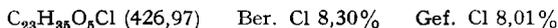


Al_2O_3 chromatographiert. Petroläther-Benzol-(1:1) (Fraktionen 1 und 2) eluierte 32 mg rohes V. Aus Aceton-Äther-Pentan Kristalle, die nach dem Umlösen 12 mg zu Rosetten vereinigte lange Prismen gaben. Smp. 223–227° (Sint. ab 214°); $[\alpha]_{\text{D}}^{23} = -2,2^\circ$ ($c = 0,91$ in Chloroform). Das UV.-Absorptionsspektrum zeigte zwischen 210 und 300 $\text{m}\mu$ kein Maximum, das IR.-Absorptionsspektrum (in CH_2Cl_2 aufgenommen) wies u. a. zwei Banden bei 2,79 μ (HO) und 8,11 μ (Acetoxy) auf. Die Tetranitromethanprobe (in Chloroform) und die Probe nach LASSAIGNE auf Schwefel waren negativ; die BEILSTEIN-Probe auf Halogen war dagegen stark positiv.



Auf eine kleine Probe von V wurde (wie bei der Dehydrierung von II zu I beschrieben) CrO_3 in Aceton-Wasser- H_2SO_4 einwirken gelassen. Die Aufarbeitung ergab unverändertes Ausgangsmaterial V.

Benzol bis Benzol-Chloroform-(3:7) (Fraktionen (5:11)) eluierten 32 mg II. Aus Äther-Pentan 23 mg Kristalle vom Smp. 147–150°.

ZUSAMMENFASSUNG

Die Bereitung des 3 β -Acetoxy-14,16 α -dihydroxy-5 β ,14 β ,17 β H-ätiansäure-methyl-esters wird beschrieben. Damit sind, was die Asymmetriezentren an C-16 und C-17 betrifft, alle 4 Stereoisomeren dieses Esters bekannt.

Pharmazeutisches Institut der Universität Basel

261. Limaspermin

von M. Pinar, W. von Philipsborn, W. Vetter und H. Schmid

(28. VII. 62)

In einer vorangehenden Mitteilung haben wir über die Isolierung des Aspidocarpins (I) und des bisher nicht bekannten Aspidolimins (II) aus der Wurzelrinde von *Aspidosperma limae* WOODSON (*Apocynaceae*) berichtet¹⁾. Die beiden Alkaloide wurden unabhängig von uns von C. DJERASSI & B. GILBERT aus derselben Pflanze isoliert und identifiziert²⁾.

Bei der Weiterführung der Drogenaufarbeitung haben wir in kleiner Menge (ca. 0,02%) ein neues Alkaloid $\text{C}_{22}\text{H}_{30}\text{O}_3\text{N}_2$ vom Smp. 175–175,5° und mit $[\alpha]_{\text{D}} = +108^\circ$ (CHCl_3) erhalten. Die Base, für die wir den Namen Limaspermin (III) vorschlagen, gibt mit dem Cer(IV)-sulfat-Reagens erst beim Erwärmen eine Farbreaktion (rotviolett); sie wurde noch als Pikrat $\text{C}_{28}\text{H}_{33}\text{O}_{10}\text{N}_5$ charakterisiert. Ihr UV.-Spektrum³⁾ (Alkohol) mit Maxima bei 221, 261 und 292 $\text{m}\mu$ entspricht demjenigen des Desmethyl-aspidospermins⁴⁾. Das Spektrum erfährt auf Zusatz von Säure keine Veränderung, während in 0,05 N alkoholischer Lauge eine reversible bathochrome Verschiebung (Maxima bei 230 und 311 $\text{m}\mu$; Inflexion bei 258 $\text{m}\mu$) beobachtet wird. Das IR.-Spektrum (CHCl_3) zeigt breite OH-Absorption bei ca. 3436 cm^{-1} , die

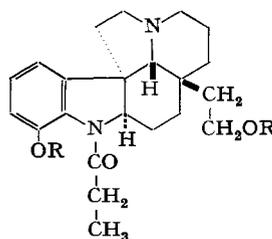
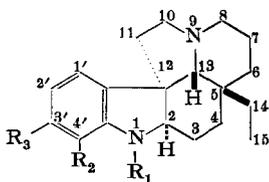
¹⁾ M. PINAR & H. SCHMID, *Helv.* 40, 1283 (1962).

²⁾ Briefliche Mitteilung von Herrn Prof. C. DJERASSI vom 1. 5. 1962.

³⁾ Siehe experimentellen Teil.

