

gänglich; die nicht auszuschliessenden Möglichkeiten einer statistischen Orientierungs-Unordnung oder gar einer Rotation der Pyridin-Molekeln sollen durch die Interpretation von Infrarot-Spektren (ev. auch von aus deuteriertem Pyridin umkristallisierter Substanz) geklärt werden.

Die Verfeinerung beider Strukturmodelle nach der Methode der kleinsten Quadrate ist zur Zeit noch im Gange; bisher hat sie mit isotropen Temperaturfaktoren zu sog. *R*-Werten von 17,7% für die Verbindung I, bzw. von 21,3% für die Verbindung II geführt. Nach ihrem Abschluss sollen weitere Einzelheiten, insbesondere Bindungslängen und -winkel, in der *Z. Krist.* veröffentlicht werden.

Die Autoren sind Herrn Dr. G. EIGENMANN für die Herstellung der Kristallproben, Herrn M. FEHLMANN für Mithilfe bei Intensitätsmessungen und Berechnungen, und der CIBA AKTIENGESELLSCHAFT, Basel, für die Unterstützung dieser Arbeit zu Dank verpflichtet.

SUMMARY

The crystal structure determinations of two pyridinium salts of 1:2-chromium complexes formed by *o,o'*-dihydroxy-*trans*-azo molecules show that the structure of the anions corresponds to the DREW-PFITZNER arrangement [2], as postulated by G. SCHETTY [1] for cases where the ligands form five- and six-membered rings with the metal ion. The correct structure formulae are given (cf. formulae I and II); as the refinement of both structures is still going on, further details (such as bond lengths and bond angles) will be published in *Z. Krist.*

Zürich, Institut für Kristallographie und Petrographie der ETH

LITERATURVERZEICHNIS

- [1] G. SCHETTY & W. KUSTER, *Helv.* **44**, 2193 (1961); G. SCHETTY, *Helv.* **46**, 1132 (1963).
[2] H. D. K. DREW & R. E. FAIRBAIRN, *J. Chem. Soc.* **1939**, I, 829; H. PFITZNER, *Angew. Chem.* **62**, 244 (1950).

36. Alkaloide aus *Strychnos chlorantha* PROG.

58. Mitteilung über Calebassen-Alkaloide [1]

von H. Müller, M. Hesse, P. Waser, H. Schmid und P. Karrer

(4. I. 65)

Strychnos chlorantha PROGEL wurde 1868 von C. HOFFMANN erstmals in Costa Rica gefunden. Bis 1964 war diese Pflanze nur in Exemplaren bekannt, die sich in einer «type collection» in Costa Rica und in 3 andern ähnlichen Sammlungen in Guatemala befinden [2]. 1964 wurde diese seltene *Strychnos*-Art von B. A. KRUKOFF und H. BARQUERO in Costa Rica neu entdeckt (bei Finca los Ensayos, Zopote de Alfaro Ruiz, Alajuela in ca. 1000 m Höhe). Die genannten Forscher hatten die Freundlichkeit, uns Rinde dieser Pflanze für eine chemische Untersuchung zur Verfügung zu stellen, wofür wir ihnen unseren besten Dank aussprechen. Botanische Muster von 2 Exemplaren dieser Pflanze (bezeichnet mit H. BARQUERO Nr. 101 und Nr. 102) wurden in den

Herbarien verschiedener botanischer Gärten deponiert, so in demjenigen von New York und im Conservatoire et Jardin Botanique Genève [2].

S. chlorantha PROG. ist in botanischer Hinsicht mit *S. ramentifera* DUCKE, *S. colombiensis*, *S. asperula* SPRAGUE et SANDW. und *S. Jobertiana* BAILL. verwandt. Chemische Untersuchungen über die Alkaloide von *S. ramentifera*, *S. colombiensis* und *S. asperula* liegen bisher nicht vor; was *S. Jobertiana* anbetrifft, teilte MARINI-BETTÒLO mit, dass Alkaloide darin nur in Spuren vorhanden sind [3].

