

## RUDOLF TSCHESCHE und HEINRICH OCKENFELS

Über Kurchi-Alkaloide, VI<sup>1)</sup>**Die Strukturaufklärung des Holonamins**

Aus dem Organisch-Chemischen Institut der Universität Bonn

(Eingegangen am 8. April 1964)

Für das Alkaloid Holonamin wird die Struktur eines  $11\alpha$ -Hydroxy- $\Delta^{1.4.18(N)}$ -N-desmethyl-conatrien-ons-(3) nachgewiesen. Es entspricht in den Ringen A bis D dem aus Kurchi-Rinde isolierten N-freien Digenolderivat Holadyson.

Über die Isolierung des Alkaloids Holonamin aus der Rinde von *Holarrhena antidysenterica* Wall. (Kurchi) wurde in der vorhergehenden Mitteilung<sup>1)</sup> berichtet. Die Base kann leicht in reinem Zustand erhalten werden, da sie hervorragend kristallisiert und i. Hochvak. bei  $200-210^\circ$  unzersetzt sublimiert. Setzt man das pentacyclische Conanan-Gerüst voraus, so bleibt bei der Zusammensetzung  $C_{21}H_{27}NO_2$  ein Mindergehalt von 8 Wasserstoffatomen, der, wie später gezeigt wird, durch 2 olefinische, eine C=N-Doppelbindung und eine Carbonylfunktion erklärt werden kann. Die nach der ZEREWITINOFF-Bestimmung vorhandene eine Hydroxylgruppe muß primär oder sekundär gebunden sein, da sie mit Pyridin/Acetanhydrid bei Raumtemperatur acetyliert werden kann.

Holonamin reagiert nicht mit Brom und nicht deutlich mit Tetranitromethan, dagegen gut mit 2,4-Dinitro-phenylhydrazin und mit Permanganat. Diese Befunde weisen auf eine Doppelbindung in Konjugation zu einer Carbonylfunktion hin, die aus Analogiegründen in 3-Stellung angenommen wird. Auf Grund des IR- und des UV-Spektrums wird ein einfach konjugiertes 3-Ketosteroid ausgeschlossen zugunsten eines  $\Delta^{1.4.3}$ -Ketons, wie folgende Daten zeigen: Im Carbonyl-Bereich tritt bei 1656, 1613 und 1597/cm ein charakteristisches Triplett auf (entsprechend 1656, 1616 und 1598/cm bei Holadyson<sup>2)</sup> und 1661, 1618 und 1600/cm bei  $11\alpha$ -Hydroxy- $\Delta^{1.4}$ -pregnadien-dion-(3.20)<sup>3)</sup>), dessen Banden mit kleineren Wellenzahlen fallende Intensitäten zeigen; für ein einfach konjugiertes 3-Ketosteroid läge die der C=O-Valenzschwingung zuzuordnende Bande mit 1656/cm um etwa 20/cm zu niedrig. Ferner fehlt die für eine Methylengruppe in  $\alpha$ -Stellung zur Ketogruppe eines konjugierten Ketons bei 1418–1422/cm zu erwartende Bande. Dafür tritt eine solche bei 1438/cm auf, die einer Methylengruppe neben der C=C-Doppelbindung eines konjugierten Ketons zugeschrieben werden kann<sup>4)</sup>. Auch die im Bereich von 1350–800/cm erscheinenden Absorptionsbanden geringerer Intensität (1291, 1149, 1102, 951/cm)

1) V. Mittel.: R. TSCHESCHE und H. OCKENFELS, Chem. Ber. **97**, 2316 [1964], vorstehend.

2) R. TSCHESCHE, I. MÖRNER und G. SNATZKE, Liebigs Ann. Chem. **670**, 103 [1963].

3) V. KNITTEL, Diplomarb. Univ. Bonn 1963.

4) R. N. JONES und A. R. H. COLE, J. Amer. chem. Soc. **74**, 5648 [1952].

entsprechen den für  $\Delta^{1,4}$ -3-Ketone angegebenen Werten<sup>5)</sup>. Eine klare Entscheidung zugunsten des gekreuzt konjugierten Dienons erlaubt die sehr scharfe Bande bei 884/cm; bei nur einfach konjugierten  $\Delta^4$ -3-Ketosteroiden liegt die entsprechende Bande zwischen 867 und 862/cm<sup>5)</sup>.

Während die  $\Delta^{1,4}$ -3-Ketosteroide im UV-Spektrum ein Absorptionsmaximum annähernd gleicher Intensität bei nahezu derselben Wellenlänge besitzen wie die entsprechenden  $\Delta^4$ -3-Ketosteroide, differieren die Spektren der beiden Verbindungsreihen an der langwelligen Flanke der Bande erheblich: Die UV-Absorptionskurve des gekreuzt konjugierten Ketons hat einen bedeutend flacheren Abfall nach längeren Wellen als die eines einfach konjugierten Ketons<sup>6)</sup>, und zwar beträgt der Quotient  $E_{263}/E_{\max}$  für erstere 0.49, für letztere 0.14. Beim Holonamin findet man für diesen Quotienten 0.54; hierdurch wird die Dienon-Struktur gestützt.

