

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

## Scutianin-C, -D und -E, drei weitere Cyclopeptidalkaloide aus *Scutia buxifolia* Reiss.

Rudolf Tschesche\* und Eberhard Ammermann

Institut für Organische Chemie und Biochemie der Universität Bonn,  
D-5300 Bonn, Max-Planck-Straße 1

Eingegangen am 18. Februar 1974

Aus dem Rinden-Extrakt von *Scutia buxifolia* Reiss. wurden neben den bereits beschriebenen Peptidalkaloiden Scutianin-A (1)<sup>2)</sup> und -B (2)<sup>3)</sup> drei weitere, Scutianin-C, -D und -E, isoliert und ihre Struktur aufgeklärt (3, 4, 5). Sie gehören zur Gruppe der Cyclopeptidalkaloide mit 14gliedrigem Ringsystem. Mit Scutianin-D und -E wurden erstmals diastereomere Cyclopeptidalkaloide aus einer Pflanze isoliert. Allein Scutianin-E enthält D-Aminosäuren, und zwar D-erythro- $\beta$ -Hydroxyleucin und D-threo- $\beta$ -Phenylserin. Alle Verbindungen haben geringe antibiotische Aktivität.

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

### Scutianine-C, -D, and -E, Three Further Cyclopeptide Alkaloids from *Scutia buxifolia* Reiss.

Besides the already reported peptide alkaloids scutianine-A (1)<sup>2)</sup> and -B (2)<sup>3)</sup> from the bark extract of *Scutia buxifolia* Reiss. three further alkaloids, scutianine-C, -D, and -E, were isolated and their structures were elucidated (3, 4, 5). They belong to the cyclopeptide alkaloids with a fourteen-membered ring system. Scutianine-D and -E represent the first diastereomeric cyclopeptide alkaloids which have been isolated from the same plant. Only scutianine-E contains D-amino acids and these are D-erythro- $\beta$ -hydroxyleucine and D-threo- $\beta$ -phenylserine. All compounds have a small antibiotic activity.

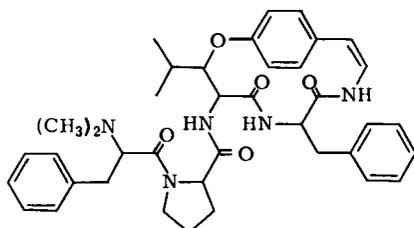
Im Rahmen der Arbeiten über Alkaloide aus Rhamnaceen war in unserem Institut das Hauptalkaloid der Rinde des brasilianischen Baumes *Scutia buxifolia* Reiss., Scutianin-A (1), isoliert und seine Struktur bestimmt worden<sup>2)</sup>. Mit einer Rinde, die in der Umgebung von Julio Castilhos in der Provinz Rio Grande do Sul/Brasilien gesammelt worden war, wurde nunmehr die Untersuchung der Nebenalkaloide vorgenommen. Die fein gemahlene Rinde wurde in üblicher Weise<sup>2)</sup> aufgearbeitet und das Alkaloidgemisch durch mehrstufige Säulen- und Schichtchromatographie an Kieselgel getrennt. Die Nebenalkaloide — jedes liegt in einer Menge von etwa 0.0025 %, bezogen auf die lufttrockene Rinde, vor — wurden nach der Reihenfolge zunehmender Polarität bei der Chromatographie an Kieselgel in System I bezeichnet. Von diesen wurde Scutianin-B (2) bereits beschrieben<sup>3)</sup>.

<sup>1)</sup> XXII. Mittel.: R. Tschesche, Ch. Spilles und G. Eckhardt, Chem. Ber. 107, 1329 (1974).

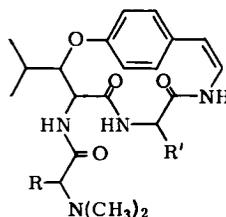
<sup>2)</sup> R. Tschesche, R. Welters und H.-W. Fehlhaber, Chem. Ber. 100, 323 (1967).

<sup>3)</sup> R. Tschesche, E. Ammermann und H.-W. Fehlhaber, Tetrahedron Lett. 1971, 4405.

Die Scutianine A–E gehören alle zum Typ der häufigeren Cyclopeptidalkaloide mit 14gliedrigem Ringsystem<sup>4)</sup>. Nur Scutianin-A besitzt eine um eine Aminosäure verlängerte Seitenkette.



1, Scutianin-A



2-5

	R	R'
2, Scutianin-B	-CH <sub>2</sub> -C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	-CH <sub>2</sub> -C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>
3, Scutianin-C	-CH(CH <sub>3</sub> )C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	-CH <sub>2</sub> -C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>
4, Scutianin-D	-CH <sub>2</sub> -C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	-CH(OH)-C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>
5, Scutianin-E	-CH <sub>2</sub> -C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	-CH(OH)-C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>

Durch hochauflösende Massenspektrometrie und Elementaranalyse wurde die Summenformel von Scutianin-C zu C<sub>31</sub>H<sub>42</sub>N<sub>4</sub>O<sub>4</sub> ermittelt. Bei Scutianin-D und -E fand man in den Massenspektren keinen Molekülpeak. Mit Hilfe der Defokussierungstechnik konnte am Beispiel des Scutianins-D gezeigt werden, daß die Fragmente des oberen Massenbereichs aus einem Ion der Masse 584 entstehen. Nach den weitgehend ähnlichen Massenspektren von 4 und 5 sowie nach den Spektren ihrer Dihydro- und *O*-Acetyl-Derivate kann als Molekülmasse für Scutianin-D und -E 584 angenommen werden. Aus der Elementaranalyse ergibt sich, daß die Summenformel von beiden die gleiche ist und C<sub>34</sub>H<sub>40</sub>N<sub>4</sub>O<sub>5</sub> beträgt.

