

BIBLIOGRAPHIE

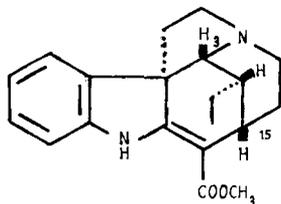
- [1] 12^e communication: M. VISCONTINI & S. HUWYLER, *Helv.* 48, 764 (1965).
 [2] Proceedings of the Third International Symposium on Pteridine Chemistry, September 1962, Pergamon Press, London 1964: S. KAUFMAN, p. 307.
 [3] S. KAUFMAN, *J. biol. Chemistry* 239, 332 (1964).
 [4] M. VISCONTINI & H. R. WEILENMANN, *Helv.* 41, 2170 (1958).
 [5] M. VISCONTINI & A. BOBST, *Helv.* 47, 2087 (1964).
 [6] *Loc. cit.* [2]: I. ZIEGLER, p. 295.
 [7] W. PFLIEDERER, *Angew. Chem.* 75, 993 (1963).
 [8] *Loc. cit.* [2]: W. VON PHILIPSBORN, H. STIERLIN & W. TRABER, p. 169.
 [9] *Loc. cit.* [2]: M. VISCONTINI, p. 267, et dans les discussions qui ont suivi les diverses communications (en particulier p. 290 et 323).

88. Notiz über Limatin aus *Aspidosperma limae* WOODS.

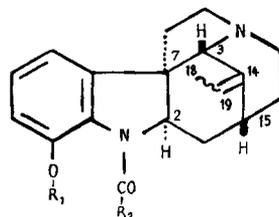
von M. Pinar, B. W. Bycroft, J. Seibl und H. Schmid

(30. III. 65)

Aspidosperma limae WOODS. (*Apocynaceae*) wurde bisher ziemlich eingehend auf ihren Alkaloidgehalt hin untersucht, wobei aus der Wurzelrinde folgende Alkaloide isoliert worden sind: Aspidocarpin [1], Aspidolimin [1], Limaspermin [2], 3'-Methoxylimaspermin [3], Limapodin [3], 3'-Methoxylimapodin [3] und (+)-Tubotaiwin (I) [3]. Die Stammrinde hat bisher die Basen Aspidolimidin, Aspidolimin, Desmethoxypalosin und Aspidocarpin ergeben [4]. Mit Ausnahme von I gehören alle erwähnten Alkaloide zur Aspidospermingruppe und besitzen dieselbe absolute Konfiguration wie (-)-Aspidospermin [5] [6]; einzig die absolute Konfiguration des Aspidolimidins ist noch nicht bekannt.



(+) - I



II: $R_1 = H$; $R_2 = C_2H_5$
 III: $R_1 = COCH_3$; $R_2 = C_2H_5$
 IV: $R_1 = R_2 = CH_3$

Die Untersuchung einer anderen Stammrinde¹⁾ hat nun zur Isolierung eines neuen Alkaloids, des in kleiner Menge anfallenden *Limatin* (II) geführt. Daneben wurden die bereits früher erwähnten [4] Stammrinden-Alkaloide angetroffen. Das neue Alkaloid $C_{21}H_{26}O_2N_2$ mit Smp. 175–176° und $[\alpha]_D = +166^\circ$ ($CHCl_3$) wurde als Pikrat und O-Acetylderivat III (Smp. 172–174°) charakterisiert. Die UV.-Spektren

¹⁾ Wahrscheinlich stammt die Stammrinde von demselben Baum, dessen Wurzelrinde untersucht worden ist. Es ist möglich, dass *A. limae* WOODS. in verschiedenen «physiologischen Varietäten» vorkommt (c. f. [7]), deren Alkaloidgehalt quantitativ wechseln kann.

und charakteristischen Banden in den IR.-Spektren von II und III (siehe exp. Teil) entsprechen weitgehend denjenigen von Desmethyl-aspidospermin [8] und Limaspermin [2]; Limatin besitzt somit ein N-Acyl-indolinsystem mit zum Stickstoff *ortho*-ständiger, acetylierbarer Hydroxylgruppe. Bei der Behandlung des Alkaloids mit Alkali und Dimethylsulfat entstand eine quartäre Verbindung mit nicht methylierter phenol. Hydroxylgruppe, da dieser Stoff, wie II, auf Zusatz von Alkali eine bathochrome Verschiebung des langwelligen UV.-Maximums um 22 nm erleidet. Darin unterscheidet sich II von den N-Acyl-hydroxy-indolin-Alkaloiden der Aspidospermingruppe.

