

- [12] T. A. WITTSTRUCK, S. K. MALHOTRA, H. J. RINGOLD & A. D. CROSS, J. Amer. chem. Soc. **85**, 3038 (1963).
 [13] M. KARPLUS, J. chem. Physics **33**, 1842 (1960); S. STERNHELL, Rev. pure & appl. Chemistry **14**, 15 (1964).
 [14] R. ZÜRCHER, Helv. **46**, 2054 (1963).
 [15] G. ENGLERT & F. MIKSCH, unveröffentlicht.
 [16] M. TOMOEDA, M. INUZUKA, T. FURUTA & T. TAKAHASHI, Tetrahedron Letters **20**, 1233 (1964).
 [17] H. J. RINGOLD & A. TURNER, Chemistry & Ind. **1962**, 211.
 [18] SEARLE, Brit. Patent 871487; A. D. CROSS H. CARPIO & H. J. RINGOLD Steroids **6**, 198 (1963).
 [19] D. BURN, D. N. KIRK & V. PETROW, Proc. chem. Soc. **1960**, 14.
 [20] R. DEGHENGI, Y. LEFEBVRE, P. MITCHELL, P. F. MORAND & R. GAUDRY, Tetrahedron **19**, 289 (1963).

106. Isolierung und Struktur von Pleiocarpolin, Pleiocarpolinin und Kopsinolin

8. Mitteilung über *Pleiocarpa*-Alkaloide [1]

von **Christl Kump, J. Seibl** und **H. Schmid**

(10. IV. 65)

Isolierung und Charakterisierung. Bei der chromatographischen Isolierung des Tuboflavins [2] aus Rinden von *Pleiocarpa pycnantha* K. SCHUM. STAFF, *var. tubicina* STAFF PICHON reicherten sich mehrere bisher unbekannte Nebenalkaloide an. Den mengenmässig grössten Anteil an diesen Substanzen machten die im Titel aufgeführten sogenannten « R_3 -Alkaloide» aus, eine Gruppe von drei einander chromatographisch ähnlichen Alkaloiden, die durch ihre Farbreaktion mit Cer(IV)-sulfat unterschieden werden können (Tab. 1).

Tabelle 1. R_{F1} -Werte und Farbreaktionen der « R_3 -Alkaloide»

Alkaloid	R_{F1} -Werte im		Farbreaktionen mit	
	System I	System II	2 N Cer(IV)-sulfat in 2-proz. H_2SO_4	ges. Cer(IV)-sulfat in konz. H_2SO_4
Pleiocarpolin	0,26	0,10	keine	blauviolett
Pleiocarpolinin	0,23	0,08	rot	rot
Kopsinolin	0,19	0,08	orange	orange

R_{F1} -Wert = Laufstrecke des Alkaloids/Laufstrecke von Pleiocarpin, an Kieselgel G bei 22–25°.

System I = Chloroform-Methanol 100:15.

System II = Chloroform-Diäthylamin 9:1.

In Vorversuchen, die einzelnen Alkaloide der « R_3 -Gruppe» nach den bisher für *Pleiocarpa*-Alkaloide verwendeten Methoden [2] [3] [4] zu isolieren, zersetzte sich ein beträchtlicher Teil der neuen Substanzen. Wie aus Dünnschichtchromatogrammen hervorgeht, tritt diese Zersetzung hauptsächlich beim Erhitzen der « R_3 -Alkaloide» in Lösung (Eindampfen, Umkristallisieren) oder in festem Zustand (Trocknen) auf.

Für die präparative Gewinnung der neuen Alkaloide musste daher eine rasche, schonende Isolierung gewählt und jedes Erhitzen vermieden werden. Die Methode der Wahl war Isolierung durch wiederholte Adsorptionschromatographie an Kieselgel mit dem Elutionsmittel Chloroform-Methanol 10:1. Aus 150 g Rohbasen wurden nach Chromatographie und Kristallisation bei Zimmertemperatur folgende Reinalkaloide erhalten: 180 mg Pleiocarpolin, 243 mg Pleiocarpolinin und 25 mg Kopsinolin. Die Menge der «R₃-Alkaloide» in der Pflanze dürfte höher als die gefundene Menge sein, da die «R₃-Substanzen» aus Extrakten isoliert werden mussten, die ohne Rücksicht auf labile Spurenalkaloide aufgearbeitet worden waren. Direkte Dünnschichtchromatogramme von schonend bereiteten Rohextrakten aus *Pleiocarpa tubicina* (Rinde) scheinen diese Vermutung zu bestätigen.

Pleiocarpolin, Pleiocarpolinin und Kopsinolin wurden auch aus *Pleiocarpa mutica* BENTH. isoliert. In geringer Menge liessen sich Pleiocarpolin und Pleiocarpolinin auch aus denjenigen basischen Fraktionen von *Hunteria eburnea* PICHON gewinnen, aus denen zuvor bereits Pleiocarpin, Pleiocarpinin [3] und Pleiocarpinilam [4] isoliert worden waren.

Wegen der Hitzeempfindlichkeit der kristallisierten neuen Alkaloide waren ihre Summenformeln schwierig zu bestimmen. Dünnschichtchromatographische Kontrolle von Präparaten, die unter verschiedenen Bedingungen getrocknet worden waren, zeigte, dass die Alkaloide bei Temperaturen unterhalb 60° auch nach langer Trocknungszeit unverändert bleiben, während beispielsweise Trocknung bei etwa 75° zu teilweiser Zersetzung führt. Die Analysenpräparate wurden daher im Hochvakuum bei 60° getrocknet, wobei hartnäckig festgehaltenes Kristalllösungsmittel eine sehr lange Trocknungsdauer (6 Tage) notwendig machte. Elementaranalysen derartig behandelter Präparate und osmometrische Molekulargewichtsbestimmungen ergaben für Pleiocarpolin (I) die Formel C₂₄H₃₀O₅N₂, für Pleiocarpolinin (II) C₂₃H₃₀O₃N₂ und für Kopsinolin (III) C₂₂H₂₈O₃N₂. Die Eigenschaften dieser drei Alkaloide sind in Tab. 2 und Tab. 3 aufgeführt.