⁴⁾ B. WITKOP & J. B. PATRICK, *J. Amer. chem. Soc.* 76, 5603 (1954).

Bande eines chelierten Amids bei 1631 cm^{-1} und Aromatenbanden bei 1600 und 1577 cm^{-1} . Das Alkaloid lieferte bei der säurekatalysierten Hydrolyse Propionsäure, und mit Pyridin-Essigsäureanhydrid bei 50° eine dünn-schichtchromatographisch einheitliche, bisher nur amorph erhaltene O,O-Diacetylverbindung IV, welche als bei $122\text{--}123^\circ$ schmelzendes Pikrat $\text{C}_{32}\text{H}_{37}\text{O}_{12}\text{N}_5$ charakterisiert wurde. Die Diacetylverbindung zeigt die UV.-Absorption eines N-Acylindolins (Maximum bei $254\text{ m}\mu$; Inflexion ca. $285\text{ m}\mu$)⁵). Das IR.-Spektrum (CHCl_3) (keine OH-Absorption) zeigt Banden bei 1764 cm^{-1} (Arylacetat), 1734 cm^{-1} (Alkylacetat), 1664 cm^{-1} (uncheliertes Amid), und eine Aromatenbande bei 1634 cm^{-1} (vgl. N,O-Diacetylaspidosin⁴). Limaspermin ist daher als N-Propionyl-7-hydroxy-indolin-Abkömmling aufzufassen. Zusammen mit der Analyse der Kernresonanzspektren lassen sich für das Alkaloid und seine Diacetylverbindung die Konstitutionsformeln III und IV schreiben.



- I: $\text{R}_1 = \text{COCH}_3$; $\text{R}_2 = \text{OH}$; $\text{R}_3 = \text{OCH}_3$
 II: $\text{R}_1 = \text{COC}_2\text{H}_5$; $\text{R}_2 = \text{OH}$; $\text{R}_3 = \text{OCH}_3$
 V: $\text{R}_1 = \text{COCH}_3$; $\text{R}_2 = \text{OCH}_3$; $\text{R}_3 = \text{H}$
 VI: $\text{R}_1 = \text{R}_2 = \text{R}_3 = \text{H}$

- III: $\text{R} = \text{H}$
 IV: $\text{R} = \text{COCH}_3$

Das 60 MHz-Protonenresonanzspektrum⁶) von Limaspermin (III) in CDCl_3 (Fig. 1) (gef. Totalprotonenzahl 31 ± 1) zeigt folgende Signale: Singlett bei 653 Hz (1 H: cheliertes Hydroxyl); Multiplett bei ca. 415 Hz (3 H; drei benachbarte Aromatenprotonen); Quartett bei 247 Hz (1 H an C-2⁷); Triplet bei 211 Hz (2 H; $J = 7$ Hz; Methylenprotonen an C-15); für Alkaloide vom Aspidospermintyp charakteristische Absorption bei ca. 180 Hz⁷) (2 H); Quartett bei 154 Hz ($J = 7,5$ Hz; $-\text{N}-\text{CO}-\text{CH}_2-\text{CH}_3$)¹). Es fehlen Signale von Methoxygruppen. Das Vorliegen einer prim. Hydroxylgruppe an C-15 wird durch das NMR.-Spektrum (CDCl_3) der Diacetylverbindung IV bestätigt: Das Triplet der Methylenprotonen an C-15 (211 Hz) im Spektrum von III ist im Spektrum von IV nach ca. 240 Hz verschoben und überlagert sich mit der Absorption des Protons an C-2. Die Verschiebung um 27 Hz⁸) steht mit der Acetylierung einer prim. Hydroxylgruppe im Einklang, ebenso wie die Beobachtung, dass in der Region von 220–260 Hz die Signale von drei Protonen auftreten. Ferner sieht man im Spektrum von IV noch folgende Absorptionen: Aromatenmultiplett bei ca. 422 Hz (3 H), Multiplett bei ca. 185 Hz; Singlett bei 136 Hz ($\text{Ar}-\text{O}-\text{CO}-\text{CH}_3$); Singlett bei 117 Hz ($-\text{CH}_2-\text{O}-\text{CO}-\text{CH}_3$) und ein Triplet

⁵) Vgl. V. PRELOG & S. SZPILFOGEL, Helv. 28, 1669 (1945).

⁶) Chemische Verschiebungen relativ zu Tetramethylsilan als internem Standard.

