

97. Die Alkaloide von *Aspidosperma polyneuron* M. ARG.

Aspidosperma-Alkaloide, 4. Mitteilung¹⁾

von J. Schmutz und H. Lehner

Herrn Prof. Dr. P. KARRER zum 70. Geburtstag gewidmet

(13. III. 59)

Aspidosperma polyneuron M. ARG. (*Apocynaceae*) ist ein bis 26 m hoher Baum, der in Südamerika, vorwiegend in Brasilien, Paraguay und Argentinien beheimatet ist. Die Rinde wird volksmedizinisch gleich derjenigen von *Aspidosperma peroba* FR. ALLEM. unter dem Namen «*Peroba rosa*» oder «*Palo rosa*» als Tonikum bei Diarrhöe und gegen Fieber, speziell bei Malaria, verwendet; ausserdem wird ihr eine kurative Wirkung bei Lepra zugesprochen²⁾.

PECKOLT³⁾ isolierte aus Sägespänen von *Aspidosperma polyneuron* M. ARG. brasilianischer Provenienz ca. 0,4% Aspidospermin, das allerdings nicht sehr eingehend charakterisiert wurde. Später befasste sich FLORIANI mit der Botanik, Pharmakologie⁴⁾ und Chemie⁵⁾ dieser *Aspidosperma*-Art. Die Rinde soll ziemlich reich an Alkaloiden sein; für die Gesamtalkaloide findet man folgende Zahlen: 0,87–1,55%³⁾, 2% (Droge aus Paraguay)⁵⁾, 2–4%⁶⁾. FLORIANI⁶⁾ isolierte aus der Rinde 8 Alkaloide. 7 davon waren schon in der Rinde von *Aspidosperma quebracho-blanco* SCHLECHT *var. pendulae* SPEG. gefunden worden, nämlich die 4 kristallisierten Alkaloide Aspidospermin, Yohimbin, Quebrachamin, Aspidospermatin und die 3 amorphen Alkaloide Hypoquebrachin, Aspidosamin, Aspidospermicin; zusätzlich fand FLORIANI ein flüchtiges Alkaloid Aspidospermanin. Diese Resultate bedürfen heute einer Überprüfung, da die damals isolierten Alkaloide ungenügend charakterisiert und analysiert worden waren und die Einheitlichkeit der amorphen Alkaloide zweifelhaft erscheint.

Kürzlich berichtete ANTONACCIO⁷⁾ in einer kurzen Mitteilung über die Isolierung von 2 Alkaloiden aus der Rinde von *Aspidosperma polyneuron* M. ARG., wovon eines, Perobin genannt, näher charakterisiert wurde: Smp. 201–201,5°; $[\alpha]_D^{20} = 92,7^\circ$ (Alkohol); UV.-Spektrum λ_{\min} 236 μ , λ_{\max} 256 μ in Methanol; Hydrochlorid, kleine Nadeln, Smp. 203–203,5°; 2,4-Dinitrophenylhydrazon, orange Nadeln, Smp. 150–151°; Pikrat, amorph, Smp. 117–118°. Eine Analyse von Perobin wird nicht angegeben, aber auf Grund des UV.-Spektrums dürfte es sich um ein Dihydroindol-Alkaloid handeln.

Aus Wurzelrinde von *Aspidosperma polyneuron* M. ARG., die aus Brasilien stammte⁸⁾, isolierten wir 2,5% rohe Gesamtalkaloide, die zuerst papierchromatographisch aufgetrennt wurden (s. Tab.).

¹⁾ 3. Mitteilung: J. SCHMUTZ & F. HUNZIKER, *Pharmac. Acta Helv.* **33**, 341 (1958).

²⁾ T. PECKOLT, *Ber. deutsch. pharm. Ges.* **19**, 529 (1909).

³⁾ L. FLORIANI, *Revista Farm. (B. Aires)*, **72**, 70 (1930); *Chem. Abstr.* **24**, 3279 (1930).

⁴⁾ L. FLORIANI, *An. Farm. Bioquim. (B. Aires)* **2**, 215 (1931); *Chem. Abstr.* **26**, 2514 (1932).