Beim Kochen von Holonamin mit  $2n$  HCl bilden sich in quantitativer Reaktion 2 neue polarere Substanzen, bei denen die IR- und die UV-Banden der Dienon-Gruppierung verschwunden sind, während im IR Aromatenbanden bei 1603 und 848/cm auftreten. Die Annahme, daß das Alkaloid hierbei unter Aromatisierung von Ring A eine Dienon-Phenol-Umlagerung<sup>7,8)</sup> eingeht, wird durch folgende Experimente bestätigt: Die neu entstandenen Substanzen lassen sich mit Diazosulfanilsäure zu tiefbraunen Azofarbstoffen kuppeln; sie setzen sich mit Diazomethan bei Raumtemperatur quantitativ zu 2 erheblich unpolare Substanzen um, die nicht mehr mit Diazoniumsalzen reagieren. Schließlich zeigen sie im UV eine Absorptionsbande, die in Lage und Intensität der Bande des bei Versuchen von DREIDING et al.<sup>8)</sup> zur Dienon-Phenol-Umlagerung entstandenen 4-Methyl-5.6.7.8-tetrahydro-naphthols-(2) entspricht. Bei Alkalizusatz tritt eine bathochrome Verschiebung unter gleichzeitiger Zunahme der Intensität auf, die mit den beim Phenol beobachteten Effekten<sup>9,10)</sup> auch quantitativ gut übereinstimmt.

Holonamin besitzt weder eine freie noch eine methylierte Aminogruppe, denn es bildet mit *p*-Nitro-benzaldehyd keine Schiffsche Base und zeigt im IR- und im NMR-Spektrum kein für *N*-Methylgruppen charakteristisches Signal. Über das Vorliegen einer C=N-Doppelbindung kann aus dem IR-Spektrum nichts ausgesagt werden, weil die Dienon-Banden im gleichen Bereich absorbieren. Es wurde daher auf die Reaktion von SCHÖPF et al.<sup>11,12)</sup> zurückgegriffen, nach der sich  $\Delta^1$ -Pyrroline an *o*-Amino-benzaldehyd zu einer Pseudobase (I) addieren, die mit dem entsprechenden tiefgelben Dihydrochinazolinium-Derivat (II) im Gleichgewicht steht. Die gelborange Farbe des aus Holonamin entstehenden Derivates und seine quantitative Ausfällbarkeit als Pikrat sprechen für das Vorhandensein einer C=N-Doppel-

5) R. N. JONES, F. HERLING und E. KATZENELLENBOGEN, J. Amer. chem. Soc. 77, 651 [1955].

6) H. RÖSSLER und K. BRÜCKNER, Naturwissenschaften 48, 695 [1961].

7) H. H. INHOFFEN und HUANG-MINLON, Naturwissenschaften 26, 756 [1938].

8) A. S. DREIDING, W. J. PUMMER und A. J. TOMASEWSKI, J. Amer. chem. Soc. 75, 3159 [1953].

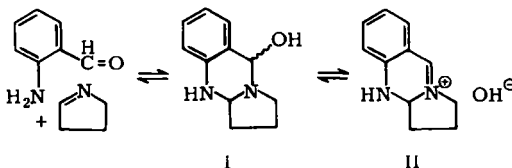
9) T. W. CAMPBELL und G. M. COPPINGER, J. Amer. chem. Soc. 73, 2708 [1951].

10) L. DOUB und J. M. VANDERBELT, J. Amer. chem. Soc. 69, 2714 [1947].

11) CL. SCHÖPF und F. OECHLER, Liebigs Ann. Chem. 523, 1 [1936].

12) CL. SCHÖPF, H.-K. BLÖDORN, D. KLEIN und G. SEITZ, Chem. Ber. 83, 372 [1950].

bindung<sup>13)</sup>. Das UV-Spektrum des Kondensationsproduktes zeigt große Ähnlichkeit mit dem von SCHÖPF et al.<sup>12)</sup> gemessenen Spektrum des  $\Delta^1$ -Piperidein-Dihydrochinazolinium-Derivates und besonders mit den von TSCHESCHE und ROY<sup>14)</sup> angegebenen Spektren der strukturell verwandten Verbindungen des Conkurchins und des Conessidins.



Da die Stickstoff-Funktionen in sämtlichen bisher bekannten Alkaloiden der Holarrhena- und der Funtumia-Gruppe mit den C-Atomen 3 und 20 verknüpft sind und am C-3 des Holonamins sich eine Ketogruppe befindet, wird eine Bindung des Stickstoffatoms mit dem C-Atom 20 des Pregnangerüsts angenommen. Ob die Doppelbindung im Ring E vom Stickstoff nach C-18 oder nach C-20 weist, kann mit Hilfe des NMR-Spektrums entschieden werden: Die Aufspaltung des Signa's für  $\text{CH}_3$  (C-Atom 21) ( $\tau = 8.62$ ) in ein Dublett mit  $J = 7.1$  Hz muß auf ein Proton an C-20 zurückgehen und beweist damit die  $\Delta^{18(\text{N})}$ -Doppelbindung. Das für diese geforderte olefinische Proton an C-18 ist ebenfalls im Spektrum zu finden, und zwar als Dublett ( $\tau = 2.50$ ,  $J = 3$  Hz); die schwache Aufspaltung kann nur auf eine „long-range-Kopplung“ mit dem Proton an C-20 zurückgehen. Der Ring E des Holonamins ist mit der  $\Delta^{18(\text{N})}$ -Doppelbindung genau so wie im Funtumia-Alkaloid Irehlin<sup>15)</sup> aufgebaut. Auch beim Irehlin ist nicht nur das Signal für  $\text{CH}_3$ -21 ( $\tau = 8.65$ ,  $J = 7$  Hz), sondern auch das Signal für  $\text{CH}$ -18 ( $\tau = 2.42$ ,  $J = 3$  Hz) zum Dublett aufgespalten<sup>16)</sup>.