Die drei Alkaloide färben sich mit Dragendorffs Reagenz orange an und mit 30proz. Schwefelsäure dunkelbraun. Rasche Entfärbung alkalischer Permanganatlösung weist auf eine aliphatische Doppelbindung hin.

### Absorptionsspektren

Die IR-Spektren von Scutianin-C, -D und -E weisen die für Peptidalkaloide typischen Absorptionen von sekundären Amid- und *N*-Methylgruppen, konjugierten C=C-Doppelbindungen und von Phenoläthern auf, bei Scutianin-D und -E beobachtet man zusätzlich die Bande einer freien Hydroxylgruppe.

Ihre UV-Spektren zeigen nur eine starke Aromat-Endabsorption, welche die erwarteten Maxima des Enamid- und des Styrylchromophors überdeckt (vgl. Diskussion in l.c.<sup>2)</sup> und l.c.<sup>5)</sup>). Erst in den Spektren der Dihydro-Derivate tritt bei 277 nm ein ausgeprägtes Maximum auf (log ε = 3.3), das auf eine Phenoläther-Absorption zurückgeführt werden kann<sup>6)</sup>.

<sup>4)</sup> Vgl.: E. W. Warnhoff, Fortschr. Chem. Org. Naturstoffe (Wien) **XXVIII**, 162 (1971); M. Pais und F.-X. Jarreau, in B. Weinstein (Herausgeber), Chemistry and Biochemistry of Aminoacids, Peptides and Proteins, Bd. 1, S. 127, M. Dekker, Inc., New York 1971.

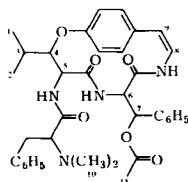
<sup>5)</sup> R. Tschesche, J. Rheingans, H.-W. Fehlhaber und G. Legler, Chem. Ber. **100**, 3924 (1967).

<sup>6)</sup> A. Burwoy und J. T. Chamberlain, J. Chem. Soc. **1952**, 2310.

Qualitativ stimmen die CD-Spektren von Scutianin-C und -D mit denen bekannter 14gliedriger Cyclopeptidalkaloide überein<sup>5,7-9</sup>, für die ein stark negatives Maximum um 237 nm und ein schwach positives um 285 nm typisch ist. Scutianin-E unterscheidet sich grundlegend von diesem Muster mit seinem stark positiven (!) Maximum bei 235 nm und dem schwach negativen bei 276.5 nm.

Das NMR-Spektrum des Scutianins-C erlaubt bei Verwendung von Pyridin als Lösungsmittel eine Zuordnung der vier C-Methylgruppen. Die beiden Dubletts der Isopropylgruppe des  $\beta$ -Hydroxyleucins liegen dann bei  $\tau = 8.76$  und  $8.81$  mit einer Aufspaltung von 7 Hz, während man bei  $\tau = 9.09$  das Dublett ( $J = 7$  Hz) und bei  $\tau = 9.17$  das Triplett ( $J = 7$  Hz) der C-Methylgruppen des *N,N*-Dimethylisoleucins findet. Das typische Singulett der sechs *N*-Methylprotonen erkennt man in Pyridin bei  $\tau = 7.59$ , hingegen im Deuteriochloroformspektrum bei  $\tau = 7.86$ , das durch Multipletts von Benzyl- und Methinprotonen sowie durch die Signale der 2 olefinischen und der 9 aromatischen Protonen vervollständigt wird.

Tab. 1. Protonenresonanz von **4**, **4**-Acetat, **5** und **5**-Acetat ( $\tau$ -Werte,  $J$  in Hz)<sup>a)</sup>



Protonen	<b>4</b>	<b>4</b> -Acetat	<b>5</b>	<b>5</b> -Acetat
1	9.06	9.04	8.90	8.82
2	8.79 $J_{1,3}$ $J_{2,3}$ } = 6.7	8.77	8.88 $J_{1,3}$ $J_{2,3}$ } = 6.5	8.82 $J_{1,3}$ $J_{2,3}$ } = 6.5
3	8.02 $J_{3,4} = 1.8$		7.48 $J_{3,4} = 7$	7.02 $J_{3,4} = 9.1$
4	5.12 $J_{4,5} = 7.5$		5.96 $J_{4,5} = 6.4$	6.14 $J_{4,5} = 5.5$
5	5.64		5.54	5.28
6	5.53 $J_{6,7} = 6.4$		5.71 $J_{6,7} = 5.6$	5.39 $J_{6,7} = 4.5$
7	5.10		5.01	3.74
8	3.49 $J_{8,9} = 8$		3.46 $J_{8,9} = 7.5$	3.51 $J_{8,9} = 7.6$
9	3.59		3.66	3.57
10	7.81	7.73	7.67	7.64
11	—	8.18	—	7.97

<sup>a)</sup> TMS als interner Standard  $\tau = 10$  (Meßtemp. 35°C). Gemessen wurde bei 90 MHz in  $\text{CDCl}_3$ .

<sup>7)</sup> R. Tschesche, H. Last und H.-W. Fehlhaber, Chem. Ber. **100**, 3937 (1967).