⁵⁾ L. FLORIANI, *An. Farm. Bioquim. (B. Aires)* **1**, 135 (1930); *Chem. Abstr.* **25**, 1635 (1931).

⁶⁾ L. FLORIANI, *Revista Farm. (B. Aires)* **80**, 135 (1938); *Chem. Abstr.* **32**, 9394 (1938).

⁷⁾ L. D. ANTONACCIO, *Rev. quim. ind. (R. de Janeiro)*, **26**, 149 (1957); *Chem. Abstr.* **52**, 14081 g (1958).

⁸⁾ Die Droge erhielten wir in verdankenswerter Weise von Herrn Prof. Dr. R. WASICKY, Sao Paulo, Brasilien.

Papierchromatogramm der Gesamtalkaloide

Rf	Fleckengrösse	Fluoreszenz im UV.	Identifiziert mit	Bemerkungen
0,17	(+)	keine		
0,24	(+)	blau	Yohimbin (?)	Yohimbin, Rf = 0,25, fluoresziert im UV. blau
0,35	+	blau		
0,46	++	keine	Quebrachamin	Quebrachamin, Rf = 0,44
0,59	++	keine		
0,88	++++ unscharf begrenzter Mischfleck	keine	Aspidospermin	Aspidospermin, Rf = 0,84

Die Trennung erfolgte absteigend auf WHATMAN-Papier Nr. 1 vom pH 4 (Citrat-Phosphat-Puffer⁹⁾) mit dem Fließmittel Isobutanol-Toluol (1:1)¹⁰ mit Wasser gesättigt; Laufzeit 4–5 Std. für ca. 35 cm; Reagens: nach ZAFFARONI¹¹⁾ (Jod-Platin).

Die Rohalkaloide lieferten somit 6 Flecke, die auf ZAFFARONI-Reagens positiv reagierten. Zwei davon identifizierten wir mit Quebrachamin¹²⁾ bzw. Aspidospermin¹³⁾, welche bei der präparativen Isolierung kristallisiert erhalten werden konnten; die Identität des Alkaloides Rf = 0,24 mit Yohimbin wurde nur durch papierchromatographischen Vergleich wahrscheinlich gemacht.

Für die präparative Isolierung der Alkaloide verteilten wir die rohen Gesamtalkaloide zwischen Chloroform und verd. Essigsäure. Aus den *wasserlöslichen* Acetaten erhielten wir durch Kristallisation des Basengemisches aus Methanol reines Aspidospermin, C₂₂H₃₀O₂N₂, vom Smp. 207–209°, $[\alpha]_D^{27} = -92^\circ$ (CHCl₃), dessen UV.- und IR.-Spektrum mit den Angaben der Literatur genau übereinstimmte. Aus den *chloroformlöslichen* Acetaten konnte ebenfalls noch eine grössere Menge Aspidospermin durch direkte Kristallisation gewonnen werden, das aber viel schwieriger rein zu erhalten war. Die Ausbeute an rohem Aspidospermin betrug 0,32% (auf die Droge berechnet).

Durch Chromatographie der Aspidospermin-Mutterlaugen der *wasserlöslichen* Acetate an Al₂O₃ erhielten wir reines Quebrachamin, C₁₉H₂₆N₂, vom Smp. 146–147°, $[\alpha]_D^{25} = -108^\circ$ (CHCl₃), dessen UV.- und IR.-Spektrum mit demjenigen der Literatur vollständig identisch war. Die Ausbeute an rohem Quebrachamin betrug 0,11% (auf die Droge berechnet).

Die Aspidospermin-Mutterlaugen der *chloroformlöslichen* Acetate wurden ebenfalls an Al₂O₃ chromatographiert. Wir erhielten dabei ein scheinbar einheitliches Alkaloid vom Smp. 111–114°, $[\alpha]_D^{26} = -85,6^\circ$ (CHCl₃), das ein für Dihydroindol-alkaloide typisches UV.-Spektrum aufwies; sein Smp. wurde durch weitere Reinigung nicht mehr verändert. Papierchromatographisch verhielt es sich in dem oben erwähnten

⁹⁾ T. C. MACILVAINE, J. biol. Chemistry **49**, 183 (1921).