Die folgenden, mit einer  $\Delta^1$ -Pyrrolin-Struktur zunächst nicht zu vereinbarenden Befunde lassen sich durch die Annahme einer sehr schnell verlaufenden, reversiblen Addition von Alkohol an die  $\text{C}=\text{N}$ -Doppelbindung erklären:

1. Im IR-Spektrum des Holonamins tritt bei Verwendung von normalem Chloroform als Lösungsmittel eine intensive  $\text{NH}$ -Bande auf, die sich über den Bereich von ca. 3100–3500/cm erstreckt und einer stark assoziierten  $\text{NH}$ -Gruppierung entspricht. Das Lösungsspektrum in

<sup>13)</sup> Bei der dünnschichtchromatographischen Prüfung des kristallinen Pikrates im System C traten überraschenderweise neben dem Fleck der Pikrinsäure zwei Alkaloidflecke im Verhältnis von etwa 1 : 4 auf, wobei der unpolare Base der größere Fleck entsprach. Dieser Befund kann folgendermaßen erklärt werden: In dem wasserhaltigen System findet zunächst Hydrolyse des Pikrates statt. Da das Kation auf der Adsorptionsschicht festgehalten werden würde, muß man die Rückbildung der Pseudobase annehmen; bei der Addition des Hydroxyl-Ions können jedoch zwei Epimere entstehen. Die beiden Substanzen lagern sich auf der Platte nicht ineinander um, wie durch zweidimensionale Dünnschichtchromatographie gezeigt werden konnte.

<sup>14)</sup> R. TSCHESCHE und A. C. ROY, Chem. Ber. **89**, 1288 [1956]. In dieser Publikation ist auf S. 1293, vierte Zeile von unten, an Stelle von „auf das 100fache verdünnt“, „auf das 20fache verdünnt“ zu setzen.

<sup>15)</sup> M.-M. JANOT, MINH TRUONG-HO, QUI KHUONG-HUU und R. GOUTAREL, Bull. Soc. chim. France **1963**, 1977.

<sup>16)</sup> R. GOUTAREL, Privatmitteil. 1963.

Tetrachlorkohlenstoff dagegen zeigt diese Bande nicht. Verwendet man äthanolfreies Chloroform<sup>17)</sup>, so verschwindet die Bande praktisch vollständig.

2. Der REINDEL-HOPPE-Test verläuft eindeutig positiv und weist somit ebenfalls auf eine NH- oder NH<sub>2</sub>-Gruppe hin. Auch hier waren günstige Bedingungen für eine Alkohol-Addition gegeben, da die Reaktion, wie üblich, auf äthanolgetränktem Papier ausgeführt wurde.

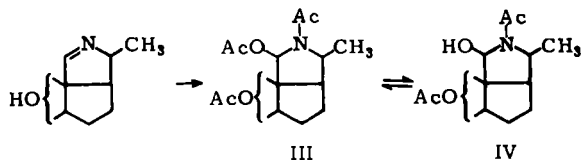
3. Bei der Dünnschichtchromatographie im methanolhaltigen System C erscheint Holonamin im Vergleich zu Conessin extrem unpolar, während es im methanolfreien Gemisch D nur eine sehr kurze Laufstrecke aufweist. Beide Systeme enthalten geringe Mengen Wasser. Es scheint also bei Abwesenheit von Methanol ein Molekül Wasser an die C=N-Doppelbindung addiert zu werden, während ein großer Methanol-Überschuß eine Methanol-Addition bewirkt. Daß die jeweils aus dem einen System eluierten „Addukte“ in dem anderen System wieder mit Holonamin identische Laufstrecken ergeben, ist ein Beweis für die vollständige Reversibilität der Addition.

4. Quantitativ läßt sich durch Verfolgung der unterschiedlichen Werte der spezif. Drehung bei Gegenwart verschiedener Mengen Äthanol die Einstellung eines Gleichgewichtes zwischen Holonamin und seinem Alkohol-Addukt nachweisen: Es fiel zunächst auf, daß bei Verwendung normalen Chloroforms bei verschiedenen Messungen unterschiedliche Werte gefunden wurden, deren Schwankungen die apparativ bedingte Fehlerbreite erheblich überschreiten. Bestimmt man den optischen Drehwert in äthanolfreiem Chloroform<sup>17)</sup> und gibt definierte Äthanolmengen zu, so ändert sich die Drehung sofort, und zwar wird bei jedem Alkoholgehalt ein bestimmter Drehwert gefunden. Die dabei beobachtete Zunahme der optischen Drehung mit steigendem Alkoholgehalt läßt sich durch das neue Asymmetrie-Zentrum an C-18 im Alkohol-Addukt erklären.

