

82. Konstitution der Dihydropalustraminsäure und Bemerkungen zur Struktur des Palustrins

Vorläufige Mitteilung¹⁾

von C. Mayer²⁾, W. Trueb, J. Wilson³⁾ und C. H. Eugster

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

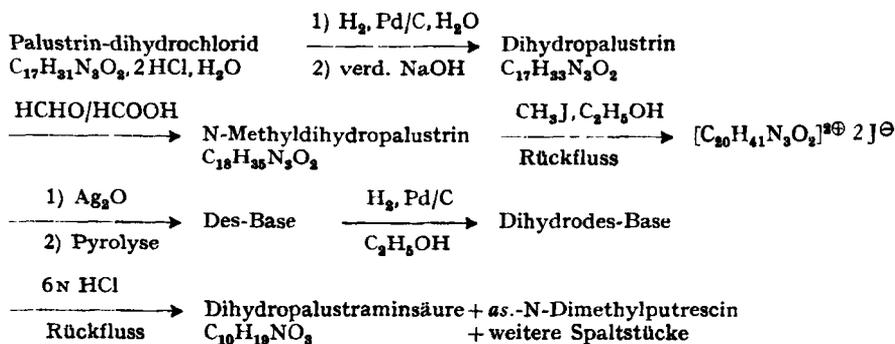
(19. III. 68)

Zusammenfassung. Durch HOFMANN'schen Abbau, Hydrierung und Hydrolyse wurde aus dem Alkaloid Dihydropalustrin die Dihydropalustraminsäure, $C_{10}H_{19}NO_3$, rein hergestellt. Sie hat die Konstitution einer [6-(α -Hydroxypropyl)-piperidyl-(2)]-essigsäure.

Auf Grund dieser Ergebnisse wird eine modifizierte Konstitutionsformel für das Ausgangsalkaloid *Palustrin* (toxisches Hauptalkaloid von *Equisetum palustre* L.) vorgeschlagen.

Palustrin, $C_{17}H_{31}N_3O_2$, das schwerzugängliche, toxische Hauptalkaloid des Sumpfschachtelhalms («Duwock»; *Equisetum palustre* L.) liefert bei der Alkalischmelze als grösstes basisches Spaltstück *Spermidin*⁴⁾, das über die beiden endständigen N-Atome mit dem Rest der Molekel zu einem wahrscheinlich 13-gliedrigen Ring verbunden ist. Die Verknüpfung erfolgt am Putrescin-Ende über eine sekundäre Amidbindung und an der anderen endständigen Aminogruppe durch, wie nachfolgend gezeigt wird, deren Einbau in einen 6-gliedrigen Ring (*Piperidin-Spaltstück*).

Dieser Teil der Palustrinmolekel kann unter sorgfältig definierten Bedingungen in Form einer optisch aktiven Aminocarbonsäure, $C_{10}H_{19}NO_3$, die wir *Dihydropalustraminsäure* nennen, wie folgt gefasst werden⁵⁾:



¹⁾ 8. Mitteilung über Equisetumalkaloide, eine ausführliche Mitteilung soll in dieser Zeitschrift erscheinen; 7. Mitteilung [1]; 6. Mitteilung: [2].

²⁾ Aus der geplanten Dissertation von CARL MAYER, Universität Zürich 1968.

³⁾ Dept. of Chemistry, University of Manchester.

⁴⁾ Erstmalsiger Nachweis von Spermidin in einem Alkaloid, vgl. [3].

⁵⁾ Vgl. [2]. Es hat sich gezeigt, dass die in der 6. Mitt. beschriebene Aminocarbonsäure, welcher die Summenformel $C_{11}H_{21}NO_3$ zugeschrieben worden war, noch Nebenprodukte enthielt. Der HOFMANN'sche Abbau am Dihydropalustrin kann auch, je nach den Bedingungen, zu anderen Spaltstücken führen.

