

Iliya Ognyanov und Bogomil Pyuskyulev

Über die Struktur des Alkaloids Herbacein aus *Vinca herbacea* W. K.

Aus dem Institut für Organische Chemie der Bulgarischen Akademie der Wissenschaften, Sofia, Bulgarien

(Eingegangen am 16. August 1965)

Chemische und spektroskopische Untersuchungen am Herbacein führen zur wahrscheinlichen Struktur **1**. Somit erweist sich das Alkaloid als erster Vertreter einer neuen Indolalkaloidgruppe mit einem 16.17-Dihydro-heteroyohimban-Gerüst.

Vor einiger Zeit beschrieben wir¹⁾ die Isolierung und einige Eigenschaften des Herbaceins. In der vorliegenden Arbeit berichten wir über dessen Strukturaufklärung, wobei einige früher¹⁾ am unreinen Präparat erhaltene Daten richtig gestellt werden.

An der Luft und durch Einwirkung von Licht verfärbt sich das Herbacein in kurzer Zeit gelb. Chromatogramme älterer Alkaloidproben zeigen eine Reihe von Flecken. Seine Benzol- und Chloroformlösungen sind besonders instabil. Aus Äthanol erhält man es in farblosen schuppigen Kristallen mit Kristalllösungsmittel, die nach dem Trocknen bei 144° schmelzen und chromatographisch rein sind. Die Elementaranalyse gibt auf C₂₃H₃₀N₂O₅ (414.5) stimmende Werte (statt C₂₄H₃₂N₂O₆¹⁾), die durch das Massenspektrum mit M⁺ = 414 bestätigt werden. Herbacein besitzt ein aktives Wasserstoffatom (Zerewitinoff) und drei (statt vier¹⁾) Methoxygruppen (Zeisel), keine N-CH₃-Gruppe und im Widerspruch zu der vorherigen Mitteilung¹⁾ läßt es sich mit Platinoyd in Äthanol nicht hydrieren.

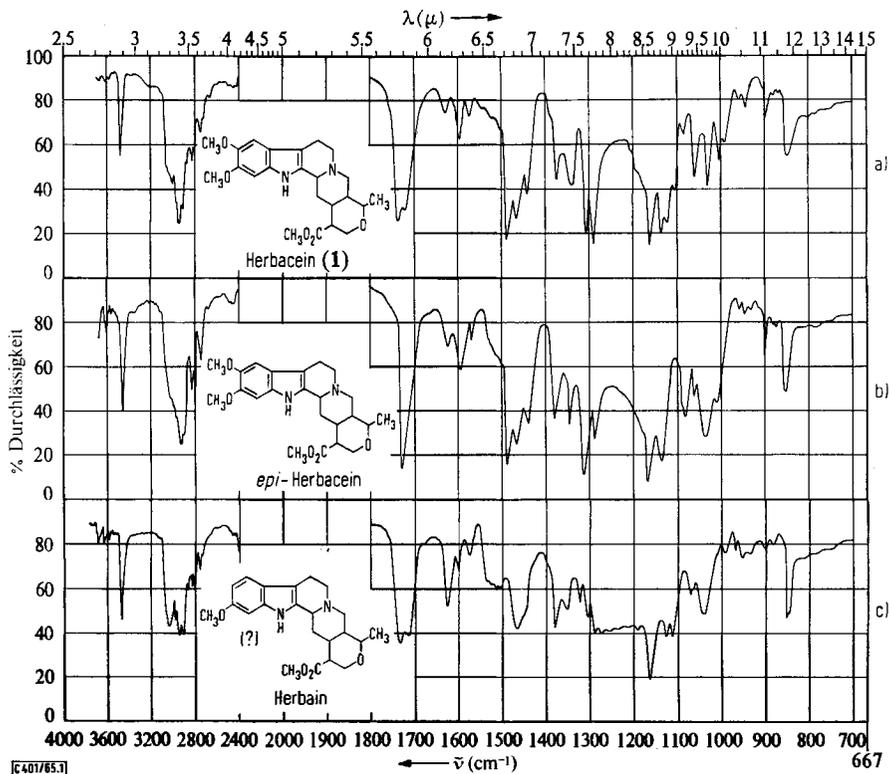
Das UV-Spektrum des Herbaceins [Äthanol, λ_{max} 226 und 300 mμ (log ε 4.53 und 4.04) und λ_{min} 252 mμ (log ε 3.64), Schulter bei 280 mμ (log ε 3.83)] stimmt mit dem Spektrum seines isomeren Yohimbinalkaloids Seredin²⁾ überein und zeigt die Anwesenheit eines 10.11-Dimethoxy-indol-Teiles im Molekül. Das IR-Spektrum des Herbaceins (Abbild. 1) ist dem Spektrum von Seredin ähnlich, doch besitzt letzteres eine OH-Bande bei 3650/cm. Das Dublett bei 1725 und 1740/cm kann man einer nicht konjugierten Estergruppe zuordnen und die Bande bei 850/cm einem tetra-substituierten aromatischen Ring. Das Triplett bei 1450–1490/cm ist für 5.6-Dimethoxy-indole und 10.11-Dimethoxy-yohimbin- (Seredin) und -heteroyohimbin-Alkaloide (Reserpilin, Isoreserpilin) charakteristisch³⁾. Das Indolstickstoffatom ist nicht substituiert, denn Herbacein zeigt eine N–H-Bande bei 3477/cm und gibt mit Cer-(IV)-sulfat eine rotbraune Färbung. Beim Verseifen mit äthanolischer Kalilauge wird