Mit Pyridin/Acetanhydrid entsteht bei der üblichen wäßrigen Aufarbeitung in quantitativer Reaktion als einheitliches Produkt ein Diacetat, dem formal der Mehrgehalt von 1 Mol. Wasser zukommt; die ZEREWITINOFF-Bestimmung hatte dagegen nur 1 aktives H ergeben. Das Vorhandensein von „Kristallessigsäure“ in einem normalen Monoacetat ist auf Grund der Aufarbeitungsbedingungen unmöglich, die Bildung eines Enolacetates durch Acetylierung der tautomeren Enolform des Ringes A scheidet wegen der im IR und UV unverändert auftretenden Dienon-Banden aus. Es bleibt als Erklärung daher nur die formale Addition von 1 Mol. Essigsäure an die C=N-Doppelbindung zum Amid IV. Damit in Übereinstimmung steht der negative Ausfall der REINDEL-HOPPE-Reaktion beim Diacetat, die, wie gezeigt, auf die C=N-Doppelbindung zurückgeht. Für die Amidstruktur spricht ferner die Unlöslichkeit des Diacetates in verdünnten Säuren und die schwächere Reaktion mit DRAGENDORFFS Reagenz. Unabhängig von uns beobachteten JANOT et al. an dem in Ring E ebenso wie Holonamin gebauten Alkaloid Irehlin ebenfalls die formale Addition eines Moleküls Essigsäure<sup>15)</sup>.

Arbeitet man den Acetylierungsansatz unter Ausschluß von Wasser auf, so entsteht in quantitativer Reaktion ein einheitliches Produkt, das auf Grund der Analyse ein Triacetat darstellt und ebenfalls formal ein Mol. Wasser mehr enthält. Da nach dem IR-Spektrum im Triacetat immer noch der Dienon-Chromophor vorhanden ist,

<sup>17)</sup> Das handelsübliche Chloroform wurde dreimal mit Wasser gewaschen, über Calciumchlorid getrocknet und fraktioniert. Das so vorgereinigte Lösungsmittel schickte man unmittelbar vor der Messung über eine Säule, die mit Aluminiumoxyd der Aktivitätsstufe 1 gefüllt war.



kann nur eine Acetylierung der OH-Gruppe des Diacetates an C-18 erfolgt sein, so daß dem Triacetat die Struktur III zugeordnet werden muß. Dafür spricht auch die Unlöslichkeit in verdünnten Säuren, der negative Ausfall der REINDEL-HOPPE-Reaktion, die nur langsam eintretende DRAGENDORFF-Färbung und vor allem die leichte Umwandlung der Acetate ineinander: Es konnte dünn-schichtchromatographisch gezeigt werden, daß im Acetylierungsansatz zunächst nur das Triacetat vorliegt; dieses geht unter Verseifung bei der wäßrigen Aufarbeitung vollständig in das Diacetat über; umgekehrt wird das Diacetat mit Pyridin/Acetanhydrid bei Raumtemperatur quantitativ ins Triacetat übergeführt. Die leichte Verseifbarkeit des Triacetates zum Diacetat kann mit der Hydrolyse der *O*-acetylierten Halbaminale-Gruppe erklärt werden, da echte Ester normalerweise stabiler sind. Damit ist indirekt gezeigt, daß dem Diacetat die Struktur IV und nicht etwa die eines *N,O*-diacetylierten Halbaminale mit einer freien primären oder sekundären Hydroxylgruppe zukommt; einen weiteren Hinweis hierfür geben die später angeführten UV-Spektren.

Bei der Bildung des Triacetates könnte die *N,O*-diacetylierte Halbaminale-Gruppierung durch direkte Addition von Acetanhydrid an die C=N-Doppelbindung entstehen. Eine andere Möglichkeit wäre die primäre Addition von Essigsäure mit nachfolgender Acetylierung der Hydroxylgruppe an C-18. Berücksichtigt man außerdem die Acetylierung der ursprünglich im Molekül enthaltenen Hydroxylgruppe, so würde im ersten Fall nur eine Zwischenstufe durchlaufen werden, während auf dem zweiten Reaktionsweg mindestens 2 Intermediärprodukte entstehen müßten. Daß man bei der Prüfung des Reaktionsverlaufes mittels Dünn-schichtchromatographie nur ein Zwischenprodukt fand, ist ein Hinweis auf eine primäre Addition von Acetanhydrid. Dazu kommt, daß dieses Zwischenprodukt bereits nach 2 Min. ausschließlich vorliegt; diese schnelle Reaktion ist nur mit der Annahme einer Acetanhydrid-Addition erklärbar, da Essigsäure nur in molaren Mengen und erst durch eine Acetylierung der ursprünglich vorhandenen freien Hydroxylgruppe entstehen könnte, die ihrerseits langsamer verlaufen sollte.

Für die Hydroxylgruppe wird die  $11\alpha$ -Stellung angenommen; der Beweis erfolgt indirekt durch den Vergleich verschiedener physikalischer Werte gegenüber den bei anderen  $\Delta^{1,4,3}$ -Ketosteroiden gefundenen: Führt man in die  $11\alpha$ -Position eines  $\Delta^{1,4,3}$ -Ketosteroids eine Hydroxylgruppe ein, so werden der Circulardichroismus, das NMR-Spektrum und die UV-Absorption beeinflusst; die Abweichungen der NMR- und UV-Banden gegenüber anderen  $\Delta^{1,4,3}$ -Ketosteroiden könnten nach G. SNATZKE<sup>18)</sup> durch eine Wasserstoffbrückenbindung zwischen der  $11\alpha$ -Hydroxylgruppe und den  $\pi$ -Elektronen der  $\Delta^1$ -Doppelbindung zustandekommen. So sollte Holonamin (V) wie andere  $\Delta^{1,4,3}$ -Ketosteroide (ohne  $11\alpha$ -Hydroxylgruppe) einen negativen Circulardichroismus aufweisen ( $\Delta\epsilon_{\max} = -0.29 \pm 0.12$  bei  $346 \text{ m}\mu$ )<sup>19)</sup>. Man fand jedoch

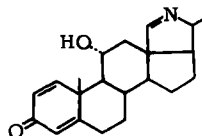
<sup>18)</sup> G. SNATZKE, Privatmitteil. 1963; für NMR vgl. auch R. F. ZÜRCHER, Helv. chim. Acta **46**, 2054 [1963].