Basierend auf den NMR.- und Massen-Spektren lässt sich für Limatin die Struktur II ableiten. Das 100 MHz-Protonenresonanzspektrum (CDCl_3)²⁾ zeigt folgende wichtige Signale: Singulett bei 10,70 ppm (1H; cheliertes Hydroxyl); Multiplett zentriert bei ca. 6,87 ppm (3H; Aromaten); Quartett bei 5,41 ppm ($J \sim 7$ Hz; 1 H; Vinylproton an C-19); Multiplett bei 4,38 ppm (2 H; durch Überlagerung des Singulett des Protons an C-3 und des Quartetts des Protons an C-2 entstanden); Dublett ohne Feinaufspaltung bei 1,63 ppm ($J \sim 7$ Hz, 3 H; Methylgruppe 18); Triplett bei 1,29 ppm ($J \sim 8$ Hz; 3 H; $\text{>N-CO-CH}_2\text{-CH}_3$); Gesamtprotonenzahl 27 ± 1 . Die auf Grund des NMR.-Spektrums in II nachgewiesene =CH-CH_3 -Gruppierung kommt wahrscheinlich in derselben Umgebung vor wie im Condylincarpin [9]; im Akuammicin und anderen Alkaloiden dieses Typs zeigt das Methyl-dublett der Äthylidenseitenkette nämlich deutliche homoallylische Kupplung³⁾.

Das Massenspektrum von II zeigt folgende wichtige Pike: (m/e): 338 (100%; Molekular-Ion), 281 (22%, $\text{M-COCH}_2\text{CH}_3$), 160 (55%), 146 (29%), 136 (510%), 123 (49%) und 108 (20%). Dieses Spektrum entspricht ganz demjenigen des Aspidospermatins (IV), wenn dem Ersatz von -OH durch -OCH_3 und von $\text{>N-COC}_2\text{H}_5$ durch >N-COCH_3 Rechnung getragen wird [11]. Das Massenspektrum von O-Acetylimatin stimmt ebenfalls mit der Strukturformel III überein.

Das durch katalytische Hydrierung erhältliche 14,19-Dihydrolimatin zeigt erwartungsgemäss Pike (m/e) bei 340 (100%), 299 (16%, M-41), 284 (20%, M-O=C-CH-CH_3), 160 (24%), 146 (12%) und 138 (250%). Besonders wichtig ist der Pik bei 299, der zusammen mit dem Fehlen eines (M-69)-Piks ein akuammicinartiges Skelett für Limatin ausschliesst (vgl. [12]).

Sehr wahrscheinlich besitzt (+)-Limatin (II) dieselbe relative und absolute Konfiguration wie das mit ihm vergesellschaftete (+)-Tubotaiwin (I). $\Delta M_D(\text{II}) - M_D(\text{III})$ beträgt $+390^\circ$ und fällt somit hinsichtlich Vorzeichen und Grösse in denselben Bereich, wie die Differenz ($+357^\circ$) der Molekularrotationen von Desmethyl-aspidospermin und seines O-Acetylderivats [13] mit α -Stellung des H-Atoms an C-2 und α -Stellung der Tryptaminbrücke (vgl. [6]). Die angegebene Konfiguration II für Limatin erfährt damit eine gute Stütze.

Die Differenz der Molekularrotation von Desmethyl-aspidospermin und Aspidospermin beträgt $+799^\circ$. Subtrahiert man diesen Betrag von dem M_D -Wert von

²⁾ Chemische Verschiebungen relativ zu Tetramethylsilan = 0.