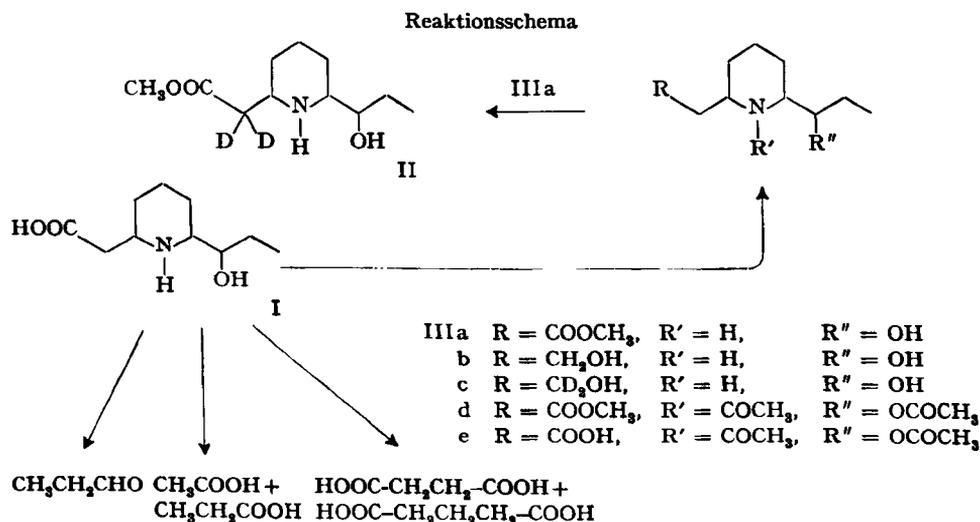
Aus dem erhaltenen Hydrolysegemisch der letzten Abbaustufe wird die Dihydropalustraminsäure durch Chromatographie an Cellulose isoliert (Ausbeute über alle Stufen 50%).

Eigenschaften – Dihydropalustraminsäure: $[\alpha]_D$ ca. -80° (CH_3OH); Ninhydrinfleck auf Papierchromatogrammen sehr schwach (grauviolett), ebenso mit DRAGENDORFF'schem Reagens [4] (gelb); Chloraminreagens [5]: intensiv blau, sehr empfindlich; R_f 0,6 (Lösgm. I⁶), R_f 0,8 (Lösgm. II⁷), Papierelektrophorese 3,6 cm⁸); Austausch von 3 Protonen in D_2O ; Hydrochlorid, Smp. 213–214°. – **Methylester III a** (nach FISCHER-SPEIER): $\text{C}_{11}\text{H}_{21}\text{NO}_3$, farbloses Öl, Sdp. ca. 70°/0,0001 Torr (Kugelrohr, Luftbad); IR. (CCl_4): 3636, 3502, 3344 (OH + NH frei und gebunden), 1736 cm^{-1} (Ester-CO); $[\alpha]_D -23^\circ$ (CH_3OH), R_f 0,6 (Lösgm. I⁶), Papierelektrophorese 3,9–4 cm; Austausch von 2 Protonen in D_2O ; im UV. transparent bis 220 nm; keine hydrierbare oder in Spektren nachweisbare C–C- oder C–N-Doppelbindung.

Dihydropalustraminsäure besitzt Konstitution I.

Chemische Evidenz: Der Methylester III a verbraucht bei pH 4,5 innert 15 Min. 1 Mol-Äqu. Perjodat, worauf die Oxydation, wenn auch wesentlich langsamer, weitergeht. Hydroxyprolin verhielt sich in Parallelversuchen analog; flüchtige Aldehyde konnten unter diesen Bedingungen auch beim Durchblasen von N_2 durch die Reaktionslösung nicht gefasst werden. Offensichtlich kondensiert sich der Propionaldehyd mit dem gleichzeitig entstandenen Δ^1 -Piperidein sofort⁹). Der Nachweis von Propionaldehyd gelang erst bei Oxydationen in einem Puffer von pH 7–8 als 2,4-Dinitrophenylhydrazon (Smp., Dünnschichtchromatogramm, Massenspektrum).

Der modifizierte KUHN-ROTH-Abbau [6] liefert als flüchtige Carbonsäuren Essigsäure und Propionsäure. (Dasselbe gilt für Palustrin und Dihydropalustrin.) Perjodat-oxydation nach LEMIEUX-RUDLOFF [7] ($\text{Na}_2\text{J}_2\text{O}_8/\text{KMnO}_4$) gibt viel Glutarsäure und



⁶) *n*-Butanol-HCl konz.-Eisessig-Wasser 20:1:1:4.

⁷) *s*-Butanol-Äthanol 95%-Eisessig-Wasser 15:5:1:5.