<sup>19)</sup> L. VELLUZ und M. LEGRAND, Angew. Chem. **73**, 603 [1961].

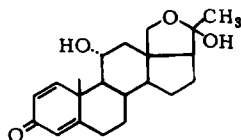
ein ins Längerwellige verschobenes Triplett mit positivem Cotton-Effekt, dessen  $\Delta\epsilon$ - und  $\lambda$ -Werte gut mit den Werten des Holadysons (VI)<sup>2)</sup> und denen des als Vergleichssubstanz synthetisierten  $11\alpha$ -Hydroxy- $\Delta^{1,4}$ -pregnadien-dions-(3.20) (VII)<sup>3)</sup> übereinstimmen:

 $\Delta\epsilon$ -Werte

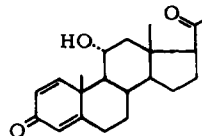
Holonamin	+0.57 (344.5 m $\mu$ )	+0.70 (356.5 m $\mu$ )	+0.44 (373 m $\mu$ )
Holadyson	+0.38 (345 m $\mu$ )	+0.45 (358 m $\mu$ )	+0.29 (374 m $\mu$ )
Vergleichssubstanz	+0.71 (345 m $\mu$ )	+0.87 (358 m $\mu$ )	+0.64 (374 m $\mu$ )



Holonamin  
(V)



Holadyson  
(VI)



Vergleichssubstanz  
(VII)

Das UV-Spektrum der drei erwähnten Substanzen ist ebenfalls gegenüber anderen  $\Delta^{1,4}$ -3-Ketosteroiden, die bei 244 m $\mu$  mit  $\epsilon = 15000$ <sup>20)</sup> absorbieren, bathochrom verschoben, und zwar um etwa 3 m $\mu$ . Dagegen liegt das Absorptionsmaximum des  $11\alpha$ -Acetoxy- $\Delta^{1,4}$ -pregnadien-dions-(3.20) wieder bei 244 m $\mu$ ; da hier keine Wasserstoffbrückenbindung mehr stattfinden kann, stimmt dieser Befund mit der oben angegebenen Deutung der Abweichungen überein. Für Holonamin-diacetat wurde  $\lambda_{\max} = 243.2$  m $\mu$  gefunden, so daß die bathochrome Verschiebung beim Holonamin 2.6 m $\mu$  beträgt und damit den Werten der beiden Vergleichssubstanzen nahekommt. Aus der Lage des Maximums im UV-Spektrum des Diacetates folgt ferner, daß im Diacetat die  $11\alpha$ -Hydroxylgruppe acetyliert ist und nicht etwa eine *O*-Acetylgruppe an C-18 haftet; damit erscheint die Struktur IV des Holonamin-diacetates gut gestützt.

## Absorptionsmaxima

	$11\alpha$ -OH [m $\mu$ ]	$11\alpha$ -OAc [m $\mu$ ]	$\Delta\lambda_{\max}$ [m $\mu$ ]
Holonamin	245.8 ( $\epsilon = 18000$ )	243.2 ( $\epsilon = 17400$ )	2.6
Holadyson	247.5 ( $\epsilon = 16300$ )	fehlt	3.5
Vergleichssubstanz	247 ( $\epsilon = 15780$ )	244 ( $\epsilon = 16800$ )	3.0

Schließlich wurden die Abweichungen im Kernresonanz-Spektrum gemessen. Bei einem  $\Delta^{1,4}$ -3-Ketosteroid ergeben die Protonen an C-1, C-2 und C-4 ein ABC-Spektrum, wobei  $H_{(4)}$  nur mit  $H_{(2)}$  koppelt. Im AB-Quartett der beiden Protonen an C-1 und C-2 gibt demnach der A-Teil das übliche Dublett, während das ursprüngliche B-Dublett weiter aufgespalten wird. In diesem Bereich tritt außerdem das Dublett von CH-4 auf. Man findet nun im NMR-Spektrum des Holonamins und der Vergleichssubstanz (VII) gegenüber einem Dienon ohne  $11\alpha$ -OH-Gruppe, z. B. dem *O*-Acetyl-1-dehydro- $10\alpha$ -testosteron<sup>21)</sup>, eine starke Verschiebung nach kleineren

<sup>20)</sup> L. F. FIESER und M. FIESER, *Steroide*, S. 24, Verlag Chemie, Weinheim/Bergstr. 1961.

<sup>21)</sup> R. WENGER, H. DUTLER, H. WEHRLI, K. SCHAFFNER und O. JEGER, *Helv. chim. Acta* **45**, 2420 [1962].

