, *N,N*-Dimethylalanin als endständige Aminosäure. Diese ist mit einer C_6 -Aminosäure peptidartig verbunden, wie die Fragmente 1 (*m/e* 213) und m (*m/e* 185) zeigen. Die Verknüpfung der Seitenkette mit Hydroxyprolin beweist das Ion k (*m/e* 282). Alle übrigen Fragmente im Spektrum von 2 stimmen mit denen des Amphibin-B überein, woraus abgeleitet werden kann, daß beide Verbindungen dasselbe Ringsystem besitzen.

Das Massenspektrum von 3 weist eine sehr große



Ähnlichkeit mit dem des Scutianins-A [7] auf. Lediglich das Molekülion sowie alle Fragmente, welche die endständige Aminosäure enthalten, sind bei 3 um 14 Masseneinheiten nach tieferen Werten verschoben, woraus geschlossen wurde, daß es sich bei 3 um *N*-Desmethyl-Scutianin-A handeln könnte.

Die massenspektrometrische Untersuchung von 4



erwies sich wegen dessen thermischer Instabilität als schwierig; ein Verhalten, wie es auch schon beim Aralionin-A [11] und den Scutianinen C-E [9] gefunden wurde. Die folgenden Fragment-Ionen lassen die vier Grundbausteine des Moleküls erkennen: Die Ionen *m/e* 114 und $[[M-C_4H_9]^+]$ (b, *m/e* 527) sind typisch für eine *N,N*-dimethylierte C_6 -Aminosäure. Das Cinnamoyl-Ion ($C_6H_5-CH=CH-CO^+$, m, *m/e* 131) ist charakteristisch für eine amidartig gebundene und veretherte Phenylserin-Einheit und das Ion i (*m/e* 135) für die *p*-Hydroxystyrylaminogruppierung. Die Anwesenheit eines β -Phenylserins ergibt sich aus dem sehr intensiven

Benzaldehyd-Ion (*m/e* 106) und dem Fragmention $[M-106]^+$ (*m/e* 478), die beide durch McLafferty-Umlagerung unter Beteiligung der OH-Gruppe gebildet werden [9, 11]. $C_7H_6O^+$ zerfällt zu $C_7H_5O^+$ (*m/e* 105) und $C_6H_5^+$ (*m/e* 77); *m/e* 478 fragmentiert wie ein 14-gliedriges Cyclopeptidalkaloid weiter [15], wobei einige der Fragmentpeaks jedoch nur geringe Intensität zeigen. Somit ähnelt das Massenspektrum von 4 im mittleren Massenbereich (*m/e* 114–478) dem Desbenzoyl-Aralionin-A [10].

Im PMR-Spektrum von 1 erscheinen die C-Methylgruppen des *N,N*-Dimethyl-isoleucin als Dublett ($J = 6.8$ Hz) bei $\delta = 0.67$ bzw. Triplet ($J = 6.5$ Hz) bei $\delta = 0.84$, die *N*-Methylgruppen als Singulett bei 2.17 ppm. Nach Austausch mit D_2O liefern die Olefinprotonen ein AB-Spektrum ($J = 8$ Hz), aus dem die chemische Verschiebung des zum Aromaten benachbarten Protons zu $\delta = 6.31$, die des anderen zu $\delta = 6.74$ ppm ermittelt wird. Die Absorptionen der übrigen Protonen lassen sich wegen ihrer Komplexität nicht eindeutig zuordnen. Die Leucin-Einheit von 2 liefert für die Methylgruppen je ein Dublett ($J = 7$ Hz) bei $\delta = 0.79$ und 0.89 ppm. Die C-Methylgruppe des endständigen *N,N*-Dimethylalanins erscheint als Dublett ($J = 7$ Hz) bei 1,26, die *N*-Methylgruppe als Singulett bei 2.36 ppm. Im PMR-Spektrum von 3 beobachtet man die Methylgruppen der β -Hydroxyleucin-Einheit als Dubletts ($J = 6.5$ Hz) bei $\delta = 0.85$ und 1.2 ppm. Die *N*-Methylgruppe absorbiert bei $\delta = 2.25$ ppm. Nach Zugabe von D_2O erhält man bei $\delta = 6.3$ und 6.57 ppm ein typisches AB-Spektrum ($J = 8$ Hz) für die *cis*-Olefinprotonen der Styrylamin-Einheit. Die C-Methylgruppen des *N,N*-Dimethylisoleucin-Bausteins in 4 liefern bei $\delta = 0.41$ und 0.81 ppm ein Dublett ($J = 7$ Hz) bzw. Triplet ($J = 7$ Hz), die *N*-Methylgruppen ergeben bei 2.15 ppm ein Singulett und das α -H-Atom bei 2.61 ppm ein Dublett ($J = 5$ Hz). Die α -H-Atome der übrigen Aminosäuren erscheinen als komplexes Signal bei $\delta = 4.54$ bis 4.68 ppm, das sich nach Austausch mit D_2O zu zwei Dubletts bei 4.61 ($J = 8.5$ Hz) für das α -H-Atom des veretherten β -Phenylserins und bei 4.63 ppm ($J = 4.8$ Hz) für das α -H-Atom der an Styrylamin gebundenen Aminosäure vereinfacht. Die β -H-Atome der genannten Phenylserin-Einheiten liefern Dubletts bei $\delta = 6.0$ ($J = 8.5$ Hz) und 5.1 ppm ($J = 4.8$ Hz). Die Olefinprotonen erscheinen zusammen mit drei austauschbaren Protonen im Bereich $\delta = 6.26$ –6.62 ppm. Nach Austausch mit D_2O erhält man wiederum ein AB-Spektrum ($J_{AB} = 8$ Hz), aus dem die chemische Verschiebung des dem Aromaten benachbarten Olefinprotons zu $\delta = 6.38$, die des anderen zu 6.58 ppm berechnet wird. Die Aromatenprotonen und ein austauschbares Proton absorbieren bei $\delta = 6.9$ bis 7.7 ppm.