⁸) Bedingungen: Puffer pH 1,9; 550 V; 1 h; WHATMAN-Papier Nr. 1.

⁹) In einem mikropräparativen Ansatz konnte aus dem Reaktionsprodukt nach katalytischer Reduktion ein kristallisiertes Hydrochlorid mit zu III a · HCl sehr ähnlichen Eigenschaften isoliert werden.

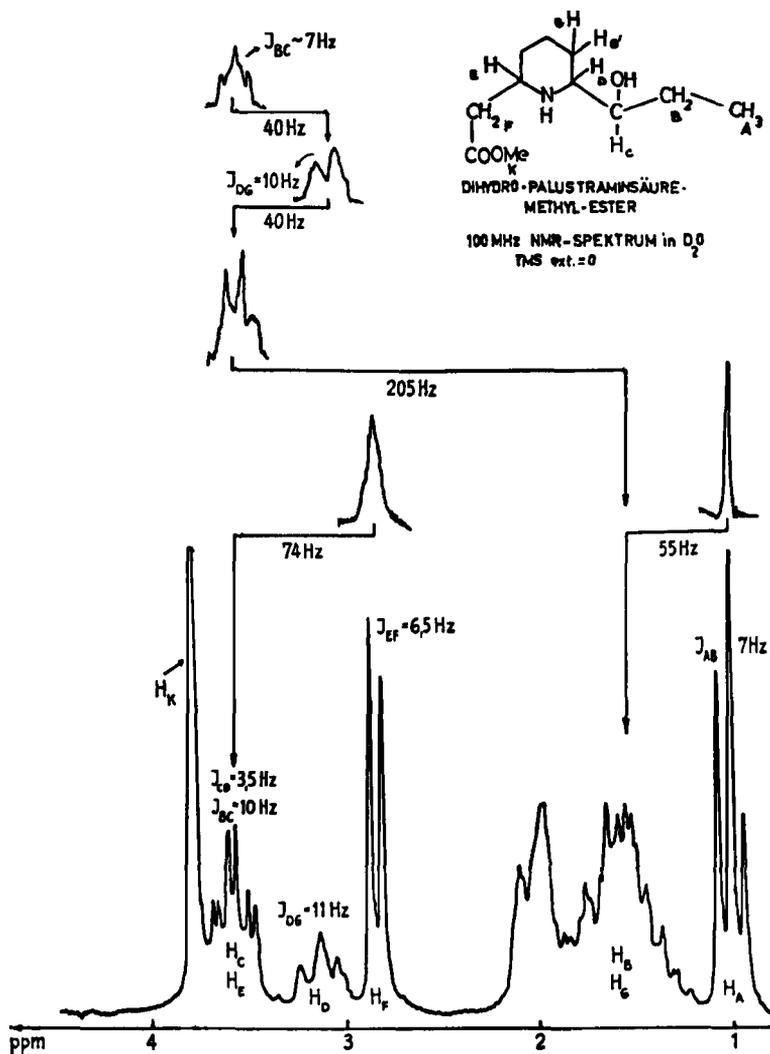


Fig. 1. NMR.-Spektrum von Dihydropalustraminsäure-methylester (in D₂O)¹⁰⁾

wenig Bernsteinsäure neben Spuren weiterer, nicht mit Sicherheit identifizierter Säuren. Ähnliche Resultate erhält man mit HNO₃.

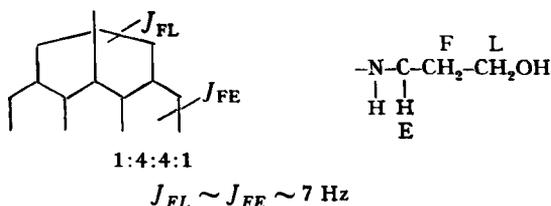
IIIa lässt sich mit LiAlD₄ zum Glykol IIIc, bzw. mit LiAlH₄ zum Glykol IIIb reduzieren [farbloses, wasserlösliches Öl, Sdp. 100°/0,0001 Torr (Kugelrohr), bald in Rosetten kristallisierend; Rf 0,75 (Lösgm. I⁶⁾], Papierelektrophorese 3,9 cm]. Acetylierung von IIIa (Acetanhydrid-Pyridin) führt zur Diacetylverbindung III d [Öl, Sdp. 110°/0,0001 Torr (Kugelrohr); IR. (CCl₄):1736 (COOCH₃ und OCOCH₃), 1646 cm⁻¹ (>NCOCH₃), frei von OH und >NH; Rf 0,9 (Lösgm. I⁶⁾], Chloramintest

