

Anwendung der Massenspektrometrie zur Strukturaufklärung von Alkaloiden, 6. Mitt.¹:

Pyrrolizidinalkaloide aus dem Goldregen

Von

N. Neuner-Jehle, H. Nesvadba und G. Spiteller*, **

Aus dem Organisch-Chemischen Institut der Universität Wien

Mit 9 Abbildungen

(Eingegangen am 13. Februar 1965)

Im Samen des Goldregens konnten mit Hilfe der Massenspektrometrie neben dem bereits früher aufgefundenen und in seiner Konstitution aufgeklärten^{2, 3} Pyrrolizidin-alkaloid Laburnin noch zwei weitere Alkaloide als Vertreter dieses Skeletttypus erkannt werden: ein ebenfalls schon früher isoliertes, aber in seiner Struktur noch nicht bekanntes Alkaloid der Summenformel $C_{12}H_{22}N_2O^4$, für das wir nun den Namen Laburnamin vorschlagen, und ein 1-Hydroxymethyl-7-hydroxypyrrolizidin (Platynecin oder ein Stereoisomeres davon).

Die Massenspektren von Pyrrolizidinalkaloiden sind sehr charakteristisch und ermöglichen so eine rasche Identifizierung bekannter und eine Strukturaufklärung unbekannter Vertreter dieser Verbindungsklasse, wie am Beispiel der Strukturuntersuchung des Laburnamins gezeigt wird.

With the aid of mass spectrometry it was possible to detect in the seeds of *cytiscus laburnum* besides the already known pyrrolizidine-alkaloid laburnine^{2, 3} two other members of this skeleton type: an earlier isolated, but in its structure yet unknown

* Frau Professor Dr. E. Cremer zum Geburtstag gewidmet.

** Neue Adresse: Organisch-Chemisches Institut der Universität, 34 Göttingen (Deutsche Bundesrepublik).

¹ 5. Mitt.: M. Spiteller-Friedmann und G. Spiteller, Mh. Chem. **95**, 1234 (1964).

² F. Galinovsky, H. Goldberger und M. Pöhm, Mh. Chem. **80**, 550 (1949).

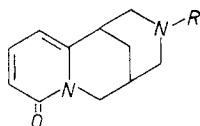
³ F. Galinovsky, O. Vogl und H. Nesvadba, Mh. Chem. **85**, 913 (1954).

⁴ F. Galinovsky, O. Vogl und H. Nesvadba, Scientia pharm. [Wien] **21**, 256 (1953).

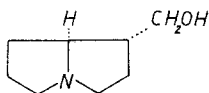
alkaloid of the molecular-formula $C_{12}H_{22}N_2O^4$, for which we propose the name laburnamine, and 1-hydroxymethyl-7-hydroxy-pyrrolizidine (platynecin or a stereoisomere thereof).

The mass spectra of pyrrolizidine alkaloids are very typical, thus permitting an easy identification of already known, and a structure investigation of unknown members of this family, as is shown in the case of laburnamine.

Der Samen des Goldregens, *Cytisus laburnum**, enthält als Hauptalkaloid das Cytisin (I), das der Gruppe der Chinolizidin-alkaloide zugeordnet wird^{5, 6}. Daneben wurden in geringer Menge auch N-Methylcytisin (II) gefunden⁷. Ein zweites Nebenalkaloid, das Laburnin (III), wurde von *Galinovsky* und Mitarbeitern als Pyrrolizidinalkaloid erkannt^{2, 3}.



I: R = H
II: R = CH₃



III

Von einem dritten Nebenalkaloid konnte bisher aus Materialmangel nur die Summenformel $C_{12}H_{22}N_2O$ bestimmt und erste Versuche zur Aufklärung seiner Struktur unternommen werden^{4, 8}:

Die Zerewitinoff-Bestimmung zeigte, daß das Alkaloid ein aktives Wasserstoffatom enthält, und aus dem IR-Spektrum ließ sich ableiten, daß dieses in Form einer NH—CO-Gruppe vorliegen kann, was durch eine $LiAlH_4$ -Reduktion, die ein sauerstoff-freies Produkt der Bruttoformel $C_{12}H_{24}N_2$ ergab, weiter gestützt wurde^{4, 8}.

Das Ziel unserer Arbeit war die Aufklärung der Struktur dieses unbekannten Alkaloides mit Hilfe der Massenspektrometrie und die Suche nach weiteren, eventuell in der Droge vorhandenen Nebenalkaloiden.

1. Die Aufarbeitung des Goldregensamens

Bei früheren Untersuchungen der basischen Inhaltsstoffe des Goldregensamens^{4, 8} wurden die aus dem Methanolauszug des entfetteten Samens erhaltenen Rohbasen durch Extraktion bei verschiedenem p_H in zwei Teile getrennt: Aus der mit NaOH auf p_H 10 eingestellten wäßrigen Lösung konnten zunächst durch Ätherextraktion Laburnin und das Alkaloid der Bruttoformel $C_{12}H_{22}N_2O$ gewonnen werden. Im Anschluß daran ließ sich nach Zusatz weiterer NaOH mit $CHCl_3$ die Hauptmenge des Cytisins (ein Teil

* Andere synonyme Bezeichnungen sind: Laburnum anagyroides und Laburnum vulgare J. Presl.

⁵ E. Späth und F. Galinovsky, Ber. dtsch. chem. Ges. **65**, 1526 (1932); **66**, 1338 (1933); **69**, 761 (1936).

⁶ H. R. Ing, J. chem. Soc. [London] **1932**, 2778.

⁷ M. Pöhm und F. Galinovsky, Mh. Chem. **84**, 1197 (1953).

⁸ H. Nesvadba, Dissertat., Universität Wien, 1955.

davon ging bereits in den Ätherauszug) extrahieren. Die so von der Hauptmenge des Cytisins abgetrennten Nebenbasen wurden durch eine Kugeldestillation fraktioniert und über ihre Pikrate gereinigt.

Unser Ziel war es zunächst, durch eine Abwandlung des Extraktionsverfahrens eine wirksamere Vortrennung der Alkaloide zu erreichen und dadurch die Ausbeute an den nur in geringer Menge vorhandenen Nebenalkaloiden zu verbessern. Eine bedeutende Hilfe war hierbei die Massenspektrometrie, die eine genaue Kontrolle des Verlaufes des Extraktionsverfahrens ermöglichte.

Die Abtrennung des Hauptanteiles an Methyleytisin gelang durch Fortsetzung der Petrolätherextraktion nach der Entfettung des Samens. Dabei ging allmählich das gegenüber Cytisin weniger polare Methyleytisin, mit Cytisin verunreinigt, in die Petrolätherphase (Fraktion A).

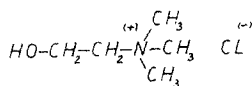
Die durch anschließende Methanolextraktion erhaltenen Rohbasen wurden zunächst in essigsaurer Lösung bei p_H 4 mit $CHCl_3$ ausgezogen (Fraktion B_1). Wie das Massenspektrum einer Probe des erhaltenen Basengemisches zeigte, war in dieser Fraktion neben Cytisin die Hauptmenge der Base der Bruttoformel $C_{12}H_{22}N_2O$ enthalten. Eine schonende, praktisch quantitative Trennung von dem viel schwerer flüchtigen Cytisin gelang durch wiederholte fraktionierte Hochvakuumsublimation.