Derivate und Hydrolysen

Die Alkaloide 1, 2 und 4 wurden einer katalytischen Hydrierung über Pd/C unterworfen. Die massenspektrometrischen Molekulargewichtsbestimmungen ergaben, daß dabei jeweils eine Doppelbindung hydriert wurde. Dihydro-Aralionin-C erwies sich als identisch mit Tetrahydro-Aralionin-A [11]. Die Dihydroalkaloide wurden einer sauren Totalhydrolyse mit 6N HCl bei 110° unterzogen und die Aminosäuren im Hydrolysat durch Vergleich mit authentischen Substanzen identifiziert. Danach enthalten 1 Prolin, Phenylalanin und

N,N-Dimethylisoleucin, 2 Phenylalanin, Leucin und *N,N*-Dimethylalanin und 4 *threo*- β -Phenylserin und *N,N*-Dimethylisoleucin. 3 wurde reduzierend mit Formaldehyd-Wasserstoff über Pd/C methyliert [16]. Das erhaltene Reaktionsprodukt stimmte in seinen spektroskopischen und chromatographischen Eigenschaften mit Dihydro-Scutianin-A [7] überein.

EXPERIMENTELLES

Die Schmelzpunkte wurden mit einem Mikroskopheiztisch nach Weygand, die optischen Drehungen mit dem Perkin-Elmer-Polarimeter 141 bestimmt. Die MS wurden mit einem MS-9 (A.E.I.) durch Verdampfen der Proben in der Ionenquelle (bei ca 220°) bei einer Elektronenenergie von 70 eV aufgenommen. Zur Dünnschichtchromatographie wurde verwendet Kieselgel HF₂₅₄ (Fa. Merck), zur präparativen Schichtchromatographie Kieselgel PF₂₅₄ (Fa. Merck), zur Papierchromatographie die Sorten 2043b (Fa. Schleicher and Schüll) und Nr. 1 (Fa. Whatman) und zur Säulenchromatographie ungesiebtes Kieselgel (Fa. Herrmann).

Isolierung und Auftrennung der Rohalkaloide. Die Gewinnung der Rohbasengemische aus den Rindenextrakten erfolgte nach den üblichen Verfahren [3]. Säulenchromatographie der Rohbasen mit CHCl₃-MeOH steigender Polarität ergab Fraktionen, die weiter durch präparative Schichtchromatographie aufgetrennt wurden.

Hysodricanin-A (1). Wurde durch mehrfache Entwicklung im System CHCl₃-MeOH (20:1) erhalten (Ausbeute: 115 mg 1 aus 220 g Rinde). 1 kristallisierte aus MeOH-Petrol in farblosen Nadeln. Schmp. 93-96°; $[\alpha]_D^{20} = -215^\circ$ ($c = 0.05$, CHCl₃). IR (KBr): 3375 (NH), 2780 (N-Me), 1650 (Amid), 1615 (C=C), 1225 und 1045 cm⁻¹ (Phenol ether) UV (MeOH): Aromatenendabsorption. PMR (CDCl₃): $\delta = 0.67$ (d , $J = 6.8$ Hz, CH-Me) und 0.84 (t , $J = 6.5$ Hz, CH₂-Me), 2.17 (s , N(Me)₂); nach Zugabe von D₂O: 6.31 und 6.74 (AB-Spektrum, $J_{AB} = 8$ Hz, 2 Olefinprotonen). C₃₅H₄₅N₅O₅ Mol.-Masse Ber. 615.3421 Gef. 615.3408 (MS).