¹⁰⁾ Aufgenommen an einem VARIAN-HR-100-Gerät. Resonanzpositionen sind in δ-Einheiten, Tetramethylsilan = 0 (wenn nicht besonders vermerkt), angegeben.

negativ, DRAGENDORFFSches Reagens schwach gelb]. Der Ester III d wird schon beim Erwärmen mit Wasser zu III e verseift [farblose Kristalle, Smp. 143–144°; schwerlöslich in Wasser, besser in Chloroform]. Versuche, III e partiell zu verseifen, schlugen fehl; beide Acetylgruppen werden mit ähnlicher Geschwindigkeit verseift, wobei I entsteht. Behandlung von III a mit $\text{NaOCH}_3/\text{CH}_3\text{OD}$ und anschliessend mit H_2O liefert glatt II (Einbau von 2D). Aus diesen Ergebnissen folgt die Natur der funktionellen Gruppen und Seitenketten sowie das wahrscheinliche Vorliegen eines Piperidinringes, nicht aber die Stellung des Essigsäurerestes.

Einige Reaktionen der Dihydropalustraminsäure bleiben vorläufig schwer verständlich: so gelang uns weder eine Oxydation der sekundären Alkoholgruppe zum Keton (auch unter Bedingungen, die am Conhydrin erfolgreich waren), noch eine N-Methylierung nach ESCHWEILER; Aromatisierungsversuche zu Pyridinderivaten waren nicht eindeutig. Zudem bleibt die Entstehung einer sekundären aus einer ursprünglich tertiären Aminogruppe unter den Bedingungen des Abbaus noch zu deuten.

NMR.-Spektren: Das 100-MHz-Spektrum¹⁰⁾ des Dihydropalustraminsäuremethylesters mit den Zuordnungen und Entkopplungsexperimenten ist in Figur 1 wiedergegeben. Das Dublett bei 2,9 ppm gehört zur Methylengruppe (H_F) der Essigsäure-Seitenkette, denn es verschwindet bei der deuterierten Verbindung II. Im Alkohol III b entsteht an seiner Stelle (–3,1 ppm, H_2O intern = 0) ein doppeltes Dublett, welches wie folgt gedeutet wird:



In III c ist H_F wieder ein Dublett (–3,18 ppm, H_2O intern = 0).

Der Partner H_E der Methylene protonen F befindet sich im aufgespaltenen Triplet bei 3,6 ppm. Die chemische Verschiebung von H_E legt eine N-Substitution und somit die α -Stellung der Essigsäure-Seitenkette am Piperidinring nahe (in III b und III c haben H_D und H_E die gleiche chemische Verschiebung).

Die α -Stellung der Hydroxypropyl-Seitenkette am Piperidinring ergibt sich ebenfalls aus den NMR.-Spektren. Die Protonen H_B liegen im Signalhaufen der Ringmethylene-Protonen. Durch Einstrahlen von $\Delta\delta_{BC} = 205$ Hz konnte der andere Kopplungspartner (H_C) im aufgespaltenen Triplet bei 3,6 ppm festgestellt werden (analoge Messungen am Conhydrin). Dieses Signal liegt frei (d. h. mit Aufspaltungen bis auf die Grundlinie) in III b und III c mit $J_{BC} \sim 10$ Hz und $J_{CD} \sim 3,5$ Hz (virtuell). Nach Einstrahlen bei H_B (und H_C , da ungefähr gleiche chemische Verschiebung) bricht die virtuelle Kopplung zusammen und man erhält J_{CD} eff. ~ 8 –9 Hz. Einstrahlen bei H_D mit $\Delta\delta_{CD} = 40$ Hz gibt ein Triplet für H_C mit J_{BC} eff. ~ 7 Hz. H_C , H_D und H_E erfahren bei der Acetylierung charakteristische Verschiebungen: die beiden Methinprotonen neben dem Stickstoff geben im III d ein Signal bei 4,83 ppm, und H_C liegt jetzt bei 4,00 ppm.