³⁾ Beim Akuammicin und den Verbindungen der Pleiocarpaminreihe [10] beträgt die homoallylische Kupplung ca. $\approx 2,5$ Hz. Im Condylincarpin und in II liegen die beiden von den C-Atomen 3 und 15 ausgehenden CH-Bindungen fast in der Ebene der $\text{C}_{14}, \text{C}_{19}$ -Doppelbindung, so dass keine homoallylische Kupplung zu erwarten ist [11].

Limatin, so sollte man die Molekularrotation von Aspidospermatin erhalten, falls dem Alkaloid die absolute Stereochemie IV zukommt. Der berechnete Wert beträgt -238° , der gefundene -247° 4).

Herrn Dr. B. Gilbert, INSTITUTO DE QUIMICA AGRICOLA, Rio de Janeiro, danken wir sehr für den Extrakt aus der Stammrinde von *A. limae* Woods. B. W. B. dankt dem D. I. S. R. (England) bestens für ein Stipendium. Schliesslich danken wir dem SCHWEIZERISCHEN NATIONALFONDS für die gewährte Unterstützung.

Experimentelles 5). – Als Ausgangsmaterial dienten Stammrinden von *A. limae* aus den Mata dos Dois Irmãos. Den alkoholischen Extrakt aus dieser Droge verdanken wir Herrn Dr. B. GILBERT (Rio de Janeiro). 120 g des Extraktes hat man zuerst an 1 kg Kieselgel chromatographiert. Chloroform eluierte 9,8 g Fraktion B-1 und 6,4 g Fraktion B-2, Chloroform mit 5% Methanol die Fraktionen B-3 (6,1 g), B-4 (4,1 g), B-5 (10,5 g), B-6 (6,7 g), B-7 (7,3 g), B-8 (6,0 g) und B-9 (3,7 g). Durch weitere Chromatographie konnte man aus der Fraktion B-1 0,86 g (+)-*Aspidolimin* vom Smp. 149–151°, 2,28 g (+)-*Aspidocarpin* vom Smp. 167–168°, sowie Spuren von *Desmethoxy-palosin* isolieren. Diese Alkaloide hat man an Hand der Cer(IV)-sulfat-Reaktionen und der Dünnschichtchromatogramme identifiziert, die ersten zwei Basen ferner durch Misch-Smp., IR.-Spektrum und spezifische Drehung. *Aspidocarpin* und *Aspidolimin* (0,45 bzw. 0,30 g) hat man nach neuerlicher Chromatographie an Kieselgel mit Chloroform auch aus B-2 isoliert; dünn-schichtchromatographisch liess sich in B-2 noch *Aspidolimidin* nachweisen; die Fraktion enthält noch vier Alkaloide mit roter bzw. oranger Cer(IV)-sulfat-Reaktion. Die Fraktion B-3 gab bisher nur kleine Mengen *Aspidolimin* und *Aspidocarpin*, B-4 hat man an 150 g Kieselgel mit Benzol-Essigester-Diäthylamin-60:40:2 chromatographiert. Die erste Fraktion war alkaloidfrei; die zweite (B-4-2; 1,33 g) enthielt Alkaloide mit roter Cer(IV)-sulfat-Reaktion und als Hauptalkaloid das *Limatin* (II) (violette Cer(IV)-sulfat-Reaktion nach Erwärmen). Nach nochmaliger Chromatographie mit Aceton-Hexan-Gemischen erhielt man schliesslich ein Öl (~ 100 mg), das in Äther gelöst, filtriert und anschliessend ins Pikrat umgewandelt wurde. Das mehrmals aus Äther umgelöste Pikrat (beim Erhitzen Zersetzung ab 265°) hat man in üblicher Weise in das freie *Limatin* umgewandelt (41 mg). Auf ähnliche Weise liessen sich auch aus B-5 133 mg *Limatin* gewinnen.