Tabelle 2. Charakterisierung der «R₃-Alkaloide»

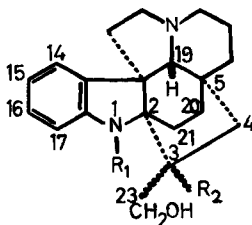
Alkaloid	Bruttoformel	Smp. (Zers.)	[α] _D (CHCl ₃)	Smp. des Hydrochl. (Zers.)	Smp. des Methojod. (Zers.)
Pleiocarpolin	C ₂₄ H ₃₀ O ₅ N ₂	234–235°	– 131° ± 2°	219–221°	232–235°
Pleiocarpolinin	C ₂₃ H ₃₀ O ₃ N ₂	210–211°	– 111° ± 2°	165–167°	–
Kopsinolin	C ₂₂ H ₂₈ O ₃ N ₂	158–160°	– 70° ± 2°	198–200°	263°

Korrelierung von Pleiocarpolin (I), Pleiocarpolinin (II) und Kopsinolin (III). Die drei Alkaloide bilden mit HCl normale Hydrochloride, mit Methyljodid unter milden Bedingungen quartäre Methojodide und stellen daher tertiäre Basen dar. Die UV.-Spektren (Tab. 3) charakterisieren Kopsinolin (III) als Indolin, Pleiocarpolinin (II) als N-Alkylindolin und Pleiocarpolin (I) als N-Acylindolin, womit auch die Cer(IV)-sulfat-Reaktionen (Tab. 1) und die IR.- und NMR.-Spektren (Tab. 3) im Einklang stehen: Im IR. zeigen die drei Basen eine Esterbande bei 1727–1739 cm^{–1} und die «Indolin»-Bande bei 1591–1613 cm^{–1}. Im Spektrum von I erkennt man noch die Bande des Urethan-carbonyls bei 1706 cm^{–1} und im Spektrum von III eine NH-

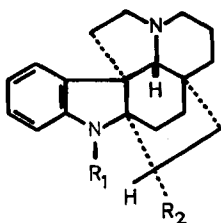
Bande. Alle drei Alkaloide lassen im NMR.-Spektrum vier Aromatenprotonen und das Methylsingulett der C-Carbomethoxygruppe erkennen. Im Spektrum von I sieht man ferner das Singulett der N-COOCH₃-Gruppe, im Spektrum von II dasjenige der N-CH₃-Gruppe und im Spektrum von III das breite N(a)-H-Signal bei ca. 5,0 ppm. Signale von Aldehyd- und C-Methyl-Gruppen sowie von olefinischen Protonen fehlen. In den diskutierten spektralen Eigenschaften gleichen die Basen I, II und III den *Pleiocarpa*-Alkaloiden Pleiocarpin (IV), Pleiocarpinin (V) und Kopsinin (VI) [5] [6] und unterscheiden sich somit wie diese voneinander nur durch verschiedene Substitution am N(a).

Zwei der neuen Alkaloide liessen sich direkt miteinander verknüpfen: Erhitzen von Pleiocarpolin (I) mit Kalilauge, gefolgt von Ansäuern und Erhitzen mit methanolischer Salzsäure lieferte unter Elimination der an N(a) gebundenen Carbomethoxygruppe Kopsinolin (III). Unter denselben Bedingungen wurde IV in VI umgewandelt.

Durch Erhitzen auf 150–180° konnten nun die R₃-Alkaloide in die *Pleiocarpa*-Alkaloide IV, V bzw. VI übergeführt werden, wobei folgende Beziehungen gelten: I → IV¹⁾, II → V und III → VI. Die Spaltalkaloide wurden jeweils durch Dünnschichtchromatographie, Misch-Smp., IR.-Spektren, und im Falle von II noch durch



I	Pleiocarpolin	R ₁ = R ₂ = COOCH ₃
II	Pleiocarpolinin	R ₁ = CH ₃ ; R ₂ = COOCH ₃
III	Kopsinolin	R ₁ = H; R ₂ = COOCH ₃
VII		R ₁ = CH ₃ ; R ₂ = CH ₂ OH



IV	Pleiocarpin	R ₁ = R ₂ = COOCH ₃
V	Pleiocarpinin	R ₁ = CH ₃ ; R ₂ = COOCH ₃
VI	Kopsinin	R ₁ = H; R ₂ = COOCH ₃
VIII	N(a)-Methylkopsinylalkohol	R ₁ = CH ₃ ; R ₂ = CH ₂ OH
IX	Kopsinylalkohol	R ₁ = H; R ₂ = CH ₂ OH

¹⁾ Daneben bildete sich auch etwas V und VI. Scharfe Pyrolyse (200°) von Pleiocarpin (IV) liefert durch thermische Zersetzung der Urethangruppierung ein aus ungefähr denselben Mengen V und VI zusammengesetztes Gemisch. Die Bildung von V und VI aus I ist daher auf einen derartigen sekundären Urethanzerfall zurückzuführen.

die optische Drehung identifiziert. Als leicht flüchtiges Spaltprodukt entstand dabei Formaldehyd, der als *p*-Nitrophenylhydrazon (64% Ausbeute) isoliert und identifiziert wurde. CH_2O entspricht genau dem Unterschied zwischen den Bruttoformeln der R_3 -Alkaloide und denen der zugehörigen Alkaloide vom Pleiocarpin-Typ.

Im Falle von Pleiocarpolinin (II) wurde noch gezeigt, dass Erhitzen mit Methanol auf 180° , mit Pyridin-Essigsäureanhydrid auf 50° und mit Methyljodid in mehr oder weniger starkem Ausmass einen Übergang in Pleiocarpinin (V) bzw. sein Methojodid bewirkt. Beim Versuch, von I bei 170° ein Massenspektrum zu erhalten, wurde nur das Spektrum von IV beobachtet.

Struktur der R_3 -Alkaloide. Auf Grund der oben mitgeteilten physikalischen und chemischen Eigenschaften der R_3 -Alkaloide und ihrer relativ grossen Säurebeständigkeit sind für diese Stoffe die Strukturen I–III in Betracht zu ziehen.