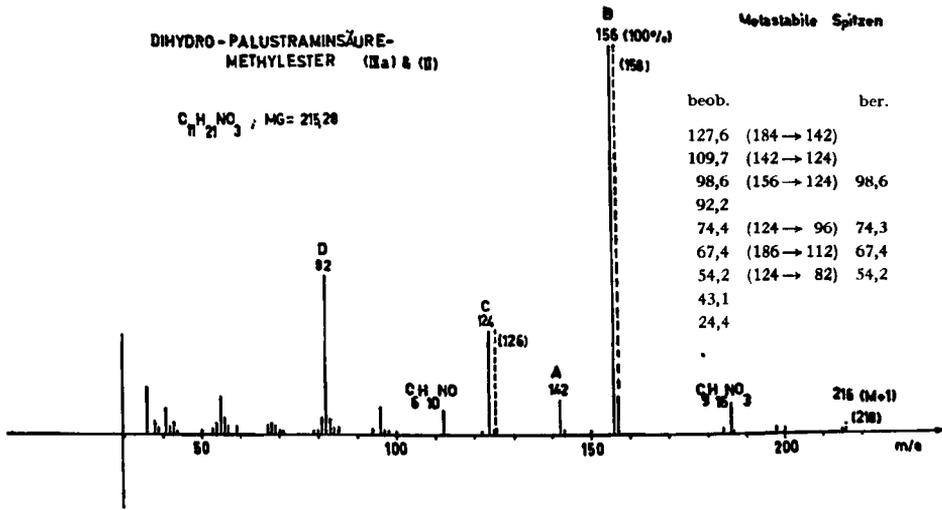
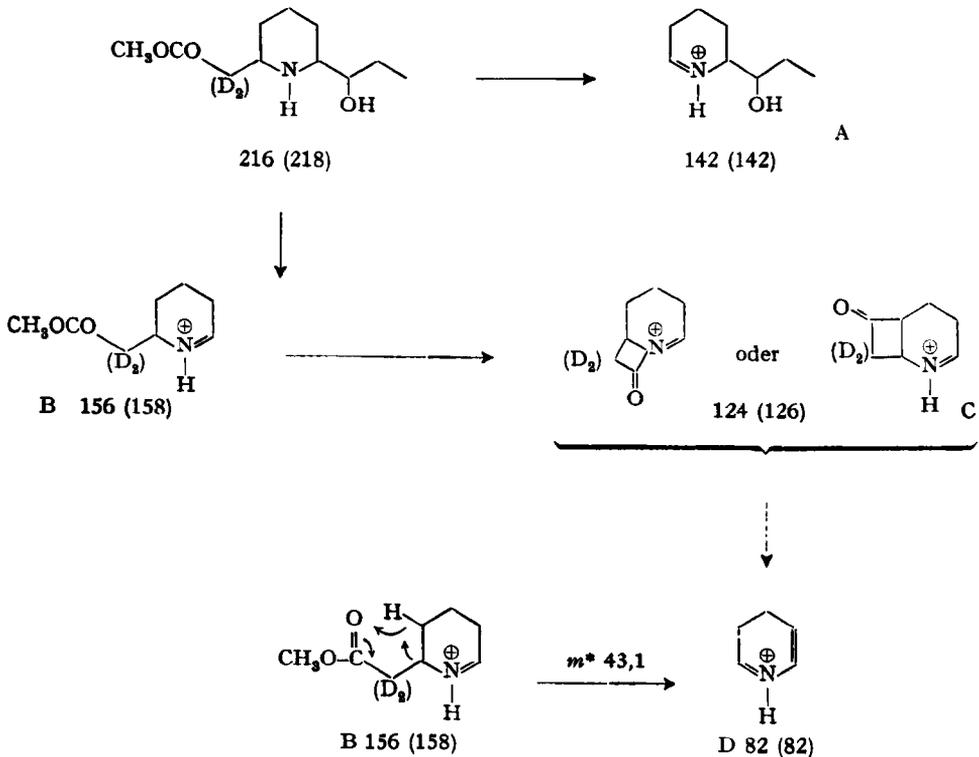


Fig. 2. Massenspektren der Verbindungen II und IIIa

Fragmentierungsschema für IIIa
 Fragmentierungsschema für IIIa (-) und II (D₂) (...),
 in Klammern m/e der deuterierten Verbindung