<sup>8)</sup> H. Wilhelm, Diplomarbeit, Univ. Bonn 1971; R. Tschesche, H. Wilhelm und H.-W. Fehlhaber, Tetrahedron Lett. **1972**, 2609.

<sup>9)</sup> R. Tschesche, E. U. Kaußmann und H.-W. Fehlhaber, Chem. Ber. **105**, 3094 (1972).

Die in Deuteriochloroform aufgenommenen NMR-Spektren von Scutianin-D und -E sowie ihrer *O*-Acetyl-Derivate sind vorstehend tabellarisch aufgeführt, soweit ihre Protonen durch H/D-Austausch, Doppelresonanz und INDOR eindeutig zugeordnet werden können.

Der große Abstand zwischen den Dubletts der *C*-Methylprotonen der Isopropylgruppe ist vermutlich auf den Einfluß der Peptid-Seitenkette zurückzuführen, welche die Rotation der Isopropylgruppe behindert, so daß beide Methylgruppen eine unterschiedliche diamagnetische Abschirmung erfahren. Im Scutianin-A<sup>2)</sup> beträgt diese Aufspaltung 0.4 ppm. Durch die Verkürzung der Seitenkette um eine Aminosäure verringert sich vermutlich dieser Effekt bei Scutianin-B und -D, der sich in einem Zusammenrücken der Dublettzentren auf 0.27 ppm äußert. Im Scutianin-E dagegen schrumpft der Abstand trotz gleicher Seitenkette auf 0.02 ppm, nach der Acetylierung verschwindet er sogar völlig. Dies deutet auf eine andere räumliche Orientierung seiner Peptid-Seitenkette hin als im Scutianin-D.

Die nachlassende Behinderung der Rotation der Isopropylgruppe im Scutianin-E gegenüber der im Scutianin-D zeigt sich ferner in der zunehmenden Größe der Kopplungskonstante  $J_{3,4}$ . Leider sind  $J_{4,5}$  und  $J_{6,7}$  in **4** und **5** zu uncharakteristisch, als daß aus ihrer Größe auf die relative Konfiguration der  $\alpha$ -Amino- $\beta$ -hydroxysäuren geschlossen werden könnte (vgl. Diskussion in l.c.<sup>10)</sup>. Die Kopplungskonstante  $J_{8,9}$  ist für die *cis*-orientierte, disubstituierte Doppelbindung charakteristisch.

### Massenspektren

Die Fragmentierungen des Scutianins-C entsprechen dem für 14gliedrige Cyclopeptidalkaloide typischen Schema<sup>11)</sup>. Damit beweist das Massenspektrum von Scutianin-C die vorgeschlagene Struktur **3**, in der Hydroxystyrylamin, Phenylalanin und  $\beta$ -Hydroxyleucin den 14gliedrigen Ring bilden, mit dem *N,N*-Dimethylisoleucin als Seitenkette verknüpft ist.

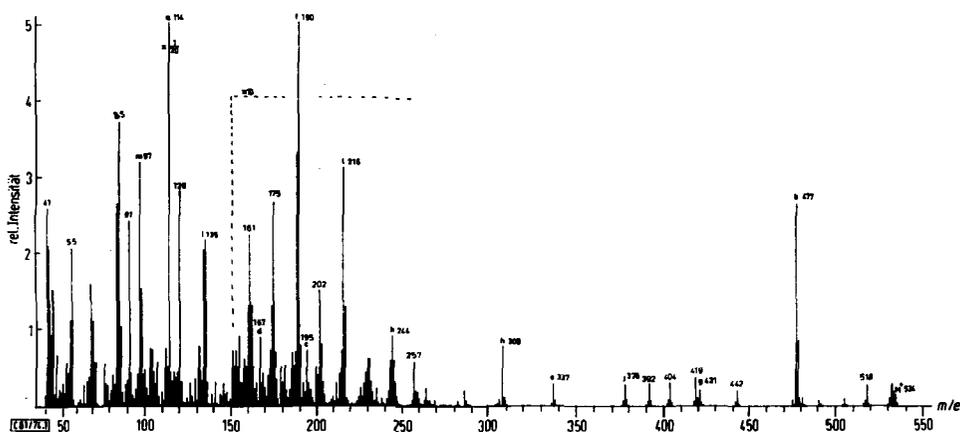


Abb. 1. Massenspektrum von Scutianin-C

<sup>10)</sup> J. Marchand, M. Pais und F.-X. Jarreau, Bull. Soc. Chim. France **1971**, 3742.

<sup>11)</sup> H.-W. Fehlhaber, Z. Anal. Chem. **235**, 91 (1968).

