

- [14] A. R. Bader, R. J. Bridgwater & P. R. Freeman, J. Amer. chem. Soc. 83, 3319 (1961).
 [15] R. A. W. Johnstone, D. W. Payling & C. Thomas, J. chem. Soc. (C) 1969, 2223.
 [16] E. Wedekind, Ber. deutsch. chem. Ges. 32, 524 (1899).
 [17] G. B. Butler & S. D. Squibb, J. Chem. Eng. Data 10, 404 (1965); D. Huy-Giao, A. Verdier & A. Lattes, Bull. Soc. chim. France 1969, 2337.
 [18] E. C. F. Ko & K. T. Leffek, Can. J. Chemistry 50, 1297 (1972).
 [19] M. Schmid, H.-J. Hansen & H. Schmid, Helv. 54, 937 (1971).
 [20] R. Wehrli, geplante Dissertation, Universität Zürich.
 [21] G. Wittig, G. Keicher, A. Rückert & P. Raff, Liebigs Ann. Chem. 563, 110 (1949).
 [22] D. A. Archer, H. Booth & P. C. Crisp, J. chem. Soc. 1964, 249.
 [23] J. V. Dubsy & A. Rabas, Collect. Trav. chim. Tchecosl. 1, 528 (1929).
 [24] F. A. Cotton & G. Wilkinson, «Advanced Inorganic Chemistry», Interscience Publ., III. Ed., New York 1972, S. 503.
 [25] H.-J. Hansen, B. Suttler & H. Schmid, Helv. 51, 828 (1968).
 [26] A. Kirmann & E. Elvik, C.r. hebd. Séances Acad. Sci. 267, 623 (1968).
 [27] J. Corbier & P. Cresson, C.r. hebd. Séances Acad. Sci. 270, 2077 (1970).
 [28] J. E. Hyre & A. R. Bader, J. Amer. chem. Soc. 80, 437 (1958).
 [29] C. G. George, E. W. Gill & J. A. Hudson, J. chem. Soc. (C) 1970, 74.
 [30] E. B. Towne & H. M. Hill, U.S. Patent 2607779/1952; Chem. Abstr. 47, 5452 (1953).
 [31] J. A. Degutis & V. P. Barkauskas, Chim. Geterocikličeskich Soedinenij 6, 1003 (1969).
 [32] G. Casnati & A. Pochini, Chem. Commun. 1970, 1328.
 [33] J. Perie, J. P. Laval, J. Roussel & A. Lattes, Tetrahedron Letters 1971, 4799.
 [34] R. E. Yingst & B. E. Douglas, Inorg. Chem. 3, 1177 (1964); M. A. Bennet, W. R. Kneen & R. S. Nyholm, *ibid.* 7, 552 (1968).
 [35] E. Schmid, Gy. Fráter, H.-J. Hansen & H. Schmid, Helv. 55, 1625 (1972).
 [36] K. Grob, Helv. 48, 1362 (1965); 51, 718 (1968).
 [37] E. J. Bourne, S. H. Henry, C. E. M. Tallow & J. C. Tallow, J. chem. Soc. 1952, 4014.

5. Nachbargruppenbeteiligung bei massenspektrometrischen Fragmentierungsreaktionen: Spermin-Derivate

18. Mitteilung über das massenspektrometrische Verhalten von Stickstoffverbindungen¹⁾

von E. Schöpp^{1a)} und Manfred Hesse

Organisch-chemisches Institut der Universität, CH-8001 Zürich, Rämistrasse 76

Herrn Prof. Dr. Max Viscontini zum 60. Geburtstag gewidmet

(1. IX. 72)

Summary. The mass spectral behaviour of tetraacetyl spermine (2) has been investigated. The fragmentation reactions are characterized by the neighbouring group participation of the amide nitrogen atoms. Only a few reactions can be explained by usual pathways (α -cleavage, onium reactions). Most of the fragment-ions are formed by neighbouring group participation:

1. $[M - \text{COCH}_3]^+$ -Ion.

2. Breakdown of one of the two 1,3-diaminopropan moieties: m/e 242, 256, 268. This type of fragmentation is characteristic for all acetylated 1,3-diaminopropan-derivatives e.g. triacetyl-spermidine.

3. Expulsion of a neutral amine: m/e 169.

4. $S_{\text{N}}1$ -type reactions, by which cyclic ions are formed: m/e 100.

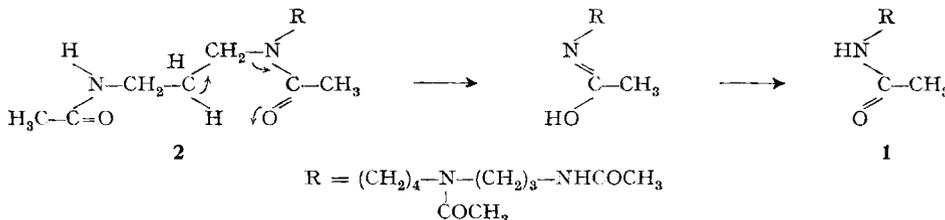
¹⁾ 17. Mitteilung, s. [1].

^{1a)} E. Schöpp, Teil der geplanten Diplomarbeit, Universität Zürich.

Damit im Zusammenhang steht die Frage nach der Signifikanz dieser Triade als Hilfsmittel bei der Analyse von Massenspektren unbekannter Spermidin- und Spermin-Alkaloide.

Sind die im Spektrum des Tetraacetylspermins (**2**) auftretenden Ionen m/e 143, 157 und 169 dieselben wie im Spektrum des Spermidin-Derivates **1**³⁾, so muss in **2** oder einem massenspektrometrischen Abbauprodukt ein N-Acetylaminopropyl-Rest unter H-Wanderung abgespalten werden. Es lassen sich dafür die folgenden Mechanismen in Betracht ziehen:

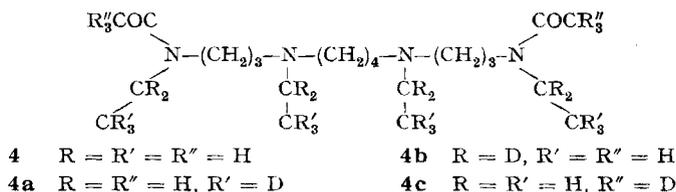
1. Thermische [1,5]-H-Verschiebung: Dies würde bedingen, dass beim Verdampfen der Probe im Massenspektrometer thermisch Triacetylspermidin (**1**) gebildet wird.



Diese Art der Reaktion kann ausgeschlossen werden, da **2** unter den Aufnahmebedingungen ein konstantes, zeitlich unabhängiges Spektrum liefert.

2. Eine ähnliche Reaktion, nämlich eine *McLafferty*-Umlagerung, lässt sich beim massenspektrometrischen Abbau der Molekel annehmen. Aber auch diese Möglichkeit lässt sich ausscheiden: Im Spektrum von **2** wird der Molekularionenpik von Triacetylspermidin (**1**, $M^+ = 271$) nicht registriert. Die Fragmentationenpiks bei m/e 143, 157 und 169 erfahren in den Spektren der deuterierten Derivate **2a** bis **2f** Verschiebungen, die nicht im Einklang mit der Fragmentierung von Spermidin-Derivaten stehen (siehe weiter unten).

Ferner ist bemerkenswert, dass im Spektrum des tetraäthylierten Spermin-Derivates **4** (Fig. 5)⁴⁾ ebenfalls Signale bei m/e 143 und 157 auftreten, wogegen m/e 169 fehlt. Das Ion 4^+ kann, da die Acetylgruppen an den N-Atomen 5 und 10 fehlen,



nicht im Zuge einer *McLafferty*-Umlagerung neben N(5) oder N(10) gespalten werden. Würde man trotzdem eine Spaltung zum entsprechenden Spermidin-Derivat annehmen, so wären entsprechende Ionen bei m/e 129, 143 und 155 zu erwarten; von diesen wird jedoch nur m/e 143 registriert.