Die durch Erhitzen bewirkte leichte Abspaltung von Formaldehyd ist als thermische Retraldolspaltung zu interpretieren, was nur bei Bindung einer Hydroxymethylgruppe an C-3 möglich ist. Ganz ähnlich verhalten sich dieselbe Teilstruktur

$$\begin{array}{c} \text{C} \\ \diagup \quad \diagdown \\ \text{CH}_3\text{OOC}-\text{C}-\text{CH}_2\text{OH} \end{array} \quad (\text{A})$$

enthaltende Indolalkaloide, wie z.B. Voachalotin [7]. Die Hydroxylgruppe in I und II lässt sich in den in CDCl_3 aufgenommenen IR.-Spektren deutlich erkennen (Tab. 3). Durch Acetylierung (an II ausgeführt) liess sie sich allerdings nicht nachweisen, da hierbei weitgehende Zersetzung eintrat. Die Beobachtung erinnert an ähnliche, am Stemmadenin erhobene Befunde [8]. Während bei den Verbindungen IV–VI im 60-MHz-Kernresonanzspektrum das Signal der OCH_3 -Gruppe die 4-ppm-Region nach kleineren Feldstärken hin abgrenzt, absorbieren die R_3 -Alkaloide schon ab 4,5–5 ppm. Die Region ist aber so komplex, dass sich das Signal der Hydroxymethylgruppe (erwartet ist ein Quartett) nicht sicher lokalisieren lässt. Die Hydroxymethylgruppe wird z.B. im Spektrum von N(a)-Methylkopsinylalkohol (VIII) als breites bei 4 ppm zentriertes Oktett mit Feinaufspaltung, im Vallesamin [9] mit der Teilgruppierung A als Quartett mit δ 4,25, 4,15, 3,84 und 3,74 ppm beobachtet.

Lithiumaluminiumhydrid-Reduktion von Pleiocarpolinin (II) in Tetrahydrofuran gab neben (–)-N(a)-Methylkopsinylalkohol (VIII) ein Reduktionsprodukt VII, das nur mit 1 Mol. Methanol kristallisiert und bei 220 – 225° (Zers.) schmilzt. Die Analyse entspricht der Summenformel $\text{C}_{22}\text{H}_{30}\text{O}_2\text{N}_2 \cdot \text{CH}_3\text{OH}$. Das NMR.-Spektrum auch dieser Verbindung ist in der ~ 4 -ppm-Region schlecht aufgelöst und nicht interpretierbar. Die beiden genannten Verbindungen bildeten sich auch bei der Lithiumaluminiumhydrid-Reduktion von Pleiocarpolin (I) neben Kopsinylalkohol (IX) und der vermutlichen N(a)-Norverbindung von VII. Kopsinolin (III) schliesslich liess bei der entsprechenden Reduktion die beiden zuletzt aufgeführten Verbindungen entstehen. VIII und IX haben ihre Entstehung wiederum einer Retraldolspaltung zu verdanken.

Zur Bestätigung der Haftstelle der CH_2OH -Gruppe an C-3 hat man noch folgendes Experiment ausgeführt: II wurde mit 99-proz. CH_3OD 5 Std. auf 170° erhitzt. Nach der Aufarbeitung durch Chromatographie erhielt man ein Pleiocarpinin B, das nach massenspektrometrischer Analyse 0,45 (bei einem analog ausgeführten Experiment 0,44) D-Atome enthielt. Unter genau denselben Bedingungen wurde Pleiocarpinin (V) mit CH_3OD umgesetzt, wobei man Inkorporierung von 0,26 (im Kontrollexperiment 0,25) D-Atome feststellte. Der Unterschied im Deuterierungsgrad ist reproduzierbar und signifikant.

Tabelle 3. *Physikalische Eigenschaften der «R₃-Alkaloide»*

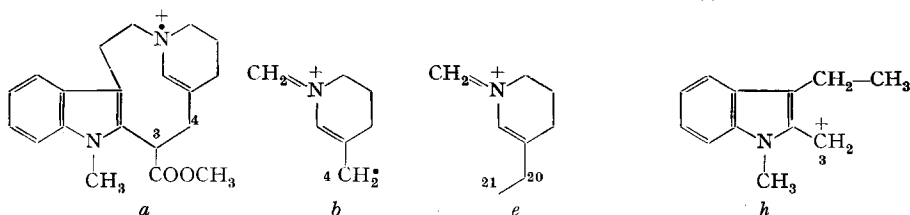
Alkaloid	UV.-Spektrum ^{a)} λ_{max} in nm (log ϵ)	IR.-Spektrum ^{b)} λ_{max} in cm ⁻¹	60-MHz-NMR.-Spektrum ^{c)} Chemische Verschiebungen in ppm
Pleiocarpolin	287 (3,32) 281 (3,33) 245 (4,13) 208 (4,41)	3610 (freies OH) ^{e)} 1739 (Ester) 1706 (Urethan) 1597 (Indolin)	Doublett mit Feinstruktur zentriert bei 8,57 ($J \sim 7$ Hz) (H-1') Doublett mit Feinstruktur zentriert bei 7,63 ($J \sim 7$ Hz) (H-4') ^{f)} Multiplett 7,42–6,8 (H-2', H-3') Multiplette 5,0–3,0 mit Singuletten bei 3,85 (N-COOCH ₃) und 3,74 (C-COOCH ₃) (13 H) Multiplette 1,1–3,0 (13 H) Total: 30 $\pm$ 1 H
Pleiocarpolin	300 (3,53) 251 (4,00) 207 (4,42)	3663 (freies OH) ^{e)} 1739 (Ester) 1613 (Indolin)	Doublett mit Feinstruktur zentriert bei 8,29 ($J \sim 7$ Hz) (H-1') Multiplett 7,45–6,3 (H-2', H-3', H-4') Multiplette von 4,5–1,1 mit Singuletten bei 3,80 (C-COOCH ₃) und 2,94 (N(a)-CH ₃) (26 H) Total: 30 $\pm$ 1 H
Kopsinolin	295 (3,47) 244 (3,87) 205 (4,43)	3344 (NH) ^{d)} 1727 (Ester) 1604 (Indolin)	Doublett mit Feinstruktur zentriert bei 8,28 ($J \sim 7$ Hz) (H-1') Multiplett 7,25–6,5 (H-2', H-3', H-4') breites Signal bei 5,0 (N(a)-H) Multiplette 4,5–2,40 mit Singulett bei 3,81 (C-COOCH ₃) (15 H) Multiplette 2,40–1,1 (8 H) Total: 28 $\pm$ 1 H

^{a)} in 96-proz. Alkohol.^{b)} in KBr.^{c)} in CDCl₃; IX zeigt in CDCl₃ Banden bei 3623 (OH) und 3333 (NH).^{d)} die freie OH-Bande liess sich in dem in CHCl₃ aufgenommenen Spektrum nicht mit Sicherheit lokalisieren.^{e)} in CDCl₃; chemische Verschiebungen relativ zu Tetramethylsilan.^{f)} vgl. [5].

