

Rudolf Tschesche, Ekkehard Froberg und Hans-Wolfram Fehlhaber

Alkaloide aus Rhamnaceen, IX<sup>1)</sup>

## Aralionin-B, ein Nebenalkaloid aus *Araliorhamnus vaginata* Perrier

Aus dem Organisch-Chemischen Institut der Universität Bonn

(Eingegangen am 25. März 1970)

Aus den Blättern von *Araliorhamnus vaginata* Perrier wurde das Nebenalkaloid Aralionin-B isoliert. Aufgrund spektroskopischer Daten und der Hydrolysenergebnisse kommt ihm die Struktur eines cyclischen Peptid-Alkaloids zu, aufgebaut aus *N*-Methyl-phenylalanin, Phenylserin, Isoleucin und *p*-Hydroxy-styrylamin (2).

Alkaloids from Rhamnaceae, IX<sup>1)</sup>

Aralionine-B, a Minor Alkaloid from *Araliorhamnus vaginata* Perrier

The minor alkaloid Aralionine-B was isolated from the leaves of *Araliorhamnus vaginata* Perrier. Its structure was elucidated on the basis of spectroscopic data and the informations obtained by hydrolysis. Aralionine-B represents a cyclic peptide alkaloid containing *N*-methyl-phenylalanine,  $\beta$ -phenylserine, isoleucine and *p*-hydroxystyrylamine (2).

Vor kurzem berichteten wir<sup>2)</sup> über die Isolierung und Strukturermittlung des Hauptalkaloids aus den Blättern von *Araliorhamnus vaginata* Perrier, Aralionin-A<sup>3)</sup> (1). Die Basenfraktion der Droge enthält daneben noch mindestens fünf weitere, auf Dragendorffs Reagenz ansprechende Komponenten. Durch mehrstufige Säulen- und Schichtchromatographie an Kieselgel konnte nun eines der Nebenalkaloide, Aralionin-B, abgetrennt werden. Die Ausbeute betrug 0.006%, bezogen auf die lufttrockene Droge, also etwa ein Zehntel des Aralionin-A-Gehaltes.

Mittels hochauflösender Massenspektrometrie wurde die Summenformel von Aralionin-B zu C<sub>33</sub>H<sub>38</sub>N<sub>4</sub>O<sub>4</sub> bestimmt. Die Absorptionsspektren, die den bekannten Peptid-Alkaloiden entsprechen, wiesen auf folgende Strukturmerkmale hin: NH-Gruppen (IR: 3285/cm), eine Methylaminofunktion (NMR:  $\tau = 7.7$ ), Amidgruppen (IR: 1660/cm), eine konjugierte C=C-Doppelbindung (IR: 1620/cm) und eine Phenoläthergruppierung (IR: 1235 und 1030/cm). Die massenspektrometrische Fragmentierung folgt weitgehend dem für cyclische Peptid-Alkaloide aufgestellten

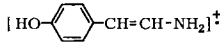
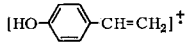
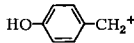
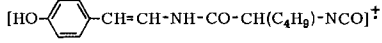
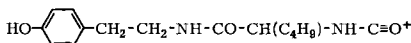
<sup>1)</sup> VIII. Mitteil.: R. Tschesche, R. Geipel und H.-W. Fehlhaber, *Phytochemistry*, im Druck.

<sup>2)</sup> R. Tschesche, L. Behrendt und H.-W. Fehlhaber, *Chem. Ber.* **102**, 50 (1969).

<sup>3)</sup> Ursprünglich<sup>2)</sup> hatten wir das Hauptalkaloid als Aralionin bezeichnet, zur Unterscheidung von den Nebenalkaloiden führen wir nunmehr die Bezeichnung Aralionin-A ein.