¹⁰⁾ J. BÜCHI & H. SCHUMACHER, Pharmac. Acta Helv. **32**, 80 (1957).

¹¹⁾ H. ZAFFARONI, R. B. BURTON & E. H. KENTMAN, J. biol. Chemistry **177**, 109 (1949).

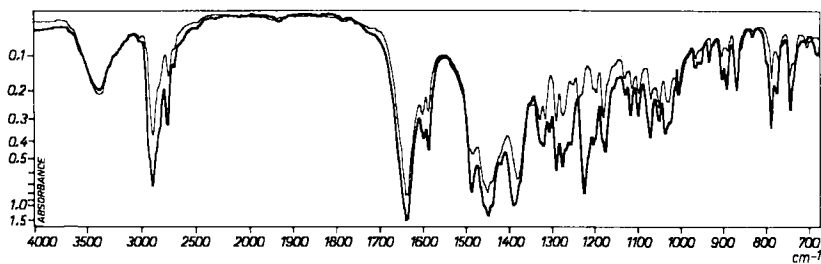
¹²⁾ E. FIELD, J. chem. Soc. **125**, 1444 (1924); B. WITKOP, J. Amer. chem. Soc. **79**, 3193 (1957).

¹³⁾ A. J. EWINS, J. chem. Soc. **105**, 2738 (1914). Zur Konstitution: H. CONROY, P. R. BROOK, M. K. ROUT & N. SILVERMAN, J. Amer. chem. Soc. **79**, 1768 (1957); **80**, 5178 (1958).

System einheitlich (Rf 0,89), konnte aber auf Formamid-Papier eindeutig in 2 Komponenten mit den Rf 0,37 und 0,50 aufgetrennt werden (Aspidospermin Rf 0,20; Quebrachamin Rf 0). Der Fleckengrösse nach sind die beiden Komponenten im Alkaloidgemisch ungefähr im gleichen Verhältnis vorhanden. Wir haben darauf 115 mg dieses Gemisches präparativ auf Papierbögen getrennt und konnten das Alkaloid vom Rf 0,37, das wir *Palosin* nennen, kristallisiert erhalten, während die zweite Komponente vom Rf 0,50, obwohl papierchromatographisch einheitlich, nicht kristallisierte.

Palosin, dessen Analysen der Formel $C_{23}H_{32}O_2N_2$ entsprechen, kristallisiert in Nadeln vom Smp. 149–152°, $[\alpha]_D^{24} = -85,9^\circ$ ($CHCl_3$); es besitzt eine Methoxygruppe und eine N-Acylgruppe (IR.-Bande bei 1638 cm^{-1} in KBr). Sein UV.-Spektrum mit $\lambda_{\text{max}} 220\text{ m}\mu$ ($\epsilon = 32720$) und $\lambda_{\text{max}} 258\text{ m}\mu$ (10890) ist charakteristisch für ein Dihydroindol-Derivat. Palosin gehört demnach zu den Alkaloiden der Aspidospermin-Gruppe.

Durch Vergleich der UV.-Spektren der 5-, 6-, 7- und 8-Methoxy-N-acetyl-hexahydro-carbazole konnten CHALMERS, OPENSHAW & SMITH¹⁴) die Methoxygruppe des Aspidospermins in 7-Stellung des Dihydroindol-Systems lokalisieren. Da Palosin und Aspidospermin praktisch identische UV-Spektren aufweisen, darf für Palosin ebenfalls eine N-Acyl-7-methoxy-dihydroindol-Struktur angenommen werden. Palosin und Aspidospermin zeigen fast identische Farbreaktionen. Die IR.-Spektren der beiden Alkaloide sind einander sehr ähnlich; der wesentlichste Unterschied ist die Bande bei 1225 cm^{-1} im Spektrum des Palosins, die beim Aspidospermin fehlt.



IR-Spektren in KBr: — Palosin; - - - Aspidospermin.

Wir danken Herrn H. WITWER für die Aufarbeitung der Droge und Herrn R. STEINER für die papierchromatographischen Trennungen.

