

Albert Heesing und Rolf Eckard

Die Struktur des Sphaerophysins

Aus dem Organisch-Chemischen Institut der Universität Münster

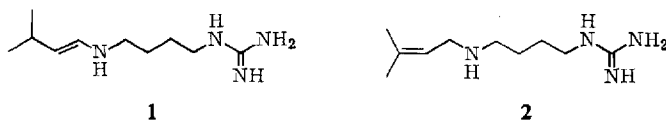
(Eingegangen am 8. September 1969)

Sphaerophysin wurde bisher als 1-Isopentenylamino-4-guanidino-butan **1** oder **2** angesehen. Wir zeigen anhand von NMR- und Massenspektren sowie durch Synthese der Dihydroverbindung, daß es die Struktur **3** eines *N*-[4-Amino-butyl]-*N*-[3-methyl-buten-(2)-yl]-guanidins hat.

The Structure of Sphaerophysine

Sphaerophysine — formerly described as **1** or **2** — is shown by n.m.r. and mass spectrometry to have structure **3** (*N*-(4-aminobutyl)-*N*-(3-methyl-2-butenyl)-guanidine). Dihydro-**3** (**7**) has been synthesised.

Sphaerophysin ist ein Protoalkaloid, das zuerst aus den Blättern des in Usbekistan beheimateten Strauches *Sphaerophysa salsula* Pall. isoliert wurde. In der UdSSR dient es als Antihypertonicum. Isolierung und erste Strukturuntersuchungen stammen von *Rubinschtein* und *Menschikow*¹⁾, die es als 1-[3-Methyl-buten-(1)-yl-amino]-4-guanidino-butan (**1**) beschrieben. Nach Arbeiten von *Birch*, *Pettit* und *Schofield*²⁾ sowie von *Matjuchina* und *Rjabinin*³⁾ soll sich die Doppelbindung dagegen in der 2-Stellung des Isopentenyl-Restes (wie in **2**) befinden.



Mit beiden Strukturvorschlägen ist nicht vereinbar, daß die für monosubstituierte Guanidine streng spezifische *Sakaguchi*-Reaktion⁴⁾ negativ ausfällt⁵⁾ und daß andererseits die bei Dialkylaminen⁶⁾ und Guanidinen stets negative Ninhydrin-Reaktion ebenso stark auftritt wie bei primären Aminen.

Beides deutet darauf hin, daß Sphaerophysin als *N*-[4-Amino-butyl]-*N*-[3-methyl-buten-(2)-yl]-guanidin (**3**) aufzufassen ist, obwohl von *Rubinschtein* und *Menschikow*¹⁾

¹⁾ *M. M. Rubinschtein* und *G. P. Menschikow*, J. allg. Chem. (russ.) **14**, 161, 172 (1944), C. A. **39**, 22914 (1945).

²⁾ *A. J. Birch*, *D. G. Pettit* und *R. Schofield*, J. chem. Soc. [London] **1957**, 410.

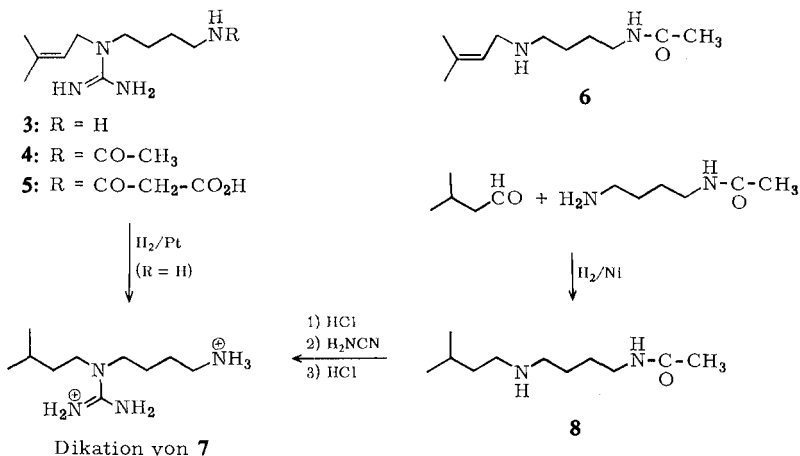
³⁾ *L. G. Matjuchina* und *A. A. Rjabinin*, J. allg. Chem. (russ.) **34**, 3854 (1964), C. A. **62**, 6525e (1965).