Zerfallsschema<sup>4,5)</sup> (Tab.). Anhand der intensiven Peaks bei den Massenzahlen 134 und 463 (= M-91) sowie 131, 135 und 86 ließ sich die Anwesenheit von *N*-Methylphenylalanin<sup>6)</sup>, veräthertem Phenylserin, Styrylamin und Leucin oder Isoleucin erkennen. Ferner war dem Massenspektrum zu entnehmen, daß das *N*-Methylphenyl-

Die wichtigsten Fragmente in den Massenspektren von Aralioniin-B (2) und seinem *N*-Methyldihydro-Derivat (3). Die Zuordnung der Bruchstück-Ionen stützt sich auf die Ermittlung der Summenformeln mittels hochauflösender Massenspektrometrie. Aufnahmebedingungen: Elektronenenergie 70 eV, Temperatur der Ionenquelle ca. 160°

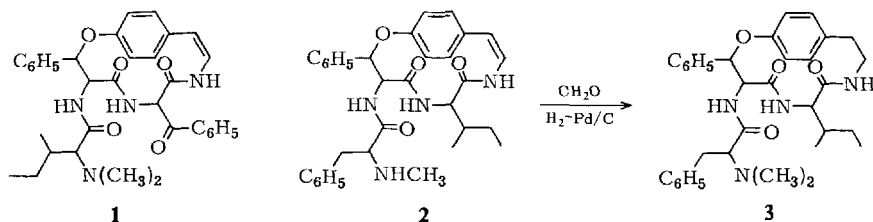
Ion <sup>4,5)</sup>	Struktur	2 (R = H, X = CH=CH)		3 (R = CH <sub>3</sub> , X = CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> )	
		m/e	rel. Int.	m/e	rel. Int.
M <sup>+</sup>		554	0.8	570	0.1
a	$C_6H_5-CH_2-CH=N^+(CH_3)R$	134	100.0	148	100.0
b	$RN^+(CH_3)=CH-CO-NH-(Ringsystem)$	463	22.8	479	22.3
m	$C_6H_5-CH=CH-C=O^+$	131	8.8	131	5.8
-	$C_4H_9-CH=N^+H_2$	86	13.2	86	5.0
i		135	36.8	-	
p		-		120	6.2
q		-		107	3.8
c	$C_6H_5-CH-C(=O)-N=C^+(CH_3)R$	215	3.6	229	0.9
d	$C_6H_5-C\equiv C-NH-CO-CH=N^+(CH_3)R$	187	3.2	201	0.9
e	$C_6H_5-CH=O^+-C_6H_4-X-NH-CO-CH(C_4H_9)-NH_2$	fehlt		339	0.3
f	$C_6H_5-CH=O^+-C_6H_4-X-NH_2$	224	6.2	226	0.5
g	HCO-NH-(Ringsystem)	421	1.0	423	0.2
h		274	1.8	-	
h+1		-		277	0.3
k	$C_6H_5-CH=CH-CO-NH-CH(C_4H_9)-C=O^+$	fehlt		244	0.2
l	$C_6H_5-CH=CH-CO-N^+H-CH-C_4H_9$	fehlt		216	0.5

<sup>4)</sup> R. Tschesche, J. Rheingans, H.-W. Fehlhaber und G. Legler, Chem. Ber. 100, 3924 (1967).

<sup>5)</sup> H.-W. Fehlhaber, Z. analyt. Chem. 235, 91 (1968).

<sup>6)</sup> E. W. Warnhoff, S. K. Pradhan und J. C. N. Ma, Canad. J. Chem. 43, 2594 (1965).

alanin mit dem Phenylserin verknüpft (*m/e* 215 und 187), dieses mit dem Styrylamin veräthert (*m/e* 224) und letzteres außerdem an Leucin oder Isoleucin gebunden sein muß (*m/e* 274). Nach einer sauren Hydrolyse des Aralionins-B wurden *N*-Methylphenylalanin,  $\beta$ -Phenylserin und Isoleucin chromatographisch identifiziert. Damit ließ sich für das Alkaloid die Struktur **2** ableiten.