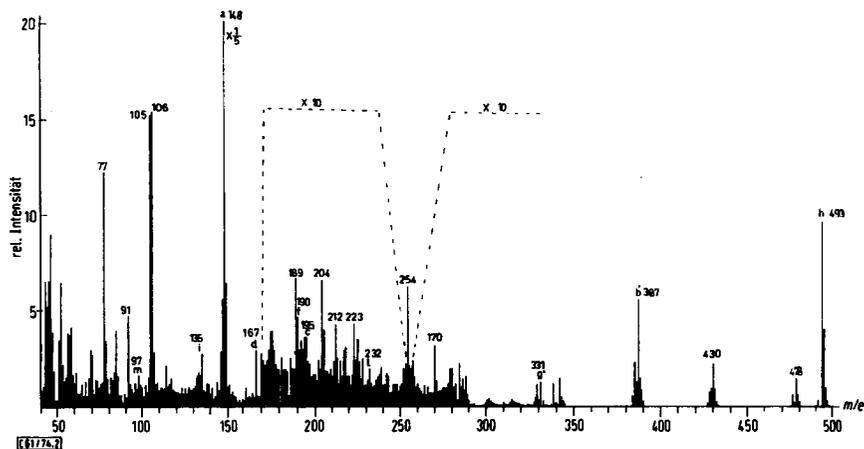


Abb. 2. Massenspektrum von Scutianin-D

Wegen ihrer engen strukturellen Verwandtschaft gleichen sich die Massenspektren von Scutianin-D und Scutianin-E weitgehend; sie zeigen nur geringe Intensitätsunterschiede. Wie schon erwähnt, fehlen die Peaks der Molekülonen, die in beiden Fällen bei  $m/e$  584 zu erwarten wären.

Neben der üblichen Primärreaktion des C—C-Bindungsbruchs in Nachbarschaft zur basischen *N,N*-Dimethylaminogruppe eröffnet bei diesen Cyclopeptidalkaloiden eine McLafferty-Umlagerung eine Reihe von Fragmentierungen. Dabei wird aus dem  $\beta$ -Phenylserin unter Beteiligung seiner freien OH-Gruppe Benzaldehyd eliminiert<sup>12)</sup>. Für Scutianin-D konnte durch die Defokussierungstechnik gezeigt werden, daß ein Ion der Masse 584 — das Molekülon — den Benzaldehyd (106) eliminiert. Dieser zerfällt nach Abspaltung eines Wasserstoffradikals in Kohlenmonoxid und das Phenylion; der metastabile Peak bei  $m^* 56.5$  belegt diese Reaktion. Das Gegenion der Benzaldehyd-Eliminierung bei  $m/e$  478 ( $C_{27}H_{34}N_4O_4$ ) fragmentiert wie ein 14gliedriges Cyclopeptidalkaloid weiter<sup>11)</sup>, allerdings zeigen einige der Fragmentpeaks nur geringe Intensität. Das durch die Abspaltung des Benzylrestes der Seitenkette (91) entstandene Fragment b bei  $m/e$  493 ( $C_{27}H_{33}N_4O_5$ ) enthält als einziges Bruchstück das  $\beta$ -Phenylserin. Auch für b wurde am Scutianin-D durch Defokussierung nachgewiesen, daß es aus dem Molekülon entsteht.

Bis auf die fehlenden Peaks der Fragmente, die  $\beta$ -Phenylserin enthalten sollten, findet man bei beiden Spektren die üblichen Bruchstücke, die in Einklang mit den Strukturen 4 und 5 stehen, wonach beide Alkaloide das 14gliedrige Ringsystem, bestehend aus Hydroxystyrylamin,  $\beta$ -Phenylserin und  $\beta$ -Hydroxyleucin haben, an das *N,N*-Dimethylphenylalanin als Seitenkette gebunden ist.

Acetylscutianin-D und -E liefern ebenfalls keinen Molekülpeak. Die bevorzugte Reaktion ist hier neben der üblichen Fragmentierung, die zu b mit  $m/e$  535 ( $C_{29}H_{35}N_4O_6$ ) führt, die Essigsäure-Abspaltung  $M^+ - CH_3CO_2H$  mit  $m/e$  566 ( $C_{34}H_{38}N_4O_4$ ).

<sup>12)</sup> R. Tschesche, L. Behrendt und H.-W. Fehlhaber, Chem. Ber. 102, 50 (1969).

In den Massenspektren der Dihydro-Derivate von **3**, **4** und **5** beobachtet man einen Molekülpeak. Im übrigen fragmentieren die hydrierten Alkaloide den ursprünglichen Verbindungen analog; soweit die Bruchstücke das Hydroxystyrylamin enthalten, erscheinen sie um + 2 Masseneinheiten verschoben.

### Derivate und Hydrolysen

Die aliphatische Doppelbindung dieser Alkaloide wurde durch katalytische Hydrierung und die freie Alkohol-Funktion von Scutianin-D und -E durch Acetylierung nachgewiesen. Die Dihydro-Derivate wurden mit 6 N HCl im Bombenrohr bei 110°C gespalten. Durch papierchromatographischen Vergleich mit authentischen Verbindungen konnte *p*-Tyramin — das Hydrierungsprodukt des *p*-Hydroxystyrylamins — aus den Hydrolysaten von **3**, **4** und **5** identifiziert werden; ferner wurde Phenylalanin und *N,N*-Dimethylisoleucin bei **3** nachgewiesen und *threo*- $\beta$ -Phenylserin sowie *N,N*-Dimethylphenylalanin bei **4** und **5**.

Um  $\beta$ -Hydroxyleucin ohne Beeinträchtigung seiner asymmetrischen Zentren nachzuweisen<sup>9,13</sup>, wurden die Aromaten dieser Alkaloide mit Ozon zerstört und so die Arylalkyläther zu (Oxalsäure-)Estern abgebaut. Nach der anschließenden sauren Hydrolyse konnte aus **3**, **4** und **5** durch papierchromatographischen Vergleich *erythro*- $\beta$ -Hydroxyleucin identifiziert werden. Auch Scutianin-A (**1**) wurde bei Raumtemperatur ozonisiert, und im Gegensatz zu früher<sup>2</sup>) wurde jetzt nur die *erythro*-Form des  $\beta$ -Hydroxyleucins nachgewiesen.