³⁾ Die Ionen 143, 157 und 169 besitzen bei beiden Verbindungen **1** und **2** die gleichen elementaren Zusammensetzungen.

⁴⁾ Das Fragmentierungsverhalten der Verbindung **4** wurde an Hand der Derivate **4a** bis **4c** untersucht. Es ist im wesentlichen gekennzeichnet durch $[\text{M}-\text{R}]^+$ -Reaktionen, α -Spaltungen und andere bei derartigen Verbindungen zu erwartende Zerfälle.

Es geht daraus hervor, dass in den Spektren verschiedener Spermidin- und Spermin-Derivate Ionen gleicher Masse (m/e 143, 157, 169), teilweise auch gleicher elementarer Zusammensetzung und teilweise auch mit vergleichbarer Intensität auftreten. Eine Differenzierung gelingt jedoch nur durch die Messung deuterierter Derivate.

Für die Analytik unbekannter synthetischer oder natürlicher Spermin- oder Spermidin-Derivate bedeutet dieser Befund, dass Spitzen bei m/e 143, 157 und 169 als Schlüsselbruchstücke für diese Verbindungsklasse anzusehen sind, man aber ohne eine nähere Untersuchung nicht auf die Zahl der Stickstoffatome in der aliphatischen Kette schliessen kann (Spermidin, Spermin usw.).

1. Die Ionen m/e 242, 256 und 268 und das $[M - CH_3CO]^+$ -Signal. – Die Überprüfung der Fragmentierungsmechanismen, die für die Bildung der Ionen m/e 242, 256 und 268 verantwortlich sind, wurde an Hand der Spektren der deuterierten Derivate **2a** bis **2f** vorgenommen. Die Verschiebungen der entsprechenden Signale sind in der Tabelle zusammengefasst. Während das Molekularion von nur geringer Intensität ist, ist im oberen Massenbereich der $[M - CH_3CO]^+$ -Pik signifikant. Wie im folgenden berichtet wird, spielt er für die Bildung der erwähnten Signale bei 242 und 268 eine entscheidende Rolle. Auf Grund des Befundes, dass im Massenspektrum der hexadeuterierten Verbindung **2b** (vgl. Fig. 2), des also nur an den mittleren tertiären Stickstoffatomen deuterioacetylierten Derivates, ausschliesslich $\cdot COCD_3$ (46 m.u.) und

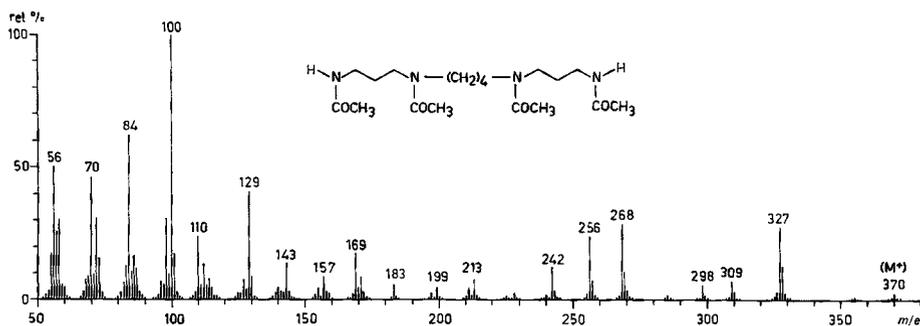


Fig. 1. Massenspektrum von *N*(1), *N*(5), *N*(10), *N*(14)-Tetraacetyl-spermin (2)

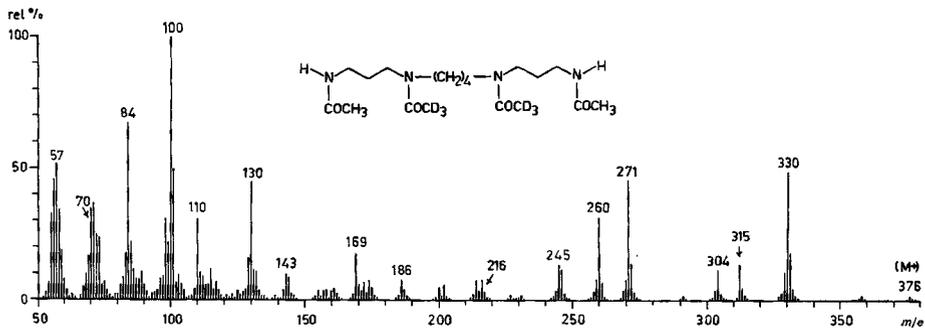
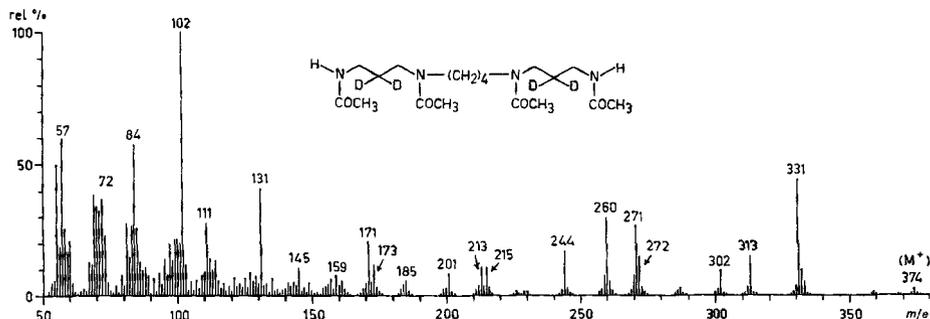
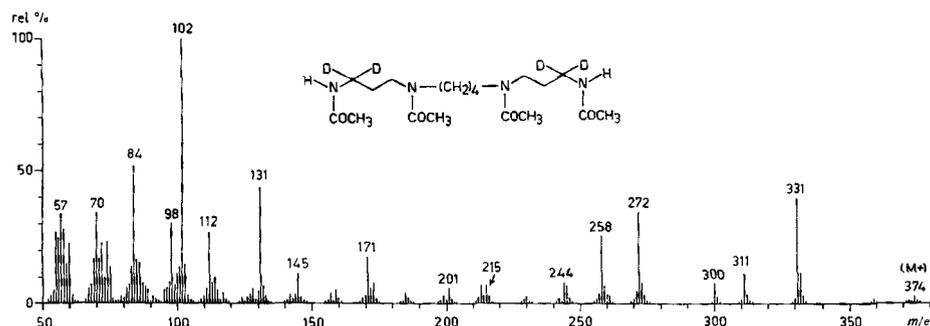
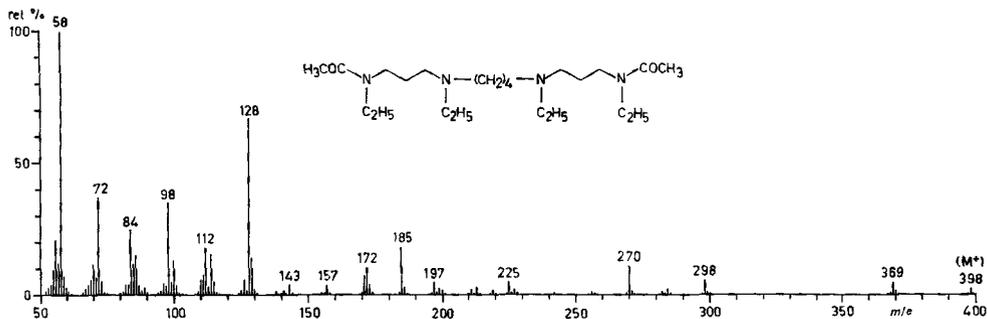


Fig. 2. Massenspektrum von *N*(1), *N*(14)-Diacetyl-*N*(5), *N*(10)-di(trideuterio)acetyl-spermin (2b)

Fig. 3. Massenspektrum von *N*(1), *N*(5), *N*(10), *N*(14)-Tetraacetyl-3, 3, 12, 12-tetra-deuterio-spermin (**2e**)Fig. 4. Massenspektrum von *N*(1), *N*(5), *N*(10), *N*(14)-Tetraacetyl-2, 2, 13, 13-tetra-deuterio-spermin (**2f**)Fig. 5. Massenspektrum von *N*(1), *N*(14)-Diacyetyl-*N*(1), *N*(5), *N*(10), *N*(14)-tetraethyl-spermin (**4**)

kein nachweisbarer Anteil $\cdot\text{COCH}_3$ abgespalten wird, lässt sich über die Ladungslokalisierung im Molekularion, welches zum $[\text{M} - \text{COCH}_3]^+$ -Pik führt, eine Aussage machen.