Die Massenspektrometrie von Alkaloiden der Pleiocarpinklasse ist genau untersucht worden [6]. Die wichtigsten Fragmente von Pleiocarpinin (V) bzw. des Deutero-pleiocarpinins B sind in Tab. 4 aufgeführt.

Tabelle 4. *m/e*-Werte der Fragmente von Pleiocarpinin (V) und Deuteropleiocarpinin B

	M^+	<i>a</i>	<i>b</i>	<i>e</i>	<i>h</i>
V	252	224	109	124	172
B	253	225	109	125	173



Die Analyse ergibt, dass das Deuterium in B nur am C-3 lokalisiert ist; nur die Fragmente *a*, *e* und *h* enthalten D; das Fragment *e* besitzt ferner, wie aus der Arbeit [6] hervorgeht, am C-21 das ursprünglich an C-3 gebundene, β -ständige H-Atom.

In dem aus Pleiocarpinin (V) durch Erhitzen mit CH_3OD teilweise deuteriert erhaltenen Alkaloid ist das D-Atom auch an C-3 gebunden; es treten dieselben Fragmente auf wie aus B, nur mit verringerter Intensität.

Hinzuweisen ist noch auf das in den NMR.-Spektren von I, II und III vorkommende, bei $\sim 8,28\text{--}8,57$ ppm zentrierte Aromaten-«Dublett». Im Spektrum (CDCl_3) der Verbindung VII wird es bei 8,13 ppm ($J \sim 7$ Hz) beobachtet. Andererseits fehlt das bei kleiner Feldstärke liegende separierte Aromatensignal im Spektrum (D_2O) von Kopsinolin-hydrochlorid²⁾. Es tritt auch nicht auf in den Spektren der Alkaloide IV–VI. Wir vermuten, dass durch die zwei Substituenten an C-3 das Skelett der R_3 -Alkaloide räumlich so verzerrt wird, dass die Elektronenwolke des einsamen Elektronenpaares am N(b) in die Verbindungslinie zwischen diesem und dem H-Atom an C-14 zu liegen kommt, was die grosse chemische Verschiebung dieses Protons bewirken könnte; die anderen aromatischen Protonen scheiden als Alternativen aus.

Schliesslich ist zu bemerken, dass die R_3 -Alkaloide gegenüber den nach dem Schema Tryptaminfragment + C_{10} -Fragment aufgebauten, monomeren Indolalkaloiden, wie es z. Zt. diskutierte Biogenese-Hypothesen annehmen [10], ein C-Atom (C-23) «zuviel» besitzen.

Jedoch wird die Teilstruktur A in vielen anderen Indolalkaloiden angetroffen (vgl. [11]). Es stellt sich somit die Frage, ob diese Gruppierung als Ganzes einen integrierenden Teil des Alkaloidskeletts darstellt – wie es die heutigen Hypothesen fordern – oder ob die CH_2OH - (oder COOCH_3)-Gruppe erst nachträglich eingeführt wird.

Dem SCHWEIZERISCHEN NATIONALFONDS danken wir für die Unterstützung der Arbeit, den Herren Dres. E. SEEBECK und D. STAUFFACHER (Basel) für einen Extrakt aus *Hunteria eburnea* PICHON.

²⁾ Die Aromatenregion reicht von ca. 7,1–7,9 ppm; C– COOCH_3 -Signal bei 3,75 ppm. Chemische Verschiebung relativ zu externem Tetramethylsilan in CCl_4 .

Experimenteller Teil³⁾

Isolierung von Pleiocarpolin, Pleiocarpolinin und Kopsinolin. – a) *Aus der Rinde von Pleiocarpa tubicina* STAFF: Als Ausgangsmaterial dienten die schwachen Basen I, im besonderen die daraus durch Chromatographie an neutralem Aluminiumoxid erhaltenen Fraktionen Nr. 213–250 [2]. Durch wiederholte Chromatographie dieser Fraktionen an Kieselgel mit Aceton und Chloroform-Methanol (10:1) liessen sich neben Tuboflavin 180 mg *Pleiocarpolin*, 243 mg *Pleiocarpolinin* und 25 mg *Kopsinolin* abtrennen. Die einzelnen Alkaloide wurden bis zur dünn-schicht-chromatographischen Reinheit und Smp.-Konstanz aus Aceton-Pentan und Methanol-Äther umkristallisiert.

b) *Aus den Wurzeln von Pleiocarpa mutica* BENTH.: Zur Verfügung standen 50 g roher Alkaloidextrakt [3] der an 500 g Kieselgel mit Chloroform-Methanol (10:1) chromatographiert wurde. Man erhielt 5 g einer Fraktion, in der die gesuchten Alkaloide angereichert waren. Durch wiederholte Chromatographie dieser Fraktion an der mehr als 200fachen Menge Kieselgel erhielt man 55 mg *Pleiocarpolin*, 60 mg *Pleiocarpolinin* und 5 mg *Kopsinolin*. Sie wurden mit den Alkaloiden aus *Pl. tubicina* in üblicher Weise identifiziert.

c) *Aus Hunteria eburnea* PICHON: Als Ausgangsmaterial diente eine Fraktion (150 mg), die nach Aluminiumoxid-Chromatographie der schwach basischen Alkaloidfraktion erhalten worden war. Die Fraktion enthielt unter anderem Pleiocarpin, Pleiocarpin in und Pleiocarpinilam. Durch mehrmalige Chromatographie an Kieselgel mit Chloroform-Methanol (10:1) konnten daraus 8 mg *Pleiocarpolin* und 13 mg *Pleiocarpolinin* gewonnen werden.

Charakterisierung der einzelnen Alkaloide. – *Pleiocarpolin* (I): Smp. der farblosen Prismen: 234–235° (Zers.). $[\alpha]_D^{24} = -131,6^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 0,94$). UV.-Spektrum: λ_{max} : 287 (3,32), 281 (3,33), 245 (4,13), 208 (4,41); λ_{min} : 285 (3,30), 267 (3,11), 222 (3,49). Keine Verschiebung des Spektrums in 0,05 N wässriger Salzsäure und 0,05 N methanolischer Kalilauge. IR.- und NMR.-Spektrum: siehe theorett. Teil.

$C_{24}H_{30}O_5N_2$	Ber. C 67,58	H 7,09	N 6,57%
(426,50)	Gef. „ 67,45; 67,19	„ 7,01; 7,05	„ 6,76; 6,84%

Osmometrisch ermitteltes Molekulargewicht: 414, 421.

