

29. Kopsirachin, ein ungewöhnliches Alkaloid aus der Apocynaceae *Kopsia dasyrachis* Ridl.

189. Mitteilung über organische Naturstoffe¹⁾

von

Katharina Homberger²⁾ und **Manfred Hesse***

Organisch-chemisches Institut der Universität Zürich, Winterthurerstrasse 190, CH-8057 Zürich

(31.X.83)

Kopsirachine, an Unusual Alkaloid from the Apocynaceae *Kopsia dasyrachis* Ridl.

Summary

From the leaves of *Kopsia dasyrachis* Ridl. a new type of alkaloid, kopsirachine (**1**), built up from catechin (**2**) and skytanthine (**3**) has been isolated. The structure elucidation is based on spectral and chemical evidence. Oxidative cleavage of its derivative **4** with KMnO_4 afforded veratric acid which was identified as its methylester by comparison with an authentic sample. Pyrolysis of **1** yielded δ -skytanthine (**3**). The stereochemistry of the skytanthine substituents in **1** could not yet be established.

Aus den Blättern von *Kopsia dasyrachis* Ridl. wurden bisher drei Indolalkaloide, Kopsidasin-*N*-oxid, Kopsidasin und Kopsidasinin isoliert und in ihrer Struktur aufgeklärt [2]. In der vorliegenden Mitteilung wird über die Isolierung und Strukturaufklärung des Hauptalkaloides, Kopsirachin (**1**), berichtet. Die Verbindung ist aufgebaut aus einem Mol Catechin und zwei Molen Skytanthin.

1. Chemische und spektroskopische Befunde. – Kopsirachin (**1**, $M = 620^3$) ist amorph und besitzt ein UV-Spektrum [λ_{max} 281 nm ($\log \epsilon = 3,88$), λ_{min} 256 (3,71)], welches eine grosse Ähnlichkeit mit demjenigen von Catechin (**2**)⁴⁾ zeigt. Auch aus dem Vergleich der ¹H- und ¹³C-NMR-Spektren von **1** und **2** lässt sich folgern, dass sich die beiden Chromophore entsprechen; s. unten. Im IR-Spektrum von **1** sind Aromaten-Banden bei 1620 und 1510 cm^{-1} erkennbar.

Im Elektronenstoss-Massenspektrum (EI-MS) von **1** wird das Molekularion nicht registriert, das Ion mit höchster Masse tritt bei m/z 166 ($\text{C}_{11}\text{H}_{20}\text{N}$)⁵⁾ auf. Es entsteht durch die offenbar bevorzugten Spaltungen der C(1'')–C(6)- und der C(1''')–C(8)-Bindungen,

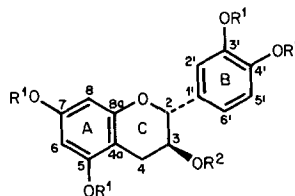
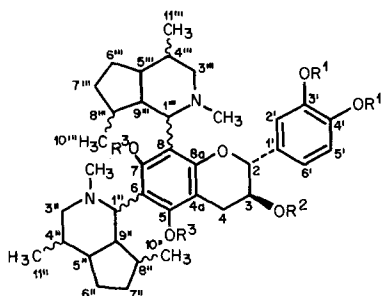
¹⁾ 188. Mitt. s. [1].

²⁾ Teil der Dissertation von K.H., Universität Zürich 1982.

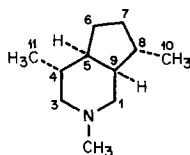
³⁾ Aus dem Felddesorptionsmassenspektrum (FD-MS) ermittelt.

⁴⁾ UV-Spektrum von (+)-Catechin: λ_{max} 280 (3,60), λ_{min} 255 (2,70) [3].

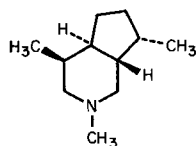
⁵⁾ Die Atomzusammensetzung wurde durch hochaufgelöste EI-MS bestimmt.