Wie früher [6] festgestellt wurde, wird bei *N*-substituierten Di- und Triaminen von demjenigen Stickstoffatom der Substituent abgespalten, der das niedrigere Ionisierungspotential⁵⁾ aufweist, auch wenn dieser die nachweislich schlechtere Abgangs-

⁵⁾ Ionisierungspotentiale von Modellverbindungen: $\text{CH}_3\text{CONHCH}_3$: $8,90 \pm 0,02$ eV; $\text{CH}_3\text{CON}(\text{CH}_3)_2$: $8,81 \pm 0,03$ eV; $(\text{CH}_3)_2\text{NH}$: $8,24 \pm 0,02$ eV; $(\text{CH}_3)_3\text{N}$: $7,82 \pm 0,02$ eV [7]. (Ionisierungspotentiale der hier zur Diskussion stehenden Verbindungen wurden bisher nicht gemessen.)

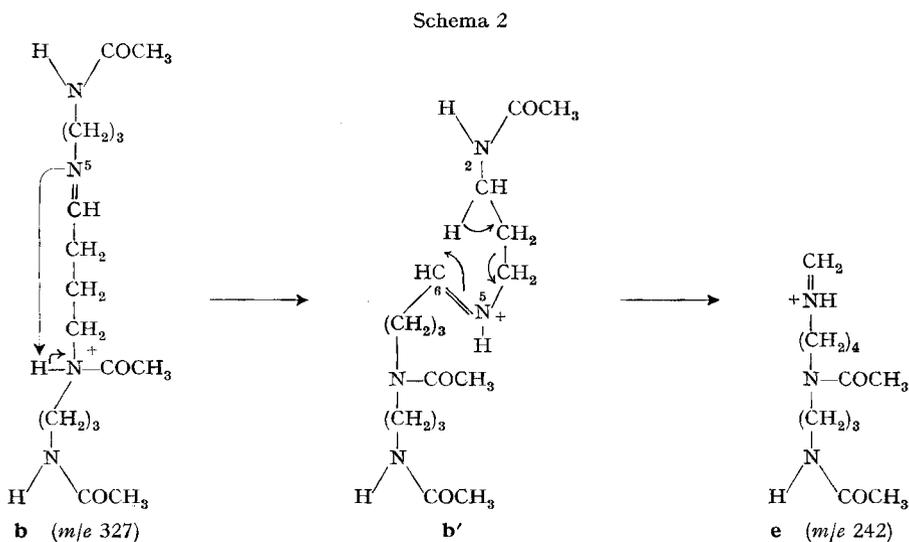


Ver- bindung	M+	R	R'	R''	R'''	a, b	i	h	f	g	e	m	n	o	Fig.
2	370	H	H	H	H	327	268	268	298	256	242	169	129	100	1
2a	382	D	D	H	H	336	274	274	307	263	249	172	133	103	-
2b	376	D	H	H	H	330	271	271	304	260	246	169	130	100	2
2c	380	H	D	D	H	337	275	275	303	261	247	174	134	105	-
2d	386	D	D	D	H	340	278	278	309	265	251	174	135	105	-
2e	374	H	H	H	D	331	271	272	302	260	244	171	131	102	3
2f	374	H	H	D	H	331	272	272	300	258	244	171	131	102	4

gruppe trägt. Im Falle der Verbindung **2a** müssen die beiden mittleren, tertiären Amidstickstoffe als Ladungsträger im Molekularion angesehen werden. Für die Abspaltung der daran haftenden Acetylgruppe ergeben sich zwei Möglichkeiten: Entweder greift die zweite *tertiäre* $>\text{NCOCH}_3$ -Gruppierung an, oder, was auf Grund der experimentellen Resultate wahrscheinlicher ist, die räumlich näher gelegenen *sekundären* Amide sind die angreifende Gruppierung (vgl. Schema 1). Auch für die Fragmentierung des Spermin-Derivates **4** trifft diese Überlegung zu. Das niedrigste Ionisierungspotential besitzen die tertiären Amin-Stickstoffatome verglichen mit den tertiären Amidn. Folglich sind auch diese Ladungsträger. Es wird somit ausschliesslich Äthyl (29 m. u.) und kein Acetyl (43 m. u.) aus dem Molekularion abgespalten (vgl. Fig. 5). Bei symmetrisch substituierten aliphatischen Diaminen, die sowohl Acetyl als auch Äthyl am selben Stickstoffatom tragen (z. B. N, N'-Diacetyl-N, N'-diäthylputrescin), wird ausschliesslich ein Verlust von Acetyl beobachtet [6]. Daraus geht hervor, dass die abgespaltene Äthylgruppe von **4** vom Amin- und nicht vom Amidstickstoff stammt. In Konkurrenz zur Abspaltung der Äthylgruppe (vgl. Schema 1) kann auch der andere aliphatische (grössere) Rest abgespalten werden, dies führt zu *m/e* 171 (**d**)⁶ oder es entsteht – falls N(10) angreift – das Ion *m/e* 270 (**c**)⁶. Diese Konkurrenzreaktionen sind bei der Fragmentierung von **2** nicht zu erwarten, da, wie erwähnt, ausschliesslich der Acetyl-, und nicht der substituierte Alkylrest entfernt wird.

In Analogie zu der Bildung der Ionen 143, 157 und 169 im Massenspektrum des Spermidin-Derivates **3** [4] werden die Ionen 242, 256 und 268 aus **2** gebildet, d. h. für das Ion 242 gibt es zwei, für 256 einen und für 268 zwei unabhängige Bildungswege, die alle, mit Ausnahme eines der Ionen mit Masse 242, nur durch Nachbargruppenbeteiligungen von zwei oder drei Stickstoffatomen erklärt werden können.

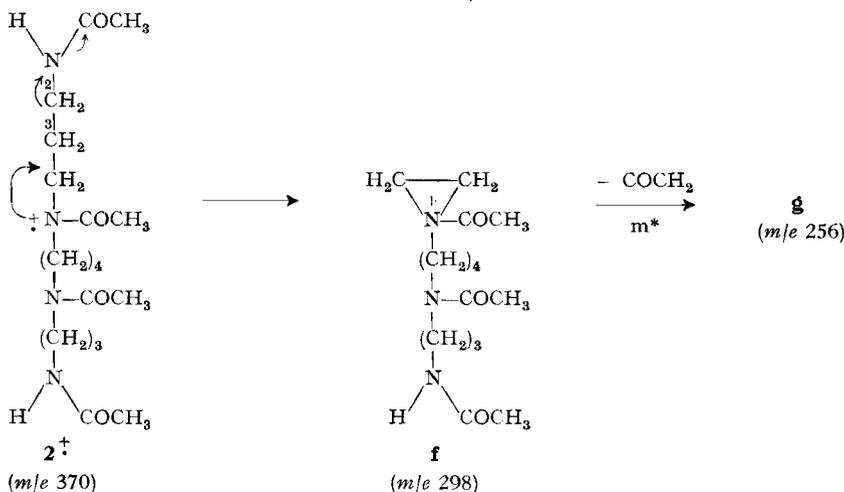
Die Mechanismen sind in den folgenden Schemata (2–6) angegeben.



⁶) In den Spektren der deuterierten Derivate von **4** werden korrekte Verschiebungen für die Ionen 171 und 270 beobachtet, vgl. exp. Teil.