Der Hauptteil des Cytisins konnte anschließend aus der mit NH_3 auf p_H 9 gebrachten wäßrigen Lösung der Rohbasen mit $CHCl_3$ ausgezogen werden (Fraktion B_2). Die Extraktion wurde solange fortgesetzt, bis das Massenspektrum einer Probe anzeigte, daß neben Cytisin nun auch etwas Laburnin extrahiert wurde.

Die wäßrige Rohbasenlösung wurde dann mit $NaOH$ auf p_H 12 eingestellt und neuerlich mit $CHCl_3$ extrahiert (Fraktion B_3). Wie die Massenspektren von Proben ergaben, enthielten die ersten Extraktionsanteile neben Cytisin vor allem Laburnin. Mit fortschreitender Extraktion sank der Gehalt an Laburnin rasch ab, dafür enthielten die späteren Extraktionsfraktionen neben Cytisin eine neue, bisher im Goldregen noch nicht aufgefundene Base vom Molgewicht 157.

Die Basenfraktionen B_1 , B_2 und B_3 wurden in Säure gelöst und mit $CHCl_3$ extrahiert. Die Chloroformlösungen enthielten, wie sich massenspektrometrisch nachweisen ließ, ein Gemisch von N-Formyl- und N-Acetyl-cytisin, deren Auftreten im Goldregensamen bisher noch unbekannt war (Fraktion B_4).

Zur Abtrennung eventuell vorhandener quartärer Basen wurde schließlich eine Reineckat-Fällung⁹ vorgenommen (Fraktion C). Das daraus gewonnene Hydrochlorid konnte massenspektrometrisch als Cholinchlorid (IV) identifiziert werden.



IV

⁹ H. Wieland, H. J. Pistor und K. Bähr, Ann. Chem. **547**, 140 (1941).

2. Schlüsselbruchstücke in den Massenspektren von Pyrrolizidinalkaloiden

Das Massenspektrum der unbekannten Base $C_{12}H_{22}N_2O$ zeigte mit den Spektren von Chinolizidinalkaloiden¹⁰, die in der gleichen Droge vorkommen, keine Ähnlichkeit, so daß die Annahme nahe lag, daß die Ver-

bindung ein anderes Grundgerüst besitzen müsse. Das Auftreten des Pyrrolizidinalkaloides Laburnin (III) im Goldregensamen ließ vermuten, daß das unbekannte Alkaloid möglicherweise dasselbe Grundskelett besitzen könne, obwohl bisher nur eine kleine Gruppe von Pyrrolizidinalkaloiden mit zwei Stickstoffatomen bekannt ist^{11, 12}.

Da über den massenspektrometrischen Abbau solcher Alkaloide noch keine eingehenden Studien durchgeführt wurden — lediglich das Spektrum des 1-Methoxymethyl-1,2-epoxy-pyrrolizidins wurde im Zusammenhang mit seiner Strukturaufklärung diskutiert¹³ —, untersuchten wir zunächst die Spektren einiger Vertreter dieser Verbindungsklasse.

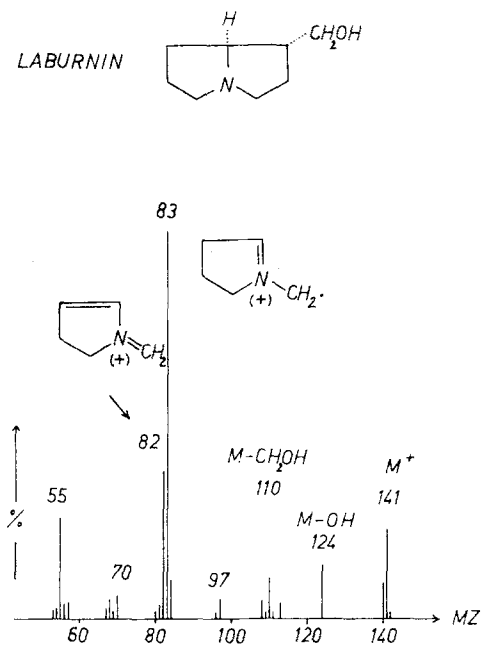
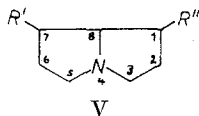


Abb. 1. Massenspektrum des Laburnins (III)

Die primäre Spaltung in einfachen Pyrrolizidinalkaloiden (V) erfolgt hauptsächlich an einer C—C-Bindung, die vom C-Atom 8 ausgeht. Welche der beiden Bindungen, *a* oder *b*, bevorzugt gebrochen wird, hängt in hohem Maß von der Anwesenheit und der Art eines Substituenten (*R'*, *R''*) in Stellung 1 oder 7 ab (V).



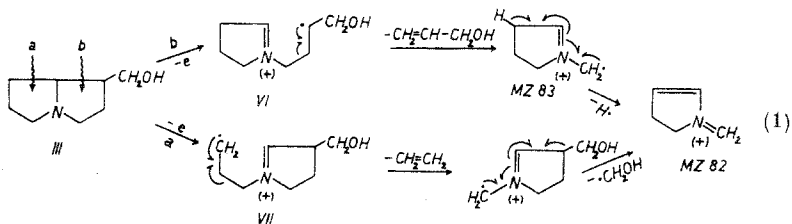
¹⁰ N. Neuner-Jehle, H. Nesvadba und G. Spiteller, Mh. Chem. **95**, 687 (1964).

¹¹ S. Junussov und C. T. Akramow, J. obschtsch. Chim. **30**, 683 (1960).

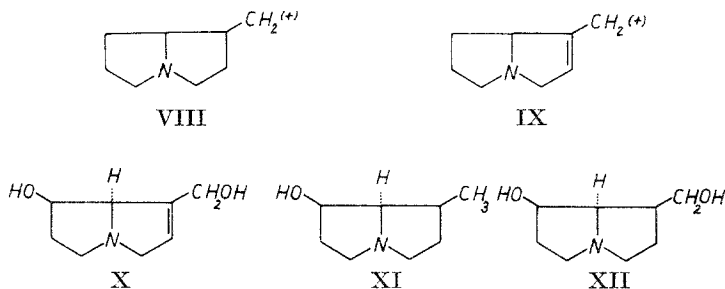
¹² J. M. Alonso de Lama, A. Lopez-Blanco und I. Ribas, An. Real Soc. españ. Fis. Quim. **55 B**, 717 (1959); Chem. Abstr. **54**, 14289 (1960).

¹³ C. C. J. Culvenor, J. D. Morrison, A. J. C. Nicholson und L. W. Smith, Austral. J. Chem. **16**, 131 (1963).

Im Laburnin (III, Abb. 1) ist die Spaltung der Bindung *b* mehr begünstigt als die der Bindung *a*. Das durch Bruch der Bindung *b* gebildete Primärion VI zerfällt unter Eliminierung von einem Mol Allylalkohol zum Hauptfragment der MZ 83, aus dem durch Abspaltung eines H-Radikals ein Ion der MZ 82 entstehen kann (1)¹⁴:



Der weniger begünstigte Bruch der Bindung *a* führt über das Primärion VII unter Verlust von einem Mol Äthylen zu einem Spaltstück der MZ 113, das unter Abspaltung eines CH₂OH-Radikals zum Bruchstück der Masse 82 weiterzerfällt. Dieser Übergang 113 → 82 wird durch das Auftreten einer metastabilen Spitze bei der MZ 59,5 (berechnet 59,5) bestätigt.