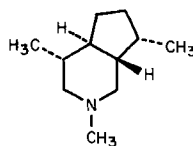
- | | | | |
|--------------------------|-------------------------------------|-----------|--------------------------------|
| 1 | $R^1 = R^2 = R^3 = H$, Kopsirachin | 2 | $R^1 = R^2 = H$, (+)-Catechin |
| 4 | $R^1 = CH_3, R^2 = R^3 = H$ | 10 | $R^1 = CH_3, R^2 = H$ |
| 5 | $R^1 = CH_3, R^2 = R^3 = COCH_3$ | 11 | $R^1 = CH_3, R^2 = COCH_3$ |
| 6 | $R^1 = CH_3, R^2 = COCH_3, R^3 = H$ | | |
| (D₃)-6 | $R^1 = CH_3, R^2 = COCD_3, R^3 = H$ | | |



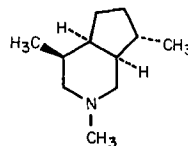
3 α
 α -Skytanthin



3 β
 β -Skytanthin



3 γ
 γ -Skytanthin



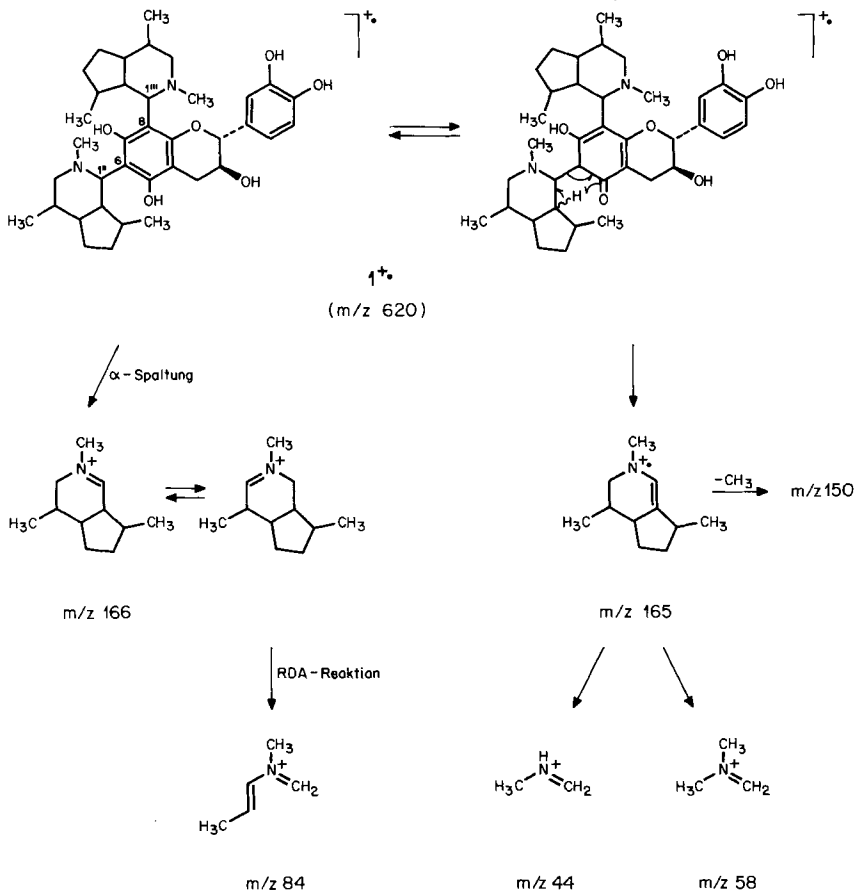
3 δ
 δ -Skytanthin

die in α -Stellung zu den N-Atomen angeordnet sind⁶⁾ (vgl. *Schema 1*). Daneben tritt m/z 165 auf, dessen Bildung durch eine *McLafferty*-Umlagerung der Ketoform **1** formuliert werden kann. Der Zerfall der Ionen m/z 166 und 165 entspricht weitgehend demjenigen von 5,6-Dehydroskytanthin [4]. Charakteristisch für Skytanthine (**3 α** –**3 δ**) ist das Auftreten der beiden intensiven Signale bei m/z 44 und 58, für die die in *Schema 1* angegebenen Strukturen angenommen werden [5].