¹⁾ N. Mollov, J. Mokry, I. Ognyanov und P. Dalev, C. R. Acad. bulg. Sci. **14**, 43 (1961).

²⁾ J. Poisson, N. Neuss, R. Goutarel und M.-M. Jeanot, Bull. Soc. chim. France **1958**, 1195.

³⁾ N. Neuss, Physical data of Indole and Dihydroindole Alkaloids, Vol. I., Eli Lilly Comp. Indianapolis, USA, 1956; N. Neuss und H. E. Boaz, J. org. Chemistry **22**, 1001 (1957).

Methanol freigesetzt, das qualitativ nach Oxydation als Formaldehyd⁴⁾ nachgewiesen wird. Dabei bildet sich Epiherbaceinsäure mit der Summenformel $C_{22}H_{28}N_2O_5$, die mit Diazomethan zum Epiherbacein $C_{23}H_{30}N_2O_5$ verestert wird. Epiherbacein zeigt einen doppelten Schmp. ($142-150^\circ$ und $220-222^\circ$) und eine spezif. Drehung von $[\alpha]_D^{26} = -18.8^\circ$. Das UV-Spektrum (Äthanol) stimmt mit dem des Ausgangs-Herbaceins überein: λ_{\max} 226 und 306 $m\mu$ ($\log \epsilon$ 4.47 und 4.10), λ_{\min} 255 $m\mu$ ($\log \epsilon$ 3.60), Schulter bei 277 $m\mu$ (\log 3.90); das IR-Spektrum (Abbild. 1) weist eine gewisse Ähnlichkeit



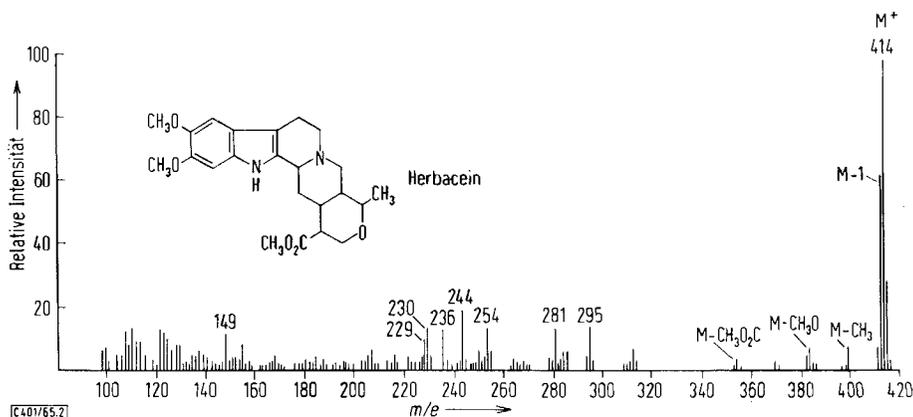
Abbild. 1. IR-Spektren von a) Herbacein (1), b) Epiherbacein und c) Herbain. Alle Spektren in 1-proz. $CHCl_3$ -Lösung, $NaCl$ -Küvette, Schichtdicke 1 mm