Pleiocarpolin-hydrochlorid: 26,7 mg *Pleiocarpolin* wurden mit wässriger Salzsäure (1:1) bei Zimmertemperatur im Vakuum eingedampft. Der glasige Rückstand wurde in Methanol gelöst und mit Äther versetzt. Bei -4° kristallisierten aus dieser Lösung farblose Würfel, die zweimal aus Methanol-Äther umkristallisiert wurden. Ausbeute 26,5 mg; Smp. 219–221° (Zers.).

$C_{24}H_{31}O_5N_2Cl$ (463,04)	Ber. C 62,25	H 6,75%	Gef. C 62,09	H 6,58%
---------------------------------	--------------	---------	--------------	---------

Pleiocarpolin-methojodid: 13 mg *Pleiocarpolin* wurden in einigen Tropfen Methanol gelöst und die Lösung mit 2 ml Methyljodid versetzt. Nach zwei Tagen (20°) wurde eingedampft, der Rückstand in wenig Methanol gelöst und mit einigen Tropfen Äther versetzt. Bei -4° kristallisierten aus der Lösung allmählich gelbliche Nadeln. Diese wurden dreimal aus Methanol-Äther umkristallisiert. Ausbeute 13 mg; Smp. 232–233° (Zers.).

$C_{25}H_{33}O_5N_2J$ (568,45)	Ber. C 52,82	H 5,86	N 4,90%	Gef. C 52,92	H 5,91	N 5,39%
--------------------------------	--------------	--------	---------	--------------	--------	---------

Reinheitsprüfung: 0,5 mg der Kristalle wurden in wenig Methanol gelöst und die Lösung mit Wasser verdünnt. Die Lösung wurde durch einen Chlorid-Ionenaustauscher (Amberlite IRA-400) filtriert. Ebenso wurden 0,5 mg der Methojodidmutterlaugen in die Methochloride umgewandelt. Die Methochloride wurden mit Methyläthylketon mit 1% Methanol, wassergesättigt, an WHATMAN-Nr.-1-Papier chromatographiert. In beiden Fällen konnte nur ein Fleck beobachtet werden.

Pleiocarpolinin (II): Smp. 210–211° (Zers.). $[\alpha]_D^{22} = -111^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 0,52$). UV.-Spektrum: λ_{max} : 300 (3,53), 251 (4,00), 207 (4,42); λ_{min} : 273 (3,27), 226 (3,49). Keine Verschiebung des

³⁾ Die Smp. wurden auf dem KOFLER-Block bestimmt. Abdampfoperationen im Rotationsverdampfer bei 40–50° Badtemperatur. UV.-Spektren in 96-proz. Alkohol, Angaben in nm ($\log \epsilon$). IR.-Spektren in cm^{-1} . Drehungen in Chloroform. Dünn-schicht-chromatogramme auf Kieselgel G (MERCK). Sprühreagentien: Cer(IV)-sulfat-Reagens (Helv. 29, 1853 (1946); 33, 512 (1950); siehe theorett. Teil) und Kaliumjodoplatinat-Reagens (Helv. 35, 29 (1952)). Präparative Chromatogramme an Kieselgel MERCK, 0,05–0,2 mm. Die Massenspektren wurden auf einem AEI-Instrument mit Modell MS-2-II bei 70 V Elektronenspannung und 170° aufgenommen.

Spektrums in 0,05 N wässriger Salzsäure und 0,05 N methanolischer Kalilauge. IR.- und NMR.-Spektrum: siehe theoret. Teil.

$C_{23}H_{30}O_3N_2$	Ber. C 72,22	H 7,91	N 7,32	OCH_3 8,12	NCH_3 3,90%
(382,49)	Gef. „ 71,99	„ 7,81	„ 7,41	„ 8,52	„ 3,81%
	„ „ 71,82	„ 7,64	„ 7,11	„ 8,02	„ 3,19%

Pleiocarpolin-hydrochlorid: 7 mg Pleiocarpolin wurden in der beim Pleiocarpolin beschriebenen Weise ins Hydrochlorid übergeführt. Nach zweimaliger Kristallisation aus Methanol-Äther und Aceton-Wasser erhielt man farblose Nadeln, Smp. 165–167° (Zers.). Ausbeute 5 mg.

Kopsinolin (III): Smp. 158–160° (Zers.). $[\alpha]_D^{22} = -70,1^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 0,48$). UV.-Spektrum: λ_{max} : 295 (3,47), 244 (3,87), 205 (4,43); λ_{min} : 267 (3,04), 223 (3,56). Keine Verschiebung des Spektrums in 0,05 N wässriger Salzsäure und 0,05 N methanolischer Kalilauge. IR.- und NMR.-Spektrum: siehe theoret. Teil.

$C_{22}H_{28}O_3N_2$ (368,46)	Ber. C 71,71	H 7,66	N 7,60%	Gef. C 71,34	H 7,30	N 7,21%
-------------------------------	--------------	--------	---------	--------------	--------	---------

Kopsinolin-hydrochlorid: 10 mg Kopsinolin wurden in 5 N wässriger Salzsäure im Vakuum bei Zimmertemperatur eingedampft. Der glasige Rückstand wurde in wenig Wasser gelöst und langsam mit Aceton versetzt. Dabei kristallisierte das Salz in farblosen, länglichen Prismen. Nach zweimaligem Umkristallisieren blieb der Smp. bei 198–200° (Zers.). Ausbeute 9 mg.

$C_{22}H_{29}O_3N_2Cl$ (404,90)	Ber. C 65,25	H 7,18	N 6,92%	Gef. C 65,40	H 7,30	N 6,67%
---------------------------------	--------------	--------	---------	--------------	--------	---------

Kopsinolin-methojodid: 5 mg Kopsinolin wurden in einem Tropfen Methanol gelöst und acht Stunden mit Methyljodid bei Zimmertemperatur stehengelassen. Dann wurde eingedampft, der Rückstand in wenig Methanol gelöst und mit Äther versetzt. Bei -4° kristallisierte die Substanz allmählich in gelblichen Nadeln. Nach dem Umkristallisieren aus Methanol-Äther lag der Smp. bei 263° (Zers.). Ausbeute 4 mg.

