

Alkaloide in *Tabernaemontana*-Arten, V¹⁾

Accedin und $N_{(a)}$ -Methyl-epi-affinin, zwei neue Alkaloide aus *Tabernaemontana accedens*

Hans Achenbach* und Egmont Schaller

Chemisches Laboratorium der Universität Freiburg i. Br.,
D-7800 Freiburg i. Br., Albertstr. 21

Eingegangen am 21. April 1975

Bei der Untersuchung der basischen Inhaltsstoffe von *Tabernaemontana accedens* fielen die neuen Alkaloide Accedin (4) und $N_{(a)}$ -Methyl-epi-affinin (13) an, über deren Strukturermittlung berichtet wird.

Alkaloids in *Tabernaemontana*-Species, V¹⁾

Accedine and $N_{(a)}$ -Methyl-epi-affinine, Two New Alkaloids from *Tabernaemontana accedens*

During the investigation of the basic constituents in *Tabernaemontana accedens* the new alkaloids accedine and $N_{(a)}$ -methyl-epi-affinine were isolated and their structures have been determined to be 4 and 13, respectively.

Der Genus *Tabernaemontana* gehört zur großen Familie der *Apocynaceae* und umfaßt mehr als 140 Arten, die in tropischen und subtropischen Gebieten Afrikas und Amerikas beheimatet sind²⁾. *Tabernaemontana accedens* Muell.-Arg. ist eine bisher noch nicht näher untersuchte südamerikanische Spezies, in der aufgrund von Screening-Tests Alkaloide zu erwarten waren³⁾.

Wir haben die Basen aus der Wurzelrinde dieser Pflanze aufgearbeitet und ihre Strukturen genauer studiert. Heute soll in diesem Zusammenhang über das Hauptalkaloid Accedin und ein weiteres neues Alkaloid berichtet werden, für die wir die Strukturen 4 und 13 vorschlagen.

Accedin (4) ist zu etwa 10% in den Gesamtbasen von *T. accedens* enthalten und fällt bei der chromatographischen Trennung mit Sephadex LH 20- und Kieselgel-Säulen in farblosen Nadeln an: Schmp. 148–149°C, $C_{20}H_{24}N_2O_2$, $[\alpha]_D^{20} = +72^\circ$.

Spektroskopische Untersuchungen

Das UV-Spektrum (λ_{\max} 226 und 284 nm) spricht für ein Indol, dessen Benzolring nicht substituiert ist.

¹⁾ IV. Mittel.: H. Achenbach, Z. Naturforsch. 22B, 955 (1967).

²⁾ A. Engler, Syllabus der Pflanzenfamilien, 12. Aufl., Bd. 2, S. 412, Gebr. Bornträger, Berlin 1964.

³⁾ J. J. Willaman und Hui-Lin Li, Alkaloid-Bearing Plants and Their Contained Alkaloids 1957–1968, S. 51, Lloydia, Cincinnati, Ohio 1970.

Im Massenspektrum (Abb. 1) erscheint ein intensives Molekülion, das im oberen Massenbereich bevorzugt 17 und 31 ME abspaltet. Der Base Peak tritt im mittleren Massenbereich bei m/e 198 auf und ist von einem starken Ion bei m/e 199 begleitet.

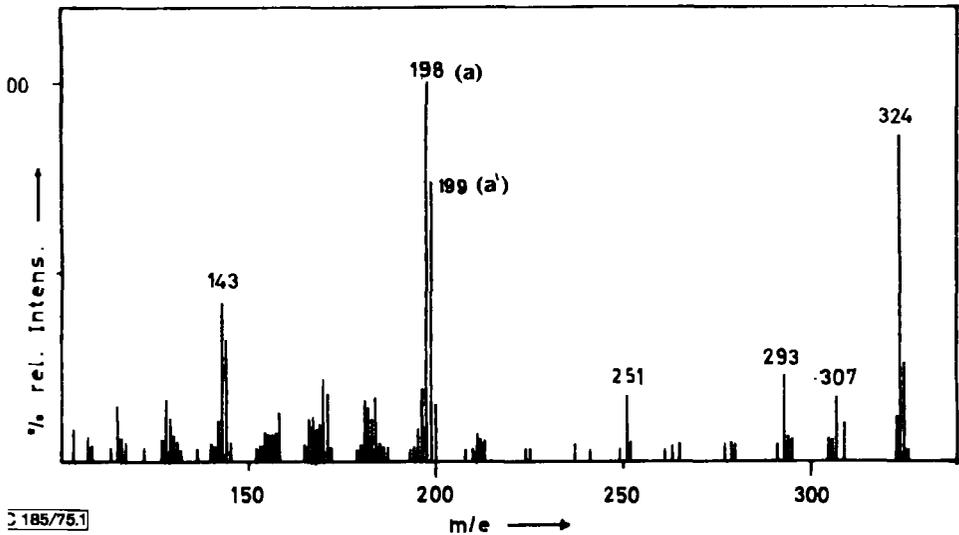
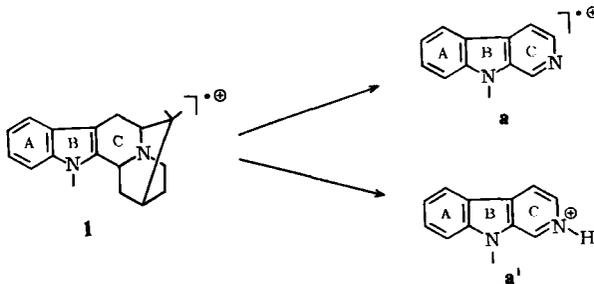


Abb. 1. Massenspektrum des Hauptalkaloids Accedin (4)

Dieses Fragmentierungsverhalten weist auf eine Struktur hin mit dem Ringsystem 1, wie es im Sarpagin (2) vorliegt⁴⁾, wobei der Verlust von 17 ME aus dem Molekülion allerdings ungewöhnlich ist.

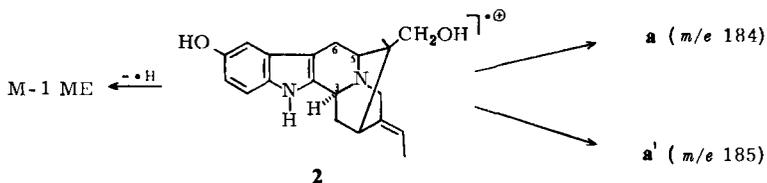


Die Elementarzusammensetzung der Schlüsselfragmente **a** und **a'** bei m/e 198 ($C_{12}H_{10}N_2O$) bzw. m/e 199 ($C_{12}H_{11}N_2O$) ist hiermit in Übereinstimmung und verlangt für Accedin im Bereich der Ringe A, B und C Substituenten entsprechend den „zusätzlichen“ Atomen C_1 , H_2 und O_1 .