Die folgenden Ausführungen sind eine vorläufige Mitteilung über die Alkaloide, die sich in der Rinde des Stammes und in der Wurzelrinde jener 2 Exemplare von *S. chlorantha* nachweisen liessen, die – wie oben gesagt – in Costa Rica gefunden worden sind. Dieses Pflanzenmaterial bestand aus 4 Teilen: 1. Rinde vom oberen Teil des Stammes; 2. Rinde vom mittleren Teil des Stammes; 3. Rinde vom unteren Teil des Stammes; 4. Wurzeln.

Aus 2,1 kg fein zermahlener Rinde (vom oberen Teil des Stammes) konnten mittels eines sehr schonenden Extraktionsverfahrens nur tertiäre Alkaloide und zwar insgesamt nur 0,56 g (Fraktion A) isoliert werden. Quartäre Alkaloide enthielt dieses Rindenmuster nicht.

Auch die zermahlene Rinde des mittleren Teils des Stammes enthielt ausschliesslich tertiäre Alkaloide (1,0 g aus 2,2 kg Rinde, Fraktion B).

Dagegen waren in den *Wurzeln* von *S. chlorantha* neben tertiären auch quartäre Alkaloide enthalten; die gesamte Fraktion *quartärer* Basen (Fraktion D) betrug 520 mg (aus 1,1 kg Wurzelrinde).

Untersuchung der Fraktion A (tertiäre Alkaloide aus der Rinde des oberen Teils des Stammes): Diese enthielt, wie Chromatogramme auf Alox-Dünnschichtplatten zeigten (Entwicklungsflüssigkeit $\text{CHCl}_3 + 1\% \text{CH}_3\text{OH}$; Nachweis mit Cer(IV)-sulfatlösung), mindestens 5–7 Alkaloide, von denen eines sich durch besonders grosse Wanderungsgeschwindigkeit auszeichnete. Dieses liess sich daher in einer Säule ($20 \times 2 \text{ cm}$) von Aluminiumoxid WOELM (neutral), Aktivitätsstufe I, mit Chloroform + 1% Methanol als Entwicklungsflüssigkeit als schnellst wandernde Fraktion von den übrigen Basen leicht abtrennen. Zur weiteren Reinigung wurde diese Verbindung aus Ätherlösung durch Zusatz von wenig ätherischer Pikrinsäurelösung als Pikrat gefällt und aus letzterem wieder in die Base zurückverwandelt (Ausbeute ca. 12 mg). Dieses Alkaloid erwies sich identisch mit Diacetyl-WIELAND-GUMLICH-Aldehyd III [4] [5], wie aus folgenden Untersuchungen hervorging:

Massenspektrometrisch wurde das Molekulargewicht dieser Verbindung aus *S. chlorantha* zu $494,1897 \pm 20 \times 10^{-4}$ ermittelt, was der Summenformel $\text{C}_{23}\text{H}_{26}\text{O}_4\text{N}_2$ entspricht [6]. Die Substanz zeigte in Dünnschichtchromatogrammen (auf Alox- und Silicagelplatten) die gleichen Wanderungsgeschwindigkeiten wie synthetischer N,O-Diacetyl-WIELAND-GUMLICH-Aldehyd (III) und die gleiche Farbreaktion mit Cer(IV)-sulfat (violett)¹⁾. Bei einer näheren massenspektrometrischen Untersuchung des Alkaloids N,O-Diacetyl-WIELAND-GUMLICH-Aldehyd (Fig. 1) haben wir von den Hauptspaltstücken und dem Molekel-Ion die genauen Massen bestimmt, die in Tabelle 1 zusammengefasst sind:

¹⁾ Die geringe Substanzmenge erlaubte die Bestimmung der optischen Drehung und damit der Konfiguration nicht. Die bisher bekannt gewordenen Strychnos-Alkaloide gehören alle derselben sterischen Reihe an.