$C_{23}H_{31}O_3N_2J$ (510,41)	Ber. C 54,12	H 6,08%	Gef. C 54,35	H 5,70%
--------------------------------	--------------	---------	--------------	---------

Umwandlungen der einzelnen Alkaloide. – *Korrelierung von Pleiocarpolin (I) und Kopsinolin (III)*: 15 mg Pleiocarpolin wurden mit 10 ml 10-proz. wässriger Kalilauge auf 120–140° erhitzt (Ölbad). Das abdestillierende Wasser wurde laufend ergänzt. Nach 30 Min. wurde die Reaktionslösung mit Salzsäure angesäuert und im Vakuum eingedampft. Der Rückstand wurde mehrmals mit insgesamt 100 ml absolutem Methanol bei Zimmertemperatur ausgezogen. Nach dem Eindampfen der methanolischen Lösung wurde der Rückstand in 10 ml absolutem Methanol aufgenommen und unter Einleiten von trockenem HCl $\frac{1}{2}$ Std. auf 50–60° erwärmt. Das Veresterungsprodukt wurde dünnschichtchromatographisch und nach Kristallisation aus Aceton-Pentan durch Smp. und Misch-Smp. sowie durch sein IR.-Spektrum ($CHCl_3$) als Kopsinolin identifiziert. Ausbeute 8 mg.

Reduktion von Pleiocarpolin (II) mit Lithiumaluminiumhydrid: 28 mg Pleiocarpolin wurden in 5 ml absolutem Tetrahydrofuran gelöst und tropfenweise zu 10 ml einer gesättigten Lösung von Lithiumaluminiumhydrid in absolutem Tetrahydrofuran gegeben. Nach 30 Min. Erwärmen auf 50° wurde die Reaktionslösung mit 20 ml gesättigter SEIGNETTE-Salzlösung versetzt und erschöpfend mit Chloroform ausgeschüttelt. Die Chloroformlösung wurde durch eine kurze Natriumchlorid-Säule filtriert und eingedampft. Der glasige Rückstand bestand aus zwei Substanzen, die durch Chromatographie an Kieselgel mit Chloroform-Methanol (10:2) und zuletzt reinem Methanol getrennt wurden.

Reduktionsprodukt 1 wurde zuerst aus der Säule eluiert und konnte unzersetzt bei 120°/0,005 Torr destilliert werden. Ausbeute 15 mg. Die Substanz kristallisierte aus Acetonlösung nach Zugabe von Pentan und wurde aus Methanol-Äther und Aceton-Pentan umkristallisiert: Smp. 136–137°; sie wurde als (–)-*N*-Methylkopsinylalkohol (VIII) identifiziert: Massenspektrometrisch gefundenes Molekulargewicht 324. Keine Erniedrigung des Misch-Smp. mit *N*-Methylkopsinylalkohol aus Pleiocarpin (IV). IR.-Spektrum ($CHCl_3$) identisch mit dem von *N*-Methylkopsinylalkohol (Banden bei 3401 (OH) und 1605 (Indolin)). Optische Drehung von Reduktionsprodukt 1: $[\alpha]_D^{22} = -121^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 0,29$); Drehung von *N*-Methylkopsinylalkohol aus Pleiocarpin: $[\alpha]_D = -117^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 0,55$).

Reduktionsprodukt 2 kristallisierte aus Methanol-Äther mit 1 CH_3OH , das auch nach viertägigem Trocknen im Hochvakuum bei 120° nicht entfernt werden konnte. Smp. nach zweimaligem Umkristallisieren bei 220–225° (Zers.). Ausbeute 5 mg. Die Substanz konnte bis 200°/0,001 Torr

nicht sublimiert werden. Keine Carbonylabsorption im IR. Die Substanz reagierte nicht mit Aceton und Spuren von *p*-Toluolsulfonsäure bzw. konz. Schwefelsäure.

$C_{22}H_{30}O_2N_2 \cdot CH_3OH$ (386,52) Ber. C 71,47 H 8,87% Gef. C 70,82 H 8,75%

Bei einer Wiederholung der Lithiumaluminiumhydrid-Reduktion in der oben beschriebenen Weise unter Eiskühlung erhielt man nach 20 Min. nach der üblichen Aufarbeitung aus 25 mg Pleiocarpolinin 6 mg Reduktionsprodukt 1 und 14 mg Reduktionsprodukt 2. Bei Zugabe von festem Lithiumaluminiumhydrid zur Lösung von Pleiocarpolinin in Tetrahydrofuran konnte Pleiocarpolinin auch nach dreistündigem Erhitzen auf 50° nicht reduziert werden.

Acetylierungsversuch an Reduktionsprodukt 2: 10 mg Reduktionsprodukt 2 wurden mit 2 ml Pyridin und 2 ml Essigsäureanhydrid über Nacht auf 45° erwärmt. Dann wurde die Lösung im Vakuum eingedampft. Man erhielt zwei Produkte, die an einer Kieselgelsäule mit Chloroform-Methanol (20:1) chromatographiert wurden. Die eluierten, reinen Substanzen waren sehr zersetzlich und nicht destillierbar. Ausbeuten je 2 mg. Im IR.-Spektrum zeigten beide Substanzen Carbonylbanden.

Lithiumaluminiumhydrid-Reduktion von Kopsinolin (III): Bei Zugabe von Lithiumaluminiumhydrid zur Lösung von 4 mg Kopsinolin in 2 ml Tetrahydrofuran und 3stdg. Erwärmen auf 50° konnte Kopsinolin nicht reduziert werden. Die Substanz wurde unverändert zurückgewonnen.

10 mg Kopsinolin in 2 ml Tetrahydrofuran wurden tropfenweise zu 10 ml einer gesättigten Lösung von Lithiumaluminiumhydrid in Tetrahydrofuran gegeben und 5 Std. auf 50° erwärmt. Dann wurde die Lösung eingedampft, der Rückstand in 10 ml gesättigter SEIGNETTE-Salzlösung und Chloroform aufgenommen. Nach mehrmaligem Ausschütteln mit Chloroform, Trocknen der Chloroformlösung mit NaCl und Eindampfen wurde der Rückstand durch eine kurze Kieselgelsäure mit Chloroform-Methanol (10:1) filtriert und bei 120°/0,001 Torr destilliert. Ausbeute 6 mg. Das IR.-Spektrum ($CHCl_3$) war identisch mit dem von *Kopsinylalkohol* (IX). Die Substanz kristallisierte aus Methanol-Äther in farblosen Nadeln vom Smp. 158–160°. Der Misch-Smp. mit Kopsinylalkohol aus Pleiocarpin war nicht erniedrigt. Dünnschichtchromatographisch konnte im Reaktionsgemisch noch ein zweites, langsamer wanderndes Produkt nachgewiesen werden.