Massenspektren von Verbindungen des Sarpagin-Typs sind ausgezeichnet durch ein sehr intensives Ion bei $M - 1$ ME, das durch Abspaltung des Wasserstoffs an C-3 er-

⁴⁾ K. Biemann, Tetrahedron Lett. 1960, (15) 9; J. Amer. Chem. Soc. 83, 4801 (1961).

klärt wird⁵⁾. Ein Ion bei $M - 1$ ME tritt im Massenspektrum des Accedins in entsprechender Intensität nicht auf.



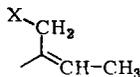
Sieht man diese Beobachtung im Zusammenhang mit dem bereits erwähnten Fragment bei $M - 17$ ME, so liegt die Erklärung nahe, daß der Wasserstoff an C-3 durch OH substituiert ist.

Dem entsprechen die Ergebnisse der MS-Untersuchungen nach H/D-Austausch: Accedin besitzt zwei austauschbare Wasserstoffatome und die MS-Übergänge im oberen Massenbereich sind der Abspaltung von $\cdot\text{OH}$ ($M - 17$ ME) bzw. $\cdot\text{CH}_2\text{OH}$ ($M - 31$ ME) zuzuordnen. Hierbei muß es sich um zwei verschiedene OH-Gruppen handeln, denn der Indol-Stickstoff ist aufgrund des $^1\text{H-NMR}$ -Spektrums (s. u.) methyliert. Die Schlüsselfragmente **a** und **a'**, die auch im Hinblick auf ihren Sauerstoffgehalt eine OH-Gruppe enthalten müssen, erscheinen nach H/D-Austausch um 1 ME nach höherer Masse verschoben. Diese OH-Gruppe kann sich nur im Ring C befinden, da phenolische Hydroxyl-Funktionen UV-spektroskopisch nicht nachweisbar sind, und sie sollte dort an C-3 lokalisiert werden, weil für eine Hydroxylierung der Positionen C-5 oder C-6 eine abweichende MS-Fragmentierung zu erwarten wäre.

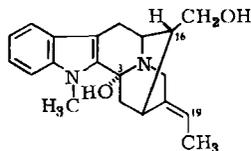
Im $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum erkennt man folgende Signale:

δ 6.6 – 7.1 ppm	insgesamt 4 aromatische Protonen
δ 3.51 (3H, s)	$>\text{N}-\text{CH}_3$
δ 5.29 (1H, q, $J = 6.5$ Hz)	$>\text{C}=\text{CH}-\text{CH}_3$
δ 1.53 (3H, d, $J = 6.5$ Hz)	$-\text{CH}_2-\text{O}-$
δ 3.34 (2H, d, $J = 7$ Hz)	$\text{X}-\text{CH}_2-\text{C}\leq$
δ 4.15 (1H, d-verbreitert, $J = 16$ Hz)	
δ 3.02 (1H, d-verbreitert, $J = 16$ Hz)	

Aufgrund von Einstrahlungsexperimenten ist die der geminalen Kopplung überlagerte Verbreiterung des AB-Systems (δ 4.15 und 3.02) wesentlich durch allyliche Kopplung verursacht und daher das Strukturelement **3** festgelegt:



3 (X = O oder N)



4 absol. Konfiguration

⁵⁾ M. Hesse in Fortschritte der Massenspektrometrie, Bd. 1, Indolalkaloide (Herausgeber: H. Budzikiewicz), S. 157, Verlag Chemie, Weinheim 1974.

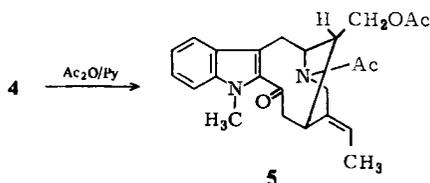
Aus diesen spektroskopischen Untersuchungen ergibt sich für Accedin der Strukturvorschlag **4**, wobei die relative Konfiguration zwischen C-16 und dem Substituenten an C-3 durch das überbrückte Chinolizidin-Ringsystem vorgegeben ist. Die sterische Anordnung für C-16 und auch C-19 sowie die absolute Konfiguration werden später abgeleitet (s. u.).

Alkaloide mit dem Grundgerüst des 3-Hydroxysarpagins wurden bisher im Perivin (**12**)⁶⁾, Voacarpin^{7, 8)} und 3-Hydroxyvoachalotin⁹⁾ angetroffen.

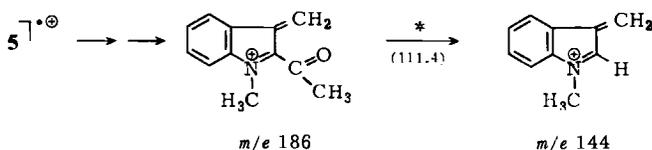
Chemische Umsetzungen

Bei der Acetylierung geht Accedin in eine Diacetyl-Verbindung über (Mol.-Masse 408; $[\alpha]_D^{20} = -55^\circ$). Diese Reaktion ist von einer drastischen Änderung des UV-Spektrums begleitet, das nach der Acetylierung die für 2-Acylindole typischen Maxima bei 315 und 238 nm aufweist^{10, 11)}.

Offensichtlich wird im Zuge der Acetylierung die cyclische Carbinol-Amin-Gruppierung in **4** zum Carbonyl-Acetamid **5** geöffnet:



Hiermit in Übereinstimmung sind im IR von **5** eine breite Bande bei 1635 cm^{-1} (2-Acylindol und tert. Amid) und eine Bande bei 1735 cm^{-1} (Ester-Acetyl). Auch der beobachtete massenspektrometrische Zerfall mit Schlüsselfragmenten bei m/e 186 und 144 entspricht einem 2-Acylindol mit alicyclischem Stickstoff, dessen Basizität durch Acylierung herabgesetzt ist⁷⁾:



Während Methylierungsversuche mit $\text{CH}_2\text{O}/\text{HCO}_2\text{H}$ erfolglos blieben, erhält man mit CH_2O in Gegenwart von katalytisch erregtem Wasserstoff in glatter Reaktion ein Monomethyl-Produkt, dessen UV-Spektrum ebenfalls einen 2-Acylindol-Chromophor anzeigt (Mol.-Masse 338; $[\alpha]_D^{20} = -248^\circ$).

⁶⁾ M. Gorman und J. Sweeny, *Tetrahedron Lett.* **1964**, 3105.

⁷⁾ M. Denayer-Tourmay, J. Pecher, R. H. Martin, M. Friedmann-Spiteller und G. Spiteller, *Bull. Soc. Chim. Belges* **74**, 170 (1965).

⁸⁾ J. C. Braekman, M. Kaisin, J. Pecher und R. H. Martin, *Bull. Soc. Chim. Belges* **75**, 465 (1966).