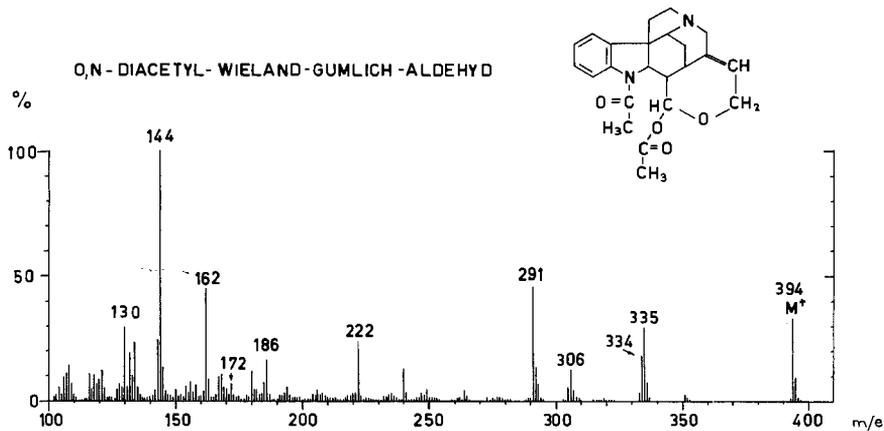


Fig. 1

Tabelle 1. *Massenspektrometrisch bestimmte Massen des Molekel-Ions und der Hauptspaltstücke von III*

gefunden	berechnet [6]	Summenformel	Formel-Nr.
394,1897 \pm 20 \cdot 10 ⁻⁴	394,1892	C ₂₃ H ₂₆ N ₂ O ₄	III (M ⁺)
335,1763 \pm 15 \cdot 10 ⁻⁴	335,1759	C ₂₁ H ₂₃ N ₂ O ₂	M-OR ₂
291,1495 \pm 15 \cdot 10 ⁻⁴	291,1497	C ₁₉ H ₁₉ N ₂ O	M-OR ₂ -R ₁
222,1126 \pm 10 \cdot 10 ⁻⁴	222,1130	C ₁₂ H ₁₆ NO ₃	e'
162,0913 \pm 8 \cdot 10 ⁻⁴	162,0919	C ₁₀ H ₁₂ NO	f

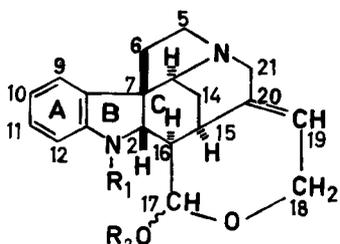
Zum Verständnis der Fragmentation von III untersuchten wir WIELAND-GÜMLICH-ALDEHYD (I) und einige seiner Derivate; Tabelle 2 enthält diese Verbindungen und deren wesentliche Bruchstücke mit den gefundenen Fragmentverschiebungen.

Tabelle 2^a). *Massenspektrometrisch bestimmte Molekel-Ionen und Fragmente der Verbindungen I-VI*

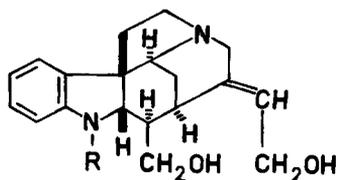
	I	II	III	IV	V	VI
M ⁺	310 (51)	352 (38)	394 (33)	380 (46)	312 (49)	340 (36)
M-OR ₂	—	—	335 (29)	—	295 (10)	323 (6)
M-HOR ₂	292 (2)	334 (5)	334 (18)	334 (34)	294 (8)	322 (4)
b	267 (28)	309 (16)	—	—	267 (12)	295 (4)
c	130 (86)	130 (35)	130 (30)	130 (39)	130 (58)	130 (42)
c+R ₁	—	—	172 (6)	—	—	158 (100)
d	144 (100)	144 (100)	144 (100)	144 (100)	144 (88)	144 (22)
d+R ₁	—	186 (18)	186 (16)	186 (17)	—	172 (76)
e, e'	180 (89)	180 (40)	222 (23)	208 (43)	182 (100)	182 (88)
f	162 (6)	162 (8)	162 (40)	162 (21)	164 (17) ^b	—
g	199 (7)	241 (17)	240 (12)	240 (8)	—	227 (8)
h	—	306 (17)	306 (12)	306 (25)	—	—
M-C(17)	281 (18)	323 (47)	—	—	281 (33)	309 (12)
M ⁻ -R ₁	—	291 (8)	291 (35)	291 (68)	—	—

^a) Die Zahlen in Klammern sind Prozentwerte relativ zur höchsten Spitze.