Eine Bildungsmöglichkeit des Ions m/e 242 besteht in der Spaltung der C(3)–C(4)-Bindung, gefolgt von einem Ketenverlust. Der zweite Bildungsweg (Schema 2) geht von dem bereits erwähnten $[M - \text{CH}_3\text{CO}]^+$ -Ion **b** aus, welches nach H-Transfer-Reaktionen (N(10)–H \rightarrow N(5); C(2)–H \rightarrow C(6)) in **e** (m/e 242) übergeht.

Für das Ion m/e 256 lässt sich eine Aziridinium-Struktur **g**, postulieren. Im Molekularion von **2** wird die C(2)–C(3)-Bindung gespalten, das entstandene Ion **f** (m/e 298) verliert anschliessend Keten und bildet **g** (Schema 3).

Schema 3⁷⁾

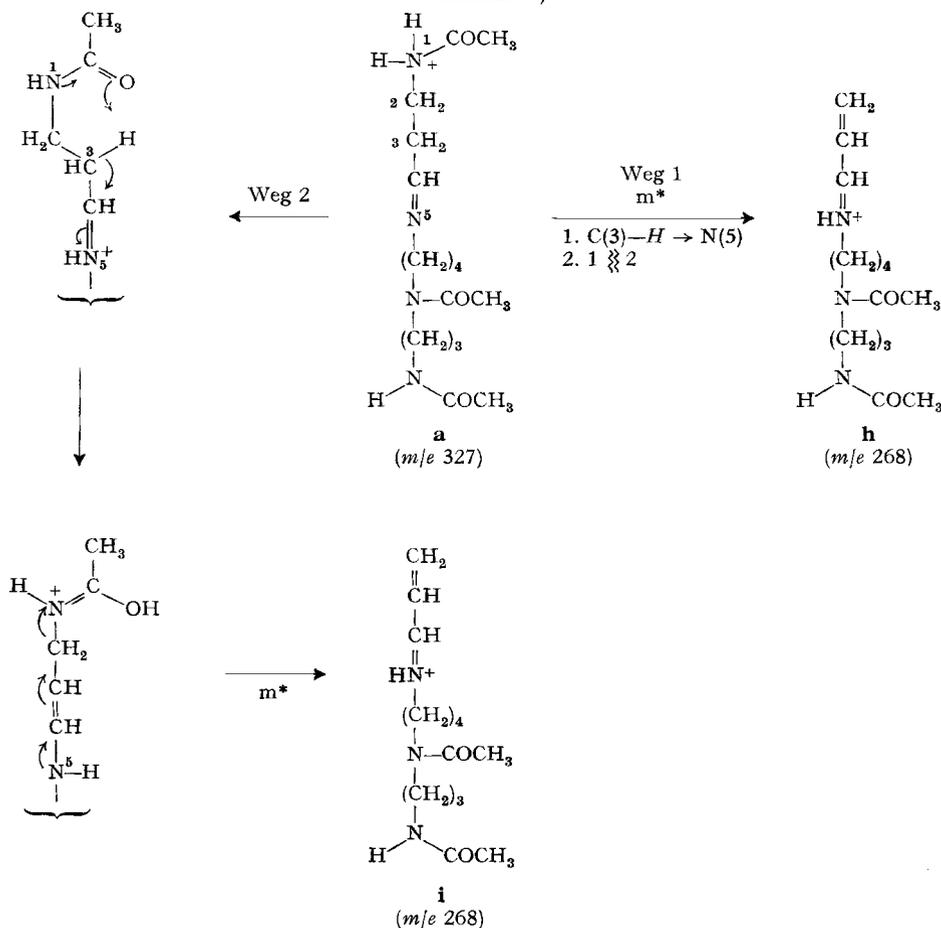
Beide Bildungswege für das Ion m/e 268 gehen vom $[M - \text{COCH}_3]^+$ -Ion **a** aus, vgl. Schema 4. Entweder wird im Zuge einer Wasserstofftransfer-Reaktion (C(3)–H \rightarrow N(5)) die Ladung von N(1) auf N(5) übertragen unter Spaltung der C(2)–N(1)-Bindung – dabei entsteht **h** (m/e 268) – oder es wird zunächst eines der H von N(1) mit der Ladung auf N(5) übertragen (Weg 2). Im nachfolgenden Reaktionsschritt wird durch die an N(1) gebundene CO–CH₃-Gruppe ein C(3)H an den Carbonylsauerstoff unter erneutem Ladungstransfer übergeben. Schliesslich fragmentiert das Ion zu **i** (m/e 268), wobei die Ladung wieder am N(5) lokalisiert ist. Speziell bei diesem Mechanismus ist also ein mehrfacher Ladungswechsel zwischen den benachbarten Stickstoffatomen anzunehmen.

Die Verschiebung der relevanten Signale in den Spektren der deuterierten Verbindungen **2a** bis **2f** stimmen mit den angegebenen Formulierungen überein.

2. Pik-triade 143, 157, 169. – Wie bereits zu Beginn dieser Arbeit erwähnt, sind im Spektrum von **2** Signale bei m/e 143, 157 und 169 vorhanden; die entsprechenden Ionen haben aber andere Bildungswege, wie diejenigen der Spermidinderivate **1** und **3**.

In den Spektren der deuterierten Derivate **2a** bis **2f** werden die Piks bei m/e 143 und 157 teilweise so verschmiert, dass strukturelle Zuordnungen nicht sinnvoll sind.

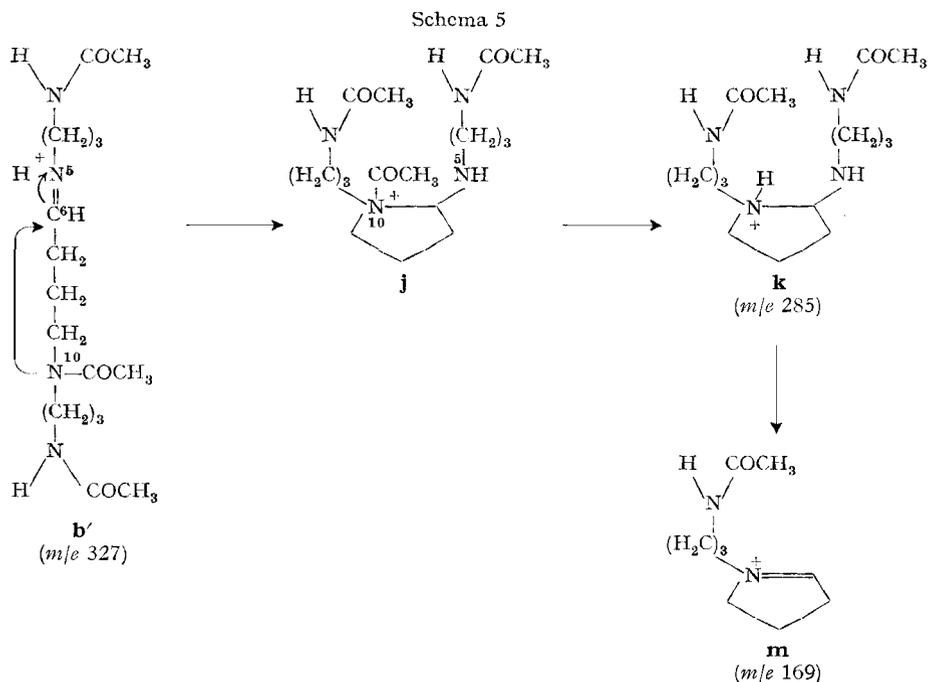
⁷⁾ Die durch metastabile Übergänge markierten Reaktionen werden auch in den Spektren der deuterierten Derivate angezeigt.