⁷) Vgl. die in der Arbeit ¹) angegebene Literatur.

⁸) L. M. JACKMAN, Applications of Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy in Organic Chemistry, p. 55, London 1959.

bei 72 Hz ($J = 7,5$ Hz; $N-CO-CH_2-CH_3$). Im übrigen zeigen die Spektren von Limaspermin (III) (Fig. 1) und Aspidolimin (II) (Fig. 2) im Bereich von 47–200 Hz grosse Ähnlichkeit und dieselbe Protonenzahl (23 H).

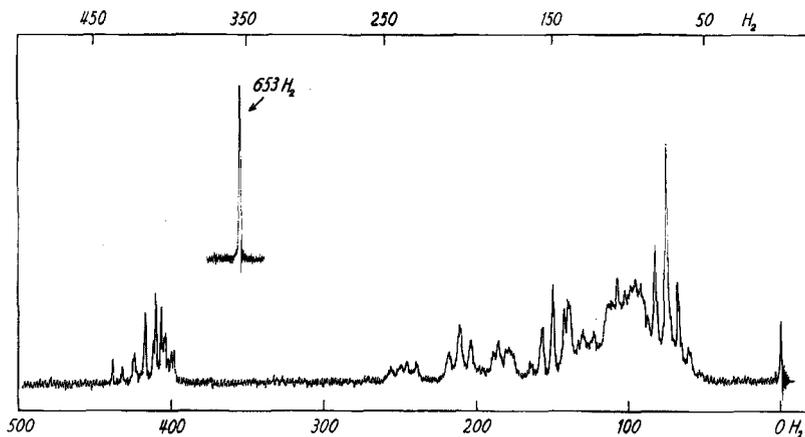


Fig. 1 NMR.-Spektrum von Limaspermin in $CDCl_3$

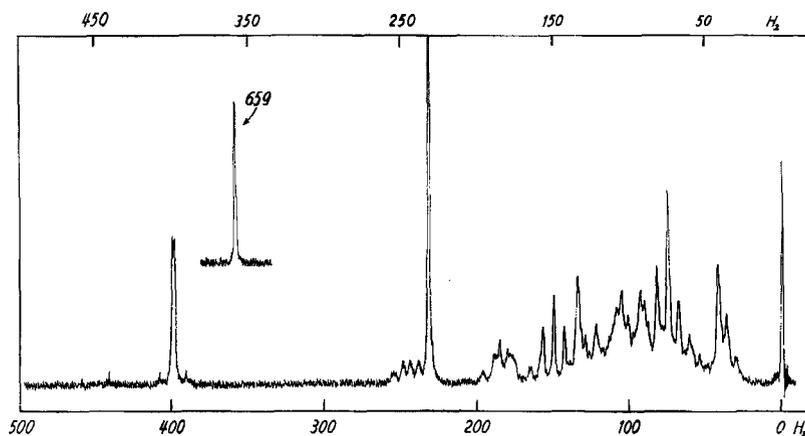


Fig. 2. NMR.-Spektrum von Aspidolimin in $CDCl_3$

Das Massenspektrum des Limaspermins (Fig. 3) bestätigt die aus seinen chemischen Reaktionen und aus seinem Kernresonanzspektrum abgeleitete Formel weitgehend und stellt das der Struktur zugrunde liegende Ringskelett des Aspidospermins (V) ausser Zweifel. Sämtliche hohen Spitzen des Spektrums sind nach den von BIEMANN *et al.*⁹⁾ aufgefundenen und von DJERASSI *et al.*^{10) 11)} mehrfach bestätigten Regeln der Fragmentierung des Aspidosperminskelettes zwanglos zu erklären.

⁹⁾ K. BIEMANN, MARGOT FRIEDMANN-SPITELLER & G. SPITELLER, *Tetrahedron Letters* 1961, Nr. 14, 485.

¹⁰⁾ C. DJERASSI, B. GILBERT, J. N. SHOOLERY, L. F. JOHNSON & K. BIEMANN, *Experientia* 17, 162 (1961).

¹¹⁾ C. DJERASSI, H. W. BREWER, H. BUDZIKIEWICZ, O. O. ORAZI & R. A. CORRAL, *Experientia* 18, 113 (1962).

Die Spitze bei m/e 370 steht im Einklang mit der Summenformel. Die für das Aspidospermin (V) charakteristische Spitze bei $M-28$ ist hier nur sehr klein (m/e 342), während sich die höchste Spitze des hohen Massenbereiches bei $M-46$ (m/e 324) befindet. Sie entspricht sehr wahrscheinlich einem Fragment, das in 2 Stufen, nämlich durch Abspaltung von Äthylen und anschließenden Verlust von Wasser entsteht (Fragment *b*).