⁹⁾ B. Gabetta, E. M. Martinelli und G. Mustich, *Fitoterapia* **45**, 32 (1974); E. Bombardelli, A. Bonati, B. Danieli, B. Gabetta und G. Mustich, *Phytochemistry* **13**, 2857 (1974).

¹⁰⁾ M. Gorman, N. Neuss, N. J. Cone und J. A. Deyrup, *J. Amer. Chem. Soc.* **82**, 1142 (1960).

¹¹⁾ J. A. Weisbach und B. Douglas, *Chem. Ind. (London)* **1965**, 623; **1966**, 233.

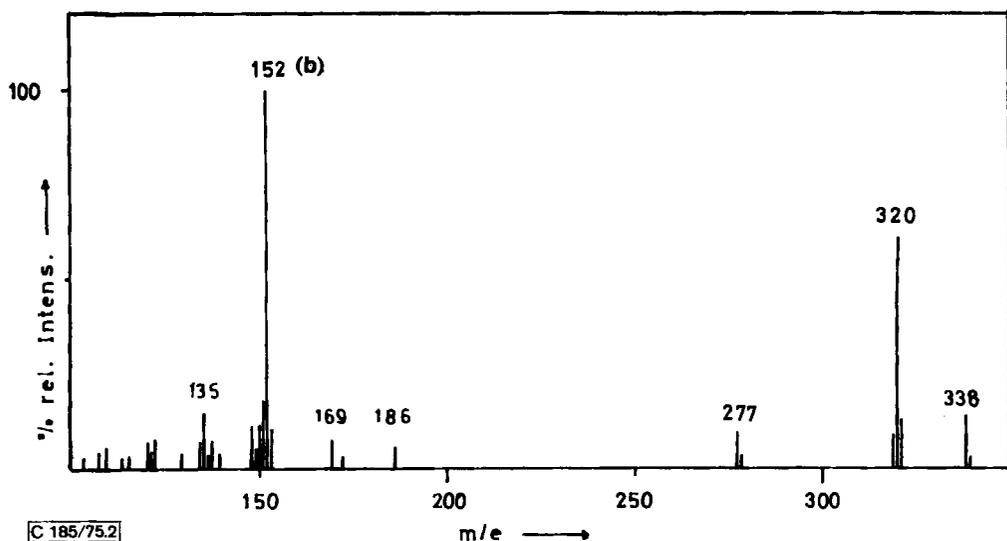
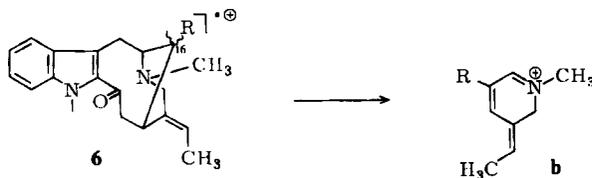
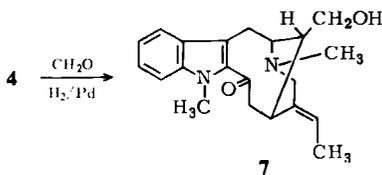


Abb. 2. Massenspektrum des Methylierungsproduktes von Accedin

Das MS-Fragmentierungsverhalten (Abb. 2) ist korrelierbar mit einer Struktur, wie sie in Alkaloiden vom Vobasin-Typ (**6**) vorliegt¹²⁾.



Charakteristisch für **6** ist das Schlüsselfragment **b**, das aus dem alicyclischen Teil des Moleküls entsteht. Im Massenspektrum des Methylierungsproduktes von Accedin erscheint **b** bei m/e 152 in Übereinstimmung mit Struktur **7**.



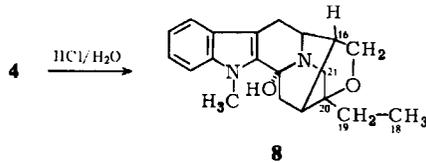
Unter dem Einfluß von konz. Salzsäure (70°C/24 h) wird Accedin fast quantitativ isomerisiert zu einer Verbindung vom Schmp. 204–205°C, $[\alpha]_D^{20} = +62^\circ$. Das Isomere besitzt den gleichen UV-Chromophor wie Accedin und eine unveränderte Carbinol-Amin-Gruppierung, denn die Acetylierung führt ebenfalls zu einem $N_{(b)}$ -Acetyl-2-acetylindol (λ_{\max} 238 und 315 nm, ν_{CO} 1638 cm^{-1}). Im Gegensatz zum Accedin fällt bei der Acetylierung jetzt aber nur ein Monoacetyl-Produkt an, das keine Esterbande im IR

¹²⁾ U. Renner, D. A. Prins, A. L. Burlingame und K. Biemann, *Helv. Chim. Acta* **46**, 2186 (1963).

und auch keine im neutralen Medium durch D austauschbaren Wasserstoffatome enthält. Im Zuge der protonen-katalysierten Isomerisierung muß daher die primäre Alkohol-Gruppe des Accedins verändert worden sein. Daß auch die Äthyliden-Gruppierung an der Isomerisierung beteiligt und eine Cyclisierung zum Cycloaccedin erfolgt ist, läßt sich den wesentlichen $^1\text{H-NMR}$ -Daten entnehmen:

δ 6.6 – 7.1 ppm	insgesamt 4 aromatische Protonen
δ 3.63 (3 H, s)	$>\text{N}-\text{CH}_3$
δ 0.95 (3 H, t, $J = 7$ Hz)	$-\text{CH}_2-\text{CH}_3$
keine Signale von δ 6.6 – 3.63	

Aus der Äthyliden-Gruppierung ist eine Äthyl-Seitenkette geworden. Das Signal der zugehörigen CH_2 -Protonen erscheint auf der Flanke einer Signalhäufung als Quartett bei δ 1.50, was die Nachbarschaft eines quartären Kohlenstoffatoms fordert und für das entstandene Cycloaccedin zum Strukturvorschlag **8** berechtigt.



Erwartungsgemäß wird im $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum von **8** auch die durch allylische Kopplung verursachte Verbreiterung des AB-Systems der geminalen Protonen an C-21 (siehe **3**) nicht mehr beobachtet. Durch Einsatz deuterierter Reagentien für die Cyclisierung und anschließenden protonen-katalysierten Rücktausch der vier Deuterium-Atome des Benzolringes erhält man monodeutiertes **8**, das ausschließlich an C-19 deuteriert ist (δ 0.95 ppm, 3 H, d, $J = 7$ Hz).

