

Several other Vitamins have been shown not to interfere except Vitamin D₃, of course. The method permits the determination of the intact Vitamins D₂ or D₃ respectively, regardless of degradation products being present in the original solution. During chromatography and evaluation no such additional degradation products are formed.

The method can be optimally used for amounts of Vitamins D₂ or D₃ varying between 2 and 15 µg, respectively, with an accuracy of ± 3%.

Pharmazeutisch-chemische Forschungslaboratorien
SANDOZ AG., Basel 13

150. Aspidolimin

von M. Pinar und H. Schmid

(16. IV. 62)

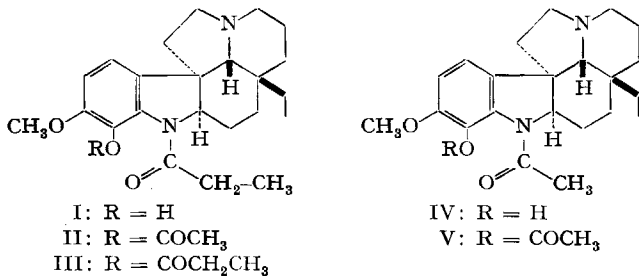
Aspidosperma limae WOODS. (*Apocynaceae*) stellt eine neue *Aspidosperma*-Art dar, deren botanische Beschreibung offenbar noch nicht veröffentlicht worden ist. Die Droge mit dem Eingeborenennamen *Pitia mandioca* wurde von Prof. G. MARIZ, Recife (Brasilien) in den Wäldern von Doris Irmaos (Recife) gesammelt und von Prof. DARDANO DE LIMA (Rio de Janeiro) begutachtet. Herr Dr. J. SCHMUTZ (Bern) hat uns Wurzel- und Stammrinde dieser Pflanze für eine chemische Untersuchung überlassen.

Bei der Extraktion der Wurzelrinde mit essigsäurehaltigem Methanol erhielt man 3,9% tertiäre Alkaloide (bezogen auf das Gewicht der Droge). Auch eine noch nicht bestimmte Menge quartärer Alkaloide ist in der Droge enthalten. Eine erste dünnschichtchromatographische Prüfung der Fraktion der tertiären Alkaloide ergab, dass diese aus zwei Hauptalkaloiden und einer grösseren Zahl von Nebenalkaloiden zusammengesetzt ist. Der Alkaloidgehalt der Stammrinde ist wesentlich geringer als derjenige der Wurzelrinde; qualitativ sind aber keine signifikanten Unterschiede vorhanden.

Die vorliegende Mitteilung betrifft die beiden Hauptalkaloide aus *Aspidosperma limae* WOODS. Das erste zu etwa 0,7–1% vorkommende Hauptalkaloid besitzt die Summenformel C₂₉H₃₂O₃N₂, den Smp. 150–151°, ein $[\alpha]_D^{21} = +133^\circ$ (CHCl₃) und lieferte ein kristallisiertes Hydrochlorid C₂₉H₃₃ClO₃N₂ und ein bei 189–192° unter Zers. schmelzendes Pikrat C₂₉H₃₅O₁₀N₅. Dem offenbar bisher noch nicht beschriebenen Alkaloid haben wir den Namen Aspidolimin (I) gegeben. Aspidolimin enthält eine Methoxygruppe, 1 aktiv. H-Atom und zwei C-Methylgruppen; sein UV.-Spektrum mit λ_{max} 228 mµ (log ε = 4,43) und 264 mµ (log ε = 3,94) ist ähnlich demjenigen von Aspidospermin¹⁾; auf Zusatz von Lauge wurde das langwellige Maximum nach 307 mµ (log ε = 3,73) verschoben. Im IR. findet sich eine Amidbande bei 1634 cm⁻¹. Mit Pyridin-Essigsäureanhydrid bildete sich eine schlecht kristallisierende Acetylverbindung (II), mit IR.-Banden bei 1664 cm⁻¹ (>N-CO-R) und 1764 cm⁻¹ (phenol.-O-COCH₃), die als schön kristallisierendes Pikrat charakterisiert wurde. Für Aspidolimin lässt sich auf Grund dieser Angaben, der Beob-

¹⁾ J. R. CHALMERS, H. T. OPENSHAW & G. F. SMITH, J. chem. Soc. 1957, 1115.

achtung, dass bei der säurekatalysierten Hydrolyse Propionsäure entstand, und der nachfolgenden Analyse seines NMR.-Spektrums die Formel I ableiten.