⁴⁾ *J. D. Mold*, *J. M. Ladino* und *E. J. Schantz*, J. Amer. chem. Soc. **75**, 6321 (1953); *A. Heesing* und *K. Hoppe*, Chem. Ber. **100**, 3649 (1967).

⁵⁾ Wir danken Herrn *H. J. Diehl*, Jena, für diesen Hinweis und für die Übersendung einer Probe Sphaerophysin-dibenzoat.

⁶⁾ *V. J. Harding* und *F. M. MacLean*, J. biol. Chemistry **25**, 337 (1916); *D. J. McCaldin*, Chem. Reviews **60**, 39 (1960).

eine Partialsynthese beschrieben ist, die eindeutig zu zeigen scheint, daß die Guanidino-Gruppe im Sphaerophysin endständig ist wie in **1** oder **2**.



Wir haben die Struktur des Sphaerophysins erneut untersucht. Das NMR-Spektrum seines Dibenzoats zeigte ein olefinisches Proton als Triplet sowie zwei verschiedene Methylgruppen an einer Doppelbindung.

Bestätigt wurde diese Zuordnung durch die völlige Analogie des NMR-Spektrums von **6** bezüglich der isoprenoiden Seitenkette. Zur Synthese von **6** hatten wir die Benzyliden-Verbindung des 4-Amino-1-acetamino-butans dargestellt und mit 3-Methyl-buten-(2)-yl-bromid alkyliert. Nach saurer Hydrolyse wurde **6** als Hydrochlorid isoliert.

Dies beweist, daß die ungesättigte Seitenkette im Sinne der Formeln **2** bzw. **3** aufzufassen ist.

Im Massenspektrum von **3** fanden wir zahlreiche isobare Peaks und mehrere Zerfallswegen, wie sie für ein *N,N*-disubstituiertes Guanidin charakteristisch sind⁷⁾.

Das Schlüsselfragment hatte die MZ 126 und die Zusammensetzung C₆H₁₂N₃. Das entsprach der Abspaltung der 4-Aminobutyl-Seitenkette unter Bildung eines Isopentenyl-guanidin-Ions. Um die Zuordnung zu sichern, stellten wir aus **3** durch katalytische Hydrierung das Dihydro-sphaerophysin (**7**) sowie durch H/D-Austausch mit D₂O das Sphaerophysin-*N*-d₅ her. In deren Massenspektren wurde der Peak entsprechend als Isopentyl-guanidin-Ion (MZ 128, C₆H₁₄N₃) bzw. als Isopentenyl-guanidin-*N*-d₃-Ion (MZ 129) gefunden.

Starke, zum Teil Basis-Peaks in den Spektren entsprachen einem Isopentenyl-amin-Ion bzw. seinem Dihydro- oder Monodeutero-Analogen, die durch Abspaltung von Cyanamid aus den obigen Massenbruchstücken entstanden sein können (vgl. l. c.⁷⁾).

Trotz dieser Übereinstimmung erschien uns der Strukturbeweis nicht gesichert, da die Massenspektren methylierter Guanidine Wanderungen der Methylgruppen zeigen⁷⁾, die bei komplizierten Seitenketten eine Zuordnung zum Substitutionstyp sehr erschweren.

⁷⁾ J. H. Beynon, J. A. Hopkinson und A. E. Williams, *Org. Mass Spectrometry* **1**, 169 (1969).