mit dem des Herbaceins auf. Zu bemerken wäre aber, daß im IR-Spektrum des Herbaceins in Chloroform ein Dublett bei $1725-1740/cm$, in Nujol eine Bande bei $1740/cm$ mit einer Schulter bei $1730/cm$ zu erkennen ist, dagegen zeigt das IR-Spektrum des Epiherbaceins in Chloroform nur eine Bande bei $1725/cm$. Epiherbacein wurde ebenso bei der Isomerisierung des Herbaceins durch Erwärmen mit Natriummethylat in Methanol in quantitativer Ausbeute erhalten. Bei der Lithiumaluminiumhydrid-Reduktion von Herbacein bildet sich der amorphe Alkohol Herbaceinol, $C_{22}H_{30}N_2O_4$, dessen Perchlorat bei $215-217^\circ$ schmilzt und in dessen IR-Spektrum anstelle der Bande bei $1725-1740/cm$ eine breite, für assoziierte Hydroxyl-

4) G. Rankoff, A. Popoff und A. Jovtscheff, *Nahrung* 1, 96 (1957), C. 1960, 16967.

gruppen typische Bande bei 3377/cm enthalten ist, wogegen die Bande bei 3475/cm (NH) unverändert bleibt. Die Bildung des Herbacein-methojodids (Schmp. 219–223°) entspricht dem tertiären Charakter des N-4-Atoms.

Das Massenspektrum des Herbaceins (Abbild. 2) könnte den Spektren der Yohimban- und Heteroyohimban-Alkaloide zugeordnet werden⁵⁾ und enthält die für sie charakteristischen Signale: $M^+ - 1$ bei 413 m/e , $M - 15$ bei 399 m/e und die Fragmente mit m/e 156, 169, 170 und 184, die aber entsprechend den beiden aromatischen Methoxygruppen um 60 Masseneinheiten erhöht sind. Somit könnte das Herbacein aufgrund der Elementaranalyse und des Massenspektrums ein pentacyclisches 10.11-Dimethoxy-yohimban- oder -heteroyohimban-Kohlenstoffgerüst besitzen. Zwei Sauer-



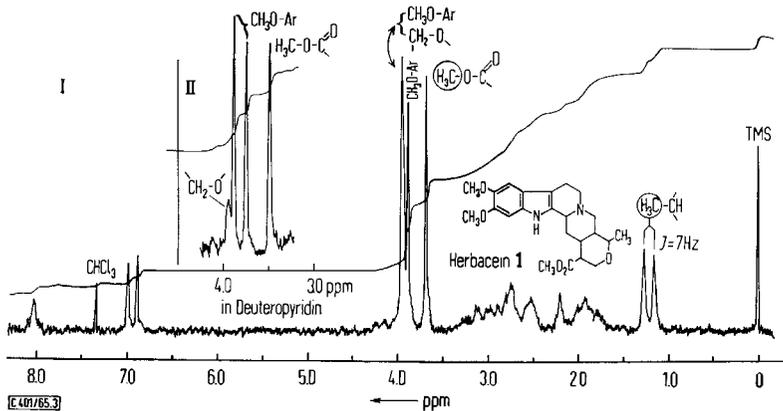
Abbild. 2. Massenspektrum des Herbaceins

stoffatome im Molekül des Herbaceins entstammen demzufolge den beiden aromatischen Methoxygruppen, zwei weitere der Methoxycarbonylgruppe. Da es nur ein aktives Wasserstoffatom enthält, kein Acetylderivat bildet und keine weiteren Hinweise für Hydroxyl- oder Carbonylsauerstoffe vorhanden sind (es läßt sich mit Natriumborhydrid nicht reduzieren), so ist daraus zu folgern, daß das fünfte Sauerstoffatom in einer Ätherbrücke ringförmig gebunden sein muß.