Das in CDCl₃ aufgenommene 60 Mc/s-NMR.-Spektrum²⁾ von I zeigt u. a. folgende Absorptionen: Singlett bei 659 c/s (1 H; cheliertes Hydroxyl); aromatisches AB-Quartett bei 399 c/s ($J = 8$ c/s; 2 H); Quartett bei 247 c/s (1 H an C-2)^{3) 4) 5)}; für Alkaloide vom Aspidospermintyp charakteristische Absorption bei ca. 180 c/s³⁾; Singlett bei 233 c/s (3 H; OCH₃); Quartett bei 154 c/s ($J = 7$ c/s; $>N-CO-CH_2-CH_3$); Triplet bei 75 c/s ($J = 7$ c/s; $>N-CO-CH_2-CH_3$); Triplet bei 37 c/s ($J = 6$ c/s; $\geq C-CH_2-CH_3$); Totalprotonenzahl 32 ± 1 .

Aspidolimins (I) steht somit zum Aspidocarpin (IV)⁴⁾ aus *Aspidosperma megalocarpa* MUELL. ARG. im selben Verwandtschaftsverhältnis wie Palosin⁶⁾ zum Aspidospermin. Nicht ganz überraschend erwies sich das zweite Hauptalkaloid aus *Aspidosperma limae* WOODS. (ca. 0,5%) durch direkten Vergleich der Base und des O-Acetylderivates als identisch mit Aspidocarpin (IV)⁴⁾. Die Struktur I des Aspidolimins liess sich nun in einfacher Weise beweisen: Säurekatalysierte Abspaltung der N-Propionylgruppe, gefolgt von Acetylierung, gab O-Acetylaspido-carpin (V), während das entacetylierte Aspidocarpin⁴⁾ mit Propionsäureanhydrid-Pyridin O-Propionylaspido-limins (III) lieferte: die O-Propionate wurden als Pikrate vom Smp. 179–181° charakterisiert und identifiziert.

Herrn Dr. J. SCHMUTZ (Bern) danken wir bestens für Wurzel- und Stammrinde von *Aspidosperma limae* WOODS., Herrn Prof. L. MARION (Ottawa) für Proben von Aspidocarpin und seines O-Acetylderivates. Der eine von uns (M. P.) dankt schliesslich der «FUNDACION JUAN MARCH» (Madrid) bestens für ein Stipendium.

Experimenteller Teil⁷⁾

1. *Extraktion der Wurzelrinde von Aspidosperma limae* WOODS.: 3,04 kg fein gemahlene Wurzeln wurden dreimal mit je 10 l 90-proz. Methanol, dem 2,5% Essigsäure zugesetzt worden war, mehrere Std. bei Zimmertemperatur geschüttelt. Die Aufarbeitung des Extraktes erfolgte

²⁾ Chemische Verschiebungen relativ zu Tetramethylsilan als internem Standard.

³⁾ C. DJERASSI, A. A. P. G. ARCHER, T. GEORGE, B. GILBERT, J. N. SHOOLERY & L. F. JOHNSON, *Experientia* **16**, 532 (1960).

⁴⁾ S. McLEAN, K. PALMER & L. MARION, *Canad. J. Chemistry* **38**, 1547 (1960).

⁵⁾ W. G. KUMP, D. L. LE COUNT, A. R. BATTERSBY & H. SCHMID *Helv.* **45**, 854 (1962).

⁶⁾ J. SCHMUTZ & H. LEHNER, *Helv.* **42**, 874 (1959); W. I. TAYLOR, N. RAAB, H. LEHNER & J. SCHMUTZ, *Helv.* **42**, 2750 (1959).