Durch Umsetzung von **1** mit CH_2N_2 wurde *O,O'*-Dimethylkopsirachin (**4**, $M = 648$, $C_{39}H_{56}N_2O_6$ ⁵⁾) gebildet; daraus lässt sich schliessen, dass **1** die Zusammensetzung $C_{37}H_{52}N_2O_6$ besitzt). Acetylierung von **4** mit $Ac_2O/AcONa$ lieferte *O,O',O''*-Triacetyl-*O''',O'''*-dimethylkopsirachin [**5**, $M = 774$; mit zusätzlichen IR-Banden bei 1755 (phenol. Ester) und 1740 cm^{-1} (Ester)]. Bei der Chromatographie (Kieselgel, *Merck*) von **5** trat eine Hydrolyse der beiden phenol. Acetylgruppen ein; es wurde *O*-Acetyl-*O',O''*-dimethylkopsirachin (**6**, $M = 690$, $C_{41}H_{58}N_2O_7$ ⁵⁾) erhalten, das nur noch die zusätzliche IR-Absorption bei 1740 cm^{-1} besitzt. Im Massenspektrum von **6** tritt ausser den bei **1** beschriebenen Fragmentierungen das Fragment-Ion m/z 180 ((*D*₃)-**6**: m/z 181) auf, welches durch eine für Catechine übliche *retro-Diels-Alder* (RDA)-Reaktion [6] mit anschliessender Keten-Eliminierung gebildet wird, vgl. *Schema 2*. Eine Möglichkeit für

⁶⁾ Die bei Phenol beobachtete CO-Abspaltung ist nur aus der in Lösung nicht populierten Ketoform möglich. Der nicht besonders begünstigte Bruch der $C(1'')-C(6)$ - bzw. $C(1''')-C(8)$ -Bindung in **1** würde dadurch sehr attraktiv, dass auch **1** in der Gasphase in der Keto- bzw. Diketoform vorliegen kann.

Schema 1. Massenspektrometrische Fragmentierung von Kopsirachin (1)



die Genese des dem intensiven Pik bei m/z 479 entsprechenden Ions im Spektrum von **6** ist darin dargestellt.