Bei der analog ausgeführten Reduktion von *Pleiocarpolin* (I) entstanden gemäss dünnschichtchromatographischer Analyse die vier bei der Lithiumaluminiumhydrid-Reduktion von II und III auftretenden Produkte.

Acetylierungsversuche an Pleiocarpolinin (II). – 1. 1 mg Pleiocarpolinin wurde mit 0,5 ml Pyridin und 0,5 ml Essigsäureanhydrid über Nacht auf 40° erwärmt. Bei der Reaktion entstanden ca. 6 Substanzen. Eine dieser Substanzen glich dünnschichtchromatographisch dem Pleiocarpinin.

2. 1 mg Pleiocarpolinin wurde mit 1 mg Natriumacetat und 1 ml Essigsäureanhydrid über Nacht bei Zimmertemperatur stehengelassen. Dabei entstanden dieselben Produkte wie bei der Reaktion mit Pyridin/Essigsäureanhydrid.

3. 5 mg Pleiocarpolinin wurden in 1 ml Isopropenylacetat und einer Spur *p*-Toluolsulfonsäure zwei Tage bei Zimmertemperatur stehengelassen. Danach wurde Pleiocarpolinin unverändert zurückerhalten (Smp. und Misch-Smp., Dünnschicht).

Umwandlung von Pleiocarpolinin (II) in Pleiocarpinin (V). – 1. In einen Schenkel eines U-Rohres wurde eine gesättigte wässrige Lösung von *p*-Nitrophenylhydrazin-hydrochlorid, in den anderen Schenkel wurden 40 mg Pleiocarpolinin gegeben. Nach dem Einfrieren der Lösung wurde das U-Rohr evakuiert und zugeschmolzen. Der Pleiocarpolinin-enhaltende Schenkel wurde in einem Metallbad auf 180° erhitzt, der andere mit flüssiger Luft gekühlt. Nach 5 Std. wurde aufgetaut und nach längerem Stehen bei 0° der *p*-Nitrophenylhydrazon-Niederschlag abzentrifugiert, mit Eiswasser gewaschen, aus Alkohol-Wasser und Methylenchlorid-Pentan umkristallisiert und bei 120°/0,005 Torr sublimiert. Smp. 179–180°; Misch-Smp. mit *Formaldehyd-p-nitrophenylhydrazon* ebenso. – Der ursprünglich Pleiocarpolinin enthaltende Schenkel enthielt nun zur Hauptsache Pleiocarpinin (V), das durch Kristallisation gereinigt wurde und durch Smp., Misch-Smp. sowie durch IR.-Spektrum und optische Drehung identifiziert wurde.

2 mg Pleiocarpolinin wurden in einem 20 cm langen Röhrchen auf 200–210° erhitzt. Das Röhrchen war an das Massenspektrometer angeschlossen und wurde vor der Anschlussstelle gekühlt, so dass nur der entstehende Formaldehyd gemessen werden konnte. Es wurden 0,2 Mol. Formaldehyd gefunden.

2. 5 mg Pleiocarpolinin wurden in 2 ml Methanol im Bombenrohr auf 180° erhitzt. Nach 5 Std. war Pleiocarpolinin vollständig zersetzt. Bei der Reaktion war zu ca. 60% Pleiocarpinin und zu ca. 40% ein sich von letzterem ableitendes Produkt entstanden. Nach chromatographischer Reinigung (Kieselgel; Chloroform-Methanol 10:1) wurden beide Produkte dünn-schichtchromatographisch und durch Smp. und Misch-Smp. identifiziert.

3. 25 mg Pleiocarpolinin wurden mit Pyridin/Essigsäureanhydrid 24 Std. auf 50° erwärmt. Dabei entstanden ca. 25% Pleiocarpinin, das durch Chromatographie an Kieselgel (Chloroform-Methanol 10:1) gereinigt und durch sein IR.-Spektrum (CHCl_3) identifiziert wurde.

4. 100 mg Pleiocarpolinin wurden in wenig Methanol gelöst und mit 5 ml Methyljodid 2 Std. im siedenden Wasserbad unter Rückfluss gekocht. Nach dem Eindampfen der Lösung blieben gelbliche Nadeln zurück, die nach mehrmaligem Umkristallisieren aus Methanol-Äther farblos erhalten wurden. Smp. 295–298° (Zers.). Ausbeute 72 mg. Der Misch-Smp. mit Pleiocarpinin-methojodid war nicht erniedrigt. Die IR.-Spektren (KBr) der beiden Substanzen waren identisch.

Nach der Umwandlung in die Methochloride und Papierchromatographie (WHATMAN Nr. 1) mit «C»-Gemisch [12] als Laufmittel wurde die Identität der Vergleichssubstanzen auch durch Rf-Wert bewiesen.

$\text{C}_{23}\text{H}_{31}\text{O}_2\text{N}_2\text{J}$	Ber. C 55,87	H 6,32	N 5,76	J 25,67%
(494,42)	Gef. „ 55,72; 55,85	„ 6,36; 6,39	„ 5,81; 5,50	„ 25,05%

Umwandlung von Pleiocarpolin (I) in Pleiocarpin (IV). – 1. Beim Versuch, ein Massenspektrum von Pleiocarpolin bei 200° aufzunehmen, erhielt man das Massenspektrum von Pleiocarpin.

2. 28 mg Pleiocarpolin wurden, wie beim Pleiocarpolinin beschrieben, im Hochvakuum bei 180° zersetzt. Es entstanden nach vollständiger Zersetzung (15 Std.) 6,4 mg (0,64 Mol.) *p*-Nitrophenylhydrazon des Formaldehyds.

Umwandlung von Kopsinolin (III) in Kopsinin (VI): 1 mg Kopsinolin wurde im Hochvakuum 3 Std. auf 180° erhitzt. Das entstandene Produkt wurde durch eine kleine Kieselgelsäule mit Chloroform-Methanol (10:1) filtriert und nach Kristallisation aus Pentan durch Smp. und Misch-Smp. mit Kopsinin identifiziert.