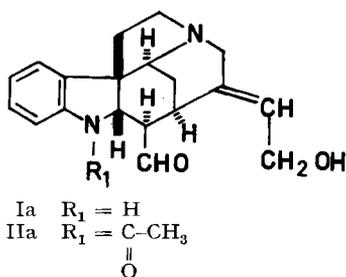
^b) f liegt hier in der offenen Form vor.



- I $R_1 = H, R_2 = H$
- II $R_1 = C-CH_3, R_2 = H$
- III $R_1 = R_2 = C-CH_3$
- IV $R_1 = C-CH_3, R_2 = C_2H_5$



- V $R = H$
- VI $R = C_2H_5$



- Ia $R_1 = H$
- IIa $R_1 = C-CH_3$

WIELAND-GUMLICH-Aldehyd ($M^+ = 310$) (Fig. 2) liegt in der halbacetalischen Form I vor [7]. Intensive Spitzen bei m/e 281 (Verlust von 29 ME) und bei m/e 267 (Verlust von 43 ME) deuten jedoch darauf hin, dass die offene Form Ia einen Anteil an der Fragmentbildung hat. Der Pik bei m/e 281 entspricht der Abspaltung von CHO aus dem Molekel-Ion, während derjenige bei m/e 267 (*b*) im Sinne der von BUDZIKIEWICZ, DJERASSI *et al.* [8] [9] für Akuammicin-Abkömmlinge postulierten Wasserstoff-

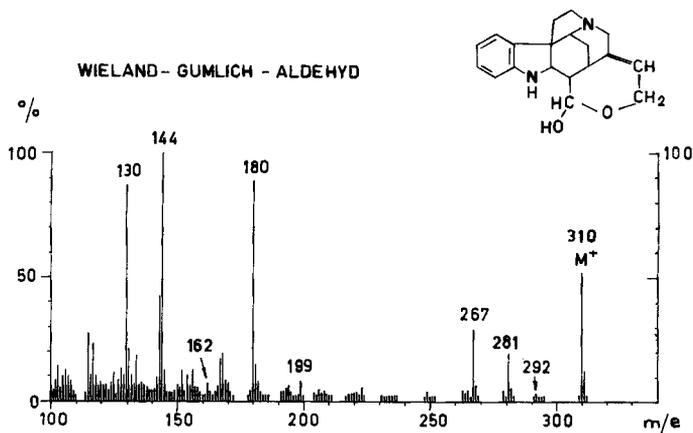
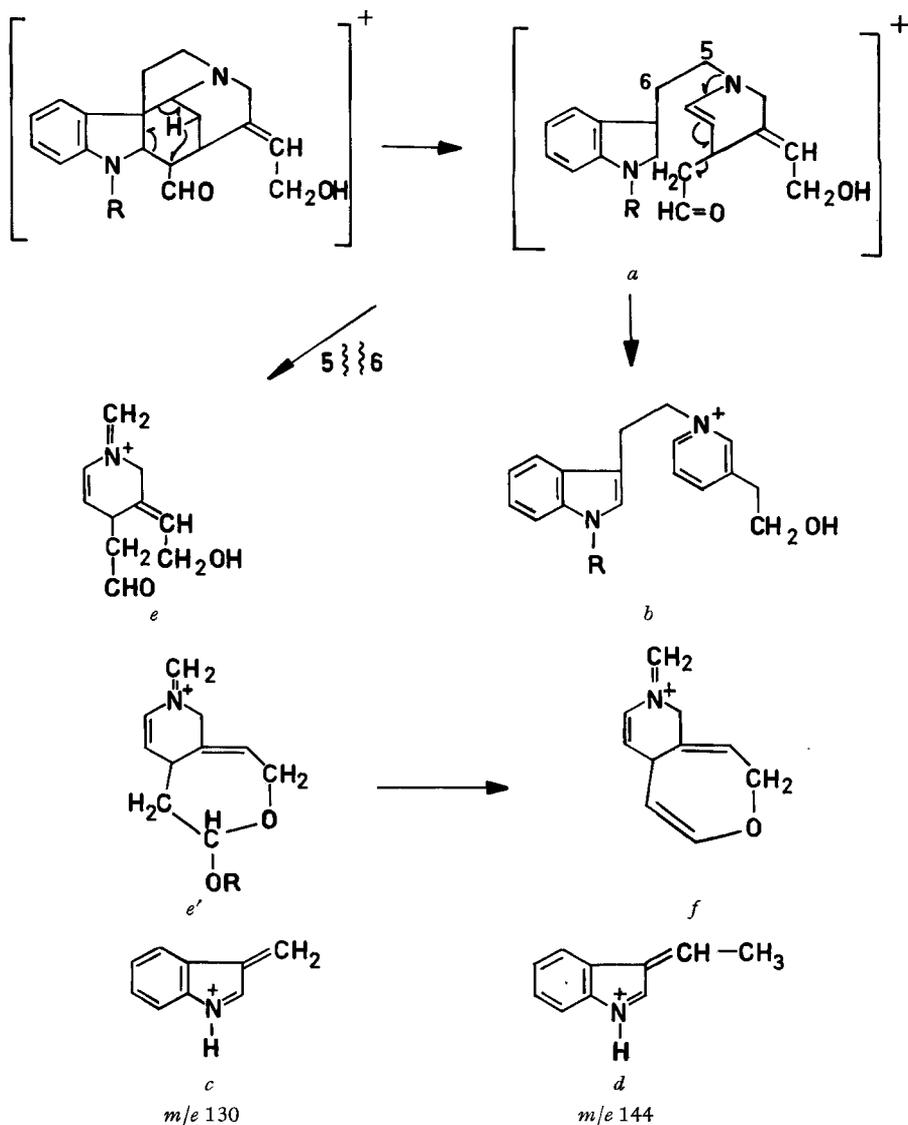