Mauritin-H (2). Wurde durch mehrfache präparative Schichtchromatographie im System CH₂Cl₂-MeOH (18:1) gewonnen (Ausbeute: 12 mg 2 aus 2 kg Rinde). 2 kristallisierte aus MeOH-Petrol. Schmp. 212-215°; $[\alpha]_D^{20} = -169^\circ$ ($c = 0.013$, MeOH). IR (KBr): 3490 (NH), 2790 (N-Me), 1680 (Amid), 1620 (C=C), 1215 und 1090 cm⁻¹ (Phenolether). UV (MeOH): Aromatenendabsorption. PMR (CDCl₃): $\delta = 0.79$ und 0.89 (je ein d , $J = 7$ Hz, CH-Me des Leucins), 1.26 (d , $J = 7$ Hz, CH-Me des Alanins), 2.36 (s , N(Me)₂). C₃₃H₄₃N₅O₅ Mol.-Masse Ber. 589.3264 Gef. 589.3271 (MS).

Scutianin-F (3). Wurde durch mehrfache präparative Schichtchromatographie in den Systemen CHCl₃-MeOH (10:1) und CHCl₃-AcOEt-Me₂CO-MeOH (1:1:3:0.05) isoliert. Kristallisation aus EtOH-H₂O ergab farblose Nadeln. Schmp. 208°; $[\alpha]_D^{20} = -132^\circ$ ($c = 0.02$, MeOH). IR (KBr): 3370 (NH), 2780 (N-Me), 1680 (Amid), 1620 (C=C), 1230 und 1040 cm⁻¹ (Phenolether). PMR (CDCl₃): $\delta = 0.85$ und 1.2 (je ein d , $J = 6.5$ Hz, CH(Me)₂), 2.25 (s , N-Me), nach Zugabe von D₂O: 6.3 und 6.57 (AB-Spektrum, $J_{AB} = 8$ Hz, 2 Olefinprotonen). C₃₈H₄₅N₅O₅ Mol.-Masse Ber. 651.3421 Gef. 651.3416 (MS).

Aralionin-C (4). Wurde durch mehrfache Schichtchromatographie im System CH₂Cl₂-MeOH (18:1) gewonnen (Ausbeute: 27 mg 4 aus 5.5 kg Rinde) und kristallisierte in farblosen Nadeln aus EtOH-H₂O. Schmp. 95-97°; $[\alpha]_D^{20} = -17^\circ$ ($c = 0.015$, MeOH). IR (KBr): 3500 (OH), 3300 (NH), 2780 (N-Me), 1675 (Amid), 1620 (C=C), 1220 und 1040 cm⁻¹ (Phenolether). UV (MeOH): Aromatenendabsorption. PMR (CDCl₃): $\delta = 0.41$ (d , $J = 7$ Hz, CH-Me), 0.81 (t , $J = 7$ Hz, CH₂-Me), 2.15 (s , N(Me)₂), 2.61 (d , $J = 5$ Hz, CH-N(Me)₂), 4.54-4.68 (m , α -Protonen der beiden Phenylserin-Einheiten); nach Zugabe von D₂O: 4.61 (d , $J = 8.5$ Hz, CH-CH(OC₆H₄-)Ph) und 4.63 (d , $J = 4.8$ Hz, CH-CH(OH)Ph), 5.1 (d , $J = 4.8$ Hz, CH-CH(OH)Ph), 6.0 (d , $J = 8.5$ Hz, CH-CH(OC₆H₄-)Ph); 6.26-6.62 (m , 2 Olefin- und 3 austauschbare Protonen); nach Austausch

mit D₂O: 6.38 und 6.58 (AB-Spektrum, $J_{AB} = 8$ Hz, 2 Olefinprotonen); 6.9-7.7 (m , Aromatenprotonen und 1 austauschbares Proton). C₃₄H₄₀N₄O₅ Mol.-Masse Ber. 584.2999 Gef. 584.3011 (MS).

Hydrierungen. Einige Milligramm der Alkaloide wurden in ca 30 ml MeOH p.A. gelöst und etwa 10 Std. über Pd/C (10%) im Wasserstoffstrom hydriert. Man filterte vom Katalysator ab und dampfte i.Vak. ein. Der Rückstand wurde an präparativen Schichtplatten gereinigt, dabei erwiesen sich die Dihydro-Derivate als chromatographisch polarer.

Dihydro-Hysodricanin-A. Kristallisierte aus MeOH-H₂O. Schmp. 130-132°; $[\alpha]_D^{20} = -186^\circ$ ($c = 0.03$, MeOH). C₃₅H₄₇N₅O₅ Mol.-Masse Ber. 617.3577 Gef. 617.3574 (MS).