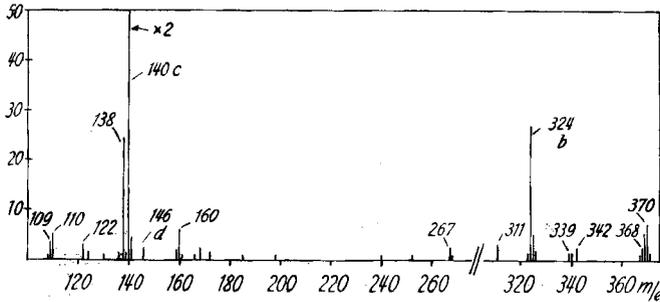
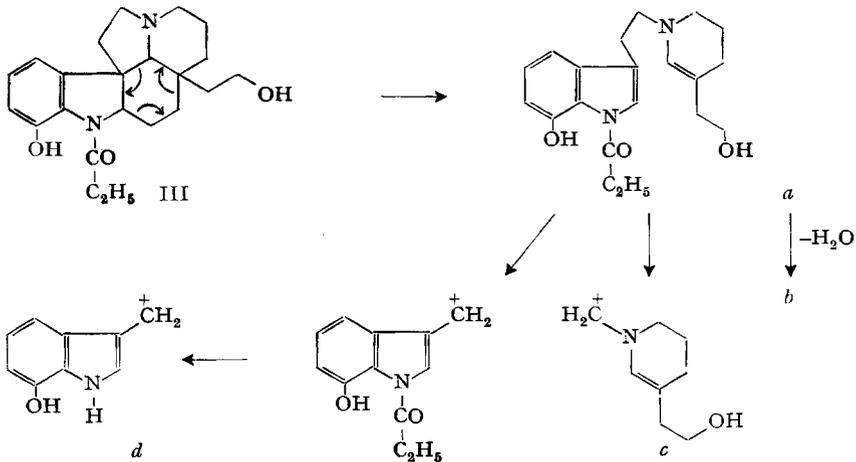


Fig. 3 Massenspektrum von Limaspermin



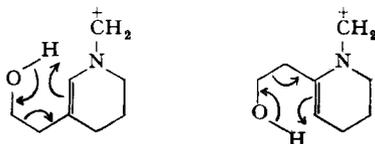
Die weitaus höchste Spitze des Massenspektrums (Fragment *c*) ist im Vergleich zum Aspidospermin (V) um 16 Masseneinheiten von m/e 124 auf m/e 140 verschoben. Desgleichen befinden sich die für den Indolteil charakteristischen Spitzen bei m/e 146 (*d*) und m/e 160 um 16 Massenzahlen höher als in Desacetyl-desmethoxy-aspidospermin (VI)⁹). Diese beiden Verschiebungen bestätigen die Placierung der einen Hydroxylgruppe im Indolteil (Fragment *d*), der anderen in Fragment *c*¹⁰). Letzteres wird auch durch die Spitze bei m/e 122 angedeutet, die dem Verlust von Wasser aus *c* entspricht.

Die relativ hohe Spitze bei m/e 138 ist vermutlich nur zum Teil durch Abspaltung von H_2 aus *c* zu erklären. Ein bedeutender Beitrag dazu dürfte von einem Dehydrogenierungsprodukt des Limaspermins (III) stammen, dessen Molekel-Ion bei m/e 368 aufscheint. Dieses Produkt ist wahrscheinlich durch thermische Zersetzung im Einlaßsystem des Massenspektrometers in geringer Menge entstanden.

Das Vorliegen eines N- (oder O-) Propionylrestes zeigt sich in der Spitze bei m/e 267, die durch Abspaltung des Propionylrestes aus *b* zu erklären ist. Die Tatsache, dass die den Indolkern repräsentierenden Spitzen bei m/e 146 (*d*) und m/e 160 den Propionylrest offenbar als Ketten verloren haben, findet eine Parallele in den Spektren der Methyläther des Spegazzinins und des Spegazzinidins¹¹), wo die Acetylgruppe auf die gleiche Weise eliminiert wird.