Schema 4⁷⁾


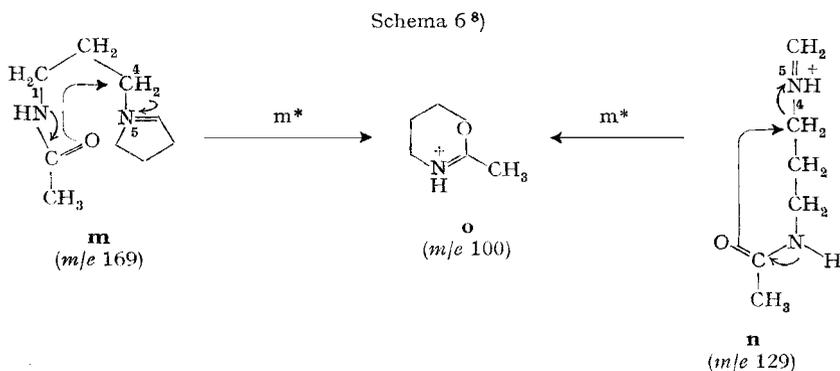
Hingegen wird das Signal bei m/e 169 im Spektrum von **2** klar verschoben. Dem entsprechenden Ion kommt die Struktur **m** zu. Es ist damit analog zu einem Fragment-Ion im Spektrum des bereits erwähnten Spermidin-Derivates **3** zu formulieren [4]:

Im Ion **b'** (m/e 327, Schema 2) kann der Stickstoff N(10) am C(6) angreifen, was zum cyclischen Ion **j** führt. Dieses spaltet nach Ketanelimierung (**k**, m/e 285) den am C(6) haftenden Rest zusammen mit dem Wasserstoff an N(10) als primäres Amin ab (vgl. [6]). In Übereinstimmung mit dieser Formulierung stehen die Verschiebungen dieses Signals in den Spektren der deuterierten Derivate; es geht daraus eindeutig hervor, dass im Ion **m** (m/e 169) die Acetylgruppe nicht innen, sondern aussen sitzen muss (vgl. Schema 5).

Ausser den voranstehend diskutierten Ionen werden im Spektrum von **2** noch eine Reihe weiterer Ionen registriert, die durch andere Spaltungsreaktionen entstanden sind. Durch α -Spaltung entstehen die Ionen m/e 171, 72, 43, bzw., nach Ketanelimierung, 129 (**n**) und 30.



3. S_Ni-artige Reaktion. – Basispik im Spektrum von **2** ist *m/e* 100. Auf Grund der Verschiebungen, die dieses Signal in den Spektren der deuterierten Derivate **2a** bis **2f** erfährt, kommt ihm die Struktur **o** zu. Metastabile Piks weisen darauf hin, dass das Ion sowohl aus **m** (*m/e* 169) als auch aus **n** (*m/e* 129) gebildet wird. Es scheint, dass bei beiden Reaktionen unter Nachbargruppenwirkung N(1) bzw. die daran befindliche Acetylgruppe am C(4) unter Eliminierung eines neutralenamins mit N(5) (S_Ni-artige Reaktion [8]) angreift (vgl. Schema 6⁸⁾). Derartige S_Ni-artige Reaktionen sind bei massenspektrometrischen Abbaureaktionen immer dann zu erwarten, wenn zwei funktionelle Gruppen an einer aliphatischen Molekel haften.



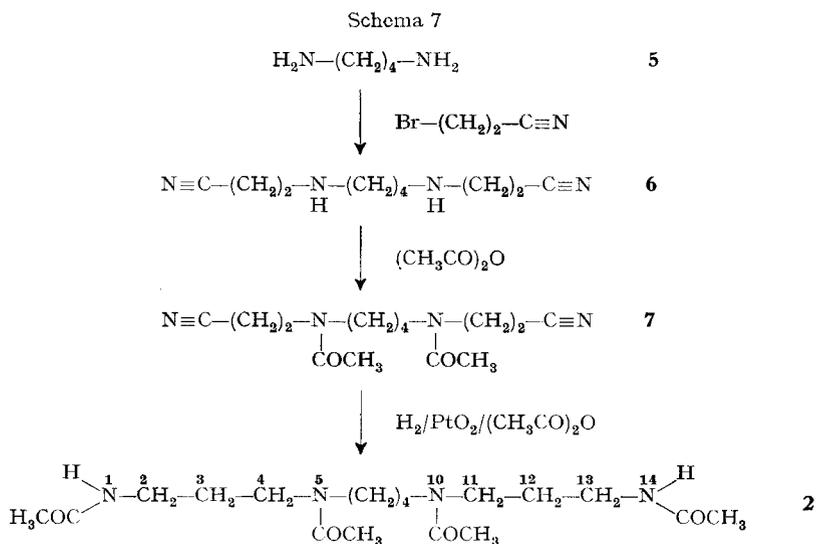
⁸⁾ Abgesehen von den Ionen **m** und **n** können noch eine Anzahl weiterer Ionen als Vorstufen für **h** angesehen werden.

4. Synthese der deuterierten Verbindungen. – Abgesehen von der dodeka-deuterierten Verbindung **2a**, die durch Deuterioacetylierung von Spermin erhalten wurde, sind die anderen Derivate ausgehend von Putrescin (**5**) gemäss Schema 7 dargestellt worden.

Umsetzung von **5** mit 3-Brom-propionitril führt zum Dinitril **6**, welches bei der Acetylierung in **7** übergeht. Die reduktive Acetylierung (H_2/PtO_2 /Essigsäureanhydrid) von **7** liefert schliesslich Tetraacetylspermin **2**.

Zum Dekadeuterioderivat **2c** ($C(2)D_2$, $C(13)D_2$, $N(1)COCD_3$, $N(2)COCD_3$) gelangt man durch Reduktion von **7** in Gegenwart von $D_2/PtO_2/(CD_3CO)_2O$. Hydrolyse ($2N\ HCl$, 150°) von **2c** und Acetylierung mit $(CH_3CO)_2O$ führt zur Tetradeuterioverbindung **2f**. Das mit $(CD_3CO)_2O$ umgesetzte Dinitril **6** liefert, weiterbehandelt wie im Schema 7 angegeben, **2b**, oder mit $D_2/PtO_2/(CD_3CO)_2O$ reduziert, **2d**. Die Synthese der an C(2) und C(12) tetradeuterierten Verbindung **2e** gelang durch D_2O /Dioxan-Behandlung von **7** in Gegenwart katalytischer Mengen KCN. Da gleichzeitig auch die $>NCOCH_3$ -Reste einen partiellen Deuterierungsgrad aufwiesen, musste das erhaltene Spermin-Derivat entacetyliert und erneut acetyliert werden.

Das Tetraäthylderivat **4** wurde aus **2** durch Diisobutylaluminiumhydrid-Reduktion gefolgt von Acetylierung bereitet; durch $LiAlD_4$ -Reduktion erhielt man unter anderem eine Octadeuterioverbindung, die bei der Acetylierung in **4b** umgewandelt wurde. Die Verbindungen **4a** und **4c** wurden in üblicher Weise gewonnen.



Zusammenfassend lässt sich feststellen, dass sich das Fragmentierungsverhalten von Tetraacetylspermin (**2**) ganz in dasjenige anderer polyfunktioneller Alkane und Alicyclen einfügt [9]. Wie bei diesen Verbindungen gezeigt werden konnte, ist ein Teil der Fragmentierung unabhängig von der oder den anderen Gruppen in der Molekel. Eine Reihe von Fragment-Ionen, jedoch, lassen sich nur dadurch erklären, dass man gegenseitige Wechselwirkungen der Gruppen annimmt. Im speziellen wird das Frag-

mentierungsmuster von **2** durch derartige Nachbargruppeneffekte beeinflusst. Man hat vier Arten von Ionen zu unterscheiden:

1. $[M - \text{COCH}_3]^+$ -Ion: m/e 327.
2. Ionen, die durch den Zerfall einer der 1,3-Diaminopropan-Einheiten entstehen: m/e 242, 256, 268.
3. Ausstossung eines neutralen Amins: m/e 169.
4. S_{NI} -artige Reaktionen: m/e 100.

Wir danken dem *Schweizerischen Nationalfonds* für die Unterstützung dieser Arbeit. Ferner sind wir den Herren Dr. H.-J. Veith (Universität Zürich) für die Aufnahme der Niederauflösungspektren und Dr. W. Vetter (*Hoffmann-La Roche & Co AG*, Basel) für ein hochaufgelöstes Massenspektrum zu Dank verpflichtet.