Versuche, **2** durch Methylierung der terminalen Aminofunktion in das bereits bekannte Peptid-Alkaloid Adouetin-Y<sup>7)</sup> zu überführen, mißlingen. Durch Umsetzung mit Formaldehyd und Wasserstoff über Palladium/Aktivkohle erhielt man neben der erwünschten Methylierung auch eine Absättigung der C=C-Doppelbindung zu **3**. Dieses Derivat lieferte nach einer Säurehydrolyse *N,N*-Dimethylphenylalanin, Phenylserin, Isoleucin und *p*-Tyramin, dessen Identität chromatographisch und durch Kupplung mit diazotierter Sulfanilsäure<sup>2)</sup> bewiesen werden konnte. Das Massenspektrum von **3** weist alle Fragmente auf, die für das Dihydroderivat eines cyclischen Peptid-Alkaloids zu erwarten sind<sup>4)</sup> (vgl. Tab.). Wichtig waren davon vor allem die — beim Alkaloid **2** nicht auftretenden — Bruchstücke **k** und **l**, die die Verknüpfung des Phenylserins mit dem Isoleucin und somit (in Verbindung mit **f** und **h**) die Struktur des Ringsystems beweisen.

Frau *H. Scholten* und Herrn *H. Rindermann* danken wir sehr für die geschickte Mitarbeit. Den *Farbwerken Hoechst AG* schulden wir für die Beschaffung der Droge, der *Stiftung Volkswagenwerk* für die Bereitstellung des Massenspektrometers großen Dank.

## Beschreibung der Versuche

Die Schmelzpunkte wurden mit einem Mikroskop-Heiztisch nach *Weygand*, die optischen Drehungen mit dem *Perkin-Elmer-Polarimeter 141* bestimmt. Zur Aufnahme der Spektren dienten folgende Geräte: *Perkin-Elmer 221* (IR), *Varian A-60* (NMR), *Cary 14* (UV), *Dichrographe 2* von *Roussel-Jouan* (CD) und *MS 9* von *A. E. I.* (Massenspektren). Zur Dünnschicht- und präparativen Schichtchromatographie benutzte man *Kieselgel PF<sub>254</sub>* (*Merck*), zur Papierchromatographie die Sorte *2043 b Mgl* (*Schleicher & Schüll*) und zur Säulenchromatographie ungesiebtetes *Kieselgel* (*Gebr. Herrmann, Köln*).

*Isolierung von Aralionin-B (2):* Die Gewinnung des Rohbasengemisches geschah wie früher beschrieben<sup>2)</sup>. Dünnschichtchromatographisch ließen sich im Fließmittelsystem *Benzol/Essigester/Aceton* (4 : 2 : 1) sechs mit *Dragendorffs* Reagenz anfärbbare Komponenten nachweisen mit den *R<sub>F</sub>*-Werten 0.63 (*Aralionin-A*<sup>2)</sup>, **1**), 0.51, 0.43, 0.35, 0.25 (*Aralionin-B*, **2**) und

<sup>1)</sup> *M. Pais, J. Marchand, F.-X. Jarreau* und *R. Goutarel*, *Bull. Soc. chim. France* **1968**, 1145; *R. E. Servis, A. I. Kosak, R. Tschesche, E. Froberg* und *H.-W. Fehlhaber*, *J. Amer. chem. Soc.* **91**, 5619 (1969).

0.17. Zur Anreicherung von Aralionin-B wurde zunächst an der 200fachen Menge Kieselgel chromatographiert mit Benzol/Aceton/Methanol (100 : 5 : 1) als Elutionsmittel. Die Isolierung gelang durch anschließende mehrfache präparative Schichtchromatographie in den Systemen Benzol/Essigester/Methanol (25 : 7 : 4) oder Benzol/Essigester/Aceton (8 : 4 : 1). Aus 12 g Rohalkaloiden wurden so 300 mg reines *Aralionin-B* (**2**) gewonnen, das aus Benzol/Petroläther in Nadeln vom Schmp. 103–105° kristallisierte.  $[\alpha]_D^{20}$ :  $-73^\circ$  ( $c = 0.1$ , Methanol).

$C_{33}H_{38}N_4O_4$  Mol.-Gew. Ber. 554.2893

Gef. 554.2867 (Massenspektrometr.)

UV (Methanol): starke „Endabsorption“ mit einer Schulter bei 250 m $\mu$  ( $\epsilon = 2000$ ).

CD (Methanol):  $\Delta\epsilon = +2.02$  (268 m $\mu$ ) und  $-7.26$  (232 m $\mu$ ).