Um das Ausmaß der möglichen Epimerisierung an C-3 des *threo*- $\beta$ -Phenylserins bzw. des *erythro*- $\beta$ -Hydroxyleucins zu überprüfen, wurden beide Hydroxyaminosäuren analogen Hydrolyse-Bedingungen unterworfen. Die papierchromatographische Untersuchung zeigte, daß sich nur etwa 5–10% in das entsprechende Diastereomere umgewandelt hatten.

Da Scutianin-D und -E nach den Massenspektren und den Hydrolysenergebnissen aus den gleichen Aminosäuren und aus *p*-Hydroxystyrylamin aufgebaut sind und sich in der Verknüpfung nicht unterscheiden, muß der Unterschied zwischen beiden Alkaloiden in der Konfiguration einiger Aminosäuren bestehen. Wie gezeigt besitzen die Hydroxyaminosäuren in beiden Verbindungen jeweils die gleiche relative Konfiguration. Mit der L-Aminosäure-Oxidase aus Schlangengift (*Crotalus atrox*) wurde die Konfiguration des *erythro*- $\beta$ -Hydroxyleucins<sup>13,14</sup>) und des *threo*- $\beta$ -Phenylserins<sup>14,15</sup>) ermittelt.

Nach der Einwirkung der Oxidase auf die als Test benutzten Hydrolysate des Dihydro-Derivats und der Ozonolyse von **3** zeigten die anschließenden Papierchromatogramme im Vergleich mit einer unbehandelten Hydrolysat-Probe, daß Phenylalanin und *erythro*- $\beta$ -Hydroxyleucin aus Scutianin-C abgebaut worden waren und somit der L-Reihe zugeordnet werden müssen. Die Anwendung dieses Verfahrens auf die entsprechenden Hydrolysate von **4** und **5** ergab, daß *erythro*- $\beta$ -Hydroxyleucin und *threo*- $\beta$ -Phenylserin aus Scutianin-D ebenfalls zur L-Reihe zu zählen sind. Die Hydroxy-

<sup>13</sup>) M. Gonzales Sierra, O. A. Mascaretti, F. J. Diaz und E. A. Ruveda; Ch.-J. Chang, E. W. Haganan und E. Wenkert, J. C. S. Chem. Commun. 1972, 915.

<sup>14</sup>) J. P. Greenstein und M. Winitz, Chemistry of Aminoacids, Bd. 1, S. 187, Wiley, New York 1961.

<sup>15</sup>) W. S. Fones, Arch. Biochem. Biophys. 36, 486 (1952).

aminosäuren aus **5** wurden von der L-Aminosäure-Oxidase nicht angegriffen; folglich sind *erythro*- $\beta$ -Hydroxyleucin und *threo*- $\beta$ -Phenylserin aus Scutianin-E der D-Reihe zuzuordnen.

Die unbestimmte Konfiguration des *N,N*-Dimethylphenylalanins muß in **4** und **5** die gleiche sein. Diese Aminosäure ergänzt die enantiomeren 14gliedrigen Ring-systeme zu trennbaren, diastereomeren Cyclopeptidalkaloiden, zu Scutianin-D und -E.

*Im Scutianin-E ist unseres Wissens D-erythro- $\beta$ -Hydroxyleucin erstmals in der Natur aufgefunden worden, während D-threo- $\beta$ -Phenylserin schon aus dem nicht cyclischen Peptidalkaloid Lasiodin-A<sup>16)</sup> isoliert werden konnte.*

Die Hydrochloride von **1–5** zeigten im Blättchentest (etwa 1 mg/Blättchen) wachstumshemmende Aktivität gegenüber *Pythium debaryanum* und mit Ausnahme von **4** auch gegen *Bacillus subtilis*. In einem Reihenverdünnungstest in Pepton-Nährflösung hemmte Scutianin-C-hydrochlorid bis 200  $\mu$ g/ml das Wachstum von *Bacillus subtilis* völlig<sup>17)</sup>.

Herrn Dr. G. Gemballa, Santa Catarina (Brasilien), danken wir für die Beschaffung der Rinde, Herrn Dr. G. Eckhardt für die massenspektrometrischen Untersuchungen mit Hilfe der Defokussierungstechnik und Herrn Prof. Dr. F. Schönbeck, Institut für Pflanzenkrankheiten, Universität Bonn, für die mikrobiologischen Untersuchungen. Unser Dank gilt auch der *Stiftung Volkswagenwerk* sowie der *Deutschen Forschungsgemeinschaft* für die zur Verfügung gestellten Spektrometer und für die Gewährung von Sachmitteln.

## Experimenteller Teil

Die Schmelzpunkte wurden mit einem Mikroskop-Heiztisch nach *Weygand*, die optischen Drehungen mit einem Perkin-Elmer-Polarimeter 141 bestimmt. Zur Aufnahme der Absorptionsspektren dienten folgende Geräte: Perkin-Elmer 221 (IR), Varian A 60 und Bruker-Spektroskop HX 90 (NMR), Cary 14 (UV) und Dichrographe-2 von Roussel-Jouan (CD). Die Massenspektren wurden mit einem MS 9 (A.E.I.) durch Einführen der Substanzen in die Ionenquelle (Temp. um 200°C) bei einer Elektronenenergie von 70 eV aufgenommen. Die Elementaranalysen und Molekülmasse-Bestimmungen durch Dampfdruckmessung führte das Mikroanalytische Laboratorium Dr. F. Pascher, Bonn aus. — Zur Dünnschichtchromatographie benutzte man Kieselgel HF<sub>254</sub> (Merck) oder Cellulose (Excorina, Mainz), zur präparativen Schichtchromatographie Kieselgel PF<sub>254</sub> (Merck), zur Säulenchromatographie ungesiebt Kieselgel (Geb. Herrmann, Köln) und zur Papierchromatographie die Sorte 2043 b (Schleicher & Schüll).