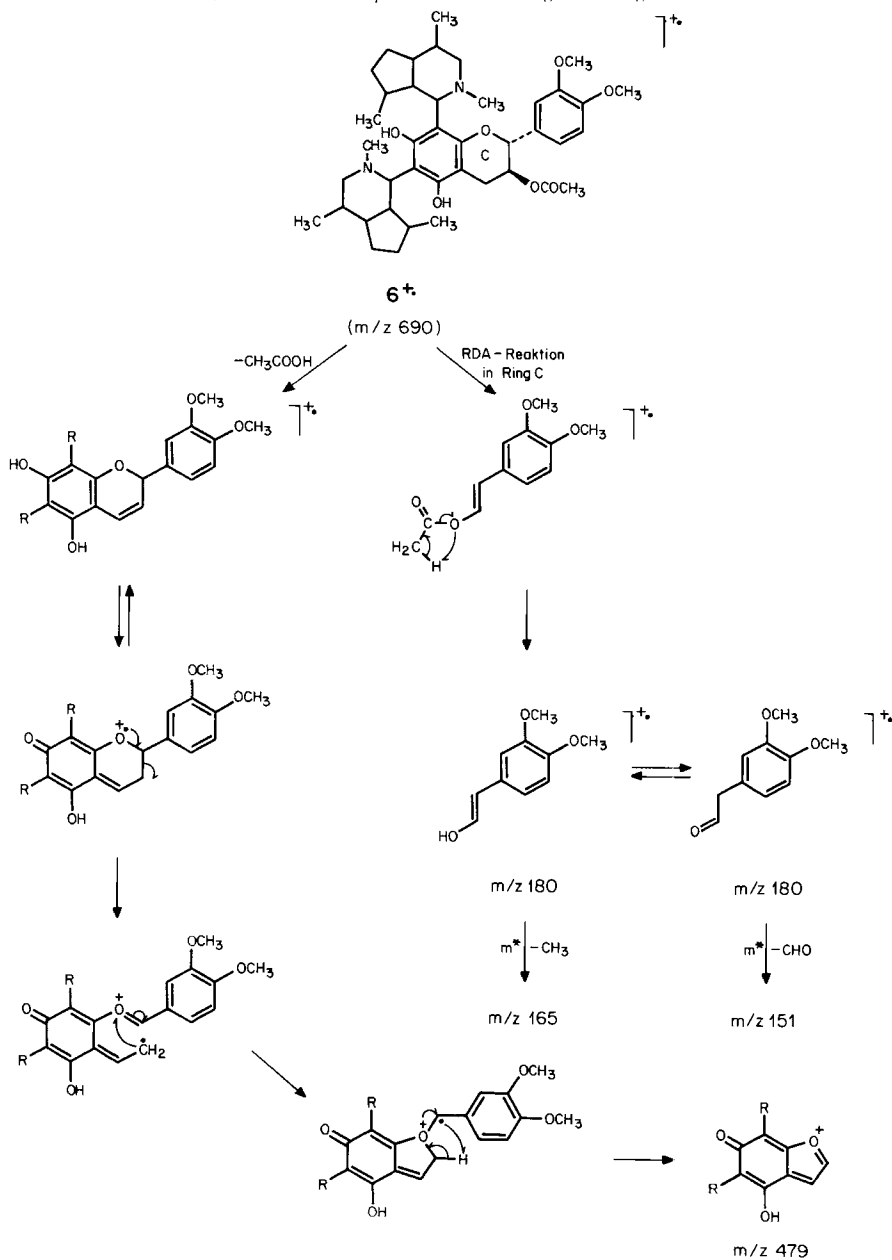
Die Skytanthin-Substituenten an C(6) und C(8) scheinen das Fragmentierungsverhalten des Catechin-Kerns in für Flavan-3-ole unübliche Bahnen zu lenken und verunmöglichen eine weitere Interpretation des Spektrums von **6** im Vergleich zum gut untersuchten Catechin [6].

Aus diesen Befunden geht hervor, dass Kopsirachin neben einer sekundären oder primären, vier phenolische OH-Gruppen besitzt, von denen zwei aufgrund sterischer Hinderung und/oder ihrer zu wenig sauren Eigenschaften unter normalen Bedingungen mit CH_2N_2 nicht methylierbar sind⁷⁾.

2. Abbaureaktionen an Kopsirachin (1).–Oxydative Spaltung von *O,O'*-Dimethylkopsirachin (**4**) mit $KMnO_4$ in Aceton/AcOH lieferte Veratrumsäure (**7**)⁸⁾ (Schema 3),

⁷⁾ Die unterschiedlichen pK_a -Werte der vier phenolischen OH-Gruppen in Catechin selbst ermöglichen eine regiospezifische Methylierung von Ring B [7].

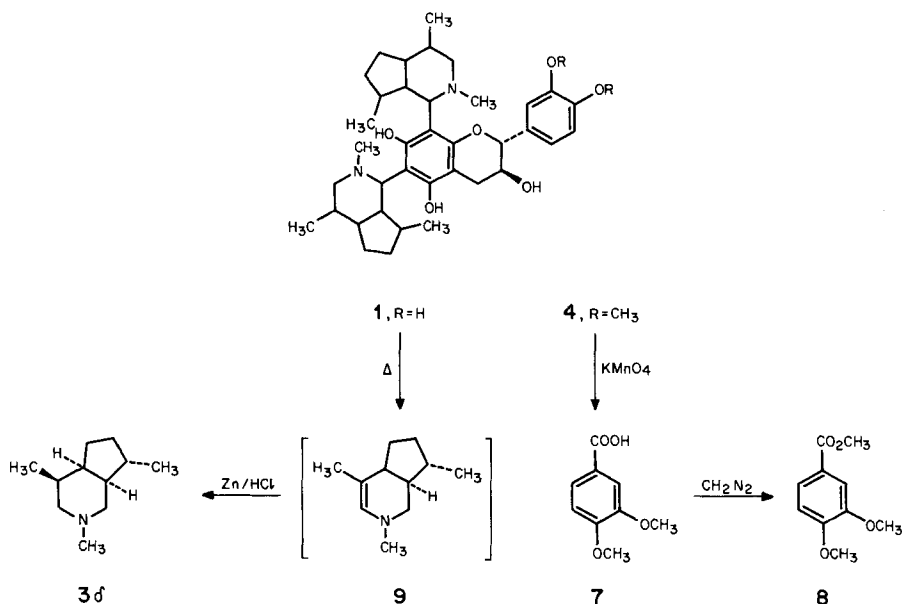
⁸⁾ In der Literatur wird eine analoge Spaltung von (+)-3',5,7-Triäthyl-4'-methylcatechin mit $KMnO_4$ zu 3-Äthoxy-4-methoxybenzoesäure beschrieben [7].