Fig. 2

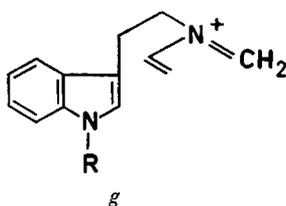
umlagerung (vgl. Bildung von *a*) erklärbar ist. Bruch der allylisch aktivierten Bindung C-15-C-16 in *a* führt zu *b*. Die Spitzen bei *m/e* 130 und 144 zeigen die bekannten Indolbruchstücke *c* und *d* an [9] [10]. In den N-Acetylverbindungen II, III und IV [5] treten zusätzliche Pike bei *m/e* 186 (*d* + 42) und bei VI *m/e* 172 (*d* + 28) auf. Analoge Verschiebungen beim Fragment *c* wurden nur in zwei Fällen beobachtet: III: *m/e* 172 (*c* + 42) und VI: *m/e* 158 (*c* + 28).



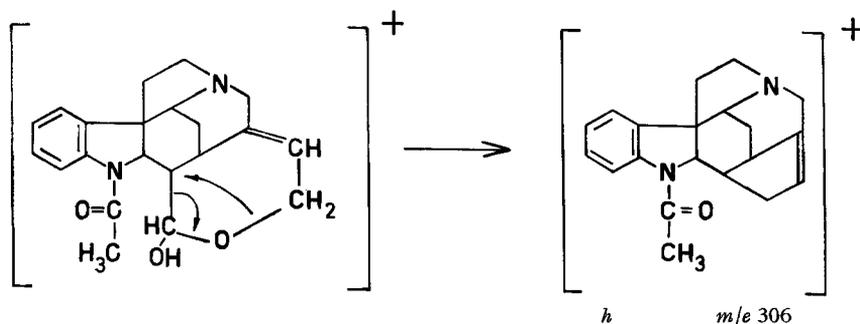
Die Formulierung des Bruchstückes mit der Masse 180 ist sowohl in der aldehydischen (*e*) wie auch in der halbacetalischen (*e'*) Form möglich. Vermutlich treten beide nebeneinander auf, was durch die Spitze, die dem Wasserverlust von *m/e* 180 ent-