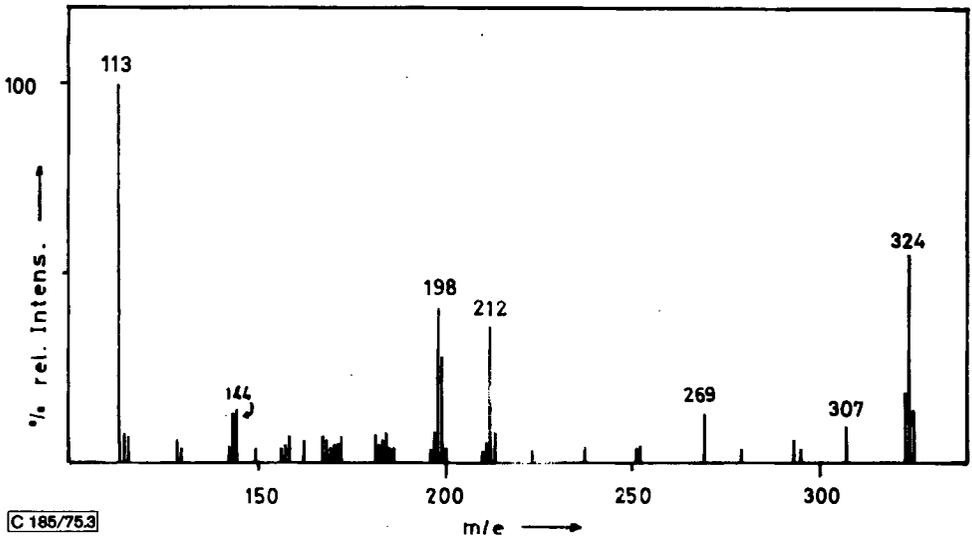
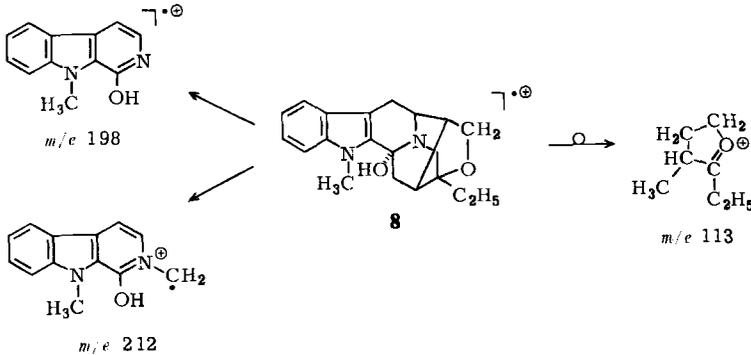


Abb. 3. Massenspektrum des Cycloaccedins (**8**)

Im Massenspektrum des Cycloaccedin (Abb. 3) treten drei wesentliche Fragmente auf, für die wir in Übereinstimmung mit hochaufgelösten Daten und Deuterierungsexperimenten folgende Strukturen formulieren:

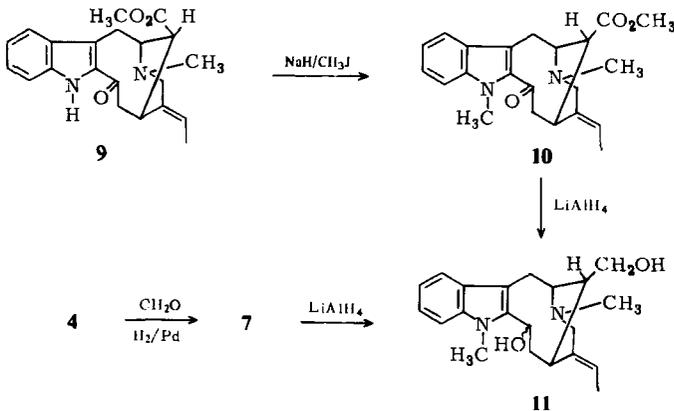


Bei Behandlung mit Säure beobachtete man auch am Voacarpin eine Isomerisierung⁷⁾; die Struktur des dabei entstandenen Produktes wurde allerdings nicht näher untersucht.

Die glatte Cycloisomerisierung von 4 ist nur verständlich bei räumlicher Nachbarschaft der Alkohol-Gruppe zur Äthyliden-Doppelbindung. Um mit diesem Argument die Konfiguration an C-16 in 4 festzulegen, haben wir geprüft, ob bei den angewendeten Reaktionsbedingungen dem Cyclisierungsschritt eine Veränderung des Moleküls vorausgegangen sein kann: Hierfür wurde die HCl-Behandlung unter Bedingungen durchgeführt (konz. Salzsäure/40°C/12 h), bei denen nur ein teilweiser Umsatz zu 8 erfolgt. Neben 8 (ca. 5%) konnten wir im Reaktionsansatz nur unverändertes Ausgangsmaterial nachweisen (DC, ¹H-NMR, [α]).

Damit ist für Accedin die Stereo-Anordnung an C-16 abgeleitet (s. Formel 4).

Zum Beweis von Formel 4 und zur Absicherung der Konfiguration an C-19 wurde natürliches Vobasin (9)¹³⁾ mit NaH/CH₃J umgesetzt, wobei neben Methylierungsreaktionen unter dem Einfluß der Base auch eine Epimerisierung an C-16 erfolgt^{12,*)}.



*) Durch Behandlung von Vobasin mit NaH (5h/Raumtemp. in THF) erhält man epi-Vobasin und andere Umsetzungsprodukte; Vobasin ist nicht mehr nachweisbar.

¹³⁾ U. Renner, *Experientia* **15**, 185 (1959).

Aus dem entstandenen Gemisch wurde **10** DS-chromatographisch abgetrennt und mit LiAlH_4 zum Diol (**11**) reduziert. **11** ist identisch mit dem Produkt der LiAlH_4 -Reduktion von **7** (=Methylierungs-Produkt von Accedin).

Im Hinblick auf die Röntgenstrukturanalyse des Vobasins (**9**)¹⁴ ist damit für Accedin auch die in Formel **4** angegebene absolute Konfiguration festgelegt.

In den IR- und UV-Spektren von **4** ist eine Carbonyl-Funktion nicht nachweisbar. Accedin liegt hier offensichtlich bevorzugt als Carbinolamin vor. Demgegenüber wird am Perivin (**12a**, **12b**) in MeOH-Lösung ein Gleichgewicht mit überwiegender Anteil der 2-Acylindol-Form (**12b**) beobachtet⁶.



$N_{(a)}$ -Methyl-epi-affinin (Schmp. 208–210°C; $\text{C}_{21}\text{H}_{26}\text{N}_2\text{O}_2$; $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = -243^\circ$) ist ein Nebenalkaloid in *Tabernaemontana accedens*. Das UV-Spektrum zeigt eine Verbindung vom 2-Acylindol-Typ an^{10,11}. Das Massenspektrum (Abb. 4) läßt sich mit der Fragmentierung eines Alkaloids vom Vobasin-Typ (**6**) korrelieren, wenn C-16 eine Alkohol-Gruppe trägt – wie im Affinin¹⁵ bzw. 16-epi-Affinin¹⁶ – und zusätzlich der Indolstickstoff methyliert ist.