Experimenteller Teil

Die Smp. sind auf dem KOFLER-Block bestimmt und korrigiert. Die Mikroanalysen wurden in unserer analytischen Abteilung (Leiter Dr. H. LEHNER) ausgeführt und die IR.- und UV.-Spektren von Herrn Dr. C. BÉGUIN bzw. Herrn Dr. A. V. WILLI aufgenommen.

1. *Isolierung der Gesamtalkaloide*: Die pulverisierte Wurzelrinde von *Aspidosperma polyneuron* M. ARG. wurde erschöpfend mit Methanol extrahiert; anschliessend wurden die Rohalkaloide isoliert, analog der von uns für *Aspidosperma ulei* MGF. angewandten Methode¹⁵). Aus 1,8 kg Wurzelrinde erhielten wir 44 g Gesamtalkaloide (2,5%), die man in 800 ml Chloroform löste und einmal mit 600 ml, zweimal mit je 400 ml und einmal mit 200 ml 10-proz. Essigsäure ausschüttelte. Die wässrig-essigsaurigen Phasen wurden nacheinander einmal mit 800 ml und dreimal mit je 200 ml Chloroform gewaschen, unter Eiskühlung mit konz. Ammoniaklösung alkalisch gestellt und erschöpfend mit Chloroform ausgeschüttelt. Die mit Wasser gewaschenen und über Natriumsulfat

¹⁴) J. R. CHALMERS, H. T. OPENSHAW & G. F. SMITH, J. chem. Soc. **1957**, 1115.

¹⁵) J. SCHMUTZ, F. HUNZIKER & R. HIRT, Helv. **40**, 1189 (1957).

getrockneten Chloroformauszüge gaben nach dem Eindampfen im Vakuum 17 g Basengemisch der wasserlöslichen Acetate. – Die mit Essigsäure ausgeschüttelten Chloroformphasen wurden mit verd. Ammoniaklösung und Wasser gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und gaben nach Eindampfen im Vakuum 24,7 g Basengemisch der chloroformlöslichen Acetate.

2. *Aspidospermin*: 17 g Basengemisch der wasserlöslichen Acetate wurde in wenig Methanol gelöst und bei 0° kristallisieren gelassen. Man erhielt 2,4 g Kristalle vom Smp. 200–208°, die zweimal aus Methanol umkristallisiert wurden; Nadeln vom Smp. 207–209°, $[\alpha]_D^{27} = -92^\circ$ ($c = 1,256$; CHCl_3 ; $l = 1$ dm). *UV.-Spektrum in Alkohol*: λ_{max} : 220 μ ($\epsilon = 32\,600$); 257 μ ($\epsilon = 10\,650$); Schulter bei 280–290 μ ($\epsilon = 3400$ –2500); λ_{min} : 237 μ ($\epsilon = 5000$)¹⁶⁾ 17). *IR.-Spektrum in CHCl₃*: $>\text{NCOCH}_3$ Bande bei 1635 cm^{-1} , vollkommen identisch mit dem bekannten Aspidospermin-Spektrum¹⁸⁾.

$\text{C}_{22}\text{H}_{30}\text{O}_3\text{N}_2$ (354,48) Ber. C 74,54 H 8,53 N 7,90% Gef. C 74,65 H 8,65 N 7,96%

Aspidospermin besitzt nach Literatur folgende Konstanten: Smp. 208° (Nadeln), $[\alpha]_D = -93^\circ$ (CHCl_3)¹³⁾ und $[\alpha]_D = -92,8^\circ$ (CHCl_3)¹⁷⁾. – 24,7 g Basengemisch der chloroformlöslichen Acetate wurde ebenfalls aus Methanol kristallisiert. Man erhielt 3,5 g rohes Aspidospermin vom Smp. 194–203°, das durch weitere Kristallisationen nur mit grossen Verlusten rein erhalten werden konnte.