Massenspektren: In den Figuren 2 und 3 sind die Massenspektren von III a, II und III d wiedergegeben¹¹⁾. Ihre Interpretation hatte in der Tat den ersten klaren Hinweis auf einen α, α' -disubstituierten Piperidinring ergeben¹²⁾. Der Molekelpik ist, wie häufig in dieser Klasse beobachtet, sehr schwach. Die stärksten Pike stammen von der Abspaltung der Seitenketten (z. B. Bruchstücke B und D). Die niedrige Intensität von A ist wohl auf die geringere Stabilität des $\cdot\text{CH}_2\text{COOCH}_3$ -Radikals zurückzuführen. Da die Abspaltung von Methanol aus dem Ion B, wie Deuterierungsversuche zeigten, das N-H-Proton betrifft, ist die Stellung des Essigsäurerestes weiter gesichert. Die getroffenen Zuordnungen lassen sich durch das Spektrum der deuterierten Verbindung II stützen. Die Zusammensetzung der angegebenen Bruchstücke wurde durch Hochauflösungsexperimente bestätigt. In den Massenspektren von III b und III c treten die Pike mit m/e 142 und 128 bzw. 142 und 130 (Verlust von $\cdot\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$ und $\text{CH}_3\text{CH}_2\dot{\text{C}}\text{HOH}$, bzw. $\cdot\text{CH}_2\text{CD}_2\text{OH}$ -Radikalen) mit sehr verschiedener Intensität auf, was vermutlich auf die unterschiedliche Stabilität dieser Radikale zurückzuführen ist.

Im Spektrum von III d herrscht der gleiche Fragmentierungsmechanismus vor wie für III a. Strukturell bedeutsam ist in beiden das Auftreten des den Piperidinring direkt anzeigenden Ions D.

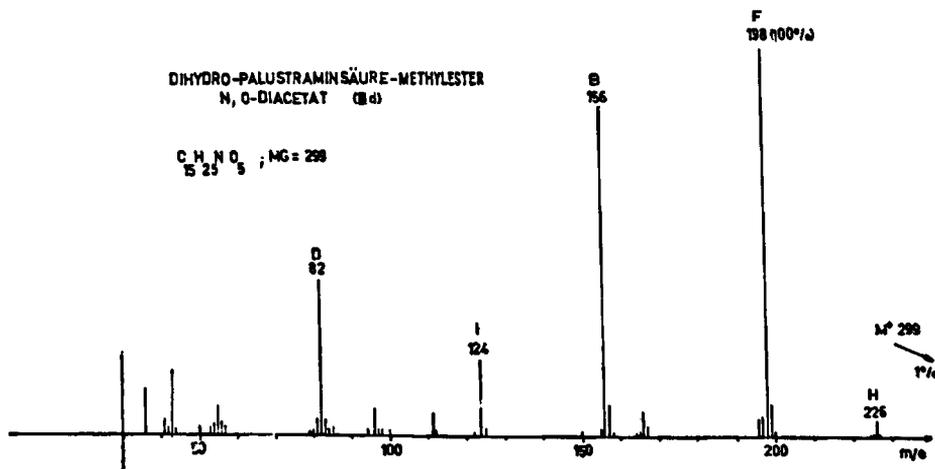


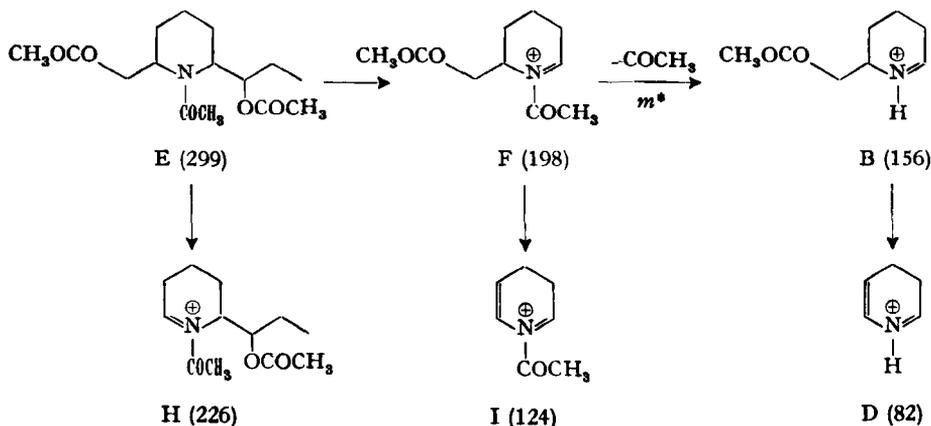
Fig. 3. Massenspektrum von *N,O*-Diacetyl-dihydropalustraminsäure-methylester (III d)