*Isolierung und Auftrennung der Rohalkaloide:* Aus 21 kg trockener Rinde erhielt man mit einer Aufarbeitung, wie früher beschrieben<sup>2)</sup>, 23,8 g Rohbasengemisch (0.113%), das säulenchromatographisch an Kieselgel in Chloroform/Methanol mit zunehmendem Methanolgehalt (0.5–2.5%) als Elutionsmittel in sechs Fraktionen vorgetrennt wurde. Die Isolierung von Scutianin-A bis -E gelang durch mehrfache präparative Schichtchromatographie an Kieselgel in den Systemen I: Chloroform/Methanol (48:2.5), II: Benzol/Acetonitril (2:1) und III: Chloroform/Essigester/Aceton (20:10:2).

*Scutianin-C (3):* Im System I wurden 610 mg Scutianin-C isoliert, das aus Methanol/Cyclohexan in farblosen Nadelbüscheln vom Schmp. 267°C kristallisierte;  $[\alpha]_D^{20} = -231^\circ$  ( $c = 0.1$ ; CHCl<sub>3</sub>).

<sup>16)</sup> J. Marchand, M. Pais, X. Monseur und F.-X. Jarreau, *Tetrahedron* **25**, 937 (1969).

<sup>17)</sup> H. Köhler, Einführung in die Methoden der pflanzlichen Antibiotikaforschung, Akademie-Verlag, Berlin 1956.

Tab. 2.  $R_F$ -Werte der Scutianine auf Kieselgel-Fertigfolien (Schleicher & Schüll)\*)

	System: I	II	III
Scutianin-A 1	0.65	0.26	0.30
Scutianin-B 2	0.70	0.43	0.45
Scutianin-C 3	0.58	0.25	0.35
Scutianin-D 4	0.42	0.24	0.24
Scutianin-E 5	0.34	0.11	0.07

\*) System II und III wurden zweimal entwickelt.

IR (CHCl<sub>3</sub>): 3370 (NH), 2770 (NCH<sub>3</sub>), 1680 (Amid), 1620 (C=C), 1240 und 1040 cm<sup>-1</sup> (Phenoläther). — UV (CH<sub>3</sub>OH): Starke „Endabsorption“. — CD (Dioxan):  $\Delta\epsilon +2.1$  (286.5 nm),  $+1.48$  (277 nm) und  $-17.45$  (237.5 nm). — NMR (CDCl<sub>3</sub>):  $\tau = 8.9-9.2$  (m, 3 C-CH<sub>3</sub>), 8.74 (d,  $J = 7$  Hz, 1 C-CH<sub>3</sub> des Hyleu), 7.86 (s, N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>), 5.08 (dd,  $J = 7.5$ ,  $J' = 2$  Hz,  $\beta$ -H des Hyleu), 4.0 (d,  $J = 8$  Hz, NH), 3.4-3.8 (m, Olefin, NH), 2.6-3.1 (m, Aromaten, NH).

C<sub>31</sub>H<sub>42</sub>N<sub>4</sub>O<sub>4</sub> (534.7) Ber. C 69.65 H 7.91 N 10.47

Gef. C 69.13 H 8.19 N 10.44

Mol.-Masse Ber. 534.3206 Gef. 534.3191 (MS)

*Scutianin-D* (4): Durch mehrfache Entwicklung im System II erhielt man 410 mg Scutianin-D. Es kristallisierte aus Äthanol/Wasser in feinen, farblosen Nadeln vom Schmp. 219-220°C;  $[\alpha]_D^{20} = -196^\circ$  ( $c = 0.1$ ; CHCl<sub>3</sub>).

IR (CHCl<sub>3</sub>): 3590 (OH), 3370 (NH), 2780 (NCH<sub>3</sub>), 1680, 1660 (Amid), 1615 (C=C), 1240 und 1045 cm<sup>-1</sup> (Phenoläther). — UV (CH<sub>3</sub>OH): Starke „Endabsorption“ ab 300 nm. — CD (Dioxan):  $\Delta\epsilon +3.5$  (284 nm),  $+1.92$  (263.5 nm) und  $-15.15$  (236.5 nm). — NMR (CDCl<sub>3</sub>): Vgl. Tab. 1 und  $\tau = 6.7-7.3$  (m, Benzylprotonen), 3.90 (d,  $J = 8.2$  Hz, NH), 2.6-3.2 (m, Aromaten, NH), 2.49 (d,  $J = 10.2$  Hz, NH).

C<sub>34</sub>H<sub>40</sub>N<sub>4</sub>O<sub>5</sub> (584.7) Ber. C 69.84 H 6.89 N 9.58

Gef. C 69.47 H 6.86 N 9.66

Mol.-Masse Ber. 584 Gef. 539 (Dampfdruckmessung)

Gef. 584 (MS, Defokussierung)

*Scutianin-E* (5): Im System II isolierte man durch mehrfache Entwicklung 380 mg Scutianin-E, das in farblosen, langen Nadeln vom Schmp. 121°C aus Äthanol/Wasser kristallisierte;  $[\alpha]_D^{20} = -22.2^\circ$  ( $c = 0.1$ ; CHCl<sub>3</sub>).