Die Spitzen bei m/e 339, 311 und 109 deuten auf das Vorliegen einer primären Hydroxylgruppe. Alle 3 entstehen durch denselben Bruch: m/e 339 aus dem Molekel-Ion, m/e 311 aus Fragment *a* (oder aus dem Molekel-Ion mit anschliessender Eliminierung von Äthylen) und m/e 109 aus *c*.

Ein Argument für die Angliederung der Hydroxyäthyl-Seitenkette in Stellung 5 oder 13 ist in der Spitze bei m/e 110 zu finden. Diese Spitze entspricht dem Verlust von CH_2O aus dem Bruchstück *c* unter Umlagerung eines H-Atoms. Ihre Höhe im Vergleich zu jener bei m/e 109, die in der Konkurrenzreaktion *c*-31 entsteht, legt die Annahme der Beteiligung einer Doppelbindung an der Wasserstoffumlagerung nahe. Nur die Angliederung der Hydroxyäthyl-Gruppe in einer der beiden angegebenen Positionen bringt einen ihrer Wasserstoffe in eine für die Umlagerung günstige Lage zur Doppelbindung¹²).



Nach Fertigstellung dieses Manuskriptes haben wir aus *Aspidosperma limae* WOODSON ein weiteres Alkaloid vom Smp. 174–175°, $[\alpha]_D = +118^\circ \pm 3^\circ$ (CHCl_3), der Formel $\text{C}_{23}\text{H}_{32}\text{O}_4\text{N}_2$ isoliert, dem auf Grund der vorliegenden Ergebnisse die Struktur III mit einer zusätzlichen Methoxylgruppe an C-3' zugewiesen werden kann¹³).

Dem SCHWEIZERISCHEN NATIONALFONDS danken wir bestens für die gewährte Unterstützung. Der eine von uns (M. P.) dankt der «FUNDACION JUAN MARCH» für ein Stipendium. Ferner danken wir HERTN Prof. E. LEDERER bestens für sein Entgegenkommen, das Massenspektrum in seinem Institut aufzunehmen.

Experimenteller Teil¹⁴)

Isolierung von Limaspermin. Das Alkaloid wurde aus der Fraktion «schwache Basen 1»¹) eines Extraktes der Wurzelrinde von *Aspidosperma limae* WOODS. isoliert: Die mit Chloroform-Methanol-Gemischen aus der Kieselgelkolonne im wesentlichen von Aspidocarpin und Aspidolimin abgetrennten Fraktionen, im Gewicht von 13,6 und 20 g, wurden vereinigt und an 500 g Kieselgel (MERCK 0,05–0,2 mm) chromatographiert. Mit Chloroform, das 2% Methanol enthielt, wurden folgende Fraktionen eluiert: B-1: 4,06 g, hauptsächlich aus Aspidocarpin und Aspidolimin bestehend. B-2: 7,70 g. Diese Fraktion enthielt eine grössere Zahl von Alkaloiden mit roter, violetter

¹²) F. W. MC. LAFFERTY, *Analyt. Chemistry* **31**, 2072 (1959).

¹³) Die Annahme, dass die beiden neuen Alkaloide dieselbe relative Stereochemie wie V besitzen, ist noch unbewiesen.

¹⁴) Die Smp. wurden auf dem KOFLER-Block bestimmt. Dünnschichtchromatogramme wurden an Kieselgel G (MERCK) mit Chloroform-Methanol-Gemischen ausgeführt. Zum Ansprühen diente das Cer(IV)-sulfat-Reagens (*Helv.* **29**, 1853 (1946); **33**, 512 (1950)) und Kaliumjodoplatinat-Lösung (*Helv.* **35**, 29 (1952)).

gelbbrauner und oranger Cer(IV)-sulfat-Reaktion; beim Anwärmen des mit Cer(IV)-sulfat angesprühnten Dünnschichtchromatogramms erschien noch ein starker Fleck mit violetter Farbe, der vom Limaspermin stammte. Die folgenden Fraktionen B-3 und B-4 wogen 2,2 bzw. 1,2 g. Chloroform mit 5% Methanol eluierte B-5 (2,5 g) und B-6 (0,6 g), reines Methanol die dunkel gefärbte Fraktion B-7 (5,8 g).