⁷⁾ Die Smp. wurden auf dem KOFLER-Block bestimmt. Dünnschichtchromatogramme wurden an Kieselgel G (MERCK) mit Chloroform und Chloroform-Methanol-Gemischen als Laufmitteln ausgeführt. Zum Ansprühen dienten Cer(IV)-sulfat-Reagens (*Helv.* **29**, 1853 (1946); **33**, 512 (1950)) und Kaliumjodoplatinat-Lösung (*Helv.* **35**, 29 (1951)).

in der bereits früher beschriebenen Weise⁸⁾. Man erhielt schliesslich 20 g «Neutralteile», 66,2 g «schwache Basen 1», 44,8 g «schwache Basen 2», 1,1 g «starke Basen» und 188 g «Reineckate». Die 20 g «Neutralteil» wurden an 120 g Kieselgel (MERCK; 0,2–0,5 mm) mit Chloroform chromatographiert, wobei zuerst etwa 14 g eines keine Alkaloidreaktionen zeigenden Substanzgemisches eluiert wurden, anschliessend folgten 6 g dunkel gefärbte, alkaloidhaltige Substanz. Durch rohe Chromatographie der «schwachen Basen 1» an 130 g desselben Kieselgels erhielt man mit Chloroform 52 g einer rasch wandernden Fraktion, die mit den 6 g des ersten Chromatogramms vereinigt wurden. Mit Chloroform-Methanol-Gemischen wurden 13,6 g einer zweiten Fraktion eluiert. Die 58 g rasch wandernden Alkaloide schieden aus Methanol 11,6 g Kristalle aus. Die eingedampfte Mutterlauge wurde an 300 g Kieselgel (MERCK; 0,2–0,05 mm) chromatographiert. Chloroform eluierte 21 g, die im wesentlichen 2 Alkaloide enthielten. Mit Chloroform, das 10% Methanol enthielt, wurden 20 g einer Fraktion isoliert, die mit den vorerwähnten 13,6 g vereinigt wurden. Kristallisation der 21 g aus Methanol lieferte 6 g Kristalle (Mutterlauge 15 g; M 1).

Dünnschichtchromatographisch liess sich zeigen, dass die kristallinen Fraktionen (17,6 g) aus nur zwei Alkaloiden bestanden; durch erneute Chromatographie mit Chloroform an 500 g Kieselgel (MERCK, 0,05–0,2 mm) erhielt man 16 g einer aus Aspidolimin und 1,7 g einer aus Aspidocarpin bestehenden Fraktion. Auch die Mutterlauge M 1 enthielt zur Hauptsache diese beiden Alkaloide (ca. $\frac{1}{3}$ Aspidolimin und $\frac{2}{3}$ Aspidocarpin).

Die Untersuchung der anderen alkaloidhaltigen Fraktionen ist im Gange.

2. *Charakterisierung der einzelnen Alkaloide.* – 2.1. *Aspidocarpin*: Das Alkaloid wurde mehrmals aus Methanol und Essigester umkristallisiert. Smp. 167,5–168,5°. $[\alpha]_D^{25} = +140 \pm 2^\circ$ ($c = 1,175$; CHCl_3)

$\text{C}_{22}\text{H}_{30}\text{O}_3\text{N}_2$ (370,48) Ber. C 71,32 H 8,16 N 7,56% Gef. C 71,69 H 8,30 N 7,52%

Die Mischprobe mit einem authentischen Präparat schmolz ohne Erniedrigung. Auch die IR.- und UV.-Spektren waren identisch. Das mit Essigsäureanhydrid-Pyridin erhaltene, chromatographisch gereinigte O-Acetylaspidocarpin⁴⁾ schmolz nach dem Umlösen aus Äther-Pentan bei 145–146°. Nach dem Umlösen unter Animpfen mit der höher schmelzenden Form erhielt man Kristalle vom Smp. 165–166°⁴⁾; Misch-Smp. mit einem authentischen Präparat ohne Erniedrigung.