IR (CHCl<sub>3</sub>): 3670 (OH), 3385 (NH), 2790 (NCH<sub>3</sub>), 1670 (Amid), 1620 (C=C), 1240 und 1040 cm<sup>-1</sup> (Phenoläther). — UV (CH<sub>3</sub>OH): Aromaten-„Endabsorption“. — CD (Dioxan):  $\Delta\epsilon -1.21$  (276.5 nm) und  $+16.7$  (235 nm). — NMR (CDCl<sub>3</sub>): Vgl. Tab. 1 und  $\tau = 6.5-7.1$  (m, Benzylprotonen), 3.36 (d,  $J = 11$  Hz, NH), 2.5-3.2 (m, Aromaten, NH), 2.25 (d,  $J = 9$  Hz, NH).

C<sub>34</sub>H<sub>40</sub>N<sub>4</sub>O<sub>5</sub> (584.7) Ber. C 69.84 H 6.89 N 9.58

Gef. C 69.54 H 6.78 N 9.02

Mol.-Masse Ber. 584 Gef. 558 (Dampfdruckmessung)

*Hydrierungen*: Je 50 mg Alkaloid wurden in 100 ml Methanol bei Normaldruck über 50 mg Pd (10proz.) auf Aktivkohle ca. 2 h hydriert. Man filtrierte vom Katalysator ab und dampfte i. Vak. ein. Etwa 95% der eingesetzten Substanzmenge wurde nach Reinigung an präparativen

Kieselgelschichten in den Systemen III (Dihydroscutianin-C) und I (Dihydroscutianin-D und -E) als einheitliches Hydrierungsprodukt erhalten; chromatographisch sind sie polarer als die ursprünglichen Verbindungen. Massenspektrometrisch wurden sie als Dihydro-Derivate identifiziert.

*Dihydroscutianin-C* kristallisierte aus Chloroform/*n*-Hexan in Nadeln vom Schmp. 297 bis 299°C;  $[\alpha]_D^{20} = -102^\circ$  ( $c = 0.1$ ;  $\text{CHCl}_3$ ). *Dihydroscutianin-D* ergab aus Äthanol/Wasser Nadelbüschel vom Schmp. 256–258°C;  $[\alpha]_D^{20} = -74.5^\circ$  ( $c = 0.1$ ;  $\text{CHCl}_3$ ).

*Dihydroscutianin-E* fiel aus Äthanol/Wasser in farblosen Nadeln aus vom Schmp. 134°C;  $[\alpha]_D^{20} = +24.2^\circ$  ( $c = 0.1$ ;  $\text{CHCl}_3$ ).

*Hydrolysen*: 20 mg hydriertes Alkaloid wurden in 1 ml Eisessig gelöst, mit 2 ml 6 N HCl versetzt und im Bombenrohr 15 h auf 110°C erhitzt. Das Hydrolysat trocknete man im Exsikkator über KOH ein und nahm den Rückstand in 2 ml Wasser auf. Man chromatographierte mit authent. Verbindungen absteigend auf Papier in den Fließmittelsystemen: 1) Butanon/Eisessig/Ameisensäure/Wasser (40:2:1:6)<sup>18)</sup>, 2) *n*-Butanol/Eisessig/Wasser (4:1:5) obere Phase<sup>19)</sup>, 3) *n*-Butanol/Wasser/Aceton/konz. Ammoniak (200:150:25:25) obere Phase<sup>20)</sup>, 4) *n*-Butanol, gesättigt mit 10proz. wäßriger Diäthylaminlösung<sup>21)</sup>, 5) *tert*-Butylalkohol (95 proz.)/Borat-Puffer vom pH 8.4 (85:15)<sup>19)</sup> und 6) *n*-Butanol/Benzylalkohol/Borat-Puffer vom pH 8.4 (45:45:8)<sup>22)</sup>. System 7) Butanon/Pyridin/Wasser/Eisessig (70:15:15:2)<sup>23)</sup> verwendete man bei Celluloseplatten. In den Systemen 1) und 2) läßt sich *p*-Tyramin von den *meta*- und *ortho*-Isomeren unterscheiden, außerdem färben sich die Tyramine mit Diazosulfanilsäure unterschiedlich an. Die *erythro*- und *threo*-Isomeren der  $\alpha$ -Amino- $\beta$ -hydroxysäuren, die mit Ninhydrin sichtbar gemacht werden, zeigen in den Systemen 3) und 4) unterschiedliche  $R_f$ -Werte, in 5) und 6) unterscheidet man Phenylalanin, Leucin und Isoleucin bzw. ihre *N,N*-Dimethyl-Derivate auf puffer-impregniertem Papier. System 7) eignet sich für den gleichen Zweck.

Aus dem Hydrolysat von *Dihydroscutianin-C* wurden *p*-Tyramin, Phenylalanin und *N,N*-Dimethylisoleucin identifiziert; die Hydrolysate von *Dihydroscutianin-D* und -E enthielten gleichermaßen *p*-Tyramin, *threo*- $\beta$ -Phenylserin und *N,N*-Dimethylphenylalanin.