Weitere Bruchstücke entstehen durch die Abspaltung der CH₂OH-Gruppe (M—31) und von OH (M—17). Die Spitze bei M—17 erreicht eine bemerkenswert hohe Intensität, obwohl das so gebildete Ion als primäres Carboniumion VIII nur eine geringe Stabilität besitzen kann. Im Retro-necin (X) hingegen ist die Abspaltung von OH viel weniger begünstigt (Abb. 4), obwohl das entstehende Kation IX allylisch stabilisiert ist. Auch im Platynecin (XII, Abb. 3), in dem die Hydroxymethylgruppe (im Gegensatz zum Laburnin) zum Wasserstoffatom am C-8 die *trans*-Stel-

¹⁴ Nach einem Vorschlag von H. Budzikiewicz, C. Djerassi und D. H. Williams in „Interpretation of Mass Spectra of Organic Compounds“ (San Francisco 1964) symbolisieren wir die Verschiebung eines Elektronenpaares durch einen Pfeil und die eines einzelnen Elektrons durch ein Häkchen. Im Gegensatz zu den genannten Autoren markieren wir aber alle an einer Umlagerung beteiligten Elektronen durch Häkchen.

lung einnimmt, tritt eine analoge Spaltungsreaktion nicht ein. Dies läßt darauf schließen, daß das M—17-Bruchstück des Laburnins nicht als primäres Carboniumion VIII vorliegt, sondern durch eine sterisch be-

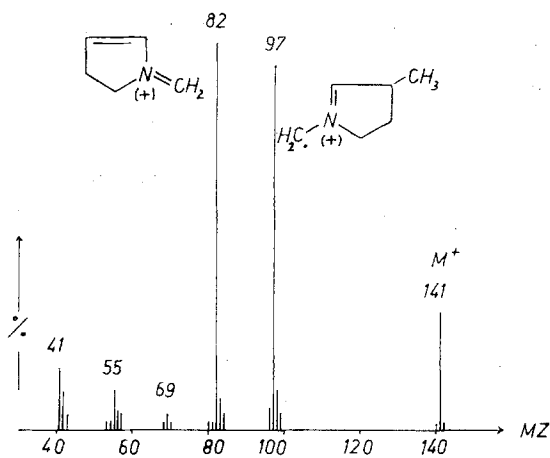
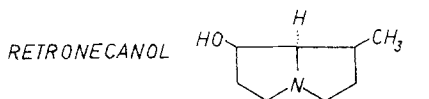
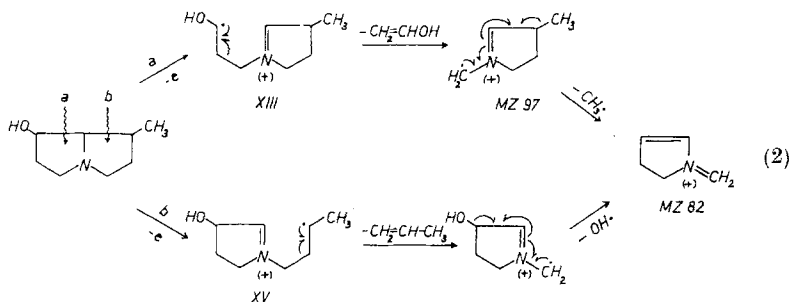


Abb. 2. Massenspektrum des Retronecanols (XI)

der Stellung 7, wie im Retronecanol (XI, Abb. 2) oder Platynecin (XII, Abb. 3), führt zu einer vorzugsweisen Spaltung der Bindung *a*: In dem durch Bruch der Bindung *a* entstehenden Primäron XIII bzw. XIV ist



¹⁵ K. Biemann und M. Spittler-Friedmann, J. Amer. chem. Soc. **83**, 4805 (1961).

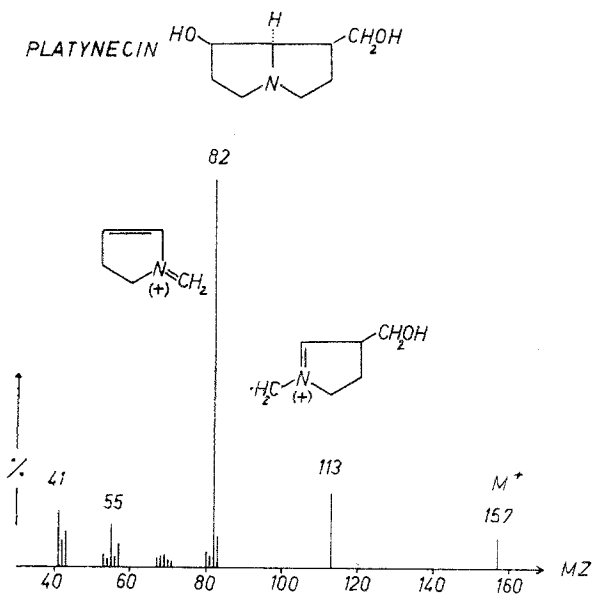
¹⁶ J. Parelo, P. Longevialle, W. Vetter und I. A. McCloskey, Bull. Soc. chim. France **1963**, 2787.

günstigte Ringbildungsreaktion eine zusätzliche Stabilisierung erfährt.

Modellbetrachtungen zeigen allerdings, daß die Bildung eines 4-gliedrigen Ringes unter Beteiligung des freien Elektronenpaares am N-Atom, die bei Lupinin¹⁰ und anderen Alkaloiden^{15, 16} möglich ist, in diesem Fall aus sterischen Gründen wenig wahrscheinlich ist, so daß der Ringbildung möglicherweise eine Umlagerung vorausgeht. Weitere Untersuchungen zur Klärung dieser Frage sind im Gange.

Das Vorhandensein einer Hydroxylgruppe in

offenbar eine Stabilisierung der Radikalstelle des Moleküls durch das freie Elektronenpaar des Sauerstoffs möglich, so daß der zur Sprengung der Bindung *a* erforderliche Energieaufwand geringer ist als jener, der zur Spaltung der Bindung *b* benötigt wird, da in dem alternativen Primärion XV bzw. XVI die radikalische Stelle der Partikel weniger gut stabilisiert werden kann (2), (3):

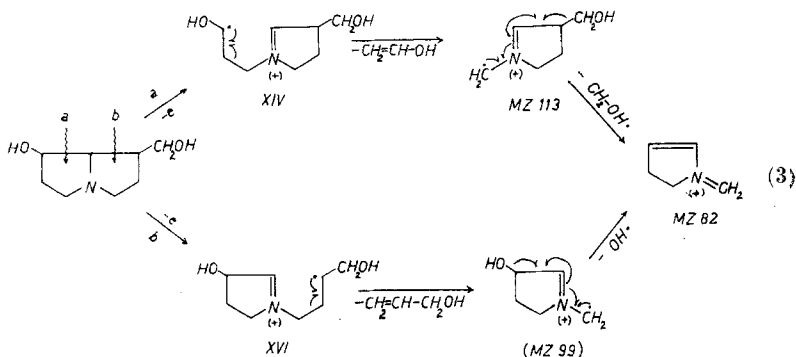


Das primäre Spaltprodukt XIII des Retronecanols (XI, Abb. 2) zerfällt unter Eliminierung von einem Mol Acetaldehyd-enol zu einem Zwischen-abbauprodukt der MZ 97. Dieses kann durch Abspaltung eines Methylradikals wieder das stabile Ion der MZ 82 bilden, wie sich durch das Auftreten einer metastabilen Spitze bei der MZ 69,5 (ber. 69,3), die dem Übergang $97 \rightarrow 82$ entspricht, beweisen läßt (2).