spricht, angezeigt wird. Diabolinäthylacetal kann nur in der Form IV vorliegen und liefert deshalb e' ($R = C_2H_5$, m/e 208). Abspaltung von Äthanol ist begünstigt, was die relativ hohe Spitze bei m/e 162 (vgl. Tabelle 2) anzeigt. Diabolin hingegen kann sowohl in der acetalischen Form II wie auch in der offenen Form IIa formuliert werden. Analoger Verlust von Wasser aus e' ($R = H$, m/e 180) würde ebenfalls zu einer Spitze m/e 162 Anlass geben. Da jedoch dieser Pik im Vergleich zum Spektrum von IV sehr klein ist, hat man anzunehmen, dass hauptsächlich e vorliegt und damit für die Fragmentbildung von Diabolin IIa zu bevorzugen ist. – Die reduzierten Verbindungen V und VI zeigen e' erwartungsgemäss bei m/e 182.

Der von BIEMANN [10] bei Spermotrychnin gefundene Mechanismus – RETRO-DIELS-ALDER-Reaktion in Ring C – kann durch die Anwesenheit kleinerer Spitzen in den Massenspektren von I (g , $R = H$, m/e 199), II (g , $R = COCH_3$, m/e 241) und VI (g , $R = C_2H_5$, m/e 227) bestätigt werden.



Ein weiterer massenspektrometrischer Beweis für das Vorliegen der acetalischen Form liefern die Spektren der N-acetylierten Verbindungen II, III und IV. In allen drei Fällen erscheint bei m/e 306 eine Spitze kleinerer Intensität, die sich durch Verlust der acetalischen Aldehydfunktion erklären lässt. In I tritt der korrespondierende Pik nicht auf.



Den Verlust der Aldehydfunktion einschliesslich beider Sauerstoffatome und des $N_{(a)}$ -Substituenten in den Spektren von I, II, III und IV zeigt die Spitze m/e 263 an.

Vor längerer Zeit hat KING aus dem südamerikanischen *Strychnos diabolis* SANDW. das Alkaloid Diabolin isoliert [11]. Dieses wurde später von BADER, SCHLITTLER & SCHWARZ [12] genauer untersucht, aber erst BATTERSBY & HODSON [5] [13] konnten dessen Konstitution aufklären. Diabolin ist der $N_{(a)}$ -Acetyl-WIELAND-GUMLICH-Aldehyd. In dem von uns aus *S. chlorantha* isolierten Alkaloid liegt, wie wir gesehen haben, Acetyldiabolin bzw. Diacetyl-WIELAND-GUMLICH-Aldehyd vor. Es ist bei der nahen chemischen Verwandtschaft dieser 3 Verbindungen wahrscheinlich, dass sie

gelegentlich in Pflanzen zusammen auftreten; bei der Isolierung der tertiären Alkaloide kann das leicht verseifbare Diacetylderivat verloren gehen, wenn die Isolierung nicht unter milden Bedingungen erfolgt.

Tatsächlich ist es uns gelungen, aus dem Gemisch der andern tertiären Alkaloide aus der Stammrinde von *S. chlorantha* durch wiederholte chromatographische Trennung eine Fraktion zu isolieren, die aus reinem Diabolin bestand. Die Identität der beiden Substanzen wurde durch die Identität ihrer Massenspektren, die gleichen Rf-Werte in Dünnschichtchromatogrammen und die identischen Farbreaktionen mit Cer(IV)-sulfat (braungelb) erbracht.