Das NMR-Spektrum des Herbaceins in Deuteriochloroform (Abbild. 3, Varian 60) enthält ein Dublett ($J = 7$ Hz) bei 1.22 δ für drei Protonen, das einer Methylgruppe an einem sekundären Kohlenstoffatom zugeordnet wird, ferner das Singulett bei 3.70 δ einer $-\text{CO}_2\text{CH}_3$ -Gruppe, ein Singulett bei 3.88 δ einer aromatischen Methoxygruppe, ein Multiplett für 5 Protonen bei 3.97 δ , zwei Singuletts für zwei isolierte aromatische Protonen bei 6.87 und 6.98 δ und ein verbreitertes Signal bei 8.03 δ für die Indol-NH-Gruppe. In Deuteropyridin spaltet sich das Multiplett bei 3.97 δ in ein Singulett aus drei Protonen bei 3.88 δ für die zweite aromatische Methoxygruppe und das Multiplett aus zwei Protonen bei 3.97 δ auf. Letzteres ist auf die mit dem Sauerstoff im cyclischen Äther gebundene Methylengruppe ($-\text{CH}_2-\text{O}-\text{C}-$) zurück-

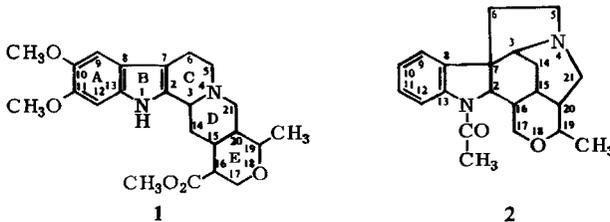
⁵⁾ C. Djerassi, Special Lecture at the Second Intern. Sympos. on the Chemistry of Natural Products, gedruckt in Pure appl. Chem. 6, Nr. 4 (1962).

zuführen, z. B. wie in den Alkaloiden Obscurinervin 4.12 δ , Dihydroobscurinervin 4.28 δ , Obscurinervidin und Neblinlin 4.18 δ ⁶⁾. Das Dublett bei 1.22 δ stimmt nach Lage und Intensität mit dem Dublett für die Methylgruppe aus Ring E des Alkaloids Spermostrichnin⁷⁾ (2) überein.



Abbild. 3. NMR-Spektrum von Herbacein in Deuteriochloroform

Alle angeführten Angaben stehen mit der von uns für das Herbacein vorgeschlagenen Struktur **1** im Einklang. Herbacein könnte demzufolge als erster Vertreter einer neuen Gruppe von Indolalkaloiden mit einem 16.17-Dihydro-heteroyohimban-Gerüst angesehen werden.



Die vorgeschlagene Struktur des Herbaceins wird außerdem durch die Ähnlichkeit seiner UV- und IR-Spektren mit denen des Seredins einerseits und den Spektren des Hexahydroserpentinols⁸⁾, Hexahydroalstonols⁹⁾ und synthetischer Modellverbindungen mit gesättigtem Heteroring E¹⁰⁾ andererseits gestützt.

Bei Oxydation mit Quecksilber(II)-acetat bildet Herbacein schnell und glatt 3-Dehydroherbacein [λ_{max} 310, 334 und 400 $m\mu$ ($\log \epsilon$ 3.79, 3.80 und 4.33) in Äthanol], das bei Natriumborhydrid-Reduktion wieder das ursprüngliche Herbacein ergibt. Daraus

6) K. S. Brown und C. Djerassi, J. Amer. chem. Soc. **86**, 2451 (1964).

7) F. Al. Anet, Canad. J. Chem. **41**, 883 (1963).