Ähnlich verläuft die Bruchstückbildung im Platynececin (XII, Abb. 3): Durch Verlust von einem Mol Acetaldehyd-enol wird aus dem primären Abbauprodukt zunächst ein Ion der MZ 113 gebildet, das durch Eliminierung von $\cdot\text{CH}_2\text{OH}$ zum Bruchstück der MZ 82 weiter zerfällt (3).

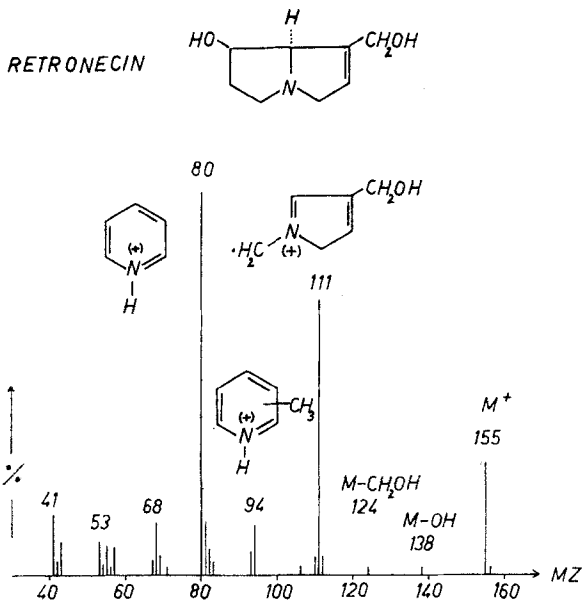
Die Spaltung der Primärionen XV und XVI, die durch Bruch der Bindung *b* aus Retronecanol XI und Platynececin XII entstehen können, müßte in analoger Weise unter Abspaltung von Propylen bzw. Allylalkohol zu einem Fragment der MZ 99 führen (2), (3). Zwar kann aus dem Fehlen einer Spitze bei dieser Massenzahl in den Spektren der beiden Verbindungen nicht mit Sicherheit darauf geschlossen werden, daß ein derartiger

Spaltprozeß überhaupt nicht eintritt — da das möglicherweise als Zwischenprodukt gebildete Ion der MZ 99 besonders leicht zum Fragment der MZ 82 weiter zerfallen könnte —, er ist jedoch zumindest wesentlich unwahrscheinlicher als jener, der über die Primärionen XIII und XIV verläuft.

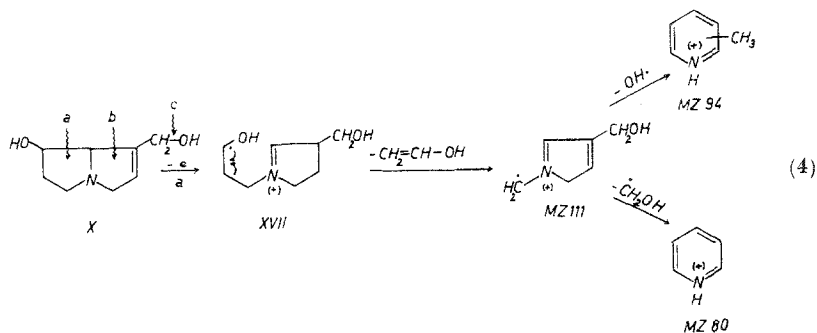


Die im unteren Massenbereich der bisher besprochenen Pyrrolizidin-alkaloide gelegenen Spitzen ermöglichen keine strukturspezifischen Aussagen.

Die Hauptspaltungsreaktionen in Alkaloiden, die eine Hydroxylgruppe in Stellung 7 besitzen, werden durch die Einführung einer Doppel-



bindung in der 1,2-Stellung nicht wesentlich beeinflußt. Das durch Bruch der Bindung *a* entstehende Primärion XVII zerfällt, wie das Massenspektrum des Retronecins (X, Abb. 4) zeigt, in gleicher Weise wie sein Dihydroderivat zunächst unter Verlust von einem Mol Acetaldehyd-enol. Das so gebildete resonanzstabilisierte Bruchstück der MZ 111 kann nun entweder unter Abspaltung von einem $\cdot\text{OH}$ - oder $\cdot\text{CH}_2\text{OH}$ -Radikal Ionen der MZ 94 bzw. 80 bilden. Dabei kann angenommen werden, daß sich diese Bruchstücke unter Umlagerung zu Pyridiniumionen stabilisieren (4):



Die Spaltung der zur Doppelbindung benachbarten Bindung *b* kann im Gegensatz zu den entsprechenden Dihydroverbindungen nicht er-

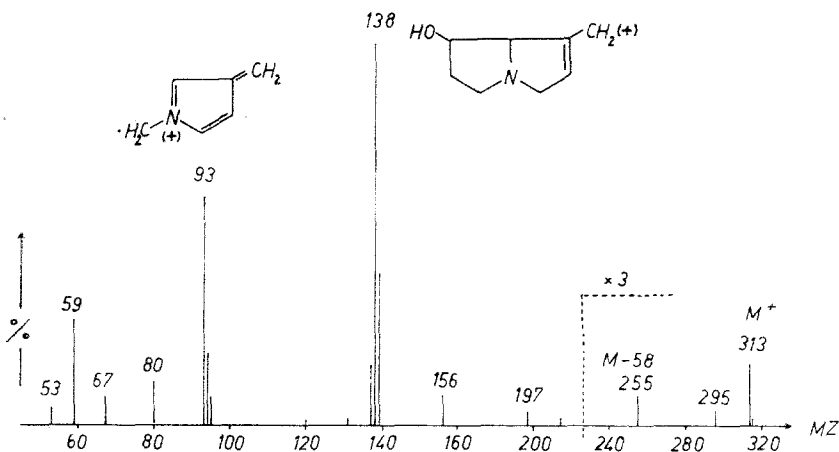
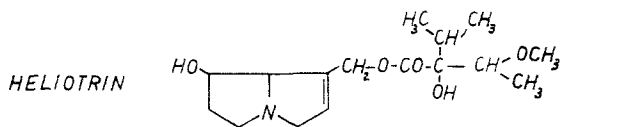
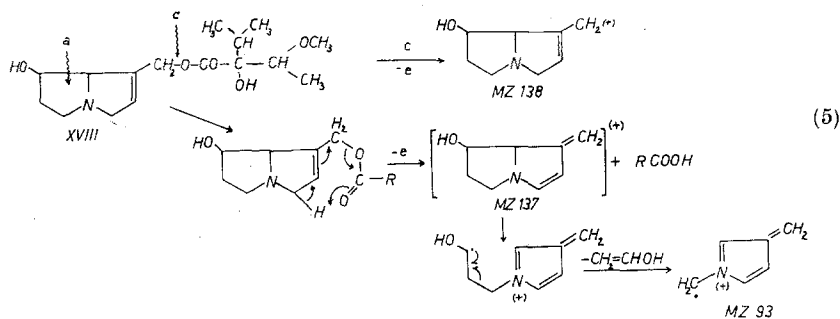


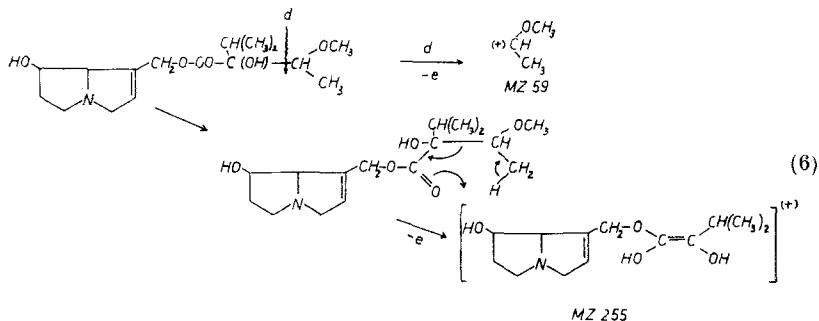
Abb. 5. Massenspektrum des Heliotrins (XVIII)

folgen, so daß auch die Bildung sekundärer Abbauprodukte auf diesem Weg nicht möglich ist.