Schema 2. Massenspektrometrische Fragmentierung von **6**

die mit CH_2N_2 in $\text{MeOH}/\text{Et}_2\text{O}$ Veratrumssäure-methylester (**8**) ergab und als solche mit authentischem Material identifiziert wurde.

Ausgehend von der im Massenspektrum von **1** beobachteten Fragmentierung zum Ion $m/z 165$ (Schema 1) wurde versucht, eine analoge thermische Spaltung präparativ

Schema 3

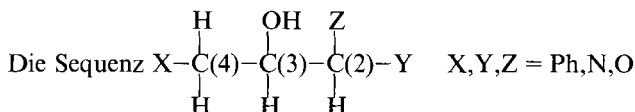


durchzuführen. Bei der Pyrolyse (Metallbad 200–210°, 8×10^{-5} Torr, ca. 2 Min.) von **1** wurde ein flüchtiges Produkt gebildet, das in einer mit flüssigem N₂ gekühlten Kühlfalle aufgefangen und gleich anschliessend mit Zn/HCl reduziert wurde (Schema 3). Dieses Spaltungsprodukt **3d** (M = 167) erwies sich im GC als identisch mit einem der Isomeren eines Skytanthin-Gemisches aus *Skytanthus acutus* Meyen und konnte aufgrund seines $[\alpha]_D$ -Wertes von +7,6° mit ziemlicher Sicherheit als δ -Skytanthin identifiziert werden⁹⁾.

Falls die pyrolytische Spaltung von Kopsirachin *via* Enamin **9** verläuft und dabei ausser am zur Verknüpfungsstelle benachbarten Chiralitätszentrum keine Isomerisierung stattfindet, würde Kopsirachin somit bei einer C(1'')-C(6)- bzw. C(1''')-C(8)-Verknüpfung (s. unten) δ - (**3d**) oder β -Skytanthin (**3b**) enthalten. Die Tatsache, dass als Nebenprodukt (3%) der Pyrolyse/Reduktion von **1** ein weiteres Skytanthin-Isomeres erhalten wurde, bei dem es sich nicht um β -Skytanthin handelt (GC-Nachweis, vgl. *Exper. Teil*), deutet jedoch auf einen möglicherweise komplexeren Mechanismus hin, und eine Aussage über die Stereochemie der Skytanthin-Teile in Kopsirachin (**1**) scheint somit eher spekulativ.

3. Analyse der ¹H-NMR-Spektren. – Die ¹H-NMR-Spektren (200 MHz, CDCl₃) von **1** und den Derivaten **4** und **6** zeigen im Bereich von 6,72–7,10 ppm Signale von drei aromat. Protonen, die dem 1,3,4-trisubstituierten Aromaten zugeordnet werden. Ferner werden je 2s für zwei *N*-Methylgruppen (in **1** bei 2,29 und 2,08 ppm, in **4** bei 2,18 und 2,07 ppm und in **6** bei 2,17 und 2,06 ppm) registriert.