Die Fraktion B-2 (7,7 g) wurde nochmals an 500 g Kieselgel chromatographiert. Mit Chloroform-1,5% Alkohol wurden folgende Fraktionen eluiert: B-2,1 (0,09 g), B-2, 2(0,106 g), B-2,3 (0,56 g); B-2,4 (0,96 g); B-2,5 (0,71 g); B-2,6 (1,02 g); B-2,7 (1,18 g) und B-2,8 (2,64 g). Das gesuchte Alkaloid befand sich in den Fraktionen B-2,4 und B-2,5. Aus der Fraktion B-2,4 erhielt man aus Methanol 0,36 g rohes kristallisiertes Limaspermin. Aus der Fraktion B-2,5 wurde durch nochmalige Chromatographie das Limaspermin stark angereichert; diese Fraktionen (0,31 g) gaben nochmals etwa 0,1 g kristallisiertes Alkaloid. Das rohe Limaspermin wurde mehrmals aus Methanol und Aceton-Hexan umkristallisiert: Smp. 175–175,5°; $[\alpha]_D^{25} = +108^\circ \pm 3^\circ$ ($c = 0,784$; 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 71,34 H 8,32 N 7,47%

UV.-Spektrum in 96-proz. Alkohol: Max. in $m\mu$ ($\log \epsilon$): 221 (4,40), 261 (3,92), 292 (3,55); Min.: 242 (3,65), 286 (3,54). In 0,05N alkoholischer Kalilauge: Max.: 230 (4,39), 311 (3,74), Inflexion 258 (3,80); Min.: 283 (3,22). In verdünnter Säure keine Veränderung. – Das Alkaloid gab auf dem Dünnschichtchromatogramm beim Anspritzen mit Cer(IV)-sulfat keine Farbreaktion; erst beim Erwärmen trat eine violette Farbe auf (2,5 R 6/4).

Das dreimal aus Methanol umkristallisierte *Pikrat* begann sich beim Erhitzen ab 225° zu zersetzen, ohne richtig zu schmelzen.

$\text{C}_{28}\text{H}_{33}\text{O}_{10}\text{N}_5$ (599,58) Ber. C 56,09 H 5,55 N 11,68% Gef. C 56,33 H 5,78 N 11,72%

Nachweis einer N-Propionylgruppe in Limaspermin. Die Reaktion wurde wie früher beschrieben¹⁾ ausgeführt und die Propionsäure papierchromatographisch nachgewiesen.

O,O-Diacetyl-limaspermin. 18 mg des Alkaloids liess man mit 0,6 ml Essigsäureanhydrid und 0,3 ml Pyridin 20 Std. bei 50° stehen. Anschliessend wurde im Vakuum eingedampft und der in Methanol gelöste Rückstand durch eine kleine Säule aus Norit-neutralem Aluminiumoxid filtriert. Das eingedampfte Eluat liess sich bisher noch nicht kristallisieren; es zeigte im Dünnschichtchromatogramm nur *einen* Fleck und diente nach dem Trocknen im Hochvakuum zur Aufnahme des IR.- und NMR.-Spektrums (siehe theoretischer Teil).

UV.-Spektrum in 96-proz. Alkohol: Max. in $m\mu$ ($\log \epsilon$): 215 (4,5), 254 (4,1), Inflexion 285 (3,5); Min.: 238 (3,9). Keine Veränderung in 0,05N Salzsäure; in 0,05N alkoholischer Kalilauge wurde das Spektrum des Limaspermins in 0,05N-Lauge erhalten (Aufnahme ca. 15–20 Min. nach Lösen); nach dem Ansäuern erhielt man das neutrale Spektrum des Limaspermins.

Die amorphe Acetylverbindung gab ein kristallisiertes *Pikrat*, das nach mehrmaligem Umlösen aus Methanol bei 122–123° schmolz.

$\text{C}_{32}\text{H}_{37}\text{O}_{12}\text{N}_5$ (683,66) Ber. C 56,21 H 5,46 N 10,30% Gef. C 56,05 H 5,60 N 10,08%

Das aus dem *Pikrat* durch Filtration über neutralem Aluminiumoxid zurückgewonnene Diacetat zeigte dasselbe UV.- und IR.-Spektrum wie das nicht über das *Pikrat* gereinigte Produkt.

Das *Massenspektrum* wurde mit einem ATLAS CH4-Spektrometer, ausgestattet mit Hochtemperatureinlassteil und Sekundärelektronenverstärker, aufgenommen. Die Temperatur des Einlassteiles betrug 200°, die der Ionenquelle 260°. Die Ionisierungsspannung lag bei 70 V.

ZUSAMMENFASSUNG

Hauptsächlich aus spektroskopischen Befunden wird für das Indolalkaloid Limaspermin aus *Aspidosperma limae* WOODSON die Formel III abgeleitet.

Zürich, Organisch-chemisches Institut der Universität