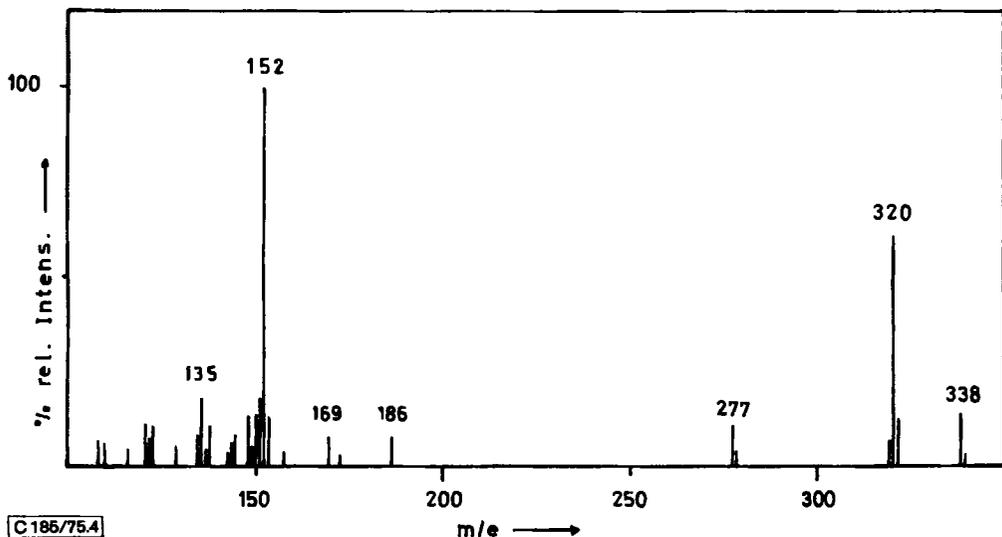


Abb. 4. Massenspektrum des Nebenalkaloids $N_{(a)}$ -Methyl-epi-affinin (**13**)

¹⁴) H. Jaggi und U. Renner, *Chimia* **18**, 173 (1964).

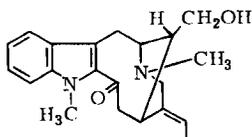
¹⁵) M. P. Cava, S. K. Talapatra, J. A. Weisbach, B. Douglas, R. F. Raffauf und O. Ribeiro, *Chem. Ind. (London)* 1964, 1193.

¹⁶) J. Naranjo, M. Pinar, M. Hesse und H. Schmid, *Helv. Chim. Acta* **55**, 752 (1972).

Hiermit stimmt überein, daß nur ein mit D austauschbares Wasserstoffatom feststellbar ist und durch Acetylierung ein Monoacetyl-Derivat entsteht (Mol.-Masse 380; ν_{OAc} 1725 cm^{-1}).

Im $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum des isolierten Alkaloids treten zwei Singulets (je 3H) auf bei δ 4.07 und 2.57 ppm: $>\text{N}_{(a)}\text{-CH}_3$ bzw. $>\text{N}_{(b)}\text{-CH}_3$.

Die Bestätigung der spektroskopisch ermittelten Konstitution und die Ableitung der Konfiguration folgt aus dem Vergleich des Nebenalkaloids mit 7: Das isolierte Nebenalkaloid ist mit dem bei der Methylierung des Accedins erhaltenen Produkt 7 identisch (Misch-Schmp.; Spektren; $[\alpha]$) und besitzt daher die Struktur 13 des $\text{N}_{(a)}$ -Methyl-epi-affinins.



13 absol. Konfiguration

Der Deutschen Forschungsgemeinschaft und dem Fonds der Chemie danken wir für die Unterstützung dieser Arbeit.

Experimenteller Teil

Die Schmelzpunkte wurden auf einem Kofler-Heiztischmikroskop (Fa. Reichert) bestimmt und sind unkorrigiert. Soweit nicht anders vermerkt, erfolgte die Registrierung der IR-Spektren in CHCl_3 -Lösung mit einem Spektralphotometer vom Typ Perkin-Elmer 125; UV-Spektren wurden in MeOH p. a. mit einem Spektralphotometer DMR 21 (Fa. Zeiss) aufgenommen. Die $^1\text{H-NMR}$ -Spektren erhielten wir mit Geräten vom Typ HA 100 (Fa. Varian) und WH 90 (Fa. Bruker-Physik) in CDCl_3 -Lösung. Innerer Standard Tetramethylsilan. Die Massenspektren wurden mit einem CH_4 -Massenspektrometer (Fa. Varian-MAT) aufgenommen; Ionenquelle TO 4; Ionisierungsenergie 70 eV; Einlaß der Substanzen über die Ofenschleuse. Die hochaufgelösten Daten bestimmten wir mit einem doppeltfokussierenden Massenspektrometer vom Typ SM1B (Fa. Varian-MAT) nach der „Peak-matching“-Methode bei einer Auflösung von $M/\Delta M = 14000$ (10% Tal).

Zur Dünnschichtchromatographie verwendeten wir – soweit nicht anders vermerkt – Platten beschichtet mit Kieselgel H (Fa. Merck); Schichtdicke 0.25 mm. Für die präparative DS-Chromatographie wurden die Platten vor der Aktivierung nacheinander in MeOH und $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$ (90/10, v/v) gewaschen. Zur Detektion kamen in Anwendung: Joddampf und der Fluoreszenzindikator F_{254} (Fa. Merck). Wir entwickelten – soweit nicht anders vermerkt – in den Standardsystemen I: Chloroform/Methanol (90/10, v/v) und II: Chloroform/Methanol (80/20, v/v).

Aufarbeitung des Pflanzenmaterials

2 kg Wurzelrinde von *Tabernaemontana accedens* Muell.-Arg. wurden mit heißem Methanol extrahiert. Man engte den Methanolextrakt i. Vak. ein und nahm ihn anschließend in einer Mischung aus 500 ml Methanol und 1500 ml 10proz. wäbr. Essigsäure wieder auf. Diese Lösung wurde zunächst viermal mit je 500 ml Hexan und dann viermal mit je 500 ml Benzol gewaschen. Danach stellte man die wäbr. Phase mit Natriumcarbonat auf pH 10.5 ein und extrahierte sechsmal mit je 1 Liter Chloroform. Die vereinigten Chloroformauszüge wurden getrocknet und ergaben beim Einengen i. Vak. 13 g Rohbasen.