Während im Retronecin (X) die Spaltung der Bindung *c* unter Bildung eines Allylkations nur in sehr bescheidenem Ausmaß eintritt, wie die relativ geringe Intensität der Spitze bei M—17 anzeigt, wird dieser Prozeß zur Hauptsplittingsreaktion, wenn die OH-Gruppe der Hydroxymethylfunktion mit einer Säure größeren Molegewichtes verestert ist. So liegt die Hauptspitze im Spektrum des Heliotrins XVIII (Abb. 5) bei der MZ 138. Die Bildung des Fragmentes der MZ 93 erfolgt mit hoher Wahrscheinlichkeit — wie Modellbetrachtungen ergaben — im Zuge einer 8-zentrischen Umlagerungsreaktion, die zunächst ein Fragment der MZ 137 liefert, das unter Verlust von einem Acetaldehyd-enolmolekül zum resonanzstabilisierten Ion der MZ 93 weiterzerfällt (5):



Demgegenüber erreichen die übrigen Bruchstücke nur eine relativ geringe Intensität: Durch Spaltung der Bindung *d* kann ein Fragment der MZ 59 entstehen. Die Ionen der Masse 80 und 94 müssen stabilen Pyridinium- bzw. Methylpyridinium-ionen zugeordnet werden. Das Fragment der MZ 255 schließlich entsteht wieder über eine *McLafferty*-Umlagerung (6):



McLafferty-Umlagerungen beherrschen auch den Zerfall der Diester von Pyrrolizidinalkaloiden: Ein typischer Vertreter dieser Gruppe von

Verbindungen ist das Monocrotalin (XIX), dessen Massenspektrum Abb. 6 zeigt. Durch Bruch der Bindung *c* entsteht so wie im Falle des Heliotrins (XVIII) zunächst ein allylisch stabilisiertes Ion, das im Zuge einer *McLafferty*-Umlagerungsreaktion das Fragment der MZ 236* bilden

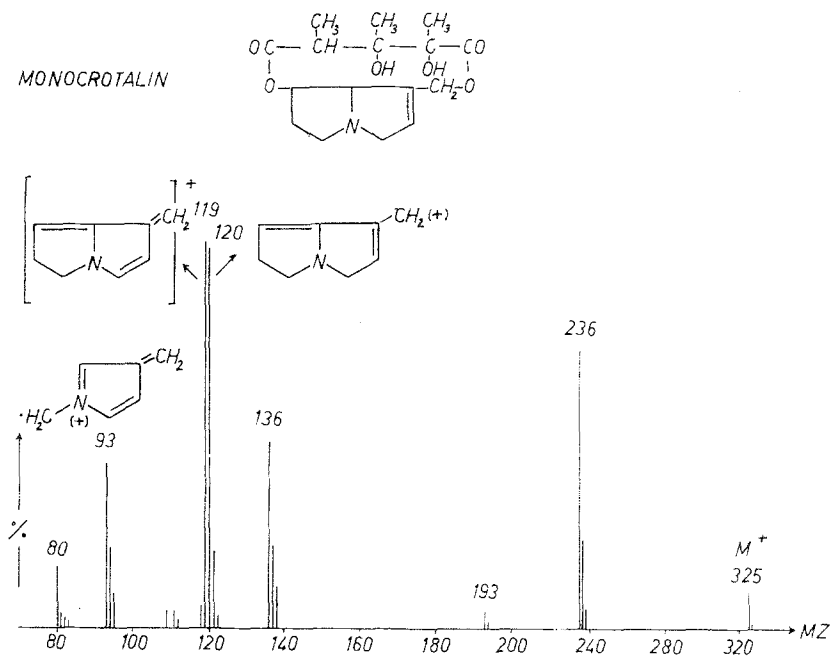
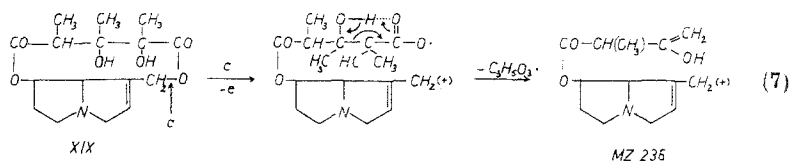


Abb. 6. Massenspektrum des Monocrotalins (XIX)

kann (7). Es läßt sich hierbei allerdings nicht entscheiden, ob nicht zuerst die *McLafferty*-Umlagerung abläuft und erst danach die Spaltung der Bindung *c* erfolgt.

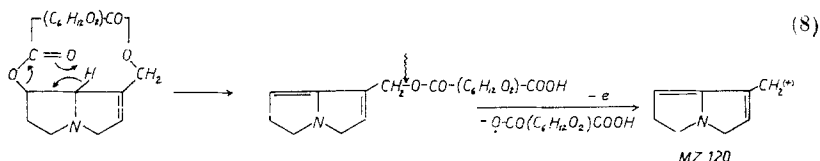


Eine *McLafferty*-Umlagerung, an der die zweite Estergruppe und ein Wasserstoffatom aus der Stellung 8 (oder — weniger wahrscheinlich — aus

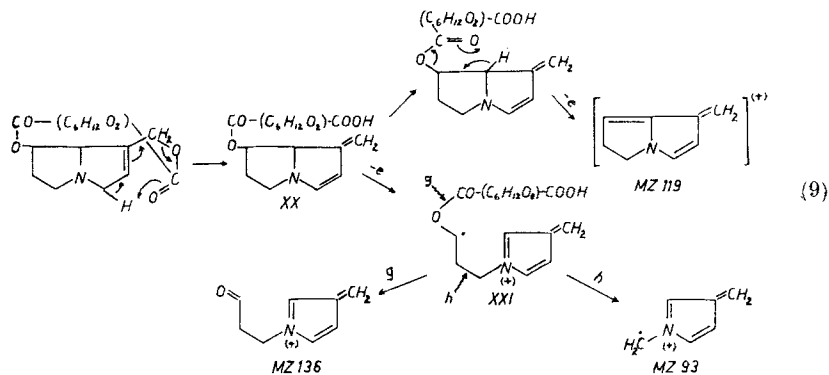
* In der Strukturformel für das Ion der MZ 236 (Reaktionsfolge 7)

lese man in der Seitenkette $\begin{array}{c} \text{CH}_3 \\ \diagup \\ \text{—C—} \\ \diagdown \\ \text{O} \end{array}$ statt $\begin{array}{c} \text{CH}_2 \\ \diagup \\ \text{—C—} \\ \diagdown \\ \text{OH} \end{array}$.

der Stellung 6) beteiligt ist, führt zunächst ebenfalls zur Öffnung des durch die Esterbrücke gebildeten Ringes (8). Durch Spaltung der Bindung *c* kann nun das Ion der MZ 120 entstehen.