8) M. W. Klohs, M. D. Drapper, F. Keller, W. Malest und F. J. Petrcek, J. Amer. chem. Soc. **76**, 1332 (1954).

9) R. C. Elderfield und A. P. Gray, J. org. Chemistry **16**, 506 (1951).

10) F. A. Bader, Helv. chim. Acta **36**, 215 (1953).

folgt, daß das Wasserstoffatom an C-3 axial stehen muß und die α -Konfiguration besitzt. Das IR-Spektrum des Herbaceins weist bei 2700–2900/cm charakteristische Maxima für ein α -Wasserstoffatom an C-3¹¹⁾ auf, welches nach Rosen¹²⁾ in *trans*-Position in bezug auf das freie Elektronenpaar des N-4 stehen muß. Daraus ist zu folgern, daß die Ringe C/D *trans*-verknüpft sein müssen.

Die Trägheit der N–H-Gruppe gegen die Acetylierung mit Acetanhydrid unter verschiedenen Bedingungen ist für Alkaloide der α -Yohimban- und Allooyohimban-Serie mit *cis*-verknüpften Ringen D/E charakteristisch^{2, 13)}. Somit ist Herbacein ein 10.11-Dimethoxy-16.17-dihydro-heteroyohimban.

Nach mehrmaligem präparativen Chromatographieren der Alkaloide aus den Mutterlaugen des rohen Herbaceins über Kieselgel wurde ein zweites Alkaloid, Herbain, $C_{22}H_{28}N_2O_4$, Schmp. 126–128° und $[\alpha]_D^{25}$: –217°, isoliert. Dessen UV-Spektrum ist typisch für 6-Methoxy-indole: λ_{\max} 228, 274 und 297 m μ ($\log \epsilon$ 4.63, 3.85 und 3.87); λ_{\min} 252 und 282 m μ ($\log \epsilon$ 3.61 und 3.78) (in Äthanol).

Das IR-Spektrum (Abbild. 1) in Chloroform ähnelt dem des Herbaceins, der Unterschied liegt nur in den Banden für die aromatischen Ringe. Das Herbain weist eine Methoxycarbonylgruppe mit Dublett bei 1720–1740/cm, eine aromatische Methoxygruppe bei 1160/cm sowie eine unsubstituierte NH-Gruppe im Indolkern bei 3475/cm mit positiver Cer(IV)-sulfat-Reaktion auf. Nach diesen Daten könnte das Herbain ein 10-Desmethoxy-herbacein, d. h. 11-Methoxy-16.17-dihydro-heteroyohimban sein. Den IR-Banden bei 2800–2900/cm zufolge steht das Wasserstoffatom an C-3 in α -Position. Es werden zusätzliche Untersuchungen über dessen Struktur unternommen.

Vor kurzem berichtete Bukreeva¹⁴⁾ von zwei isolierten Alkaloiden $C_{23}H_{30}N_2O_5$ und $C_{22}H_{28}N_2O_4$ aus moldauischer *V. herbacea*. Die Ähnlichkeit mit unseren Verbindungen läßt vermuten, daß es sich um das von uns beschriebene Herbacein und Herbain handelt.

Für die Aufnahme der NMR- und Massenspektren möchten wir auch an dieser Stelle den Herren Prof. E. Hardegger, Zürich, und Doz. Dr. G. Spitteller, Göttingen, unseren verbindlichsten Dank aussprechen.

11) E. Wenkert und D. K. Roychandhuri, J. Amer. chem. Soc. **80**, 1613 (1958).

12) W. E. Rosen, Tetrahedron Letters [London] **1961**, 481.

13) A. Chatterjee, A. K. Bose und S. Pakrashi, Chem. and Ind. **1954**, 491.

14) V. E. Bukreeva, Referatiwny Shurnal, Chimija [Ref.-J., Chem.] **9**, 456 (1965).

Beschreibung der Versuche

Alle Schmelzpunkte wurden mit dem Kofler-Mikroskop bestimmt.