⁹⁾ $[\alpha]_D$ von α -, β -, γ - und δ -Skytanthin: +79°, +16°, +59° und +9° [8].



lässt sich auf folgende Weise ableiten: Im Spektrum von **6** tritt das zur *O*-Acetylgruppe geminale Methinproton $\text{H}-\text{C}(3)$ als *dt*¹⁰⁾ bei 5,24 ppm auf. Es koppelt mit dem Methinproton $\text{H}-\text{C}(2)$ (*d* bei 4,77 ppm), dem Methylenproton $\text{H}_{\text{eq}}-\text{C}(4)$ ¹¹⁾ (*dd* bei 3,22 ppm) und dem Methylenproton $\text{H}_{\text{ax}}-\text{C}(4)$ ¹¹⁾ (*dd* bei 2,69 ppm), Entkopplungsexperimente s. *Exper. Teil*. Einzig das Signal von $\text{H}-\text{C}(3)$ erfährt gegenüber dem entsprechenden im Spektrum von **1** [$\text{H}-\text{C}(3)$ bei 3,78–3,94 ppm (*m*)] eine relevante Verschiebung von *ca.* 1,4 ppm.

Tab. 1. ¹H-NMR-Daten (Chemische Verschiebungen in ppm, Kopplungskonstanten in Hz). Lösungsmittel: **2** in (D₆)Aceton, alle übrigen in CDCl₃

	(1)	(2) [9]	4	10 [9]	6	11 [10]
H-C(2)	4,42 (<i>d</i> , <i>J</i> = 9)	4,57 (<i>d</i> , <i>J</i> = 7,5)	4,57 (<i>d</i> , <i>J</i> = 9)	4,64 (<i>d</i> , <i>J</i> = 8)	4,77 (<i>d</i> , <i>J</i> = 9)	5,01 (<i>d</i> , <i>J</i> = 6,7)
H-C(3)	3,78–3,94 (<i>m</i>)	4,01 (<i>m</i>)	3,90–4,08 (<i>m</i>)	<i>ca.</i> 3,9 (<i>m</i>)	5,24 (<i>dt</i> , <i>J</i> = 6 und 9)	5,35 (<i>m</i>)
H _{eq} -C(4)	3,14 (<i>br. dd</i> , <i>J</i> = 6 und 16)	2,94 (<i>dd</i> , <i>J</i> = 5,5 und 16)	3,24 (<i>dd</i> , <i>J</i> = 6 und 16)	3,04 (<i>dd</i> , <i>J</i> = 5,5 und 16,5)	3,22 (<i>dd</i> , <i>J</i> = 6 und 16)	2,90 (<i>dd</i> , <i>J</i> = 5,4 und 16,8)
H _{ax} -C(4)	2,50–2,70 (<i>m</i>)	2,53 (<i>dd</i> , <i>J</i> = 9 und 16)	2,56–2,76 (<i>m</i>)	2,55 (<i>dd</i> , <i>J</i> = 9 und 16,5)	2,69 (<i>dd</i> , <i>J</i> = 9 und 16)	2,67 (<i>dd</i> , <i>J</i> = 7,0 und 16,8)

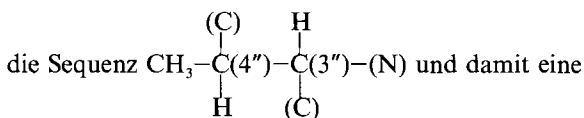
Literaturdaten der entsprechenden Protonen aus den ¹H-NMR-Spektren von Catechin (**2**), Tetramethylcatechin (**10**) und Acetyltetramethylcatechin (**11**) sind in *Tab. 1* enthalten. Es zeigt sich, dass die Verschiebungen und Kopplungskonstanten der Kopsirachin-Reihe und die Vergleichsdaten der Catechin-Reihe gut korrelieren. Dabei muss allerdings in Betracht gezogen werden, dass Kopsirachin an C(6) und C(8) zusätzlich substituiert ist und Lösungsmittelleffekte Kopplungskonstanten und chemische Verschiebungen beeinflussen können. Abgesehen von den bereits erwähnten *N*-Methylgruppen und den Signalen für die vier C-Methylgruppen (vgl. *Exper. Teil*) lassen sich für die zwei Skytanthin-Reste nur Signale für die den N-Atomen benachbarten Methinprotonen $\text{H}-\text{C}(1'')$ und $\text{H}-\text{C}(1''')$ (*2 d* bei 3,59 und 3,34 ppm in **1**, bei 3,40 und 3,28 ppm in **4** und bei 3,36 und 3,24 ppm in **6**) zuordnen. Die dabei beobachteten Kopplungen von 11 Hz lassen darauf schliessen, dass sich $\text{H}-\text{C}(1'')$ bzw. $\text{H}-\text{C}(1''')$ in *trans*-diazialer Stellung zum benachbarten Methinproton $\text{H}-\text{C}(9'')$ bzw. $\text{H}-\text{C}(9''')$ befindet.