Die Stellung des Guanyl-Restes haben wir daher endgültig chemisch bewiesen, indem wir **7** auf folgendem Wege darstellten: 4-Amino-1-acetamino-butan und 3-Methyl-butanal wurden unter den Bedingungen einer reduzierenden Aminierung zum 4-Isopentylamino-1-acetamino-butan (**8**) kondensiert. **8** konnte als Hydrochlorid in der Schmelze mit Cyanamid guanyliert werden. Nach Abspaltung der Acetylgruppe wurde die wäßrige Lösung von **7** mit CO₂ gesättigt. Dabei soll nach Literaturangaben¹⁾ das Carbonat isoliert werden. Wir fanden aber, daß man direkt das Carbamidsäure-Derivat (die 7-N-Carbonsäure) erhält, die als inneres Salz mit der Guanidgruppe stabilisiert ist.

Nach saurer Hydrolyse des Carbamidsäure-Restes ließ sich **7** in das Dibenzoat überführen. Dies war nach IR- und Massenspektren identisch mit der Dihydro-Verbindung, die aus natürlichem **3**⁵⁾ durch katalytische Hydrierung gewonnen wurde.

Da wir die Lage der Doppelbindung in der isoprenoiden Seitenkette von **3** schon bewiesen hatten, müssen die älteren Strukturvorschläge **1** und **2** durch die Formel **3** ersetzt werden.

Für Smirnovin und Smirnovinin, die Acetyl- bzw. Malonyl-Derivate des Sphaerophysins⁸⁾, gelten entsprechend die Formeln **4** und **5**.

Damit ist eine nahe chemische Verwandtschaft dieser drei Guanidine mit dem ebenfalls in Papilionaceen vorkommenden Galegin (3-Methyl-buten-(2)-yl-guanidin) gegeben⁹⁾. Die bisherigen Kenntnisse zur Biosynthese von Sphaerophysin und Galegin¹⁰⁾ lassen auch nach dieser Korrektur der Strukturformel noch keine genetischen Zusammenhänge erkennen.

Wir danken der *Deutschen Forschungsgemeinschaft* und dem *Fonds der Chemischen Industrie* für die Unterstützung dieser Arbeit.

Beschreibung der Versuche

Die NMR-Spektren wurden mit dem Gerät A 56/60 der Firma Varian in DMSO-d₆ aufgenommen. Es sind nur die entscheidenden Signale angegeben.

Als Massenspektrometer diente das Gerät SM 1-B der Firma Varian-MAT, Bremen. Temperatur der Ionenquelle 170°, Ionisierungsenergie 70 eV. Es sind nur die für die Deutung wichtigsten Peaks angegeben; die sehr intensiven der Benzoesäure wurden bei der Ermittlung der relativen Intensitäten nicht berücksichtigt. Die Identifizierung der Peaks erfolgte durch Peak-matching mit Fluorolube bei einer Auflösung von 11 000 (10% Tal Definition).

*Sphaerophysin (3-dibenzoat*⁵⁾: Schmp. 149°; Lit.¹⁾: 149°.

Farbteste

a) *Ninhydrin-Reaktion* bei pH 5 und 80°: Ebenso starke Farbentwicklung wie primäre Amine. Butyl-guanidin und **6** reagierten nicht.

⁸⁾ A. A. Rjabinin, Ber. Akad. Wiss. UdSSR **61**, 317 (1948), C. A. **43**, 238f (1948); A. A. Rjabinin und E. M. Iljina, Ber. Akad. Wiss. UdSSR **76**, 851 (1951), C. A. **45**, 8458 (1951).

⁹⁾ I. Krone und G. Reuter, Pharmaz. Zentralhalle Deutschland **106**, 425 (1967).

¹⁰⁾ G. Reuter, Abh. dtsh. Akad. Wiss. Berlin, Kl. Chem., Geol. Biol. **3**, 617 (1966), C. A. **66**, 92458u (1967).

b) *Sakaguchi-Reaktion* in der Ausführung von *Macpherson*¹¹⁾: Keine Färbung; Butylguanidin reagierte positiv, *N,N*-Pentamethylen-guanidin negativ.