Experimenteller Teil

Allgemeine Bemerkungen. Abdampfoperationen wurden am Rotationsverdampfer bei ca. 40° durchgeführt. Zur präparativen und Dünnschichtchromatographie (DS.) wurde Kieselgel (*Merck* PF₂₅₄ bzw. HF₂₅₄) und Alox (*Merck* PF₂₅₄ Typ E bzw. HF₂₅₄) verwendet. Laufmittel war Chloroform, dem 2,5–30% Methanol zugesetzt war. Als Sprühreagentien zum Anfärben wurden Kaliumhexajodoplatinat und Cer(IV)-sulfat-Lösungen verwendet. Sämtliche synthetisierten Verbindungen ausgenommen **7** sind Öle. Der Smp. von **7** wurde mit dem Gerät *Mettler* FP-2 gemessen. – Die Infrarot-Spektren (IR.) wurden in CHCl_3 aufgenommen und sind in cm^{-1} aufgeführt. Die NMR.-Spektren wurden, wenn nicht anders angegeben, in CDCl_3 aufgenommen mit Tetramethylsilan als internem Standard. Chem. Verschiebungen in ppm (δ), s = Singulett, q = Quartett, m = Multiplett. Die Massenspektren (MS.) wurden mit dem Gerät *CEC* Typ 21-110 B (70 eV, Direktinfluss, Heizwendel) aufgenommen. Angaben in m/e (rel.%) ab m/e 80 (> 5% ausser M^+). Die Hochauflösung der Piks im Spektrum von **2** wurde mit dem Data-System DS 20 (A.E.I. Manchester) ausgeführt.

1. Allgemeine Arbeitsvorschrift für die Acetylierung von Aminen

1.1. Zu den Lösungen von **5** bis 500 mg Amin in ca. 5 ml Pyridin (abs.) wurden unter Kühlung ca. 5 ml Essigsäureanhydrid (*Merck*, p.a.) getropft, so dass die Reaktionstemperatur 40° nicht überstieg. Nach 12 Std. Stehen bei 20° wurde das Lösungsmittel bei 10^{-3} Torr abgedampft und der Rückstand chromatographiert.

1.2. Die Deuterioacetylierung wurde analog Versuch 1.1., jedoch mit d_6 -Essigsäureanhydrid (*Fluka*, purum, ≥ 99 Atom % D) ausgeführt.

Die Ausbeuten nach den Vorschriften 1.1. und 1.2. betragen 80–95%.

2. *N(1), N(5), N(10), N(14)*-Tetraacetyl-spermin (**2**)

2.1. *Aus Spermin.* Nach Vorschrift 1.1. erhielt man Verbindung **2**. IR.: 3440, 3330 (RCONHR), 2980, 2965, 2860, 1655 (RCONR₂), 1625+1520 (RCONHR). NMR. (60 MHz): $\approx 3,3$ (breites, s -artiges m , ca. 12H, $6 \times -\text{CH}_2-(\text{NCOR})$), 2,12 (s , ca. 6H, $2 \times \begin{matrix} \text{H} \\ | \\ \text{R} \end{matrix} \text{N}-\text{COCH}_3$), 1,99 (s , ca. 6H, $2 \times \text{R}_2\text{NCOCH}_3$) $\approx 1,7$ (breites m , ca. 8H, $4 \times (\text{C}-\text{CH}_2-(\text{C}))$). MS.: 370 (M^+ , 1), 327 (30, $\text{C}_{16}\text{H}_{31}\text{N}_4\text{O}_3$), 309 (8, $\text{C}_{16}\text{H}_{29}\text{N}_4\text{O}_2$), 298 (7), 268 (32, $\text{C}_{14}\text{H}_{26}\text{N}_3\text{O}_2$), 256 (25, $\text{C}_{13}\text{H}_{26}\text{N}_3\text{O}_2$), 242 (14, $\text{C}_{12}\text{H}_{24}\text{N}_3\text{O}_2$), 213 (8, $\text{C}_{11}\text{H}_{21}\text{N}_2\text{O}_2$), 199 (5, $\text{C}_{10}\text{H}_{19}\text{N}_2\text{O}_2$), 183 (6), 171 (10), 169 (19, $\text{C}_9\text{H}_{17}\text{N}_2\text{O}$), 157 (9, $\text{C}_8\text{H}_{17}\text{N}_2\text{O}$), 143 (19, $\text{C}_7\text{H}_{15}\text{N}_2\text{O}$), 129 (43, $\text{C}_6\text{H}_{13}\text{N}_2\text{O}$), 112 (16, $\text{C}_6\text{H}_{10}\text{NO}$), 110 (26), 100 (100, $\text{C}_5\text{H}_{10}\text{NO}$), 98 (35, $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{N}$), 84 (67, $\text{C}_5\text{H}_{10}\text{N}$) (vgl. Fig. 1).

2.2. *Aus $N(1), N(6)$ -Bis(β -cyanoäthyl)-putrescin (**6**).* 20 mg der Verbindung **6** (vgl. Versuch 11) wurden in 7 ml Essigsäureanhydrid mit H_2 und 100 mg PtO_2 (*Adams*-Katalysator, *Heraeus*) hydriert. Nach 12 Std. wurde vom Katalysator abfiltriert, die Lösung eingedampft und der Rückstand durch Schichtchromatographie gereinigt. Ausbeute: 33 mg (90%); vgl. [6]. Das nach dieser Vorschrift bereitete Präparat erwies sich aufgrund von NMR.- und MS.-Spektren sowie von DS. als identisch mit **2** (Versuch 2.1.).

3. *$N(1), N(5), N(10), N(14)$ -Tetra(trideuterioacetyl)-spermin (**2a**).* Diese Verbindung wurde aus Spermin nach Vorschrift 1.2. bereitet. MS.: 382 (M^+ , 1), 336 (40), 318 (11), 307 (8), 274 (39),

263 (27), 249 (10), 248 (11), 219 (10), 205 (7), 186 (7), 177 (6), 175 (5), 173 (7), 172 (22), 161 (8), 147 (11), 143 (7), 133 (43), 115 (17), 110 (29), 103 (100), 98 (30), 93 (19), 84 (80).

4. *N(1), N(5), N(10), N(14)-Tetraäthyl-spermin*. 37 mg (0,1 mMol) **2** wurden in 5 ml trockenem Benzol gelöst. Dazu gab man unter trockenem N₂ 20 mMol Diisobutylaluminiumhydrid (*Fluka*, purum). Nach 24 Std. Kochen unter Rückfluss wurde unter Kühlung zuerst mit wassergesättigtem Äther, dann mit gesättigter *Seignettesalz*-Lösung und schliesslich mit wenig 2N HCl hydrolysiert. Danach stellte man die Lösung mit Na₂CO₃ alkalisch und extrahierte mit CHCl₃. Ausbeute: 28 mg (90%). (Die Reduktion mit LiAlH₄ ergab ein komplexes, schwerer trennbares Gemisch). IR.: 3250–3100, 2930, 2860, 2820, 1460, 1570. NMR. (60 MHz, CCl₄): ca. 3,5 (*m*, 2 × NH_R), 3,1–2,1 (*m*, 10 × (N)–CH₂–), 2,0–0,8 (*m*, 4 × CH₂–CH₃, 4 × (C)–CH₂–(C)). MS.: 314 (*M*⁺).

5. *N(1), N(5), N(10), N(14)-Tetra(β-trideuterioäthyl)-spermin*. Verbindung **2a** wurde analog Vorschrift 4 reduziert. MS.: 326 (*M*⁺).