Auftrennung der Rohbasen

Der Rohextrakt wurde in sechs gleichen Anteilen an je 80 g Sephadex LH 20 (Säulendurchmesser 2.5 cm) chromatographiert; eluiert wurde mit Chloroform/Methanol (3/7, v/v). Wir haben 40 Fraktionen A zu je 12.5 ml aufgefangen, DS-chromatographisch mit dem Standardsystem I untersucht und entsprechende Fraktionen vereinigt. Bei jeder Säulenchromatographie fielen an:

Fraktionen A 7–10: 500 mg	A 16–22: 430 mg
A 11–15: 1.2 g	A 23–34: 25 mg

Die aus den sechs parallel durchgeführten Säulenchromatographien A erhaltenen und vereinigten Fraktionen A 16–22 (insges. 2.6 g) wurden in vier Portionen zu je 650 mg an je 80 g Sephadex LH 20 in gleicher Weise rechromatographiert. Dabei wurden 25 Fraktionen B zu je 12.5 ml aufgefangen und nach DS-chromatographischer Überprüfung mit dem Standardsystem I entsprechend vereinigt:

Fraktionen B 6–8: ca. 15 mg	B 13–14: 55 mg
B 9–12: 600 mg	B 15–25: ca. 10 mg

Die aus den vier parallel verarbeiteten Ansätzen erhaltenen Fraktionen B 9–12 (insges. 2.4 g) haben wir an 150 g Kieselgel (Mallinckrodt, Fa. Serva) adsorbiert (Säulendurchmesser 2 cm) und eluiert mit: 1 Liter Chloroform, 400 ml Chloroform/Methanol (99/1, v/v), 2.5 Liter Chloroform/Methanol (97/3, v/v) und 200 ml Methanol. Es wurden 600 Fraktionen C zu je 7 ml aufgefangen und mit dem Standardsystem I untersucht.

Accedin (4): Die vereinigten Fraktionen C 336–349 wurden i. Vak. zur Trockne eingeengt (850 mg Rückstand) und aus Methanol kristallisiert. Mehrmaliges Umkristallisieren aus Methanol ergab 600 mg farblose Nadeln vom Schmp. 148–149°C, $[\alpha]_D^{20} = +72^\circ$ ($c = 0.096$ in CHCl_3), R_F 0.33 (Standardsystem I).

MS: Siehe Abb. 1; mit CH_3OD tauscht *Accedin* zwei Wasserstoffe aus. – Hochaufgelöste MS-Daten: m/e 324.1838 ($\text{C}_{20}\text{H}_{24}\text{N}_2\text{O}_2, \text{M}^+$), 199.0867 ($\text{C}_{12}\text{H}_{11}\text{N}_2\text{O}$), 198.0797 ($\text{C}_{12}\text{H}_{10}\text{N}_2\text{O}$). – UV: λ_{max} (lg ϵ) = 226 (4.52), 284 nm (3.85). – IR: 3600 cm^{-1} (OH). – $^1\text{H-NMR}$ (100 MHz): δ 6.6–7.1 ppm (3H, m, arom. H), 6.65 (1H, d, $J = 8$ Hz, arom. H), 5.29 (1H, q, $J = 6.5$ Hz), 4.15 (1H, d-verbreitet, $J = 16$ Hz), 3.51 (3H, s, $>\text{N-CH}_3$), 3.34 (2H, d, $J = 7$ Hz, $-\text{CH}_2-\text{O}$), 3.02 (1H, d-verbreitet, $J = 16$ Hz), 2.43–2.77 (3H, m), 2.12 (1H, d, $J = 14$ Hz), 1.79 (2H, d?), 1.53 (3H, d, $J = 6.5$ Hz, CH_3).

$\text{C}_{20}\text{H}_{24}\text{N}_2\text{O}_2$ (324.4) Ber. C 74.07 H 7.40 N 8.64 Gef. C 73.82 H 7.40 N 8.85

*N*_(a)-Methyl-*epi-affinin* (13): Die vereinigten Mutterlaugen nach der Kristallisation von *Accedin* wurden an 16.5 g basischem Aluminiumoxid (Woelm, Akt.-St. II, Säulendurchmesser 1 cm) chromatographiert mit 100 ml Benzol, 100 ml Benzol/Chloroform (95/5, v/v), 350 ml Benzol/Chloroform (90/10, v/v), 400 ml Benzol/Chloroform (80/20, v/v), 200 ml Benzol/Chloroform (50/50, v/v), 350 ml Benzol/Chloroform (30/70, v/v) und 100 ml Methanol. Es wurden 400 Fraktionen D zu je 4 ml aufgefangen und nach DS-chromatographischer Untersuchung mit dem Standardsystem I wie folgt vereinigt:

Fraktionen D 230–320: 14 mg <i>N</i> _(a) -Methyl- <i>epi-affinin</i>
D 321–345: 23 mg Gemisch
D 346–380: 150 mg <i>Accedin</i>

Die vereinigten Fraktionen D 230–320 haben wir aus Methanol umkristallisiert und erhielten 10 mg farblose rechteckige Plättchen vom Schmp. 208–210°C (Zers.), $[\alpha]_D^{20} = -243^\circ$ ($c = 0.05$ in CHCl_3), R_F 0.26 (Standardsystem I).

MS: Siehe Abb. 4; mit CH_3OD tauscht *N*_(a)-Methyl-*epi-affinin* ein Wasserstoffatom aus. – Hochaufgelöste MS-Daten: m/e 338.2009 ($\text{C}_{21}\text{H}_{26}\text{N}_2\text{O}_2, \text{M}^+$), 320.1878 ($\text{C}_{21}\text{H}_{24}\text{N}_2\text{O}$), 152.1077

(C₉H₁₄NO). – UV: λ_{\max} (lg ϵ) = 240 (4.08), 317 nm (4.07). – IR: 1635 cm⁻¹ (C=O). – ¹H-NMR (90 MHz): δ 7.05–7.48 ppm (3H, m, arom. H), 7.72 (1H, d, J = 8 Hz, arom. H), 5.49 (1H, q-verbreitet, J = 7 Hz), 4.07 (3H, s, >N_(a)–CH₃), 2.57 (3H, s, >N_(b)–CH₃), 1.72 (3H, dd, J_1 = 7 Hz, J_2 = 1.5 Hz).

Acetylierung von Accedin (zu 5): 100 mg 4 wurden bei Raumtemp. 12 h mit 3 ml Acetanhydrid/Pyridin (1/1) stehengelassen und anschließend i. Vak. zur Trockne eingengt. Man reinigte das Produkt durch präparative Dünnschichtchromatographie auf Kieselgel-Platten (Standardsystem I) und erhielt 80 mg farblose, nicht kristallisierbare Substanz mit R_F 0.57 (Standardsystem I), $[\alpha]_D^{20} = -55^\circ$ ($c = 0.34$ in CHCl₃).