$\tau$ -Werten. In der folgenden Tabelle sind die nicht verschobenen  $\tau$ -Werte für CH-2 ebenfalls angeführt. Das Auftreten des ABC-Spektrums ist ein weiterer Hinweis für die Dienon-Gruppierung.

	$\tau$ -Werte	
	CH-1	CH-2
Holonamin	$2.06/d/J_{1,2} = 11 \text{ Hz}$	$3.89/2d/J_{1,2} = 11 \text{ Hz}; J_{2,4} = 2 \text{ Hz}$
Vergleichssubstanz	$2.15/d/J_{1,2} = 10.6 \text{ Hz}$	$3.84/2d/J_{1,2} = 10.6 \text{ Hz}; J_{2,4} = 2 \text{ Hz}$
O-Acetyl-1-dehydro- 10 $\alpha$ -testosteron	$3.00/d/J_{1,2} = 10 \text{ Hz}$	$3.79/2d/J_{1,2} = 10 \text{ Hz}; J_{2,4} = 2 \text{ Hz}$

Wegen der Analogie in den physikalischen Daten bei den erwähnten Verbindungen darf die 11 $\alpha$ -Stellung der Hydroxylgruppe und damit die Struktur V für Holonamin als gut gesichert gelten. Holonamin ist damit in den Ringen A bis D identisch mit dem aus dem gleichen Rindenmuster isolierten Digitenerivat Holadyson<sup>21</sup>). Die beiden Substanzen dürften in engem biogenetischem Zusammenhang stehen, da sie sich nur im heterocyclischen Ring E unterscheiden: Während Holonamin die Schiffsche Base des 20-Amino-18-aldehyds darstellt, ist Holadyson das cyclische Halbketal des entsprechenden 18-Hydroxy-20-ketosteroids. Da letzteres in der offenen Form nicht existiert<sup>22</sup>), scheint die Annahme einer beiden Steroiden gemeinsamen Vorstufe, etwa in Form des 20-Keto-18-aldehyds, plausibel. Aus diesem könnte einerseits durch enzymatische Reduktion das 18-Hydroxy-20-ketosteroid entstehen, das sich zum cyclischen Halbketal Holadyson stabilisiert; andererseits würde sich bei der hydrierenden Aminierung der 20-Amino-18-aldehyd bilden, der sich durch Kondensation zur stabilen Schiffschen Base Holonamin weiteren biochemischen Veränderungen entzieht. Diese Annahmen setzen die Möglichkeit einer Oxydation an C-18 unter Ausbildung einer Aldehydgruppe voraus, da das bei einer stufenweisen Oxydation entstehende C-18-Carbinol wegen der leichten Hemiketalbildung wohl nicht angegriffen werden würde. Durch hydrierende Aminierung des einfachen C-20-Ketons und nachfolgende Oxydation an C-18, jetzt allerdings nur bis zum Alkohol, dürften die Alkaloide des Holarrhimin-Typs und durch deren cyclisierende Kondensation<sup>23</sup>) die des Conanan-Typs entstehen.

Wir danken der FARBERWERKE HOECHST AG für die Beschaffung der Kurchi-Rinde und Herrn Dr. W. MEISE für die freundliche Hilfe bei der Abfassung des Manuskripts.

### BESCHREIBUNG DER VERSUCHE

Einzelheiten über die allgemeinen Verfahren und Meßmethoden sowie die Isolierung des Holonamins<sup>24</sup>) finden sich unter I. c. 1).

*Holonamin* kristallisiert aus Benzol in farblosen Nadelchen vom Schmp. 257–259°.  $[\alpha]_D^{25}$ :  $-14.8 \pm 0.5^\circ$  (Methanol,  $c = 1.1$ );  $[\alpha]_D^{25}$ :  $-2.3 \pm 0.2^\circ$  (äthanolfreies Chloroform,  $c = 1.0$ ).

<sup>22</sup>) L. LÄBLER und F. ŠORM, Chem. and Ind. **1958**, 1661; Collect. czechoslov. chem. Commun. **24**, 2975 [1959].

<sup>23</sup>) vgl. auch L. LÄBLER und F. ŠORM, Collect. czechoslov. chem. Commun. **28**, 2345 [1963].

<sup>24</sup>) Die Möglichkeit, daß Holonamin während der ammoniakalischen Aufarbeitung der Rinde entstanden ist, kann noch nicht völlig ausgeschlossen werden; immerhin konnte V. KNITTEL in unserem Institut zeigen, daß im Ring E analog gebautes 11 $\alpha$ -Acetoxy- $\Delta^4$ -pregnen-ol-(18)-dion-(3.20)-hemiketal-(18 $\rightarrow$ 20) unter den Bedingungen der Extraktion kein Alkaloid ergibt.

$R_{0,53} = 0.72$  (System B);  $R_{Con} = 1.40$  (System C) bzw.  $0.24$  (System D);  $R_F = 0.42$  (System E). Zur Analyse wurde die Substanz i. Hochvak. bei  $200-210^\circ$  sublimiert.