Die Bildung der Hauptfragmente der MZ 136, 119 und 93 erfolgt im Zuge einer Mehrstufenreaktion. Durch die bereits bei der Besprechung des Spektrums von Heliotrin erwähnte sterisch begünstigte 8-zentrische Umlagerungsreaktion ist eine Öffnung des durch die Esterbrücke gebildeten



Ringes möglich. Das Primärion XX kann entweder über eine *McLafferty*-Umlagerung das Fragment der MZ 119 bilden oder durch Sprengung der Bindung *a* das Radikalion XXI ergeben, das nun zu den Fragmenten der MZ 93- bzw. 136 weiter zerfallen kann (9). Es ist sehr wahrscheinlich, daß die einzelnen Abbauschritte auch in anderer Reihenfolge ablaufen können.

3. Über die Struktur der Base $C_{12}H_{22}N_2O$

Wie bereits früher^{4, 8} gezeigt werden konnte, läßt sich die unbekannte Base der Summenformel $C_{12}H_{22}N_2O$ durch $LiAlH_4$ zu einem O-freien Grundkörper der Formel $C_{12}H_{24}N_2$ reduzieren. Auf Grund dieser Summenformel und der Tatsache, daß die Verbindung bei der katalytischen Hydrierung keinen Wasserstoff aufnimmt, kann abgeleitet werden, daß sie zwei Ringe enthält.

Das Massenspektrum der Base $C_{12}H_{22}N_2O$ (Abb. 7) ist durch zwei Schlüsselbruchstückspitzen der MZ 83 und 109 gekennzeichnet. Das Vor-

handensein des Bruchstückes der MZ 83, das auch als Hauptfragment beim Zerfall von Laburnin und Laburninsäure im Massenspektrometer gebildet wird, wies darauf hin, daß die unbekannte Verbindung möglicherweise ein Pyrrolizidinringskelett besitzen könne.

ALKALOID $C_{12}H_{22}N_2O$

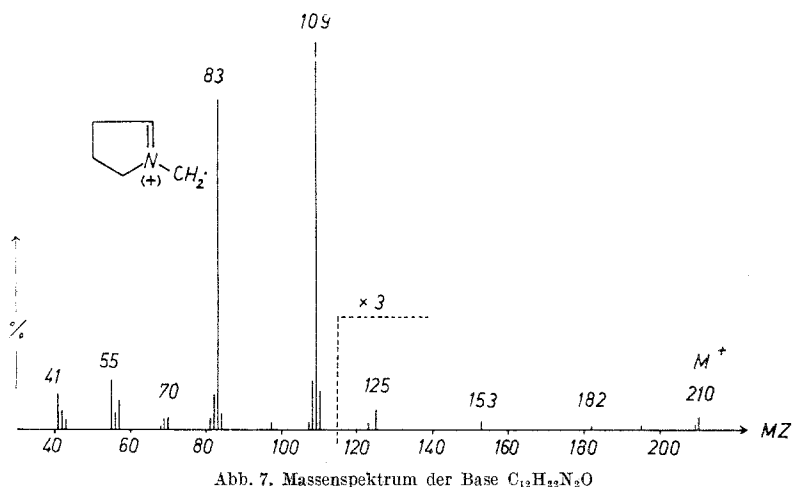


Abb. 7. Massenspektrum der Base $C_{12}H_{22}N_2O$

Diese Vermutung wurde durch die Aufnahme des Massenspektrums seines $LiAlH_4$ -Reduktionsproduktes, das als einziges Hauptspaltstück ein Ion der MZ 83 zeigte (Abb. 8), weiter gestützt.

$C_{12}H_{24}N_2$

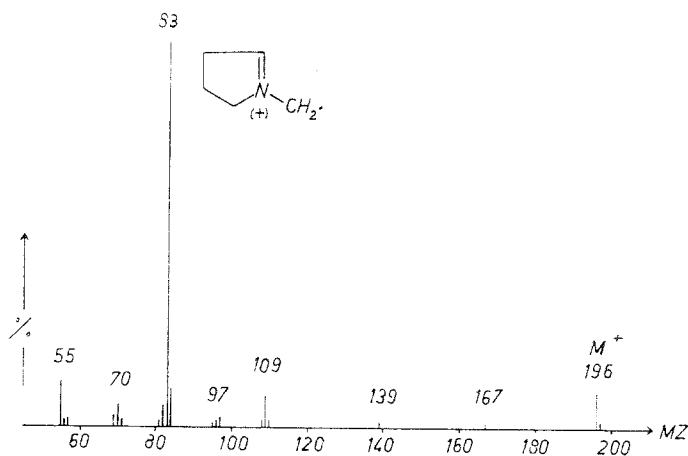
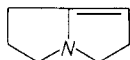
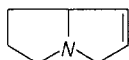


Abb. 8. Massenspektrum des $LiAlH_4$ -Reduktionsproduktes der Base $C_{12}H_{22}N_2O$

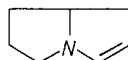
Das Fehlen der C=O-Gruppe im Reduktionsprodukt verhinderte offenbar die Bildung des im Spektrum der Ausgangsverbindung bei der MZ 109 gelegenen Ions. Für dieses Ion können unter der Annahme, daß das Alkaloid einen Pyrrolizidinring enthält, die Strukturformeln XXII, XXIII, XXIV in Betracht gezogen werden.



XXII

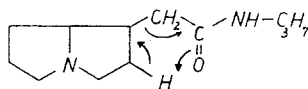


XXIII

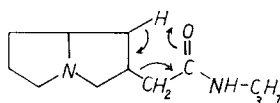


XXIV

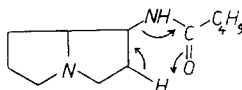
Da die Gegenwart einer C=O-Gruppe häufig den Ablauf einer *McLafferty*-Umlagerung verursacht, war es naheliegend zu vermuten, daß das Spaltstück der MZ 109 im Zuge einer solchen Reaktion entsteht. Diese Überlegungen ließen die Aufstellung von vier möglichen Strukturformeln, die alle mit den aus den Spektren abgeleiteten Folgerungen in Einklang standen, zu: XXV—XXVIII, nachdem eine LiAlD₄-Reduktion gezeigt hatte, daß die CO—NH-Gruppe nicht im Pyrrolizidinring gelegen sein konnte, weil das Schlüsselbruchstück der MZ 83 in der mit LiAlD₄ reduzierten Verbindung keine Verschiebung aufwies.



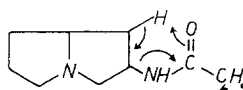
XXV



XXVI



XXVII



XXVIII

In den Formeln XXV—XXVIII wurden mögliche Umlagerungsreaktionen, die zu einem Bruchstück der MZ 109 führen können, durch Pfeile markiert. Der Einfachheit halber wurde allerdings für jede Verbindung nur ein Zerfallsweg eingezeichnet, obwohl alle Wasserstoffe von beiden der Seitenkette benachbarten C-Atomen prinzipiell für eine Umlagerung in Frage kommen.