Die übrigen Verbindungen aus dem Gemisch der tertiären Alkaloide aus der Stammrinde von *S. chlorantha*, die wir durch mehrfache chromatographische Trennungen, teils an Aluminiumoxid, teils an Silicagel, isolieren konnten, sind wahrscheinlich mit Diabolin und Acetyldiabolin konstitutionell verwandt. Dafür spricht auch die Tatsache, dass mehrere dieser Verbindungen UV.-Spektren besitzen, die von denjenigen des WIELAND-GUMLICH-Aldehyds und dessen Acetylderivaten kaum zu unterscheiden sind. Die geringen Mengen, die uns von diesen Basen bisher zur Verfügung standen, erlaubten die Aufklärung ihrer Konstitution noch nicht.

Extraktion der Rinde von Strychnos chlorantha.

2,1 kg der fein zermahlenden Rinde hat man zunächst dreimal mit Wasser und anschliessend dreimal mit Methanol kalt extrahiert (je 10 l). Die Auszüge wurden im Vakuum bei 40° bis zu einem Volumen von 300 ml separat eingedampft. Hernach hat man beide Auszüge (600 ml) vereinigt, mit der doppelten Menge Methanol (1,2 l) versetzt und 2 Std. gerührt. Von den ausgefallenen Harzen wurde abfiltriert, das Filtrat im Vakuum auf ca. 500 ml eingengt und die Ausfällung weiterer Harze in der beschriebenen Weise wiederholt.

Das von Methanol befreite wässrige Filtrat (500 ml) wurde mit Natriumcarbonat schwach alkalisch gemacht und erschöpfend zuerst mit Äther und dann mit Chloroform extrahiert. Die Äther- und Chloroform-Auszüge hat man etwas eingengt und mit 0,5N Salzsäure ausgezogen. Diese Salzsäureextrakte hat man sofort mit Na₂CO₃ schwach alkalisch gemacht und nacheinander mit Äther und Chloroform extrahiert. Diese Auszüge wurden über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel abgedampft. Als Rückstand erhielt man 560 mg tertiärer Alkaloide.

Quartäre Alkaloide aus S. chlorantha.

Nach der Extraktion und Abtrennung der tertiären Alkaloide haben wir allfällig vorhandene quartäre Alkaloide nach PANOUSE [14] als Reineckate gefällt. Diese wurden bei 20° im Vakuum getrocknet, pulverisiert und mehrmals mit Aceton extrahiert. Die in Aceton löslichen Reineckate hat man nach KAPFHAMMER [15] in die Chloride übergeführt.

Mittels dieser Methode liessen sich in der Stammrinde von *S. chlorantha* (oberer und mittlerer Stammteil) keine quartären Alkaloide nachweisen, wohl aber in der Wurzelrinde und zwar wurden aus 1,1 kg Wurzelrinde 1,17 g acetonlösliche Reineckate und aus diesen 600 mg Roh-Chloride als braune, amorphe Substanz isoliert. Eine Toxizitätsprüfung an der Maus zeigte, dass diese rohen Chloride schwache Curare-Wirkung besitzen: head-drop erfolgte bei 10–15 µg/g, Seitenlage bei 18 µg/g und Tod bei 20–25 µg/g; diese Wirksamkeiten entsprechen ungefähr jenen, die man bei anderen «monomeren», quartären Curare-Alkaloiden früher festgestellt hat (z. B. Fluorocurin, Calebassinin) und die in der Grössenordnung ungefähr 1000 bis 10000mal geringer sind als die Wirksamkeit der «bimolekularen» Curare-Alkaloide (z. B. C-Alkaloide E und G, C-Toxiferin, C-Curarin, C-Calebassin etc.). Es ist daher nicht

wahrscheinlich, dass die quartären Alkaloide aus der Wurzelrinde von *S. chlorantha* nennenswerte Mengen der letztgenannten Alkaloide enthalten.

Die Massenspektren wurden auf einem A.E.I.-Gerät Typ MS 9, ausgerüstet mit einem Direkt-einlass-System, bei Temperaturen zwischen 240 und 260° aufgenommen.

Der SCHWEIZERISCHE NATIONALFONDS ZUR FÖRDERUNG DER WISSENSCHAFTLICHEN FORSCHUNG hat in dankenswerter Weise diese Arbeit unterstützt. Besonders danken wir auch Herrn Dr. W. VETTER (F. HOFFMANN-LA ROCHE & Co. AG, Basel) für seine ausgezeichnete Hilfe und Herrn Dr. KRUKOFF wiederholt für das seltene Pflanzenmaterial, das er uns für die Untersuchung zur Verfügung stellte.