$C_{21}H_{27}NO_2$ (325.4)	Ber. C 77.50	H 8.36	N 4.30	akt. H 0.31
	Gef. C 77.54	H 8.69	N 4.31	akt. H 0.36
		77.54	8.52	4.39
		77.13	8.45	

Mol.-Gew. (in Campher nach RAST) 362

IR-Banden: in  $CCl_4$   $3605/cm$ ; in Chlf.  $1656, 1613, 1597, 1291, 1149, 1102, 951$  und  $884/cm$  ( $\Delta^{1,4}$ -3-Keton) und  $1438/cm$  ( $-CH_2-CH=CH-CO-$ ). UV-Spektrum:  $\lambda_{max} = 245.8 \pm 0.2 m\mu$  ( $\epsilon = 18000$ ;  $E_{263}/E_{max} = 0.54$ ). Circular dichroismus (in Dioxan,  $c = 6.35 mg/2.13 g$ ):  $\Delta\epsilon = +0.57$  ( $344.5 m\mu$ ),  $+0.70$  ( $356.5 m\mu$ ) und  $+0.44$  ( $373 m\mu$ ). NMR-Spektrum:  $\tau = 2.06/d/J_{1,2} = 11 Hz$  (1): CH-1;  $2.50/d/J_{18,20} = 3 Hz$  (1): CH-18;  $3.89/2d/J_{1,2} = 11 Hz$  (1),  $J_{2,4} = 2 Hz$  (1): CH-2;  $8.62/s$  (3):  $CH_3$ -19;  $8.62/d/J = 7.1 Hz$  (3):  $CH_3$ -21.

Holonamin ist löslich in Chloroform; es ist unlöslich in  $2n NaOH$  und wird von  $2n NaOH$  in 15 Stdn. bei  $60^\circ$  nicht verändert. Die REINDEL-HOPPE-Reaktion ist deutlich positiv, wenn man sie in der üblichen Form auf Papier ausführt, das vorher mit einer Mischung von Äthanol/Aceton (1:1) getränkt worden ist. Das Alkaloid reagiert mit DRAGENDORFFS und mit MAYERS Reagenz; auf dem Chromatogramm gibt es sich durch Löschung der Fluoreszenz im kurzwelligen UV-Licht ( $254 m\mu$ ) zu erkennen. Kaliumpermanganat wird durch Holonamin in schwefelsaurer Lösung schnell entfärbt, dagegen wird kein Brom in Eisessig addiert; mit Tetranitromethan tritt in Chloroform nur eine sehr schwache Gelbfärbung auf. Beim Besprühen mit 2,4-Dinitro-phenylhydrazin und anschließendem Erwärmen auf ca.  $100^\circ$  entstehen auf der Kieselgelplatte gelbrote Flecken, die beim Nachsprühen mit  $2n NaOH$  dunkelbraun werden.

*Dienon-Phenol-Umlagerung:* 8 mg Holonamin wurden in 2 ccm  $2n HCl$  6 Stdn. in einem Bad von  $110^\circ$  erhitzt. Nach dem Erkalten versetzte man die klare Lösung mit 2 ccm  $2n NaOH$  und stellte mit  $n/10 NaOH$  bzw.  $n/10 HCl$  genau auf den Neutralpunkt ein; der farblose Niederschlag wurde in Chloroform (10, 10, 5 ccm) aufgenommen, die vereinigten Extrakte wurden bei  $35^\circ$  i. Vak. eingedampft. Der farblose Rückstand wurde im System D chromatographisch untersucht: Er enthielt nur noch Spuren Holonamin und zwei neue polare Produkte, die beide auf der Dünnschichtplatte beim Besprühen mit Diazosulfanilsäure zu tiefbraunen Farbstoffen kuppelten.

Das Reaktionsgemisch gab folgende charakteristische Banden: IR:  $3595, 1603$  und  $848/cm$ ; UV (Methanol):  $222 m\mu$  ( $\epsilon = 9000?$ ) und  $279 m\mu$  ( $\epsilon = 1550$ ); UV (Methanol + wäbr. Natronlauge):  $241 m\mu$  ( $\epsilon = 11300$ ) und  $292 m\mu$  ( $\epsilon = 2900$ ). Es löste sich in  $2n HCl$  und, bis auf einen geringen Rest, in  $2n NaOH$ . Die DRAGENDORFF- sowie die REINDEL-HOPPE-Reaktion sind deutlich positiv. Mit *o*-Amino-benzaldehyd entstehen tiefgelbe Dihydrochinazolium-Derivate. Zur Methylierung löste man das Reaktionsgemisch in Methanol, versetzte mit der gleichen Menge äther. Diazomethanlösung und ließ über Nacht bei Raumtemperatur stehen; die in quantitativer Reaktion entstandenen Methylierungsprodukte waren erheblich unpolarer und kuppelten nicht mehr mit Diazoniumsalzen.

*Dihydrochinazolium-Derivat:* 12.1 mg ( $1/10$  mMol) *o*-Amino-benzaldehyd löste man bei  $40^\circ$  unter intensivem Schütteln in 6.4 ccm Citratpuffer (pH 4.6–4.8). Nach dem Abkühlen auf  $25^\circ$  gab man 0.64 ccm dieser Lösung zu 0.1 ccm  $n/10 HCl$ , die 3.25 mg ( $1/100$  mMol) Holonamin gelöst enthielt. Die anfänglich schwache Gelbfärbung verstärkte sich innerhalb von 5–10 Min. zu einem kräftigen Gelborange. Nach dreitägigem Stehenlassen wurden ca. 0.3 ccm einer kaltesättigten wäßrigen Pikrinsäurelösung zugegeben. Das sogleich ausfallende hellgelbe Pikrat wurde nach kurzem Stehenlassen abgesaugt; Schmp.  $249-251^\circ$ .