Herbacein (1)¹⁾: Das Alkaloid wurde durch je viermaliges Auflösen in absol. Äthanol bei Raumtemperatur und Konzentrieren i. Vak. bei 0° gereinigt. Die farblosen schuppigen Kristalle schließen Kristalllösungsmittel ein; nach 48 stdg. Trocknen im Dunkeln bei 20° und 1–2 Torr über P₂O₅ Schmp. 144° (Zers.). Im Dünnschichtchromatogramm (Kieselgel/Gips;Hexan/absol. Äthanol (85 : 15), Besprühen mit Dragendorff-Reagenz) wird nur ein Fleck sichtbar. $[\alpha]_D^{25}$: $-219 \pm 2^{\circ}$ l).

C₂₃H₃₀N₂O₅ (414.5) Ber. C 66.64 H 7.30 N 6.76 3 CH₃O 22.44 1 akt. H 0.27
Gef. C 66.79 H 7.39 N 6.50 CH₃O 21.94 akt. H 0.23

Die N-CH₃-Bestimmung verlief negativ; mit Cer(IV)-sulfat verfärbt es sich intensiv rotbraun. Beim Versuch, das Herbacein mit Natriumborhydrid zu reduzieren, mit Platinoxid in Äthanol zu hydrieren und mit Acetanhydrid/Pyridin oder Natriumacetat bei Raumtemperatur oder beim Erwärmen zu acetylieren, wurde stets unverändertes Ausgangsmaterial isoliert.

Methojodid: 100 mg *Herbacein* wurden 4 Stdn. bei 100° in einer abgeschmolzenen Ampulle mit 1 ccm Methanol und 0.7 ccm *Methyljodid* erwärmt. Nach Entfernen des Methanols i. Vak. aus Aceton/Methanol 80 mg orangefarbene Kristalle mit Schmp. 219–223°.

C₂₄H₃₃N₂O₅J (556.5) Ber. N 5.04 Gef. N 4.74

Herbaceinol: 300 mg *Herbacein* wurden mit einer Suspension von 200 mg *Lithiumaluminiumhydrid* in 100 ccm wasserfreiem Äther reduziert. Wegen der geringen Löslichkeit des *Herbaceins* wurde die Reduktion im kleinen Soxhlet-Extraktor durchgeführt. Nach Zersetzen des Reaktionsgemisches mit feuchtem Äther und Abfiltrieren des Aluminiumhydroxyds über eine Kieselgelschicht wurde die wäßr. Phase schnell mit Chloroform extrahiert. Der Niederschlag auf dem Filter wurde ebenso mit Chloroform gewaschen. Aus den vereinigten und getrockneten Äther- und Chloroform-Auszügen fiel nach Einengen i. Vak. bei Raumtemperatur eine amorphe Substanz (240 mg) aus, die nur einen Fleck im Dünnschichtchromatogramm aufwies. Das IR-Spektrum ähnelt dem des *Herbaceins*, doch fehlt die Esterbande bei 1725–1740/cm, an deren Stelle eine breite Bande bei 3377/cm (assoziierte Hydroxylgruppe) erscheint.

Perchlorat: Schmp. 215–217°, blaßgelbe Nadeln aus Aceton.

C₂₂H₃₁N₂O₄]ClO₄ (487.0) Ber. Cl 7.28 Gef. Cl 6.93

Epiherbaceinsäure: 150 mg *Herbacein* verseifte man durch 2stdg. Kochen unter Rückfluß auf dem Wasserbad mit 30 ccm 2-proz. methanol. *Kalilauge*. Das Lösungsmittel wurde i. Vak. entfernt, der Rückstand in 5 ccm Wasser gelöst, mit verd. Salzsäure neutralisiert und wieder i. Vak. getrocknet. Nach Aufnahme in 4 × 10 ccm absol. Äthanol erhielt man aus den eingeeengten Auszügen das *Hydrochlorid* (80 mg), das aus Aceton/Methanol/Wasser umkristallisiert und i. Vak. über P₂O₅ bei 100° getrocknet wurde; es zersetzt sich über 300°, ohne zu schmelzen.