NMR: $t \tau$ 4.82 (1H) mit $J = 7.0$ Hz; s 8.30 (3H); s 8.36 (3H).

Massenspektrum: 84 (relative Intensität 100); 126 (54); 198 (M^+ , 35). Der Peak 126 hatte die Zusammensetzung $C_6H_{12}N_3$ (ber. 126.1031, gef. 126.1034).

Dihydro-sphaerophysin-dibenzoat (Dihydro-3-dibenzoat)¹¹⁾: 24.4 mg 3-Dibenzoat wurden in Gegenwart von 5 mg Platin in absol. Methanol hydriert. *Wasserstoff*-Verbrauch: ber. 1.24 ccm, gef. 1.22 ccm. Umkristallisiert wurde aus Äthanol/Äther. Zerfließliche Kristalle.

Massenspektrum: 86 (relative Intensität 54); 128 (33) mit der Zusammensetzung $C_6H_{14}N_3$ (ber. 128.1187, gef. 128.1174); 200 (M^+ , 37).

Sphaerophysin-N-d₅: 81 mg 3-Dibenzoat wurden dreimal je zwei Tage mit 1 ccm D_2O bei 20° behandelt und dann i. Vak. zur Trockne gebracht. Der ölige Rückstand kristallisierte schnell durch. Schmp. 94°.

Massenspektrum: 85 (relative Intensität 100); 129 (77); 203 (M^+ , 48).

4-Amino-1-acetamino-butan: 52.7 g 1.4-Diamino-butan und 26.4 g *Essigsäure-äthylester* wurden 24 Stdn. unter Rückfluß erhitzt. Die Reaktionsprodukte ließen sich durch fraktionierte Destillation trennen. Sdp._{0.5} 126–127°; Ausb. 20.3 g (23%).

$C_6H_{14}N_2O$ (130.1) Ber. N 21.55 Gef. N 21.55

4-Benzylidenamino-1-acetamino-butan: Die Lösung von 5.0 g *4-Amino-1-acetamino-butan* in 30 ccm absol. Methanol versetzte man langsam mit 4.1 g *Benzaldehyd*, gelöst in 30 ccm absol. Methanol. Nach einigen Stdn. bei 20° wurde i. Vak. zum Sirup eingeeengt, der über P_2O_5 eine sehr hygroskopische Kristallmasse ergab. Ausb. 7.5 g (98%).

$C_{13}H_{18}N_2O$ (218.2) Ber. N 12.85 Gef. N 12.41

N-[4-Acetamino-butyl]-N-[3-methyl-buten-(2)-yl]-amin-hydrochlorid (6-Hydrochlorid): Zu 7.5 g der obigen Verbindung in 80 ccm absol. Acetonitril wurden 8.4 g *3-Methyl-buten-(2)-yl-bromid*¹²⁾ getropft. Die rotbraune Lösung wurde nach 3 Tagen bei 20° i. Vak. eingeeengt, der Rückstand in 40 ccm Wasser gelöst und der Benzaldehyd ausgeäthert. Zur wäßr. Phase gab man bei -5° konz. Natronlauge und extrahierte mit viel Chloroform. Nach Abdestillieren des Chloroforms versetzte man mit äthanol. *Salzsäure* in geringem Überschuß, klärte mit Kohle und fällte mit Äther. Nach 24 Stdn. wurden die Kristalle abgesaugt und aus absol. Äthanol/Äther mehrfach umkristallisiert. Ausb. 2.5 g (30%); Schmp. 125°.

$C_{11}H_{23}N_2OCl$ (234.8) Ber. C 56.30 H 9.85 N 11.91 Gef. C 56.07 H 9.93 N 11.95

NMR: $t \tau$ 4.61 (1H) mit $J = 7.0$ Hz; s 8.18 (3H); s 8.22 (3H).