6. *N(1), N(5), N(10), N(14)-Tetra(α,α-dideuterioäthyl)-spermin*. 38 mg (0,1 mMol) **2** wurden in 5 ml trockenem Tetrahydrofuran gelöst und zu einer Suspension von 5 mMol LiAlD₄ (*Merck*, Deuterierungsgrad 99%) in 5 ml Tetrahydrofuran getropft. Nach 12 Std. Kochen unter Rückfluss wurde tropfenweise mit gesättigter *Seignettesalz*-Lösung unter Kühlung hydrolysiert und anschliessend wenig 2N HCl zugegeben. Danach stellte man mit Na₂CO₃ alkalisch und extrahierte mit Chloroform. Ausbeute: 23 mg (90%). MS.: 322 (*M*⁺).

7. *N(1), N(14)-Diacetyl-N(1), N(5), N(10), N(14)-tetraäthyl-spermin (4)*. 15 mg N(1), N(5), N(10)-N(14)-Tetraäthyl-spermin wurden nach Vorschrift 1.1. acetyliert. IR.: 2960, 2930, 2880, 2810, 1630 (breit, H₃C–CONR₂). NMR. (100 MHz): 3,2–3,5 (*q*-artiges *m*, 4 × OCN^R–CH₂), 2,2–2,7 (*m*, 6 × R₂N–CH₂–), 2,08 (*s*, 2 OC–CH₃), 2,1–0,9 (*m*, 10 × (C)–CH₂–(C)). MS.: 398 (*M*⁺), vgl. Fig. 5.

8. *N(1), N(14)-Diacetyl-N(1), N(5), N(10), N(14)-tetra(β,β-trideuterioäthyl)-spermin (4a)*. Die Acetylierung von 10 mg der durch Versuch 5 hergestellten Verbindung erfolgte analog Versuch 1.1. MS.: (Signalschwerpunkte) 410 (*M*⁺, 6), 378 (10), 307 (13), 279 (24), 191 (30), 177 (25), 160 (6), 146 (5), 131 (100), 117 (32), 101 (34), 87 (29).

9. *N(1), N(14)-Diacetyl-N(1), N(5), N(10), N(14)-tetra(α,α-dideuterioäthyl)-spermin (4b)*. Diese Verbindung gewann man aus N(1), N(5), N(10), N(14)-Tetra(β-trideuterioäthyl)-spermin (15 mg) gemäss Versuch 1.1. MS. (Signalschwerpunkte): 406 (*M*⁺, 3), 375 (6), 304 (8), 276 (14), 189 (26), 177 (8), 176 (15), 175 (8), 161 (4), 146 (3), 130 (100), 100 (43), 86 (33).

10. *N(1), N(14)-Di(trideuterioacetyl)-N(1), N(5), N(10), N(14)-tetraäthyl-spermin (4c)*. Durch Deuterioacetylierung von N(1), N(5), N(10), N(14)-Tetraäthyl-spermin analog Versuch 1.2. erhielt man **4c**. MS. (Signalschwerpunkte): 404 (*M*⁺, 9), 375 (9), 301 (11), 273 (14), 188 (45), 176 (5), 175 (20), 174 (12), 160 (4), 157 (5), 146 (4), 131 (100), 114 (30), 98 (62), 84 (48).

11. *N, N'-Di-(β-cyanoäthyl)-putrescin (6)*. 3,5 g (40 mMol) Putrescin (**5**, *Fluka*, puriss.) wurden in 50 ml trockenem Benzol gelöst, und unter Kühlung tropfte man 5,4 g (40 mMol) β-Brompropionitril (*Fluka*, purum) in 15 ml Benzol während 1 Std. zu. Es wurde 10 Std. bei 20° stehengelassen, die ausgefallenen Hydrobromide abfiltriert, das Filtrat eingeeengt und der erneut ausgefallene Niederschlag abfiltriert. Nach dem Abdampfen des Lösungsmittels wurde der Rückstand (1,2 g) an Kieselgel (Laufmittel: Methanol/Chloroform 3:7) 2mal chromatographiert. Ausbeute: 0,82 g (4,2 mMol). MS.: 194 (*M*⁺, 7), 154 (10), 123 (25), 101 (10), 97 (9), 96 (15), 84 (40), 83 (100).

12. *N, N'-Di-(β-cyanoäthyl)-N, N'-diacetyl-putrescin (7)*. Die Acetylierung von **6** wurde gemäss Versuch 1.1. durchgeführt. Kristalle aus CHCl₃/Hexan. Smp. 105–107°. IR.: 2980, 2920, 2860, 2240 (R–C≡N), 1640 (R–CONR₂). MS.: 278 (*M*⁺, 6), 235 (39), 217 (8), 196 (15), 193 (7), 167 (8), 154 (10), 153 (11), 139 (5), 126 (13), 125 (12), 123 (50), 114 (8), 100 (10), 97 (12), 87 (7), 84 (32), 83 (100).

13. *N, N'-Di-(β-cyanoäthyl)-N, N'-di(trideuterioacetyl)-putrescin (7a)*. 30 mg der Verbindung **6** acetylierte man mit d₆-Acetanhydrid (vgl. Versuch 1.2.). Die aus Chloroform/Hexan umkristallisierte Substanz wurde direkt zu **2b** und **2d** weiterverarbeitet.

14. *N(1), N(14)-Diacetyl-N(5), N(10)-di(trideuterioacetyl)-spermin (2b)*. 14 mg **7a** wurden entsprechend Vorschrift 2.2. mit H₂/PtO₂ in Hexadeuterioessigsäureanhydrid⁹⁾ reduktiv acetyliert und gereinigt. MS.: 376 (*M*⁺), vgl. Fig. 2.

⁹⁾ Verwendung von (CH₃CO)₂O hatte unvollständige Deuterierung am Nitrilkohlenstoffatom zur Folge, vgl. [6].

15. *N(1), N(14)-Di(trideuterioacetyl)-N(5), N(10)-diacetyl-2, 2, 13, 13-tetradeterio-spermin (2c)*. 14 mg (0,05 mMol) des Dinitrils **7** reduzierte man in Gegenwart von 70 mg PtO₂ (Adams-Katalysator, Heraeus) in 1 ml d₆-Essigsäureanhydrid mit D₂, 12 Std. Die Aufarbeitung und Reinigung erfolgte analog Vorschrift 2.2. Ausbeute: 17 mg (0,045 mMol). MS.: 380 (M⁺, 1), 337 (43), 309 (11), 303 (9), 275 (30), 261 (31), 248 (7), 247 (5), 218 (9), 204 (6), 186 (3), 185 (3), 176 (7), 174 (11), 162 (5), 157 (3), 148 (11), 134 (42), 112 (30), 105 (100), 98 (30), 84 (55).

16. *N(1), N(5), N(10), N(14)-Tetra(trideuterioacetyl)-2, 2, 13, 13-tetradeterio-spermin (2d)*. Analog Vorschrift 15 wurden 14 mg **7a** in die Hexadecadeterio-Verbindung **2d** überführt. MS.: 386 (M⁺, 7), 340 (53), 322 (14), 309 (11), 278 (53), 265 (37), 251 (18), 221 (12), 207 (8), 189 (4), 188 (5), 179 (8), 174 (26), 161 (6), 149 (9), 148 (9), 147 (9), 135 (45), 115 (18), 112 (30), 105 (100), 98 (28), 84 (62).

17. *N(1), N(5), N(10), N(14)-Tetraacetyl-3, 3, 12, 12-tetradeterio-spermin (2e)*, s. [10].

17.1. *N, N'-Di-(β-cyano-β,β-dideuterio-äthyl)-N, N'-diacetyl-putrescin (7b)*. Zu einer Lösung von 28 mg (0,1 mMol) **7** in 10 ml frisch destilliertem, trockenem Dioxan gab man unter Argon eine Lösung von 50 mg trockenem Kaliumcyanid in 10 ml D₂O (D-Gehalt > 99,7%). Nach 10 Min. bei 20° wurde das Reaktionsgemisch bei 10⁻³ Torr zur Trockne gebracht (40°) und der Rückstand mit 20 ml Dioxan/Wasser 1:1 versetzt. Diese Behandlung hat man nach erneutem Abdampfen noch 2mal wiederholt. Nach dem letzten Eindampfen wurde **7b** aus dem Rückstand mit rektifiziertem, trockenem CHCl₃ extrahiert und diese Lösung durch Filtrieren über 30 g Alox (Woelm), das zuvor mit 5 ml D₂O, dann mit trockenem Dioxan gespült worden war, vom KCN befreit. Nach Abdampfen des Chloroforms erhielt man 26 mg (0,092 mMol) Substanz = 92%. MS.: D-Gehalt¹⁰): d₀-d₂ = 0%, d₃ = 4%, d₄ = 39%, d₅ = 36%, d₆ = 15%, d₇ = 5%, d₈ = 1%. Auf die Angabe des Spektrums wird aufgrund der D-Verteilung verzichtet (vgl. 17.2.).