Eine Entscheidung, ob die aus den Spektren abgeleiteten Schlüsse richtig waren, mußte eine Verseifung erbringen: Die Behandlung des unbekannten Alkaloides bei 100° im Bombenrohr mit halbkonz. HCl lieferte nach der Aufarbeitung auf Basen eine Verbindung vom MG 126, der nach dem Massenspektrum (Abb. 9) nur die Struktur eines Aminopyrrolizidins zugeordnet werden konnte: Aus dem geradzahlgigen Molgewicht ergab sich, daß die Verbindung zwei N-Atome enthalten müsse. Die Schlüsselbruchstückspitze der MZ 83 konnte nur durch Verlust von einem Mol Vinylamin aus dem Molekülion gebildet worden sein.

Zum Nachweis der primären Aminogruppe und zur weiteren Untermauerung unserer Ansichten über die Struktur der Aminoverbindung wurde nach *Leuckart—Wallach* die Dimethylaminoverbindung hergestellt. Das Massenspektrum zeigte das erwartete Molgewicht sowie die Schlüsselbruchstückspitze der MZ 83.

Die Verseifungsversuche erbrachten den Beweis, daß die Base $C_{12}H_{22}N_2O$, für die wir den Namen Laburnamin vorschlagen, aus einer Säurekomponente und einem Amino-pyrrolizidin zusammengesetzt ist.

Da bei der Verseifung ein Amin, aber keine Aminosäure entstanden war, konnten die beiden nach dem Massenspektrum des Laburnamins möglichen Strukturformeln XXV und XXVI ausgeschieden werden. Das Auftreten des Spaltstückes der MZ 83 in dem Spektrum desamins (Abb. 9) sowie des Laburnamins selbst schließt aus, daß die Aminogruppe die Stellung 3 oder 5 einnimmt, gestattet allerdings auch keine Entscheidung darüber, ob sich die Aminogruppe in der Position 1 oder 2 befindet.

Bei der Säurekomponente konnte es sich nur um *n*-Valerian-, Isovalerian-, Pivalin- oder α -Methylbuttersäure handeln. Die geringe zur Verfügung stehende Substanzmenge erlaubte nicht, Verseifungsversuche in größerem Maßstab auszuführen und die gebildete Säure in Form eines Derivates zu isolieren (wir verwendeten für einen Ansatz durchschnittlich 2—6 mg).

Ein Versuch zur papierchromatographischen Identifizierung der Säure schlug fehl, da die R_f -Werte von Isovalerian-, Pivalin- und α -Methylbuttersäure zu wenig auseinander lagen, um eine eindeutige Entscheidung treffen zu können. Lediglich das Vorliegen der *n*-Valeriansäure ließ sich auf diese Weise ausschließen.

Die Identifizierung der Säurekomponente war schließlich durch die Aufnahme eines Kernresonanzspektrums des Laburnamins möglich. Aus dem Auftreten eines 3 Protonen entsprechenden Doubletts bei 1,11 ppm ergab sich das Vorhandensein einer $CH_3—CH$ -Gruppe, während ein Triplett, das ebenfalls 3 Protonen entsprach, bei 0,88 ppm das Vorliegen einer $CH_3—CH_2$ -Gruppe bewies, sodaß die Säure nur die Struktur der α -Methylbuttersäure haben konnte.

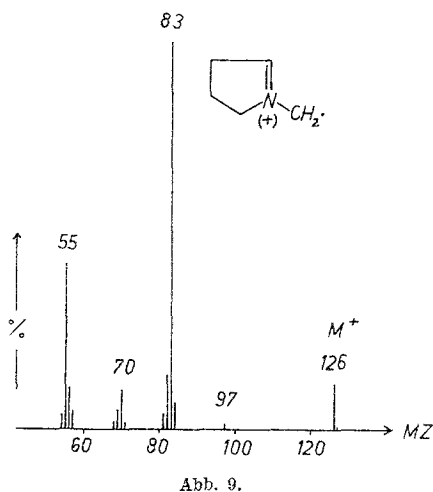
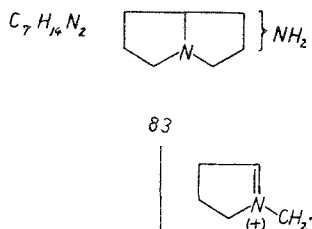
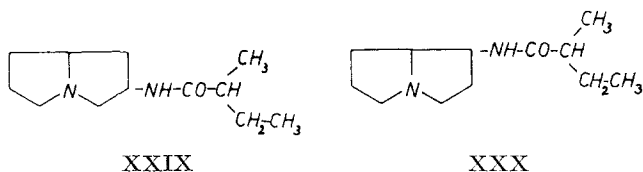


Abb. 9.

Als mögliche Strukturen für das Laburnamin ergeben sich daher nur die beiden Formeln XXIX und XXX, zwischen denen es uns bisher weder auf Grund chemischer Versuche noch von Massenspektren gelang eine Entscheidung zu fällen. Wir hoffen aber, daß diese Frage in Kürze zugunsten der einen oder anderen Struktur durch Aufnahme eines 100 MHz-Kernresonanzspektrums gelöst wird.



4. Die Struktur der Base mit MG 157

Das Alkaloid MG 157 wurde aus den wäßrigen Rohbasenlösungen erst nach dem Laburnin (Fraktion B₃) extrahiert. Dies wies darauf hin, daß das Alkaloid einen etwas stärker hydrophilen Charakter als das Laburnin besitzt. Das Molgewicht der Base war um 16 ME größer als das des Laburnins. Da diese Massendifferenz dem Mehrgehalt von einem Sauerstoffatom entspricht, hielten wir es für möglich, daß diese Base die Struktur eines Hydroxy-laburnins hat. Diese Hypothese ließ sich durch die Aufnahme der Massenspektren von Pyrrolizidinalkaloiden, die in Stellung 7 durch eine Hydroxygruppe substituiert waren, bestätigen: Das Spektrum der im Goldregensamen aufgefundenen Base vom MG 157 war völlig ident mit dem des Platynecins (XII). Aus dem Massenspektrum läßt sich noch nicht entscheiden, ob die aufgefundene Verbindung tatsächlich Platynecin und nicht etwa ein Stereoisomeres davon ist, da bisher zu wenig Vergleichsmaterial an stereoisomeren Pyrrolizidinalkaloiden zu unserer Verfügung stand, um eine endgültige Aussage machen zu können. Immerhin ergibt sich aus dem Spektrum, daß die Base ebenso wie das Platynecin ein 1-Hydroxymethyl-7-hydroxyderivat des Pyrrolizidins darstellt.

Die Massenspektren wurden mit einem Atlas-CH-4-Gerät durch direkte Einführung der Probe in die Ionenquelle in der früher beschriebenen Weise¹⁷ aufgenommen. Um die Flüchtigkeit der Proben herabzusetzen, wurden sie in die Hydrochloride übergeführt. Die Verdampfungstemperatur betrug 70—90°. Nur Heliotrin und Monocrotalin wurden in Form ihrer freien Basen bei 120—130° verflüchtigt. Die Elektronenenergie betrug 70 eV.

Das Kernresonanzspektrum des Laburnamins wurde auf einem Varian A 60 Instrument aufgenommen. Für die Aufnahme und Interpretation des Spektrums danken wir Dr. G. Schulz, Schering AG., Berlin.

¹⁷ G. Spitteler und M. Spitteler-Friedmann, Mh. Chem. **94**, 742 (1963).