Deuterierungsexperimente: 3 mg Pleiocarpolinin (II) wurden im Bombenrohr 5 Std. mit 1 ml 99-proz. CH_3OD auf 170° erhitzt. Dann wurde die Lösung eingedampft. Das zu ca. 70% entstandene Pleiocarpinin (V) wurde durch langsame Chromatographie an Kieselgel mit Chloroform-Methanol (10:1) gereinigt und bei 120°/0,001 Torr destilliert. Man erhielt ca. 1,5 mg farblosen Lack, der bald kristallisierte. In derselben Weise wurden auch 3 mg Pleiocarpinin (V) mit CH_3OD erhitzt und rasch aufgearbeitet. Das aus Pleiocarpolinin entstandene Pleiocarpinin war zu 45% deuteriert worden (zu 44% bei der Wiederholung des Versuches), während das analog behandelte Pleiocarpinin nur zu 26% (im zweiten Versuch zu 25%) deuteriert worden war. Der Deuteriumgehalt der Proben wurde massenspektrometrisch ermittelt.

ZUSAMMENFASSUNG

Aus *Pleiocarpa pycnantha* K. SCHUM. STAPF, var. *tubicina* STAPF PICHON, und *Pleiocarpa mutica* BENTH. wurden die drei neuen Indolalkaloide Pleiocarpolin (I), Pleiocarpolinin (II) und Kopsinolin (III) isoliert und charakterisiert. Auf Grund ihrer Eigenschaften und ihrer thermischen Umwandlung unter Abspaltung von Formaldehyd in die drei bekannten *Pleiocarpa*-Alkaloide IV, V, VI liessen sich für die neuen Alkaloide die Formeln I–III ableiten. Das C,N-Skelett dieser Alkaloide enthält 21 Kohlenstoffatome.

Organisch-chemisches Institut der Universität Zürich und
Organisch-chemisches Laboratorium der ETH, Zürich

LITERATURVERZEICHNIS

- [1] 7. Mitteilung: W. G. KUMP, M. B. PATEL, J. M. ROWSON & H. SCHMID, *Helv.* 47, 1497 (1964).
- [2] CH. KUMP, J. SEIBL & H. SCHMID, *Helv.* 46, 498 (1963).
- [3] W. G. KUMP & H. SCHMID, *Helv.* 44, 1503 (1961).
- [4] CH. KUMP & H. SCHMID, *Helv.* 45, 1090 (1962).

- [5] W. G. KUMP, D. J. LECOUNT, A. R. BATTERSBY & H. SCHMID, *Helv.* **45**, 854 (1962).
 [6] C. DJERASSI, H. BUDZIKIEWICZ, R. J. OWELLEN, J. M. WILSON, W. G. KUMP, D. J. LECOUNT, A. R. BATTERSBY & H. SCHMID, *Helv.* **46**, 742 (1963).
 [7] N. DEFAY, M. KAISIN, J. PECHER & R. H. MARTIN, *Bull. Soc. chim. belges* **70**, 475 (1961).
 [8] A. SANDOVAL, F. WALLS, J. N. SHOOLERY, J. M. WILSON, H. BUDZIKIEWICZ & C. DJERASSI, *Tetrahedron Letters* No. **10**, 409 (1962).
 [9] A. WALSER & C. DJERASSI, *Helv.* **47**, 2072 (1964).
 [10] Vgl. z. B. E. SCHLITTLER & W. I. TAYLOR, *Experientia* **16**, 244 (1960); E. WENKERT, *J. Amer. chem. Soc.* **84**, 98 (1962); E. LEETE in P. BERNFELD's *Biogenesis of Natural Compounds*, Pergamon Press, Oxford 1963.
 [11] M. HESSE, *Indolalkaloide in Tabellen*, Springer-Verlag, Heidelberg 1964.
 [12] H. SCHMID, J. KEBRLE & P. KARRER, *Helv.* **35**, 1864 (1952).

107. Elektronenspinresonanz-Untersuchungen von VO²⁺-Komplexverbindungen in wässriger Lösung II¹⁾

von K. Wüthrich²⁾

(15. IV. 65)

In einer früheren Mitteilung [1] wurde die Elektronenstruktur von Vanadylkomplexmolekeln auf Grund experimenteller Untersuchungen einer grösseren Zahl von Chelatkomplexen mit Elektronenspinresonanz(ESR.)- und optischer Spektroskopie eingehend diskutiert. In der vorliegenden Arbeit wird über weitere Untersuchungen der VO²⁺-Komplexe mit Tiron³⁾ und Sulfosalicylsäure³⁾ berichtet.

Das ESR.-Signal von VO²⁺-Verbindungen in Lösung wird durch den isotropen Spin-HAMILTON-Operator (1) beschrieben⁴⁾ [1] [2]. Der spektroskopische Aufspal-

$$\mathcal{H}_s = g_0 \beta H S_z + a \vec{S} \vec{I} \quad (1)$$

tungsfaktor oder «g-Wert» g_0 wird durch die Liganden L₁–L₄ (s. Fig. 3) nur wenig beeinflusst. Der durch die Elektron-Kern-Wechselwirkungskonstante a beschriebene Abstand der 8 Hyperfeinstruktur(HFS.)-Linien ($I = 7/2$ für ⁵¹V) ist jedoch stark abhängig von der Natur der Liganden. Dies ermöglicht, verschiedene Komplexe nebeneinander in einer Lösung nachzuweisen (Nachweisempfindlichkeit: 10% Komplex A neben 90% Komplex B). So kann z. B. der Verlauf der Komplexbildung während der Titration einer Lösung von VOSO₄ und einem Liganden mit ESR.-Messungen verfolgt werden [1].

Experimentelles. – Lösungen, die VOSO₄ und Tiron bzw. SSS im Verhältnis 1:1 oder 1:2 enthielten, wurden mit NaOH titriert. Während der Titrationen wurden nach Zugabe bestimmter

¹⁾ Erste Mitteilung s. [1].

²⁾ Gegenwärtige Adresse: LAWRENCE Radiation Laboratory, University of California, Berkeley 4, California.

³⁾ Tiron (TIR) = Na₂-1,2-dihydroxybenzol-3,5-disulfonat; Sulfosalicylsäure (SSS) = 5-Sulfosalicylsäure.

⁴⁾ In Gleichung (1) ist g_0 der spektroskopische Aufspaltungsfaktor, β ist das BOHRsche Magneton, S_z die z-Komponente des Elektronenspins, a die isotrope Elektron-Kern-Wechselwirkungskonstante und I die Kernspin-Quantenzahl. Die z-Achse entspricht der Richtung des äusseren Magnetfeldes H (vgl. [1]).