Das ¹H-homonukleare shift-korrelierte 2D-Spektrum (cosy 90) von **1** liefert folgende Informationen bezüglich der Verknüpfung von Catechin und Skytanthin: Es erscheinen keine Crosspeaks zwischen einem der CH₃-Signale und dem Signal des Me-

¹⁰⁾ Dieses Signal ist in Wirklichkeit ein *ddd*. Da aber *J*(2,3) = *J*(3,4_{ax}) = 9 Hz ist, erscheint es als *dt*.

¹¹⁾ H_{eq} bzw. H_{ax} bezeichnen die pseudoäquatoriale bzw. pseudoaxiale Position der Protonen an C(4).

thinprotons, das mit dem Methinproton an der einen Verknüpfungsstelle koppelt. Das bedeutet, dass mindestens für einen Skytanthin-Substituenten



C(3'')-C(6)- bzw. C(3'')-C(8)-Verknüpfung ausgeschlossen werden kann. Für den anderen Skytanthinsubstituenten ist keine eindeutige Aussage möglich, jedoch deuten Kopplungsmuster und Breite des Crosspeaks zwischen dem Methinproton an der anderen Verknüpfungsstelle und seinem Kopplungspartner auf eine analoge Verknüpfung hin.

4. Analyse der ^{13}C -NMR-Spektren. – In den ^{13}C -NMR-Spektren von **1** und **6** können alle Signale des Catechin-Teiles zugeordnet werden. Als Vergleich dienten die Daten für Catechin (**2**) [11]. Die Übereinstimmung der ^{13}C -Resonanzen von **1** und **2** ist sehr gross (vgl. Tab. 2). Die Signale für C(6) und C(8) werden, verglichen mit den entsprechenden im Spektrum von **2**, aufgrund ihrer Substitution erwartungsgemäss um

Tab. 2. ^{13}C -NMR-Daten von Catechin (**2**), β -Skytanthin (**3 β**), δ -Skytanthin (**3 δ**), Kopsirachin (**1**) und O-Acetyl-O',O''-dimethylkopsirachin (**6**)