Bemerkungen zur Struktur des Palustrins: Mit der Isolierung des Spermidins und der Dihydropalustraminsäure sind sämtliche C- und N-Atome des Palustrins erfasst worden. Im Palustrin ist früher auf Grund von N-Methylbestimmungen nach HERZIG-MEYER und präparativer Isolierung des gebildeten Methyljodids eine N-Methylgruppe angenommen worden [8]. Dies ist aber, wie NMR.-Spektren sofort zeigten,

¹¹⁾ Aufgenommen an einem A.E.I. MS-9. III d wurde freundlicherweise von Herrn PD Dr. M. HESSE an einem ATLAS CH 4 gemessen.

¹²⁾ Herr und Frau Dr. SPITTELER, denen wir ebenfalls Massenspektren an Palustrin und Derivaten verdanken, hatten uns bereits 1964 auf die Möglichkeit einer Conhydrin-Teilstruktur im Palustrin aufmerksam gemacht.

Fragmentierungsschema für III d

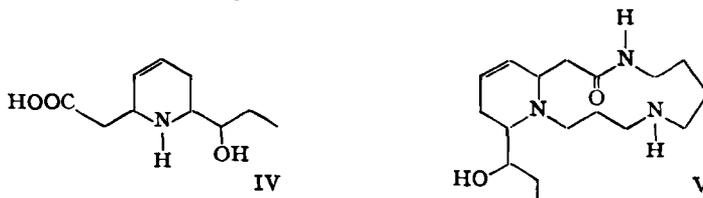


nicht der Fall¹³). Die C-C-Doppelbindung im Palustrin ist 1,2-disubstituiert (breites Dublett bei 5,8 ppm (in D₂O) mit $J \sim 14$ Hz und Multipllett bei 6,2 ppm) und befindet sich vermutlich in γ, δ -Stellung zur Carbonamid-Gruppierung, was wir aus positiven Iminolactonisierungsversuchen mit N-Bromsuccinimid bei pH 4 nach WITKOP & COREY [10] schliessen: das gebildete Lacton zeigt im IR. eine starke Bande bei 1770 cm⁻¹ (KBr)¹⁴).

Chemische und spektroskopische Befunde legen ferner die Anwesenheit der unveränderten Hydroxypropyl-Seitenkette im Palustrin und Dihydropalustrin nahe, so dass für die bisher durch Abbau noch nicht zugängliche *Palustraminsäure* die Struktur einer [6-(α -Hydroxypropyl)- Δ^3 -piperidyl-(2)]-essigsäure (IV) zutrifft.

Unter der bisher allerdings noch nicht bewiesenen Annahme, dass die am Dihydropalustrin verwendeten Abbauverfahren keine Umlagerung verursacht haben, leitet sich Palustrin von der Palustraminsäure in der Weise ab, dass die endständige Aminogruppe der C₃-Kette des Spermidins zur Bildung des Piperidinrings benutzt wurde und diejenige der C₄-Kette im sekundären Amid enthalten ist, so dass ein 13gliedriger Ring entsteht (V).

Demnach ist Palustrin ein Piperidinalkaloid.



Wir danken dem SCHWEIZERISCHEN NATIONALFONDS (Gesuche Nrn. 1825 und 5011/2) sowie der JUBILÄUMSSPENDE FÜR DIE UNIVERSITÄT ZÜRICH für die Unterstützung dieser Arbeit.

¹³) Die Herkunft des Methyljodids ist unklar. Eventuell kommt die Aminoalkohol-Gruppierung dafür in Frage; vgl. die Resultate am Cassin und am β -Hydroxypiperidin [9].