Synthese des Dihydro-sphaerophysins (7)

4-Isopentylamino-1-acetamino-butan (8): 6.5 g *4-Amino-1-acetamino-butan*, 4.3 g *3-Methylbutanal* und 5 g Raney-Nickel W-4¹³⁾ wurden in 200 ccm Methanol unter 100 at *Wasserstoff* 4 Stdn. auf 90° erhitzt. Die filtrierte Lösung wurde eingeeengt, der Rückstand in wenig Wasser gelöst und mit Salzsäure angesäuert. Nach Entfernen von Neutralstoffen mit Äther versetzte man mit konz. Natronlauge und nahm das Produkt in viel Chloroform auf. Es wurde i. Hochvak. destilliert. Ausb. 5.7 g (52%); Sdp._{0.05} 163°.

$C_{11}H_{24}N_2O$ (200.3) Ber. C 65.90 H 12.05 N 13.95 Gef. C 65.35 H 12.08 N 13.94

¹¹⁾ H. T. Macpherson, *Biochem. J.* **36**, 59 (1942).

¹²⁾ H. Staudinger, W. Kreis und W. Schilt, *Helv. chim. Acta* **5**, 750 (1922).

¹³⁾ H. R. Billica und H. Adkins, *Org. Syntheses* **29**, 24 (1949).

4-Isopentylamino-1-acetamino-butan-hydrochlorid (**8**-Hydrochlorid): Aus **8** mit äthanol. *Salzsäure* durch Fällen mit Äther. Schmp. 146° (aus absol. Äthanol).

$C_{11}H_{25}N_2O]Cl$ (236.8) Ber. N 11.84 Gef. N 11.20

N-[4-Amino-butyl]-N-[3-methyl-butyl]-guanidin (**7**)

a) *7-Carbamidsäure-Derivat* (**7-N**-Carbonsäure): 10.00 g **8-Hydrochlorid** und 3.80 g *Cyanamid* wurden 8 Stdn. auf 125° erhitzt. Der Verlauf der Reaktion wurde dünn-schicht-chromatographisch verfolgt; überschüss. Cyanamid hatte sich vollständig dimerisiert. Die Schmelze wurde 15 Stdn. in 100 ccm 15proz. *Salzsäure* unter Rückfluß erhitzt. Nach dem Einengen zum Sirup versetzte man bei -5° mit 40proz. Natronlauge, extrahierte erschöpfend mit Chloroform und engte die organische Phase i. Vak. ein. In die wäbr. Lösung des Rückstandes wurde bis zur Sättigung CO_2 eingeleitet. Den durch Einengen i. Vak. erhaltenen Sirup löste man in 30 ccm absol. Äthanol und versetzte vorsichtig mit Aceton. Ausb. nach mehrfachem Aufarbeiten der Mutterlaugen: 5.2 g (50%). Schmp. 191° (Zers.; umkristallisiert aus Äthanol); Lit.¹⁾: 193° für das „**7**-Carbonat“.

$C_{11}H_{24}N_4O_2$ (244.3) Ber. C 54.07 H 9.90 N 22.93 O 13.10
Gef. C 54.01 H 10.06 N 23.07 O 13.84

Massenspektrum: Bis auf die Peaks der *Benzoessäure* identisch mit dem des Hydrierungsproduktes von **3**-Dibenzoat.

b) *7-Dibenzoat*: 3.0 g *7-Carbamidsäure-Derivat* wurden in verd. *Salzsäure* gelöst. Nach Ende der CO_2 -Entwicklung versetzte man mit konz. Natronlauge und extrahierte mit Chloroform. Das Lösungsmittel wurde i. Vak. entfernt. Zum Rückstand gab man die Lösung von 3.0 g *Benzoessäure* in 15 ccm absol. Aceton. Durch vorsichtigen Zusatz von absol. Äther wurde *7-Dibenzoat* kristallin abgeschieden. Ausb. 1.1 g (20%; 1. Fraktion); Schmp. 146 bis 147°; Lit.¹⁾: 146–147°.

Nach IR- und Massenspektrum identisch mit dem Hydrierungsprodukt des natürlichen **3**-Dibenzoats.

[342/69]