Das mehrmals aus Aceton-Hexan umgelöste Alkaloid zeigte folgende Eigenschaften: Smp. 175–176°; $[\alpha]_D^{20} = +166^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 0,845$; CHCl_3). UV.-Spektrum in Äthanol: λ_{max} (nm) (log ϵ): 219,5 (4,66), 259 (4,17), 290 (3,83); λ_{min} : 243 (3,94), 284 (3,82); (in 0,05 N äthanolischem KOH): λ_{max} : 230 (4,69), 310 (4,09); λ_{min} : 283 (3,72); Inflexion: 258 (4,12). In verd. Säure erfährt das Spektrum keine signifikante Verschiebung. IR.-Spektrum (CDCl_3): kein freies OH; ca. 2920 cm^{-1} (geb. OH); 1631 cm^{-1} (cheliertes Amid), 1603 und 1577 cm^{-1} (Aromaten). NMR.- und Massenspektrum siehe theoret. Teil. Das Alkaloid gibt auf Kieselgelplatten erst beim Erwärmen eine Farbreaktion mit Cer(IV)-sulfat (rotviolett). Mol.-Gew. (massenspektrometrisch): gef. 338.

$\text{C}_{21}\text{H}_{26}\text{O}_2\text{N}_2$ (338,43) Ber. C 74,52 H 7,74 N 8,28% Gef. C 74,42 H 7,88 N 8,23%

Das in üblicher Weise bereitete *Limatin-pikrat* hat man aus Aceton-Essigester oder Aceton-Wasser umgelöst. Beim Erhitzen Zersetzung oberhalb 265°.

$\text{C}_{27}\text{H}_{29}\text{O}_9\text{N}_5$ (567,54) Ber. C 57,14 H 5,15 N 12,34% Gef. C 57,38 H 5,18 N 12,29%

Das mit Pyridin-Essigsäureanhydrid bereitete *O-Acetyl-limatin* (III) hat man in Chloroformlösung über eine kleine Aloxsäule filtriert; das eingedampfte Eluat wurde mehrmals aus Äthylacetat umkristallisiert. Smp. 172–174°; $[\alpha]_D^{20} = +45^\circ \pm 5^\circ$ ($c = 0,233$; CHCl_3). UV.-Spektrum (Äthanol): λ_{max} : 216 (4,35), 255 (4,01); Inflexion: 285 (3,43); λ_{min} : 238 (3,82). Keine Veränderung in 0,05 N Salzsäure oder 0,05 N alkoholischer Kalilauge. IR.-Spektrum (CHCl_3): 1761 (Arylacetat), 1658 (uncheliertes Amid), 1603 cm^{-1} (Aromatenbande). NMR.- ($\text{CH}_3\text{-CO}$ -Singulett bei 2,25 ppm) und Massenspektrum (Pike (*m/e*) bei 380 (100%); 338 (60%; M-42); 323 (20%; M-57); 160

4) Über O.R.D.-Messungen an diesen und anderen Alkaloiden wird später berichtet werden.

5) Smp. auf dem KOPFLER-Block; Dünnschichtchromatogramme auf Kieselgel (MERCK) mit Chloroform-Methanol-Gemischen, Benzol-Essigester-Diäthylamin 70:20:10 und Aceton-Hexan 1:1. Ansprüh-Reagens: Cer(IV)-sulfat in 2 N H_2SO_4 . Die Massenspektren wurden an einem PERKIN-ELMER-Modell RNU-6A bei 80 V Elektronenspannung und einer Temperatur von 125° aufgenommen.

(45%); 146 (30%); 136 (300%)) zeigen die gegenüber den Spektren der nicht acetylierten Verbindungen erwarteten Veränderungen.