$\text{C}_{24}\text{H}_{32}\text{O}_4\text{N}_2$ (412,51) Ber. C 69,88 H 7,82 $2\text{CH}_3\text{CO}$ 20,86% Gef. C 70,23 H 8,13 $2\text{CH}_3\text{CO}$ 21,48%

2.2. *Aspidolimin*: Das Alkaloid wurde mehrmals aus Methanol und Essigester umkristallisiert; es lässt sich im Hochvakuum (0,001 Torr) bei 110° (Badtemperatur) unzersetzt sublimieren. Smp. 150–151°. $[\alpha]_D^{25} = +133 \pm 3^\circ$ ($c = 1,156$; CHCl_3).

| | | | | |
|--|--------------------------|-------------------------------|---------------|--|
| $\text{C}_{23}\text{H}_{32}\text{O}_3\text{N}_2$ | Ber. C 71,84 | H 8,39 | N 7,29 | O 12,48% |
| (384,50) | Gef. „ 72,01; 71,90 | „ 8,70; 8,61 | „ 6,99; 7,10 | „ 12,66% |
| | Ber. OCH_3 8,07 | $2\text{CH}_3(\text{C})$ 7,82 | aktiv. H 0,26 | $\text{C}_2\text{H}_5\text{CO}$ 14,84% |
| | Gef. „ 7,89; 8,07 | „ 5,37 | „ „ 0,30 | „ 13,82% |

UV.-Spektrum in 96-proz. Alkohol: λ_{max} in $m\mu$ ($\log \epsilon$): 228 (4,43); 264 (3,94) λ_{min} in $m\mu$ ($\log \epsilon$): 250 (3,80); keine wesentliche Veränderung auf Zusatz von Säure. In 0,05N alkoholischer Kalilauge: λ_{max} in $m\mu$ ($\log \epsilon$): 224 (4,42); 307 (3,73); λ_{min} in $m\mu$ ($\log \epsilon$): 284 (3,41). – IR.-Spektrum (Nujol): 3597, 1631, 1603, 1580 cm^{-1} ; (CHCl_3): 1634, 1605, 1582 cm^{-1} .

Das aus der ätherischen Lösung des Alkaloids mit HCl-Gas gefällte *Hydrochlorid* schmolz nach dem Umlösen aus Aceton-Äther und Essigester-Äther bei 200–205° (Zers.)

$\text{C}_{23}\text{H}_{33}\text{ClO}_3\text{N}_2$ Ber. C 65,62 H 7,90 N 6,66 Cl 8,42%
(420,98) Gef. „ 65,63 „ 7,91 „ 6,48 „ 8,35%

Das in üblicher Weise bereitete *Pikrat* schmolz nach öfterem Umlösen aus Methanol bei 189–192° (Zers.).

$\text{C}_{29}\text{H}_{35}\text{O}_{10}\text{N}_5$ (613,61) Ber. C 56,76 H 5,75 N 11,41% Gef. C 56,96 H 5,92 N 11,33%

O-Acetylaspidolimin: 50 mg Aspidolimin, 1 ml Essigsäureanhydrid und 0,5 ml Pyridin liess man 24 Std. bei 50° stehen. Nach dem Eindampfen wurde der Rückstand in ätherischer Lösung über eine Säule von Kieselgel filtriert. Das eingedampfte Eluat liess sich aus Äther-Pentan nur

⁸⁾ W. G. KUMP & H. SCHMID, Helv. 44, 1503 (1961).

schlecht kristallisieren. Das getrocknete Produkt zeigte IR.-Banden (CHCl_3) bei 1764, 1664 und 1616 cm^{-1} und UV.-Banden (96-proz. Alkohol) λ_{max} in μ ($\log \epsilon$) bei 222 (4,52), 251,5 (3,97) und 292 (3,62).