3. *Quebrachamin*: 13 g Aspidospermin-Mutterlaugen der wasserlöslichen Acetate wurden an 400 g Al_2O_3 «WOELM» neutral, Akt. II, chromatographiert (Fraktionen zu 1,4 l). Die beiden ersten Benzolfractionen (2,4 g) gaben aus Äther-Petroläther 2 g Kristalle vom Smp. 142–147°. Durch eine weitere Kristallisation erhielt man flache, prismatische Blättchen vom Smp. 146–147°; $[\alpha]_D^{25} = -108^\circ$ ($c = 1,48$; CHCl_3 ; $l = 1$ dm). *UV.-Spektrum in Alkohol*: λ_{max} : 230 ($\epsilon = 35\,200$); 287 μ ($\epsilon = 7170$); 293 μ ($\epsilon = 6860$); λ_{min} : 256 μ ($\epsilon = 2200$)¹⁶⁾. *IR.-Spektrum in CHCl₃*: vollkommen identisch mit dem bekannten Quebrachamin-Spektrum¹⁸⁾.

$\text{C}_{19}\text{H}_{26}\text{N}_2$ (282,41) Ber. C 80,80 H 9,28 N 9,92% Gef. C 80,82 H 9,31 N 9,66%

Quebrachamin besitzt nach Literatur folgende Konstanten: Smp. 147° (Blättchen), $[\alpha]_D = -109,5^\circ$ (Aceton)¹³⁾.

Die weiteren Chromatographie-Fractionen (Benzol mit 5–50% Chloroform) lieferten noch etwas Aspidospermin. Der Hauptanteil des Alkaloidgemisches wurde aber erst mit Chloroform + 5% Alkohol eluiert und konnte nicht zur Kristallisation gebracht werden.

4. *Palosin*: 19 g Aspidospermin-Mutterlaugenrückstände der chloroformlöslichen Acetate wurden an 600 g Al_2O_3 «WOELM» neutral, Akt. I, chromatographiert (Fraktionen zu 2 l). Mit Benzol-Petroläther (5:1) (2 Fraktionen) und reinem Benzol (5 Fraktionen) wurden 4,5 g Öl eluiert, das aus Äther-Petroläther 1,9 g lange, feine Nadeln vom Smp. 111–114°, $[\alpha]_D^{26} = -85,6^\circ$ ($c = 1,413$; CHCl_3 ; $l = 1$ dm) lieferte. Weitere Fraktionen (Benzol mit 5–50% Chloroform) lieferten noch etwas Aspidospermin. Der Hauptanteil des Alkaloidgemisches wurde erst mit Chloroform und Chloroform + 5% Alkohol eluiert und kristallisierte nicht.

Durch nochmalige Chromatographie und Kristallisation der Substanz Smp. 111–114° veränderte sich ihr Smp. nicht. 115 mg wurden auf 12 Bögen WHATMAN-Papier Nr. 1 von 19 cm Breite präparativ getrennt; stationäre Phase: Mischung von 50 ml Formamid, 4 g Ammoniumformiat und 5 ml 100-proz. Ameisensäure¹⁸⁾; Fließmittel: Benzol-Chloroform (4:1) mit Formamid gesättigt. Je einen schmalen Streifen der Papiere entwickelte man mit ZAFFARONI-Reagens¹¹⁾ und schnitt die beiden Zonen entsprechend aus, welche separat zerkleinert und mit Methanol erschöpfend extrahiert wurden. Die methanolischen Auszüge dampfte man im Vakuum bei 40° zur Trockne ein, stellte den Rückstand mit verd. Ammoniaklösung alkalisch, schüttelte zweimal mit viel Äther aus und dampfte die über Natriumsulfat getrocknete ätherische Phase im Vakuum zur Trockne ein. Man erhielt so 48 mg rohes, kristallisiertes Palosin (Rf 0,37) und 63 mg eines öligen Alkaloides (Rf 0,50). Beide Rohalkaloide erwiesen sich papierchromatographisch als einheitlich.

¹⁶⁾ Vgl. z. B. N. NEUSS, Physical data of indole and dihydroindole Alkaloids. Lilly Research Laboratories, Indianapolis 1956.

¹⁷⁾ O. O. ORAZI, R. A. CORRAL, J. S. E. HOLKER & C. DJERASSI, J. org. Chemistry 21, 979 (1956).

¹⁸⁾ Vgl. J. REICHEL, Pharmazie, 13, 24 (1958); F. KACZMAREK & E. STEINEGGER, Pharmac. Acta Helv. 33, 201 (1958).