ZUSAMMENFASSUNG

Die Stammrinde und die Wurzelrinde einer in Costa Rica vorkommenden *Strychnos*-Art, *S. chlorantha* PROG., wurden auf die in ihnen vorkommenden Alkaloide untersucht. Die Stammrinde enthielt nur verschiedene tertiäre Basen; zwei derselben wurden massenspektrometrisch identifiziert: Acetyldiabolin (= Diacetyl-WIELAND-GUMLICH-Aldehyd) und Diabolin ($N_{(a)}$ -Acetyl-WIELAND-GUMLICH-Aldehyd).

In der Wurzelrinde von *S. chlorantha* kamen neben tertiären auch wenig quartäre Alkaloide vor. Sie besitzen nur geringe Curare-Wirkung und dürften daher mono-quartären Charakter besitzen.

Zürich, Organisch-Chemisches Institut der Universität

LITERATURVERZEICHNIS

- [1] 57. Mitteilung: M. HESSE, W. v. PHILIPSBORN, D. SCHUMANN, G. SPITELLER, M. SPITELLER-FRIEDMANN, W. I. TAYLOR, H. SCHMID & P. KARRER, *Helv.* **47**, 878 (1964).
- [2] B. A. KRUKOFF, Supplementary Notes on the American species of *Strychnos*. VII, *Memoirs of the New York Botanical Garden* (im Druck).
- [3] G. B. MARINO-BETTÒLO in «Curare and Curare-like Agents», Elsevier 1959, p. 137. D. BOVET, A. DUCKE, K. ADANK & G. B. MARINO-BETTÒLO, *Gazz. chim. ital.* **84**, 1141 (1954).
- [4] H. WIELAND & K. KAZIRO, *Liebigs Ann. Chem.* **494**, 191 (1932).
- [5] Vgl. auch J. A. DEYRUP, H. SCHMID & P. KARRER, *Helv.* **45**, 2266 (1962).
- [6] J. H. BEYNON & A. E. WILLIAMS, *Mass and Abundance Tables for Use in Mass Spectrometry*, Elsevier, Amsterdam 1963.
- [7] F. A. L. ANET & R. ROBINSON, *J. chem. Soc.* **1955**, 2253; K. BERNAUER, S. K. PAVANARAM, W. v. PHILIPSBORN, H. SCHMID & P. KARRER, *Helv.* **41**, 1405 (1958).
- [8] H. BUDZIKIEWICZ, J. M. WILSON, C. DJERASSI, J. LÉVY, J. LE MEN & M.-M. JANOT, *Tetrahedron* **19**, 1265 (1963).
- [9] H. BUDZIKIEWICZ, C. DJERASSI & D. H. WILLIAMS, *Structure Elucidation of Natural Products by Mass Spectrometry*, Vol. I: Alkaloids, Holden-Day Inc., San Francisco 1964.
- [10] K. BIEMANN, *Mass Spectrometry*, McGraw-Hill Co. Inc., New York 1962.
- [11] H. KING, *J. chem. Soc.* **1949**, 955; vgl. auch D. F. MARSH, *Annals New York Acad. Sci.* **54**, 310 (1951).
- [12] F. E. BADER, E. SCHLITTLER & H. SCHWARZ, *Helv.* **36**, 1256 (1953).
- [13] A. E. BATTERSBY & H. F. HODSON, *Proc. chem. Soc.* **1959**, 126.
- [14] J. J. PANOUSE, *Bull. Soc. chim. France* **1949**, 594. Vgl. auch H. SCHMID, J. KEBRLE & P. KARRER, *Helv.* **35**, 1864 (1952).
- [15] J. KAPFHAMMER & C. BISCHOFF, *Z. physiol. Chem.* **197**, 182 (1932). Vgl. auch H. SCHMID, J. KEBRLE & P. KARRER, *Helv.* **35**, 1864 (1952).