Das *Pikrat* des O-Acetylaspidolimins wurde aus Methanol umgelöst. Smp. 193–195,5° (Zers.).
 $\text{C}_{31}\text{H}_{37}\text{O}_{11}\text{N}_5$ (655,65) Ber. C 56,78 H 5,69 N 10,68% Gef. C 56,90 H 5,74 N 10,76%

O-Propionylaspidolimin-pikrat: 100 mg des Alkaloids liess man mit 1 ml Propionsäureanhydrid und 0,2 ml Pyridin 24 Std. bei 20–25° stehen. Nach der üblichen Aufarbeitung wurde in Chloroform an Kieselgel (MERCK; 0,2–0,05 mm) chromatographiert. Zuerst wurden 20 mg Ausgangsmaterial eluiert; das mit Chloroform-Methanol-Gemisch erhaltene Eluat (85 mg) wurde nach dem Eindampfen in das *Pikrat* umgewandelt und dieses mehrmals aus Methanol umkristallisiert. Smp. 179–181°.

$\text{C}_{32}\text{H}_{39}\text{O}_{11}\text{N}_5$ (669,7) Ber. C 57,40 H 5,87 N 10,46% Gef. C 57,22 H 5,83 N 10,77%

Nachweis einer N-Propionylgruppe in Aspidolimin: 2 mg Alkaloid hat man mit 2 ml 50-proz. Schwefelsäure unter Rückfluss erhitzt. Anschliessend wurde mit Wasserdampf destilliert und im Destillat nach der früher beschriebenen Weise⁹⁾ Propionsäure papierchromatographisch nachgewiesen.

Umwandlung von Aspidolimin in O-Acetylaspidocarpin: 100 mg Aspidolimin wurden unter Stickstoff mit 5 ml 10-proz. Salzsäure 3 Std. unter Rückfluss erhitzt. Anschliessend wurde im Vakuum eingedampft, der Rückstand mit Ammoniak und Chloroform behandelt und der Chloroformauszug nach dem Eindampfen mit 1 ml Essigsäureanhydrid und 0,3 ml Pyridin 24 Std. bei 20–25° stehengelassen. Nach der üblichen Aufarbeitung wurde die methanolische Lösung des Reaktionsproduktes durch eine kleine Säule von Norit-Aluminiumoxid filtriert und das eingedampfte Filtrat mehrmals aus Aceton-Hexan kristallisiert¹⁰⁾ (75 mg) Smp. 165–166°. Misch-Smp. mit O-Acetylaspidocarpin ebenso. Auch die IR.-Spektren beider Präparate waren identisch.

$\text{C}_{24}\text{H}_{32}\text{O}_4\text{N}_2$ (412,51) Ber. C 69,88 H 7,82 N 6,79% Gef. C 69,97 H 8,08 N 6,59%

Umwandlung von Aspidocarpin in O-Propionylaspidolimin: 110 mg Aspidocarpin wurden durch dreistündiges Kochen mit 5 ml 10-proz. Salzsäure hydrolysiert. Das Rohprodukt liess man mit 1,3 ml Propionsäureanhydrid und 0,3 ml Pyridin 24 Std. reagieren. Nach der üblichen Aufarbeitung wurde in Chloroformlösung über Kieselgel filtriert und aus dem eingedampften Eluat in ätherischer Lösung mit Pikrinsäure das *Pikrat* bereitet. Smp. nach dem öfteren Umlösen aus Methanol 179–181°. Misch-Smp. mit dem *Pikrat* des O-Propionylaspidolimins: 179–181°.

$\text{C}_{32}\text{H}_{39}\text{O}_{11}\text{N}_5$ (669,7) Ber. C 57,40 H 5,87 N 10,46% Gef. C 57,37 H 6,04 N 10,32%

ZUSAMMENFASSUNG

Die beiden Hauptalkaloide aus *Aspidosperma limae* WOODS. stellen Aspidolimin (I) und das bekannte Aspidocarpin (IV) dar.

Zürich, Organisch-chemisches Institut der Universität

⁹⁾ C. F. GARBERS, H. SCHMID & P. KARRER, Helv. 37, 1336 (1954).

¹⁰⁾ Unter Animpfen mit der höher schmelzenden Form des O-Acetylaspidocarpins.