$C_{23}H_{28}O_3N_2$ (380,47) Ber. C 72,60 H 7,42% Gef. C 72,12 H 8,01%

18 mg Limatin hat man in der früher beschriebenen Weise ([3], [14]) mit Dimethylsulfat und Alkali methyliert. Die alkalische Lösung hat man hierauf mit starker Salzsäure neutralisiert, mit Ammoniak versetzt und im Vakuum eingedampft. Der mehrmals mit Methanol nachverdampfte Rückstand wurde mit Chloroform-Methanol-10:1-Gemisch ausgezogen und der Rückstand (16,2 mg) mit demselben Gemisch an Aluminiumoxid chromatographiert. Nach Umlösen des eingedampften Eluates aus Methanol-Äther erhielt man sehr leicht wasserlösliche Kristalle vom Smp. 164–167° und mit blauer Cer(IV)-sulfat-Reaktion (nach Erhitzen), bei denen es sich um das Methosulfat des am N(b) methylierten Limatins handelt. UV.-Spektrum (Alkohol): λ_{max} : 221, 257, 292; in 0,05N alkoholischer Kalilauge: 230, 314; Inflexion: 285. IR.-Spektrum (KBr): Banden bei 1629, 1603, 1575 cm^{-1} .

$C_{23}H_{32}O_6N_2S, H_2O$ (482,58) Ber. C 57,24 H 7,10 S 6,64% Gef. C 57,44 H 7,23 S 6,18%

Eine kleine Probe (ca. 1,5 mg) Limatin hat man in Äthanol-Essigsäure-5:1 mit Platinoxid (HERAEUS) unter Normalbedingungen 12 Std. hydriert. Das Reduktionsprodukt wurde bei 150°/10⁻⁶ Torr destilliert. UV.-Spektrum (Alkohol): λ_{max} : 220, 260 und 291; in 0,05N alkoholischer Kalilauge: 230, 310; Inflexion: 259. Massenspektrum siehe theoret. Teil.

SUMMARY

From the stem bark of *Aspidosperma limae* WOODSON the alkaloid Limatine has been isolated in small quantity and shown by spectroscopic methods to possess structure II.

Instituto de Quimica «ALONSO BARBA» (Madrid)
Organisch-chemisches Laboratorium der ETH und Organisch-
chemisches Institut der Universität Zürich

LITERATURVERZEICHNIS

- [1] M. PINAR & H. SCHMID, *Helv.* **45**, 1283 (1962).
- [2] M. PINAR, W. VON PHILIPSBORN, W. VETTER & H. SCHMID, *Helv.* **45**, 2260 (1962).
- [3] M. PINAR & H. SCHMID, *Liebigs Ann. Chem.* **668**, 97 (1963).
- [4] B. GILBERT, J. A. BRISOLESE, J. M. WILSON, H. BUDZIKIEWICZ, L. J. DURHAM & C. DJERASSI, *Chemistry & Ind.* **1962**, 1949.
- [5] D. SCHUMANN, B. W. BYCROFT & H. SCHMID, *Experientia* **20**, 202 (1964).
- [6] W. KLYNE, R. J. SWAN, B. W. BYCROFT, D. SCHUMANN & H. SCHMID, *Helv.* **48**, 443 (1965).
- [7] R. E. WOODSON, *Ann. Missouri bot. Gard.* **38**, 119 (1951).
- [8] B. WITKOP & J. B. PATRICK, *J. Amer. chem. Soc.* **76**, 5603 (1954).
- [9] A. SANDOVAL, F. WALLS, J. N. SHOOLERY, J. M. WILSON, H. BUDZIKIEWICZ & C. DJERASSI, *Tetrahedron Letters* Nr. **10**, 409 (1962); K. BIEMANN, A. L. BURLINGAME & D. STAUF-FACHER, *ibid.* Nr. **12**, 527 (1962).
- [10] M. HESSE, W. V. PHILIPSBORN, D. SCHUMANN, G. SPITELLER, M. SPITELLER-FRIEDMANN, W. I. TAYLOR, H. SCHMID & P. KARRER, *Helv.* **47**, 878 (1964).
- [11] Cf. N. S. BHACCA & D. H. WILLIAMS, «Applications of NMR-Spectroscopy in Organic Chemistry», Holden-Day Inc. 1964, p. 110.
- [12] K. BIEMANN, M. SPITELLER-FRIEDMANN & G. SPITELLER, *J. Amer. chem. Soc.* **85**, 631 (1963).
- [13] S. McLEAN, *Canad. J. Chemistry* **42**, 191 (1964).
- [14] S. McLEAN, K. PALMER & L. MARION, *Canad. J. Chemistry* **38**, 1547 (1960).