17.2. 25 mg der Verbindung **7b** reduzierte man mit H₂/PtO₂/Essigsäureanhydrid (vgl. Versuch 2.2.). Das MS. des Reduktionsproduktes zeigte die entsprechende D-Verteilung wie Verbindung **7b**. Da angenommen werden musste, dass die zusätzlichen D-Atome in den Methylgruppen der mittelständigen Acetylgruppen lokalisiert sind, wurde das Reduktionsprodukt entacetyliert und anschliessend erneut acetyliert. Dazu löste man das gesamte Produkt in 3 ml 2N Salzsäure und erhitze 36 Std. luftfrei bei 150°/10⁻³ Torr im Bombenrohr. Nach Verdampfen des Lösungsmittels acetylierte und reinigte man den Rückstand wie üblich (Versuch 1.1.). Ausbeute: 15,5 mg (0,042 mMol). MS.: 374 (M⁺, 1), vgl. Fig. 3. D-Gehalt¹⁰): d₀-d₂ = 0%, d₃ = 11%, d₄ = 89%, d₅-d₈ = 0%.

18. *N(1), N(5), N(10), N(14)-Tetraacetyl-2, 2, 13, 13-tetradeterio-spermin (2f)*. 25 mg der deuterierten Substanz **2d** entacetylierte man wie im Versuch 17.2. angegeben und acetylierte das entstandene Hydrochlorid wie üblich. Ausbeute: 12 mg (0,032 mMol). MS.: 374 (M⁺), vgl. Fig. 4.

LITERATURVERZEICHNIS

- [1] E. Lerch & M. Hesse, *Helv.* 55, 1883 (1972).
- [2] M. M. Badawi, K. Bernauer, P. van den Broek, D. Gröger, A. Guggisberg, S. Johne, I. Kompiš, F. Schneider, H.-J. Veith, M. Hesse & H. Schmid, *Pure Applied Chem.* 1972, im Druck.
- [3] H.-J. Veith, M. Hesse & H. Schmid, *Helv.* 53, 1355 (1970).
- [4] H. Bosshardt, H.-J. Veith & M. Hesse, *Organic Mass Spectrometry* 6, 325 (1972); *Chimia* 25, 414 (1971).
- [5] I. Kompiš, M. Hesse, H. Schmid, S. Johne & D. Gröger, *Chimia* 24, 450 (1970); I. Kompiš, H. Bernhardt, M. Hesse, H. Schmid, S. Johne & D. Gröger, Publikation in Vorbereitung.
- [6] H.-J. Veith, A. Guggisberg & M. Hesse, *Helv.* 54, 653 (1971).
- [7] K. Watanabe, T. Nakayama & J. Mottl, *J. Quant. Spectrosc. Radiat. Transfer* 2, 369 (1962) zitiert in R. C. Weast, Edit. «Handbook of Chemistry and Physics», Chemical Rubber 1969–1970, S. E-80.
- [8] K. Sailer & M. Hesse, *Helv.* 51, 1817 (1968).

¹⁰) Da das Molekularion von zu geringer Intensität ist, wurden die D-Bestimmungen am [M-Acetyl]⁺-Signal ausgeführt.

- [9] *R. Brandt & C. Djerassi*, *Helv.* **51**, 1750 (1968); *J. R. Dias & C. Djerassi*, *Organic Mass Spectrometry* **6**, 385 (1972); *R. E. Wolff, M. Greff & J. A. McCloskey*, *Advanc. Mass Spectrometry* **4**, 193 (1968); *M. Greff, R. E. Wolff, G. H. Draffan & J. A. McCloskey*, *Organic Mass Spectrometry* **3**, 399 (1970); *J. Kossanyi & J. K. Mogto*, *ibid.* **3**, 721 (1970); – *K. Biemann, J. Seibl & F. Gapp*, *J. Amer. chem. Soc.* **83**, 3795 (1961); *T. Shiba, I. Kubota & T. Kaneko*, *Tetrahedron* **26**, 4307 (1970); *S. Johné, D. Gröger & M. Hesse*, *Helv.* **54**, 826 (1971); *E. Wolff & A. Caspar*, *Tetrahedron Letters* **1970**, 1807; – *R. T. Gray, J. Diehman, G. L. Larson, W. K. Musker & C. Djerassi*, *Organic Mass Spectrometry* **3**, 973 (1970); *E. White & J. A. McCloskey*, *J. org. Chemistry* **35**, 4241 (1970); *S. Meyerson & L. C. Leitch*, *J. Amer. chem. Soc.* **93**, 2244 (1971); *R. J. Liedtke, A. F. Gervard, J. Diehman & C. Djerassi*, *J. org. Chemistry* **37**, 776 (1972); *G. Remberg & G. Spiteller*, *Chem. Ber.* **103**, 3640 (1970).
- [10] *F. Pulver*†, geplante Diplomarbeit, Universität Zürich.

6. Steroide und Sexualhormone

246. Mitteilung [1]

Die Partialsynthese von Batrachotoxinin A

von **R. Imhof**, **Frl. E. Gössinger**, **Walter Graf**, **Frau L. Berner-Fenz**, **H. Berner**,
Frl. R. Schaufelberger und **Heinrich Wehrli**

Laboratorium für Organische Chemie
der Eidgenössischen Technischen Hochschule, Zürich

(7. X. 72)

Summary: In addition to the preliminary communication [1] a detailed description of the first partial synthesis of steroidal alkaloid batrachotoxinin A (1) is presented.

Zwischen 1963 und 1969 berichteten *Witkop et al.* über die Isolierung der drei Steroidalkaloide Batrachotoxinin A (1), Batrachotoxin (2) und Homobatrachotoxin (3) aus der Haut des kolumbianischen Pfeilgiftfrosches *Phylllobates aurotaenia* [2] [3] [4] [5] sowie über die röntgenographische Strukturaufklärung des Grundkörpers 1 [4] [6] und dessen Überführung in die Pyrrolester 2 und 3 [5]. Die ungewöhnliche, ausserordentlich komplexe Struktur von Batrachotoxinin A (1) sowie die hohe Toxizität¹⁾ bei gleichzeitig bemerkenswerten pharmakologischen Eigenschaften²⁾ veranlassten uns 1969 zur Aufnahme von Studien zur partialsynthetischen Erschliessung des aus natürlichen Quellen nur sehr schwer zugänglichen Grundkörpers Batrachotoxinin A (1).

Im Rahmen dieses Arbeitsprogrammes berichteten wir seither über die Darstellung der Modellverbindungen 10 [8] [9], 16 [10], 26 [11], 35 [12] [13] [14] und 46 [14], über die Bereitung des für die Synthese von 1 benötigten Ausgangsmaterials 58 [15] sowie in Form einer vorläufigen Mitteilung [1] über die erstmalige Partialsynthese von Batrachotoxinin A (1).

In der vorliegenden abschliessenden Arbeit sollen eingangs die bereits erwähnten Modellstudien, welche die Grundlagen zur Erarbeitung des Konzepts der Partial-

¹⁾ z.B.: 2 DL₅₀ = 2 γ /kg Maus [5].

²⁾ Zur Beeinflussung des Natrium-Kaliumionen-Gleichgewichts an Zellmembranen von Nervenzellen durch 2 vgl. z.B. *Albuquerque et al.* [7].