MS: m/e 408 (36%, M⁺), 365 (14), 349 (24), 348 (26), 306 (16), 305 (15), 187 (15), 186 (100), 144 (39), 143 (13). – Hochoaufgelöste MS-Daten: m/e 408.1972 (C₂₄H₂₆N₂O₄), 348.1841 (C₂₂H₂₄N₂O₂), 186.0918 (C₁₂H₁₂NO). – UV: λ_{\max} (lg ϵ) = 238 (4.24), 315 nm (4.26). – IR: 1735 (C=O), 1635 cm⁻¹ (C=O). – ¹H-NMR (100 MHz): δ 7.06–7.80 ppm (4H, m, arom. H), 5.65 (1H, q, J = 7 Hz), 4.08 (3H, s, >N–CH₃), 2.17 (3H, s, CO–CH₃), 1.89 (3H, s, CO–CH₃), 1.66 (3H, d, J = 7 Hz, CH₃).

Methylierung von Accedin (zu 7): 20 mg 4 wurden in 10 ml wäbr. Formaldehyd (40 proz.)/Dioxan (1/1) mit 100 mg Palladium (10% auf Aktivkohle) unter Wasserstoff 5 h (Raumtemp./760 Torr) geführt. Nach Abfiltrieren des Katalysators wurde i. Vak. zur Trockne eingengt und durch präparative DS-Chromatographie (Standardsystem I) gereinigt. Man erhielt 15 mg 7 mit R_F 0.26 (Standardsystem I), die aus Methanol in farblosen Plättchen kristallisieren: Schmp. 207–209°C (Zers.), $[\alpha]_D^{20} = -248^\circ$ ($c = 0.06$ in CHCl₃), Misch-Schmp. mit N_(a)-Methyl-epi-affinin 206–209°C.

MS: Siehe Abb. 2; mit CH₃OD tauscht 7 ein Wasserstoffatom aus. – Hochoaufgelöste MS-Daten: m/e 338.2014 (C₂₁H₂₆N₂O₂, M⁺), 320.1879 (C₂₁H₂₄N₂O), 152.1078 (C₉H₁₄NO). – UV: λ_{\max} (lg ϵ) = 240 (4.11), 317 nm (4.12). – IR (in KBr): 1635 cm⁻¹ (C=O).

Cycloisomerisierung von Accedin (zu 8)

a) Bei 40°C: 3 mg 4 wurden 24 h mit 0.2 ml konz. Salzsäure bei 40°C stehengelassen, anschließend mit Ammoniak alkalisch gestellt und mit Chloroform extrahiert. DC-Kontrolle (Standardsystem II) zeigte neben überwiegend Ausgangsmaterial (R_F 0.42) ein Produkt mit R_F 0.64 an. Durch präparative DC wurden beide Substanzen getrennt. Die Verbindung mit R_F 0.42 war identisch mit 4 ($[\alpha]_D = +64^\circ$, MS, ¹H-NMR, DC: a) Standardsystem I, b) Aluminiumoxid-Platten basisch, Benzol/Essigester/Methanol (60/40/5, v/v/v)).

b) Bei 70°C: 40 mg 4 wurden 24 h mit 5 ml konz. Salzsäure bei 70°C stehengelassen, anschließend mit Ammoniak alkalisch gestellt und mehrmals mit Chloroform extrahiert. Nach Einengen i. Vak. fielen bei der Kristallisation aus Methanol 34 mg 8 in farblosen Kristallen an mit Schmp. 204–205°C, $[\alpha]_D^{20} = +62^\circ$ ($c = 0.15$ in CHCl₃), R_F 0.64 (Standardsystem I).

MS: Siehe Abb. 3; mit CH₃OD tauscht 8 ein Wasserstoffatom aus. – Hochoaufgelöste MS-Daten: m/e 324.1839 (C₂₀H₂₄N₂O₂), 212.0947 (C₁₃H₁₂N₂O), 198.0795 (C₁₂H₁₀N₂O), 113.0968 (C₇H₁₃O). – UV: λ_{\max} (lg ϵ) = 227 (4.50), 285 nm (3.77). – IR: keine Bande im C=O-Bereich. – ¹H-NMR (100 MHz): δ 6.6–7.1 ppm (4H, m, arom. H), 3.63 (3H, s, >N–CH₃), 3.44 (2H, s-verbreitet), 3.38 (1H, d, J = 14 Hz), 2.99 (1H, s-verbreitet), 2.44 (1H, d, J = 14 Hz), 2.13 bis 2.29 (2H, m), 1.39–1.87 (ca. 5H, m), 1.50 (auf Multipllett-Flanke, q, J = 7 Hz), 0.95 (3H, t, J = 7 Hz). C₂₀H₂₄N₂O₂ (324.4) Ber. C 74.07 H 7.40 N 8.64 Gef. C 73.70 H 7.48 N 8.94

c) Bei 70°C mit DCl: 10 mg 4 wurden 24 h in 2 ml D₂O/HCl (hergestellt durch Sättigen von D₂O mit trockenem HCl) stehengelassen, anschließend mit Ammoniak alkalisch gestellt und mehrmals mit Chloroform extrahiert. Man erhielt 8.5 mg Cyclisierungsprodukt, das ohne weitere Reinigung massenspektrometrisch untersucht wurde.

MS: m/e 328/329 (M^+); 6% D_3 , 38% D_4 , 56% D_5 ; m/e 113/114 (Base Peak); 30% D_0 , 70% D_1 .

5 mg des deuterierten Cyclisierungsproduktes wurden 2 h in 1 ml konz. Salzsäure zum Sieden erhitzt. Nach Zugabe von Ammoniak bis zur alkalischen Reaktion extrahierten wir mit Chloroform und erhielten 4 mg Monodeuterio-8, das wir ohne weitere Reinigung zur spektroskopischen Untersuchung einsetzten.

MS: m/e 324/325 (M^+); 30% D_0 , 70% D_1 ; m/e 113/114 (Base Peak); 30% D_0 , 70% D_1 .

$^1\text{H-NMR}$ (90 MHz): identisch mit $^1\text{H-NMR}$ von 8 mit Ausnahme von δ 0.95 ppm (1H, t, $J = 7$ Hz und 2H, d, $J = 7$ Hz).

Acetylierung von 8: 3 mg 8 wurden bei Raumtemp. 12 h mit 1 ml Acetanhydrid/Pyridin (1/1) stehengelassen und anschließend i. Vak. zur Trockne eingengt. Das Reaktionsprodukt haben wir durch Chromatographie an 10 g Sephadex LH 20 (Chloroform/Methanol (3/7, v/v)) gereinigt und erhielten 2 mg farbloses Öl mit $[\alpha]_D^{20} = +4^\circ$ ($c = 0.10$ in CHCl_3) und R_F 0.58 (Standardsystem I).