Herrn Prof. Dr. *R. Adams*, University of Illinois, danken wir für die Überlassung einer Anzahl von Pyrrolizidinalkaloiden zur Aufnahme der Massenspektren.

Experimenteller Teil

1. Die Aufarbeitung des Goldregensamens

Fraktion A: 800 g gemahlener Samen wurden 120 Stdn. mit Petroläther extrahiert, der Extrakt zur Aufarbeitung auf Basen mit verd. HCl ausgeschüttelt, die wäßrige Phase zur Entfernung von Fettspuren wiederholt mit Petroläther gewaschen, alkalisch gemacht und darauf mit CHCl_3 extrahiert. Der Chloroformauszug ergab nach dem Eindampfen 0,25 g Rohbasen, die sich als Gemisch von Cytisin und Methylcytisin erwiesen.

Der von Basen befreite Petrolätherextrakt wurde im Vak. eingedampft und lieferte 84 g rohes Samenöl.

Fraktion B: Der entfettete Samen wurde 80 Stdn. mit Methanol anteilweise extrahiert, nach dem Einengen der vereinigten Methanolauszüge auf 0,5 l von ausfallenden Harzen abzentrifugiert und die methanol. Lösung im Vak. eingedampft.

Fraktion B₁: Der zähflüssige Rückstand der Methanolauszüge wurde mit 250 ml 20proz. Essigsäure versetzt, nach dem Abzentrifugieren von ungelösten Anteilen mit weiterer Essigsäure auf p_H 4 eingestellt, und diese Lösung im Scheidetrichter 15mal mit CHCl_3 ausgeschüttelt. Nach Trocknen des Chloroformextraktes und Abdestillieren des Lösungsmittels wurde der Rückstand in verd. HCl gelöst, von ungelösten Anteilen abfiltriert, zur Entfernung von Neutralstoffen einige Male mit CHCl_3 ausgeschüttelt und nach Alkalisieren der wäßrigen Lösung die Basen extrahiert. Als Rückstand blieb nach Abdestillieren des Lösungsmittels 0,72 g Basengemisch, welches neben Cytisin das Laburnamin enthielt.

Durch Sublimation im Hochvak. bei 65° und 0,005 Torr konnte Laburnamin vom Cytisin getrennt werden. Ausb.: 55 mg Laburnamin, Schmp. 125—127°.

Fraktion B₂: Die essigsäure wäßrige Rohbasenlösung wurde mit konz. NH_3 auf p_H 9 gebracht und 48 Stdn. mit CHCl_3 extrahiert. Der Rückstand des Chloroformextraktes wurde, wie oben beschrieben, auf Basen aufgearbeitet. Ausb.: 10,5 g an Rohcytisin.

Fraktion B₃: Die ammoniakal. wäßrige Lösung wurde mit NaOH stark alkalisch gemacht (p_H 12), wieder 80 Stdn. mit CHCl_3 extrahiert, und der Rückstand nach dem Abdestillieren des CHCl_3 auf Basen aufgearbeitet. Dies ergab 0,67 g eines Gemisches aus Cytisin, Laburnin und 1-Hydroxy-methyl-7-hydroxy-pyrrolizidin.

Fraktion B₄: Die Neutralauszüge, welche aus der Basenaufarbeitung der einzelnen Extraktionsfraktionen stammten (**B₁**, **B₂**, **B₃**), wurden vereinigt. Nach dem Trocknen und Abdestillieren des Lösungsmittels ergaben sich 0,095 g eines Substanzgemisches, das aus Acetyl- und Formylecytisin bestand und daneben noch etwas Cytisin enthielt.

Fraktion C, Reineckat-Fällung: Die stark alkal. wäßr. Lösung wurde mit verd. HCl auf p_H 2 gebracht und mit essigsaurer Ammonium-Reineckat-Lösung (10 g Ammonium-Reineckat in 200 ml H_2O /Essigsäuregemisch 2:1 gelöst)⁹ unter Rühren solange versetzt, bis keine weitere Fällung mehr eintrat. Der

Niederschlag wurde mit Wasser und Äther gewaschen und auf Basenhydrochloride verarbeitet. Ausb.: 0,25 g rohes Cholinchlorid (IV).

2. Abbaureaktionen des Laburnamins

LiAlD₄-Reduktion des Laburnamins: 2 mg Laburnamin, in 1 ml Tetrahydrofuran gelöst, wurden im Kugelrohr mit einem kleinem Überschuß an LiAlD₄ versetzt und nach Abschmelzen des Kugelrohres 6 Stdn. auf 65° erhitzt. Nach Aufarbeitung auf Basen wurde das Reaktionsprodukt zur Reinigung einer Kugelrohrdestillation bei 0,005 Torr unterworfen. Zwischen 65 und 70° Luftbadtemp. ging ein farbloses Öl über. Die Substanz wurde in das Hydrochlorid übergeführt und massenspektrometrisch identifiziert.

Hydrolyse des Laburnamins: 6 mg Laburnamin wurden mit 1 ml halbkonz. HCl in einem abgeschmolzenen Glasröhrchen 36 Stdn. auf 100° erhitzt. Danach wurde HCl mit der wasserdampf-flüchtigen Carbonsäure abdestilliert und das zurückgebliebene Amin-Hydrochlorid im Massenspektrometer untersucht.

Dimethylierung des Aminopyrrolizidins: 3 mg des Aminopyrrolizidinhydrochlorides wurden in die freie Base übergeführt, mit einem Überschuß von 0,1 ml HCOOH und 0,05 ml Formalin versetzt und 18 Stdn. auf 80° erhitzt. Nach Zugabe von 0,2 ml HCl wurde im Vak. zur Trockene eingedampft. Das im Rückstand verbliebene *Hydrochlorid* der Dimethylverbindung ergab, aus Alkohol/Äther umgelöst, Nadeln vom Schmp. 233—236° (u. Zers.).

Identifizierung der bei der Hydrolyse entstandenen Säure: Das die Carbonsäure enthaltende Destillat wurde nach Neutralisation der Salzsäure mit NaHSO₄ auf p_H 3 gebracht und die Säure mit kleinen Äthermengen mehrmals extrahiert. Die Ätherextrakte wurden vereint, mit 0,1 ml Butanol versetzt, durch Zugabe von 7 µl konz. wäßrige Äthylamin-Lösung die freie Säure neutralisiert und der Äther am Luftstrom abgeblasen.

Chromatographiert wurde nach dem Verfahren von *Hiscox*¹⁸ unter Verwendung von Schleicher & Schüll-Papier Nr. 2043 b. Als Laufmittel wurde wassergesättigtes *n*-Butanol verwendet. Zur Kammersättigung diente eine 0,024*n*-, mit Butanol gesättigte wäßrige Äthylaminlösung. Die Laufzeit betrug 20 Stdn. Es wurden ca. 50 γ Substanz aufgetragen. Nach dem absteigenden Chromatographieren wurde mit 0,25proz. alkohol. Bromkresolgrün-Lösung angefärbt. Als *R_f*-Werte der zu Vergleichszwecken bereiteten Standardlösungen wurden erhalten: *n*-Valeriansäure 0,52, Isovaleriansäure 0,45, Pivalinsäure 0,46, α-Methylbuttersäure 0,46. Die Probe zeigte einen *R_f*-Wert von 0,45.

¹⁸ E. R. Hiscox und N. J. Berridge, Nature [London] **166**, 522 (1950).