¹⁴) Unveröffentlichte Untersuchungen von Dr. W. PAULUS in unserem Laboratorium, 1961; der entsprechende Versuch ist am Dihydropalustrin negativ. Nach massenspektroskopischen Befunden kommt jedoch die δ, ϵ -Stellung ebenfalls in Frage. Über diese Ergebnisse wird in einer späteren Arbeit berichtet werden.

LITERATURVERZEICHNIS

- [1] C. H. EUGSTER, Vjschr. Naturforsch. Ges. Zürich *105*, 261 (1960).
 [2] W. DIETSCHKE & C. H. EUGSTER, *Chimia* *14*, 353 (1960).
 [3] C. G. BAUMANN, W. DIETSCHKE & C. H. EUGSTER, *Chimia* *14*, 85 (1960).
 [4] H. THIES & F. W. REUTER, *Naturwiss.* *1954*, 230.
 [5] B. FRANCK, *Chem. Ber.* *91*, 2803 (1958).
 [6] R. ENTSCHEL, C. H. EUGSTER & P. KARRER, *Helv.* *39*, 1263 (1956).
 [7] R. U. LEMIEUX & E. v. RUDLOFF, *Canad. J. Chemistry* *33*, 1701 (1955).
 [8] C. H. EUGSTER, R. GRIOT & P. KARRER, *Helv.* *36*, 1387 (1953).
 [9] R. J. HIGHET, *J. org. Chemistry* *29*, 471 (1964), Fussnote 7.
 [10] W. B. LAWSON, A. PATCHORNIK & B. WITKOP, *J. Amer. chem. Soc.* *82*, 5918 (1960); A. PATCHORNIK, W. B. LAWSON, B. GROSS & B. WITKOP, *ibid.* *82*, 5923 (1960); N. IZUMIYA, J. E. FRANCIS, A. V. ROBERTSON & B. WITKOP, *ibid.* *84*, 1702 (1962).

83. Struktur der Drebyssobiose, Lilacinobiose und Viminose

Desoxyzucker, 45. Mitteilung¹⁾

von H. Allgeier

Institut für Organische Chemie der Universität Basel

(19. III. 68)

Summary. The structures of the following three disaccharides, isolated from Asclepiadaceae, have been elucidated: Drebyssobiose (1) = 4-O-(3-O-methyl-6-deoxy- β -D-allopyranosyl)-D-digitoxose, lilacinobiose (7) = 4-O-(3-O-methyl-6-deoxy- β -D-glucopyranosyl)-D-cymarose, and viminose (13) = 4-O-(3-O-methyl-6-deoxy- β -D-glucopyranosyl)-D-digitoxose.

Hier wird über die Struktur der drei Disaccharide Drebyssobiose, Lilacinobiose und Viminose berichtet, die kürzlich aus verschiedenen Asclepiadaceen isoliert wurden. Diese 3 Disaccharide enthalten am reduzierenden Ende jeweils einen 2-Desoxyzucker. Zur Identifizierung der Bausteine ist die saure Hydrolyse nur teilweise geeignet, da sie relativ energische Bedingungen erfordert, wobei der 2-Desoxyzucker weitgehend zerstört wird. Es lässt sich somit nur der am nicht reduzierten Ende befindliche Zucker unversehrt gewinnen. Um die Identifizierung des 2-Desoxyzuckers zu ermöglichen, wurde hier genau gleich vorgegangen, wie dies kürzlich bei zwei analogen Fällen (Pachybiose und Asclepobiose) beschrieben wurde [1].

1. Drebyssobiose (1). - In den Samen von *Dregea volubilis* wurde früher von SAUER *et al.* [2] u. a. ein neuer Zucker («Zucker W») papierchromatographisch nachgewiesen. BHATNAGAR *et al.* [3] isolierten später aus Samen von *Dregea abyssinica* denselben Zucker in Kristallen und nannten ihn Drebyssobiose. Sie konnten ihm keine sichere Bruttoformel zuschreiben, bewiesen aber die Anwesenheit einer Methoxylgruppe. Nach einer im Mikromaßstab durchgeführten Hydrolyse konnte im Dünnschichtchromatogramm (DC), Papierchromatogramm (PC) und Papierelektropherogramm (PE) 3-O-Methyl-6-desoxy-allose nachgewiesen werden.

¹⁾ 44. Mitteilung: ALLGEIER [1].