MS: m/e 366 (100%, M^+), 324 (18), 294 (30), 209 (22), 197 (25), 194 (24), 186 (41), 182 (20), 181 (17), 180 (20), 172 (22), 158 (18), 157 (17), 144 (50), 143 (27), 142 (17), 128 (20), 108 (27), 43 (100). – UV: λ_{max} ($\lg \epsilon$) = 238 (4.07), 315 nm (4.12). – IR: 1638 cm^{-1} (C=O).

Methylierung von Vobasin (9) zu 10: 20 mg Vobasin*) in 1 ml wasserfreiem Tetrahydrofuran (THF) wurden bei 0°C zu 6 mg NaH in 1 ml wasserfreiem THF getropft und 30 min gerührt. Anschließend wurden 10 μl Methyljodid in 0.5 ml wasserfreiem THF zugetropft und noch weitere 5 h bei Raumtemp. gerührt. Zur Aufarbeitung versetzte man mit wenig Methanol, engte i. Vak. zur Trockne ein und nahm den Rückstand in Chloroform auf. Das entstandene Produkt wurde präparativ DS-chromatographisch (Standardsystem I) aufgetrennt und die Zonen UV- und MS-spektroskopisch untersucht. Die Substanz mit dem höchsten R_F -Wert (0.64) hatte als Einzige einen 2-Acylindol-Chromophor und eine MS-Fragmentierung entsprechend dem Ringsystem von Alkaloiden des Vobasin-Typs. Die anderen Substanzen hatten teilweise höhere Mol.-Massen (= Mehrfach-Methylierung) und zeichneten sich im MS ausnahmslos durch einen ganz bevorzugten Base Peak bei m/e 58 aus ($\text{CH}_2 = \overset{+}{\text{N}}(\text{CH}_3)_2$). Aus der Zone vom R_F 0.64 erhielt man mit Methanol 1.7 mg farblose Kristalle vom Schmp. $211 - 214^\circ\text{C}$, $[\alpha]_D^{20} = -92^\circ$ ($c = 0.08$ in CHCl_3).

MS: m/e 366 (21%, M^+), 186 (23), 181 (12), 180 (100), 179 (23). – UV: λ_{max} ($\lg \epsilon$) = 239 (4.23), 317 nm (4.20).

Reduktion von 10 zum Diol 11: 1.7 mg 10 haben wir mit 6 mg Lithiumalanat in 2 ml wasserfreiem THF 1.5 h bei Raumtemp. gerührt. Überschüssiges Reduktionsmittel wurde anschließend durch Zusatz von Essigester zerstört. Nach Behandlung mit Methanol wurde der Niederschlag abzentrifugiert und mehrmals mit Methanol gewaschen. Die vereinigten Methanol-Lösungen haben wir i. Vak. zur Trockne eingengt. Durch Extraktion des Rückstandes mit Chloroform erhielt man 1.3 mg 11 als farbloses Öl mit $[\alpha]_D^{20} = -50^\circ$ ($c = 0.03$ in CHCl_3) und R_F 0.25 (Standardsystem I).

MS: m/e 340 (20%, M^+), 170 (12), 166 (12), 154 (24), 153 (14), 152 (100), 151 (13), 144 (10), 122 (26). – Hoचाufgelöste MS-Daten: m/e 340.2163 ($\text{C}_{21}\text{H}_{28}\text{N}_2\text{O}_2$), 152.1075 ($\text{C}_9\text{H}_{14}\text{NO}$), 144.0809 ($\text{C}_{10}\text{H}_{10}\text{N}$), 122.1961 ($\text{C}_8\text{H}_{12}\text{N}$). – UV: λ_{max} ($\lg \epsilon$) = 226 (4.40), 288 nm (3.73). – IR: 3200 bis 3500 cm^{-1} (OH).

Reduktion von 7 zum Diol 11: 10 mg 7 wurden mit 15 mg Lithiumalanat in 2 ml wasserfreiem THF reduziert und aufgearbeitet, wie oben beschrieben. Man erhielt 7.8 mg eines farblosen Öles,

*) Aus den vereinigten Fraktionen C 304–331 (51 mg) erhielten wir mit Methanol 30 mg farblose Kristalle vom Schmp. $111 - 113^\circ\text{C}$, identisch in allen Eigenschaften mit authentischem Vobasin. – Wir danken Herrn Prof. Dr. K. Biemann, Massachusetts Institute of Technology, Cambridge, USA, für die Überlassung einiger Milligramme Vobasin.

das in allen geprüften Eigenschaften mit **11** identisch war ($[\alpha]_D$, MS, UV, IR, DC in verschiedenen Systemen).

Epimerisierung von Vobasin mit Natriumhydrid zu epi-Vobasin: 7.2 mg Vobasin in 0.5 ml wasserfreiem THF wurden bei 0°C zu 5 mg Natriumhydrid in 0.5 ml wasserfreiem THF getropft; nach 30 min wurden weitere 0.5 ml THF zugegeben und 5 h bei Raumtemp. gerührt. Nach Versetzen mit Methanol ließ man über Nacht im Kühlschrank stehen und engte dann i. Vak. ein. Durch präparative DS-Chromatographie (Aluminiumoxid-Platten basisch, Benzol/Essigester/Methanol (60/40/2, v/v/v)) erhielt man 1.6 mg farblosen Lack mit R_F 0.61 und $[\alpha]_D^{20} = -186^\circ$ ($c = 0.08$ in CHCl_3) (Lit.¹²): $[\alpha]_D^{22} = -191.3^\circ$.

MS: m/e 352 (10%, M^+), 181 (12), 180 (100), 179 (12). – UV: λ_{max} ($\lg \epsilon$) = 239 (4.05), 317 nm (4.10). – IR: 3440 (NH), 1730 (C=O), 1640 cm^{-1} (C=O).

Acetylierung von $N_{(10)}$ -Methyl-epi-affinin: 1 mg **13** wurde bei Raumtemp. 12 h mit 1 ml Acetanhydrid/Pyridin (1/1) stehengelassen und anschließend i. Vak. zur Trockne eingengt. Die Reinigung erfolgte DS-chromatographisch (Standardsystem I). Man erhielt 0.6 mg farbloses Öl mit R_F 0.62 (Standardsystem I).

MS: m/e 380 (12%, M^+), 321 (17), 320 (60), 277 (13), 197 (11), 195 (15), 194 (100), 193 (22), 186 (12), 152 (27), 135 (28), 134 (18), 122 (13), 120 (12). – UV: $\lambda_{\text{max}} = 239, 315$ nm. – IR: 1725 (C=O), 1635 cm^{-1} (C=O).

[185/75]