IR (KBr): 3285 (NH), 2795 (NCH<sub>3</sub>), 1660 (Amide), 1620 (C=C), 1235 und 1030/cm (Phenoläther).

NMR (CDCl<sub>3</sub>):  $\tau = 8.2-9.3$  (m, 9 aliphatische Wasserstoffe), 7.7 (s, N-CH<sub>3</sub>), 7.35 (d,  $J = 6$  Hz, C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>-CH<sub>2</sub>-CH), 1.9–4.0 (NH-, Olefin- und Aromatenprotonen).

*Hydrolyse von 2*: 10 mg **2** wurden mit 1 ccm 6*n* HCl im Bombenrohr 12 Stdn. auf 110° erhitzt. Nach dem Erkalten ließ man im Exsikkator über KOH zur Trockne eindunsten und löste den Rückstand in 0.5 ccm Wasser. In dieser Lösung wurden papierchromatographisch – durch Vergleich mit authent. Verbindungen – *N-Methyl-phenylalanin*<sup>8)</sup>,  $\beta$ -*Phenyl-serin* und *Isoleucin* nachgewiesen. Als Fließmittelsysteme dienten dabei *n*-Butanol/Eisessig/Wasser (4 : 1 : 5, leichte Phase)<sup>9)</sup> und *n*-Butanol/gesättigt mit Citratpuffer vom pH 4<sup>10)</sup>.

*N-Methyl-dihydro-Derivat 3*: 100 mg **2** versetzte man in 10 ccm Methanol mit 1 ccm 40proz. Formalin und hydrierte über 30 mg Palladium/Aktivkohle; nach 35 Stdn. wurde vom Katalysator abgetrennt und i. Vak. zur Trockne eingedampft. Den Rückstand chromatographierte man an Kieselgel mit Benzol/Aceton/Methanol (20 : 5 : 2). Man erhielt so 18 mg **3**, aus Methylenechlorid/Petroläther feine Nadeln vom Schmp. 235–236°.  $[\alpha]_D^{20}$ :  $+88^\circ$  ( $c = 0.08$ , Methanol).

$C_{34}H_{42}N_4O_4$  Mol.-Gew. Ber. 570.3206

Gef. 570.3182 (Massenspektrometr.)

CD (Methanol):  $\Delta\epsilon = +1.77$  (272 m $\mu$ ),  $+9.97$  (225 m $\mu$ ),  $-2.03$  (213 m $\mu$ ) und  $+6.67$  (207 m $\mu$ ).

IR (CHCl<sub>3</sub>): 3430 (NH), 2790 (NCH<sub>3</sub>), 1670 (Amide) und 1220/cm (Phenoläther).

NMR (CDCl<sub>3</sub>):  $\tau = 7.9$  und 7.7 (je s, N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>).

*Hydrolyse von 3*: 10 mg **3** wurden analog **2** hydrolysiert. Unter Verwendung der gleichen Chromatographiesysteme konnten hierbei  $\beta$ -*Phenyl-serin*, *N,N*-*Dimethyl-phenylalanin* und *Isoleucin* nachgewiesen werden. Außerdem wurde *p*-*Tyramin* identifiziert, und zwar durch papierchromatographischen Vergleich mit *o*-, *m*- und *p*-*Tyramin* im System Butanon/Eisessig/Ameisensäure/Wasser (40 : 2 : 1 : 6)<sup>11)</sup> sowie durch Kupplung mit diazotierter Sulfanilsäure und Aufnahme des UV-Spektrums<sup>2)</sup>:  $\lambda_{\max} = 320$  m $\mu$  (Lit.<sup>2)</sup>: 323 m $\mu$ ).

<sup>8)</sup> Die Synthese der Vergleichsverbindung erfolgte nach *E. Fischer* und *W. Lipschitz*, Ber. dtsch. chem. Ges. **48**, 360 (1915).

<sup>9)</sup> *J. M. Hais* und *K. Macek*, Handbuch der Papierchromatographie, Bd. I, S. 523 und 598, G. Fischer, Jena 1963.

<sup>10)</sup> *E. F. McFarren*, Analytic. Chem. **23**, 168 (1951).

<sup>11)</sup> *L. Reio*, J. Chromatography **4**, 458 (1960).