*Acetylierungen*: Je 80 mg 4 bzw. 5 wurden in 10 ml Pyridin mit 10 ml Acetanhydrid versetzt. Nach 24stdg. Stehenlassen bei Raumtemp. wurde in üblicher Weise aufgearbeitet; die Reaktionsprodukte wurden an präparativen Kieselgelschichten im System II (Acetylscutianin-D) und I (Acetylscutianin-E) gereinigt.

*O*-Acetylscutianin-D (amorph):  $[\alpha]_D^{20} = -140^\circ$  ( $c = 0.1$ ;  $\text{CHCl}_3$ ).

IR ( $\text{CHCl}_3$ ): 3370 (NH), 2780 (NCH<sub>3</sub>), 1745 (Ester), 1680 (Amid), 1620 (C=C), 1230 und 1030  $\text{cm}^{-1}$  (Phenoläther). — NMR: Vgl. Tab. I.

*O*-Acetylscutianin-E kristallisierte aus Äthanol/Wasser in farblosen Nadeln vom Schmp. 178–180°C;  $[\alpha]_D^{20} = +52.1^\circ$  ( $c = 0.1$ ;  $\text{CHCl}_3$ ).

IR ( $\text{CHCl}_3$ ): 3360 (NH), 2780 (NCH<sub>3</sub>), 1740 (Ester), 1680 (Amid), 1620 (C=C), 1240 und 1040  $\text{cm}^{-1}$  (Phenoläther). — NMR: Vgl. Tab. I.

<sup>18)</sup> L. Reio, J. Chromatogr. 4, 458 (1960).

<sup>19)</sup> J. M. Hais und K. Macek, Handbuch der Papierchromatographie, Bd. 1, S. 523–533, 959, VEB Verlag G. Fischer, Jena 1963.

<sup>20)</sup> K. N. F. Shaw und S. W. Fox, J. Amer. Chem. Soc. 75, 3421 (1953).

<sup>21)</sup> T. L. Hardy und D. O. Holland, Chem. Ind. (London) 1952, 855.

<sup>22)</sup> E. F. McFarren, Anal. Chem. 23, 168 (1951).

<sup>23)</sup> P. Wollenweber, J. Chromatogr. 9, 369 (1962).

**Ozonolysen:** 50 mg Substanz (Ausgangsverbindung oder Acetat) wurden in 100 ml Ameisensäure gelöst und 12 h bei Raumtemp. ozonisiert. Nach Abziehen der Ameisensäure hydrolysierte man mit 15 ml HBr (48proz.) unter N<sub>2</sub>-Atmosphäre 2 h bei 110°C. HBr wurde dann i. Vak. soweit wie möglich abgezogen und das Hydrolysat über KOH getrocknet. Den Rückstand nahm man mit 20 ml Wasser auf, brachte diese Lösung auf einen Dowex 50 WX2-Kationenaustauscher und wusch mit Wasser bis zur neutralen Reaktion des Eluats. Danach wurde mit 2N Ammoniak eluiert, dieses Eluat i. Vak. eingedampft und mit synthet. *threo*- bzw. *erythro*- $\beta$ -Hydroxyleucin in den Systemen 3) und 4) chromatographiert.

Aus 1, 3, 4 und 5 wurde jeweils *erythro*- $\beta$ -Hydroxyleucin identifiziert.

**Konfigurationsbestimmung mit L-Aminosäure-Oxidase<sup>24)</sup>:** 7 mg L-Aminosäure-Oxidase aus *Crotalus atrox* (Serva) wurden in 2 ml 0.005 M Tris-HCl-Puffer vom pH 7.2 gelöst, dazu wurde 1 ml Aminosäurelösung (Hydrolysat) gegeben und 18 h bei 37°C in O<sub>2</sub>-Atmosphäre inkubiert. Nach dem Einengen der Reaktionslösung auf etwa 1 ml chromatographierte man mit Vergleichssubstanzen und einer unbehandelten Probe Hydrolysat auf Papier. Verwendet wurden nur Hydrolysate der Dihydro-Derivate und der Ozonolysen, die zuvor wie oben beschrieben am Ionenaustauscher gereinigt, eingedampft und in 2 ml Wasser aufgenommen worden waren.

Danach enthalten 3, 4 und 5 folgende Aminosäuren

3: *L*-*erythro*- $\beta$ -Hydroxyleucin und *L*-Phenylalanin;

4: *L*-*erythro*- $\beta$ -Hydroxyleucin und *L*-*threo*- $\beta$ -Phenylserin;

5: *D*-*erythro*- $\beta$ -Hydroxyleucin und *D*-*threo*- $\beta$ -Phenylserin.

**Vergleichssubstanzen,** die nicht im Handel erhältlich sind, wurden synthetisiert, und zwar *erythro*- $\beta$ -Phenylserin nach Harada<sup>25)</sup> und *threo*- bzw. *erythro*- $\beta$ -Hydroxyleucin nach Ikutani<sup>26)</sup>. Die *N,N*-Dimethylaminosäuren wurden nach Bowman dargestellt<sup>27)</sup>.

<sup>24)</sup> l. c.<sup>14)</sup>, Bd. 2, S. 1792.

<sup>25)</sup> K. Harada, J. Org. Chem. 31, 1407 (1966).

<sup>26)</sup> Y. Ikutani, T. Okuda und S. Akabori, Bull. Chem. Soc. Japan 33, 582 (1960).

<sup>27)</sup> R. E. Bowman, J. Chem. Soc. 1950, 1342.