C₂₂H₂₉N₂O₅]Cl (436.9) Ber. C 60.47 H 6.45 N 6.41 Gef. C 60.06 H 6.71 N 6.38

Beim Verseifen einer weiteren Probe in methanolfreiem Äthanol wurde im Reaktionsgemisch *Methanol* durch Oxydation zu Formaldehyd nachgewiesen⁴⁾.

Epiherbacein

a) 30 mg *Herbaceinsäure-hydrochlorid* wurden in 1 ccm absol. Methanol mit einer Lösung von 100 mg *Diazomethan* in 20 ccm absol. Äther versetzt. Die nach 48 Stdn. bei 0° ausge-

schiedenen Kristalle wurden aus mit Ammoniak alkalisiertem Methanol/Äther mit Schmp. 142–150° (Zers.) erhalten. Die Schmelze kristallisierte bei 160–170° und schmolz erneut bei 220–222°. $[\alpha]_D^{26}$: -18.8° ($c = 1.3\%$ in Methanol).

UV (Äthanol): λ_{\max} 226, 306 m μ ($\log \epsilon$ 4.47 und 4.10), λ_{\min} 255 m μ ($\log \epsilon$ 3.60), Schulter bei 277 m μ ($\log \epsilon$ 3.90).

Das IR-Spektrum ähnelt sehr dem des Herbaceins; Bande bei 1725/cm.

$C_{23}H_{30}N_2O_5$ (414.5) Ber. C 66.64 H 7.30 N 6.76 Gef. C 66.64 H 7.30 N 6.48

b) 253 mg *Herbacein* wurden in 5 ccm absol. Methanol unter Rückfluß 15 Stdn. mit einer Lösung von 270 mg *Natrium* in 50 ccm absol. *Methanol* in Stickstoffatmosphäre gekocht. Die an den Wänden des Kolbens ausgeschiedenen großen farblosen Kristalle (220 mg) erwiesen sich nach Umkristallisieren aus Methanol/Äther mit dem aus a) erhaltenen Produkt als identisch.

Oxydation mit Quecksilber(II)-acetat: 200 mg *Herbacein* wurden zu einer Lösung von 900 mg *Quecksilber(II)-acetat* (wasserfrei) in 10 ccm 10-proz. Essigsäure gegeben und 30 Min. auf 90° erwärmt. Dabei bildete sich noch zu Beginn der Reaktion ein Niederschlag von *Quecksilber(I)-acetat*. Nach dessen Filtration (250 mg) wurde das Filtrat mit Schwefelwasserstoff gesättigt, der Niederschlag über eine Kieselgelschicht abfiltriert und mit verd. Essigsäure gewaschen. Das Filtrat konzentrierte man i. Vak., alkalisierte mit Ammoniak und brachte i. Vak. zur Trockne. Nach mehrmaligem Extrahieren mit Äther und Einengen wurden 120 mg eines amorphen gelben Produktes erhalten, das dünnstichtchromatographisch einen mit *Herbacein* nicht identischen Fleck aufwies.

UV (Äthanol): λ_{\max} 310, 334, 400 m μ ($\log \epsilon$ 3.79, 3.80 und 4.33).

IR: Im Bereich 2700–2900/cm nur eine Bande bei 2840/cm.

Das *Oxydationsprodukt* (80 mg) in 2 ccm absol. Äthanol wurde zu einer Lösung von 200 mg *Natriumborhydrid* in 2 ccm Äthanol gefügt. Nach 12stdg. Stehenlassen bei Raumtemperatur wurde i. Vak. eingengt, der Rückstand in 10 ccm Wasser gelöst, mit Ammoniak alkalisiert und fünfmal mit 20 ccm Äther extrahiert. Der Extrakt gab auf dem Dünnstichtchromatogramm einen mit *Herbacein* identischen Fleck. Beim Einengen des Auszuges wurden 10 mg Kristalle mit Schmp. 140–143° (absol. Äthanol) ausgeschieden, die keine Schmp.-Depression mit *Herbacein* aufwiesen.

[401/65]