Das rohe Palosin wurde in Äther gelöst, über wenig Al_2O_3 filtriert und zweimal aus Äther-Petroläther kristallisiert. Man erhielt 25 mg kleine Nadeln vom Smp. $149\text{--}152^\circ$, $[\alpha]_D^{24} = -85,9^\circ$ ($c = 0,734$; CHCl_3 ; $l = 1$ dm), die bei $100^\circ/0,01$ Torr. sublimieren. *UV.-Spektrum in Alkohol*: λ_{max} : $220 \text{ m}\mu$ ($\epsilon = 32\,720$); $258 \text{ m}\mu$ ($\epsilon = 10\,890$); Schulter bei $280\text{--}295 \text{ m}\mu$ ($\epsilon = 3500\text{--}2300$); λ_{min} : $237 \text{ m}\mu$ ($\epsilon = 4600$). *IR.-Spektrum* s. Fig. *Farbreaktionen*: Konz. H_2SO_4 : farblos; konz. $\text{H}_2\text{SO}_4\text{-Cr(IV)-sulfat}$: dunkelviolet, sofort \rightarrow rotbraun \rightarrow braun \rightarrow rotbraun; konz. HNO_3 : farblos \rightarrow schwach gelb.

$\text{C}_{23}\text{H}_{32}\text{O}_2\text{N}_2$	Ber. C 74,96	H 8,75	N 7,60	$-\text{OCH}_3$ 8,42%
(368,50)	Gef. „ 74,92	„ 8,84	„ 7,50	„ 8,32%

Zusammenfassung

In der Wurzelrinde von *Aspidosperma polyneuron* M. ARG. wurden papierchromatographisch 7 Alkaloide nachgewiesen. Drei davon konnten kristallisiert isoliert werden: Quebrachamin, Aspidospermin und Palosin. Durch papierchromatographischen Vergleich wurde die Anwesenheit von Yohimbin wahrscheinlich gemacht. Palosin, $\text{C}_{23}\text{H}_{32}\text{O}_2\text{N}_2$, ist ein neues Dihydroindol-alkaloid der Aspidospermin-Gruppe.

Forschungsinstitut Dr. A. WANDER A. G., Bern
Leiter: Prof. Dr. G. SCHÖNHOLZER

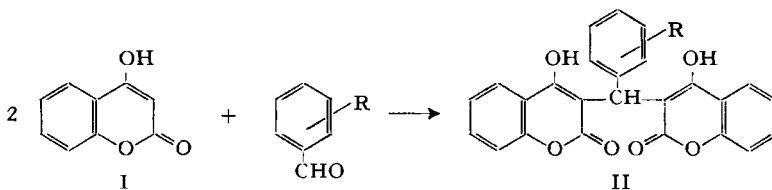
98. Über Ringschlussreaktionen von 3,3'-Methylen-bis-(4-hydroxycumarinen)

von F. Litvan und W. G. Stoll

Herrn Prof. Dr. P. KARRER zum 70. Geburtstag gewidmet

(14. III. 59)

Im Verlaufe unserer früheren Untersuchungen über die chemische Konstitution und blutgerinnungshemmende Wirkung von Derivaten des 4-Hydroxycumarins stellten wir auch eine Anzahl von 3,3'-Methylen-bis-(4-hydroxycumarinen) her, die in der Methylengruppe durch Arylreste substituiert sind. Solche Verbindungen werden in bekannter Weise durch Kondensation von 2 Mol. 4-Hydroxycumarin mit 1 Mol. eines aromatischen Aldehydes¹⁾ hergestellt, wobei unser Interesse vor allem den Halogen- und Nitro-benzyliden-Derivaten galt. Während alle drei isomeren Chlor- und Nitrobenzaldehyde mit 4-Hydroxycumarin erwartungsgemäss die Verbindungen II gaben (in der Formel II bedeutet R: o-, m-, p-Cl oder $-\text{NO}_2$), nimmt unter den



¹⁾ W. R. SULLIVAN, C. F. HUEBNER, M. A. STAHMANN & K. P. LINK, J. Amer. chem. Soc. **65**, 2288 (1943).