Dihydro-Mauritin-F. Kristallisation aus EtOH-H₂O. Schmp. 166-169°; $[\alpha]_D^{20} = -128^\circ$ ($c = 0.013$, MeOH). C₃₃H₄₅N₅O₅ Mol.-Masse Ber. 591.3421 Gef. 591.3427 (MS).

Dihydro-Aralionin-C. Erwies sich als identisch mit Tetrahydro-Aralionin-A [10].

Reduktive Methylierung von Scutianin-F. 10 mg 3 wurden einer reduzierenden Methylierung mit Formaldehyd-Wasserstoff über Pd/C unterworfen [16]. Das Reaktionsprodukt erwies sich als chromatographisch und massenspektrometrisch identisch mit Dihydro-Scutianin-A [7]. C₃₉H₄₉N₅O₅ Mol.-Masse Ber. 667.3734 Gef. 667.3733 (MS).

Tetrahydrolysen. Jeweils 5 mg der Dihydro-Derivate wurden in 1 ml 6N HCl gelöst und die Lösung 24 Std. bei 110° im verschlossenen Rohr erhitzt. Das Hydrolysat wurde i.Vak. über KOH getrocknet und anschließend mit 1 ml H₂O aufgenommen. Man verglich die Proben mit authentischen Aminosäuren in folgenden Systemen: (1) *n*-BuOH-H₂O-Me₂CO-NH₃ (8:6:1:1; obere Phase) [17] zur Unterscheidung von *erythro*- und *threo*- β -Phenylserin-Entwicklung Ninhydrin. (2) *n*-Bu₂CO-Py-H₂O-AcOH (70:15:15:2) [18] zur Trennung von *N,N*-Dimethyl-leucin und -isoleucin-Entwicklung mit Rhodamin-B und Ninhydrin bzw. Jod. (3) *n*-BuOH-AcOH-H₂O (4:1:5, obere Phase) [19] zur allgemeinen Trennung von Aminosäuren. In dem Hydrolysat von Dihydro-Hysodricanin-A ließen sich Prolin, Phenylalanin, *N,N*-Dimethylisoleucin, von Dihydro-Mauritin-H Leucin, Phenylalanin, *N,N*-Dimethylalanin, von Dihydro-Aralionin-C *threo*- β -Phenylserin und *N,N*-Dimethylisoleucin nachweisen.

LITERATUR

1. Tschesche, R., Elgamal, M. und Eckhardt, G. (1977) *Chem. Ber.*, im Druck.
2. Tschesche, R. und Kaufmann, E. U. (1975) *The Alkaloids* (Herausg. Manske, R. H. F.), Bd. XV, S.165ff. Academic Press, New York.
3. Tschesche, R., Spilles, C. und Eckhardt, G. (1974) *Chem. Ber.* 107, 686.
4. Tschesche, R., Wilhelm, H. und Fehlhaber, H.-W. (1972) *Tetrahedron Letters* 2069.
5. Tschesche, R., Wilhelm, H., Kaufmann, E. U. und Eckhardt, G. (1974) *Liebigs Ann. Chem.* 1694.
6. Hoffmann, W. (1976) Diplomarbeit, Bonn.
7. Tschesche, R., Welters, R. und Fehlhaber, H.-W. (1967) *Chem. Ber.* 100, 323.
8. Tschesche, R., Ammermann, E. und Fehlhaber, H.-W. (1971) *Tetrahedron Letters* 4405.
9. Tschesche, R. und Ammermann, E. (1974) *Chem. Ber.* 107, 2274.
10. Tschesche, R., Behrendt, L. und Fehlhaber, H.-W. (1969) *Chem. Ber.* 102, 50.
11. Tschesche, R., Froberg, E. und Fehlhaber, H.-W. (1970) *Chem. Ber.* 103, 2501.
12. Kirfel, A., Will, G., Tschesche, R. und Wilhelm, H. (1976) *Z. Naturforsch.* 31B, 276.
13. Kirfel, A. und Will, G. (1975) *Z. Kristallogr.* 142, 368.
14. Tschesche, R., Kaufmann, E. U. und Fehlhaber, H.-W. (1972) *Chem. Ber.* 105, 3094.
15. Fehlhaber, H.-W. (1968) *Z. Anal. Chem.* 235, 91.
16. Bowman, R. E. (1950) *J. Chem. Soc.* 1342.

17. Shaw, K. N. F. und Fox, S. W. (1953) *J. Am. Chem. Soc.* **75**, 3421.
18. Fahmy, A. R., Niederwasser, A., Pataki, G. und Brenner, M. (1961) *Helv. Chim. Acta* **44**, 2012.
19. Hais, J. M. und Macek, K. (1963) *Handbuch der Papierchromatographie Jena*, Bd. 1, S. 522.