UV-Spektrum: 6.5 mg ( $1/50$  mMol) Holonamin wurden mit 1 ccm einer Lösung von 2.4 mg ( $1/50$  mMol) *o*-Amino-benzaldehyd in 1 ccm wasserfreiem Methanol und 1 ccm wasserfreier methanol.  $n_{50}$  HCl versetzt. Die Lösung wurde nach 30 Stdn. mit wasserfreiem Methanol verdünnt; die Absorption blieb über 5 Tage unverändert:  $\lambda_{\max} = 242 \text{ m}\mu$  ( $\epsilon = 38500$ ); in diesem Wert ist die Absorption der Dienon-Gruppierung mit  $\epsilon = 18000$  bei  $\lambda_{\max} = 245.8 \text{ m}\mu$  enthalten), 288  $\text{m}\mu$  ( $\epsilon = 10300$ ) und 382  $\text{m}\mu$  ( $\epsilon = 1890$ ).

*Holonamin-diacetat*: 90 mg *Holonamin* wurden in 4 ccm Pyridin mit 4 ccm *Acetanhydrid* versetzt und 18 Stdn. bei Raumtemperatur stehengelassen, die Lösung in ca. 40 ccm Wasser gegossen und durch Zugabe von festem  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  alkalisch gemacht. Es wurde dreimal mit Chloroform (40, 25, 25 ccm) extrahiert, die vereinigten Chloroform-Extrakte wurden zweimal mit je 25 ccm Wasser gewaschen und nach Trocknen über  $\text{MgSO}_4$  bei  $40^\circ$  i. Vak. eingedampft; die Reste von Pyridin konnten durch mehrmaliges Abdampfen mit Benzol entfernt werden. Der kristalline Rückstand (124 mg) ergab aus Aceton 64 mg (54% d. Th.) farblose tafelförmige Kristalle. Schmp.  $232-234^\circ$ ,  $[\alpha]_D^{20}$ :  $+127 \pm 3^\circ$  (Chlf.,  $c = 0.95$ ),  $R_F = 0.43$  (System D),  $R_{0.53} = 0.82$  (System B). Zur Analyse wurde i. Hochvak. 7 Stdn. bei  $115^\circ$  über  $\text{P}_2\text{O}_5$  getrocknet; bei der Acetylbestimmung verseifte man 30 Min. mit 1 *n* methanol. NaOH.

$\text{C}_{25}\text{H}_{33}\text{NO}_5$  (427.5) Ber. C 70.23 H 7.78 N 3.28 2 Acetyl 20.1  
Gef. C 70.24 H 7.53 N 3.50 Acetyl 22.8  
70.45 7.86

IR: 1658, 1618, 1600 und 883/cm ( $\Delta^{1,4}$ -Keton), 1722 und 1237/cm (*O*-Acetyl). UV:  $\lambda_{\max} = 243.2 \text{ m}\mu$  ( $\epsilon = 17400$ ,  $E_{263}/E_{\max} = 0.45$ ). Das Diacetat ist unlöslich in 2 *n* HCl, mäßig löslich in Chloroform und schwer löslich in Benzol. Der REINDEL-HOPPE-Test verläuft negativ. Auf der Dünnschichtplatte bilden sich bei der DRAGENDORFF-Reaktion rote Flecke, die jedoch im Gegensatz zum Holonamin langsam entstehen und nach etwa einem Tag wieder verblassen. Unter kurzwelligem UV-Licht (254  $\text{m}\mu$ ) erscheint das Diacetat als dunkler Fleck.

*Holonamin-triacetat*: 60 mg *Holonamin* wurden in 5 ccm Pyridin mit 5 ccm *Acetanhydrid* 18 Stdn. bei Raumtemperatur stehengelassen. Man dampfte den Ansatz bei  $40^\circ$  i. Vak. unter mehrmaligem Zusatz von wasserfreiem Benzol zur Trockne ein. Der kristalline Rückstand (96 mg) ergab aus wasserfreiem Äther 64 mg (74% d. Th.) farblose Nadelchen. Schmp. 178 bis  $180^\circ$ ,  $[\alpha]_D^{20}$ :  $+194 \pm 3^\circ$  (Chlf.,  $c = 0.9$ ),  $R_F = 0.81$  (System D),  $R_{0.53} = 0.85$  (System B). Zur Analyse wurde i. Hochvak. 3 Stdn. bei  $115^\circ$  über  $\text{P}_2\text{O}_5$  getrocknet; zur Acetylbestimmung verseifte man 30 Min. mit 1 *n* methanol. NaOH.

$\text{C}_{27}\text{H}_{35}\text{NO}_6$  (469.6) Ber. C 69.06 H 7.51 N 2.98 3 Acetyl 27.5  
Gef. C 69.52 H 7.54 N 3.42 Acetyl 29.6  
68.63 7.26 3.38  
69.75 7.64

IR-Banden: 1656, 1619, 1598 und 882/cm (Dienon), 1721 und 1231/cm (*O*-Acetyl). Das Triacetat ist unlöslich in 2 *n* HCl, dagegen gut löslich in Chloroform und in Benzol. Die REINDEL-HOPPE-Reaktion ist negativ. Die DRAGENDORFF-Reaktion verläuft wie beim Diacetat. Auch das Triacetat kann unter kurzwelligem UV-Licht (254  $\text{m}\mu$ ) als „Löschung“ erkannt werden.