C-Atom	2 [11]	3β	3δ	1	6
C(2)	81,2			82,0 (<i>d</i>)	79,5 (<i>d</i>)
C(3)	66,6			69,3 (<i>d</i>)	70,5 (<i>d</i>)
C(4)	28,1			29,1 (<i>t</i>)	26,2 (<i>t</i>)
C(4a)	99,4			99,5 (<i>s</i>)	fehlt
C(5)	156,3 ^{a)}			154,3 (<i>s</i>) ^{a)}	154,3 (<i>s</i>) ^{a)}
C(6)	95,5			106,3 (<i>s</i>) ^{b)}	fehlt
C(7)	156,6 ^{a)}			154,8 (<i>s</i>) ^{a)}	154,7 (<i>s</i>) ^{a)}
C(8)	94,3			104,4 (<i>s</i>) ^{b)}	fehlt
C(8a)	155,5			151,9 (<i>s</i>)	151,5 (<i>s</i>)
C(1')	130,8			130,7 (<i>s</i>)	131,0 (<i>s</i>)
C(2')	114,7			115,7 (<i>d</i>) ^{c)}	110,5 (<i>d</i>) ^{b)}
C(3')	145,0			145,0 (<i>s</i>) ^{d)}	149,0 (<i>s</i>) ^{c)}
C(4')	145,0			145,2 (<i>s</i>) ^{d)}	149,2 (<i>s</i>) ^{c)}
C(5')	115,4			115,9 (<i>d</i>) ^{c)}	110,9 (<i>d</i>) ^{b)}
C(6')	118,8			119,1 (<i>d</i>)	120,2 (<i>d</i>)
C(1''),C(1''')		59,1 (<i>t</i>) ^{a)}	57,1 (<i>t</i>) ^{a)}	61,1 (<i>d</i>), 60,3 (<i>d</i>)	60,9 (<i>d</i>), 60,3 (<i>d</i>)
C(3''),C(3''')		63,3 (<i>t</i>) ^{a)}	57,9 (<i>t</i>) ^{a)}	57,3 (<i>t</i>), 57,2 (<i>t</i>)	57,5 (<i>t</i>), 57,4 (<i>t</i>)
C(6''),C(6''')		32,5 (<i>t</i>)	31,3 (<i>t</i>)	31,9 (<i>t</i>), 31,2 (<i>t</i>)	31,9 (<i>t</i>), 31,3 (<i>t</i>)
C(7''),C(7''')		26,7 (<i>t</i>)	22,2 (<i>t</i>)	22,9 (<i>t</i>), 22,5 (<i>t</i>)	22,9 (<i>t</i>), 22,3 (<i>t</i>)
C(4''),C(4''')		42,8 (<i>d</i>)	46,2 ^{b)}	52,0 (<i>d</i>), 51,9 (<i>d</i>)	51,9 (<i>d</i>), 51,9 (<i>d</i>)
C(5''),C(5''')		39,9 (<i>d</i>)	40,2 (<i>d</i>)	41,8 (<i>d</i>), 41,6 (<i>d</i>)	41,9 (<i>d</i>), 41,5 (<i>d</i>)
C(8''),C(8''')		32,4 (<i>d</i>)	36,5 (<i>d</i>)	35,3 (<i>d</i>), 35,2 (<i>d</i>)	35,4 (<i>d</i>), 35,4 (<i>d</i>)
C(9''),C(9''')		30,5 (<i>d</i>)	30,8 (<i>d</i>)	30,5 (<i>d</i>), 30,4 (<i>d</i>)	30,6 (<i>d</i>), 30,5 (<i>d</i>)
C(10''),C(10''')		17,6 (<i>q</i>)	22,7 (<i>q</i>)	22,9 (<i>q</i>)	22,9 (<i>q</i>)
C(11''),C(11''')		12,7 (<i>q</i>)	17,5 (<i>q</i>)	17,5 (<i>q</i>)	17,6 (<i>q</i>), 17,5 (<i>q</i>)
CH ₃ -N		46,8 (<i>q</i>)	46,5 ^{b)}	43,2 (<i>q</i>), 43,1 (<i>q</i>)	43,3 (<i>q</i>), 43,2 (<i>q</i>)
H ₃ CCOO-C(3)				–	169,6 (<i>s</i>)
H ₃ CCOO-C(3)				–	20,9 (<i>q</i>)
CH ₃ O-Ar				–	56,0 (<i>q</i>)

^{a)}, ^{b)}, ^{c)} und ^{d)} können jeweils untereinander vertauscht sein.

ca. 10 ppm nach tieferem Feld verschoben und erscheinen bei 106,3 bzw. 104,4 ppm. Eine Hochfeldverschiebung um 1,8–3,6 ppm erfahren die Signale für C(5), C(7) und C(8a), bedingt durch die N-Atome, die sich in γ -Position zu ihnen befinden.

Auffallend an den Spektren von **1** und **6** ist, dass alle Signale, die nicht vom Catechin-Teil stammen, «verdoppelt» sind. Ein Vergleich dieser Signale mit denjenigen von **3 β** und **3 δ** zeigt für das δ -Isomere eine gute Übereinstimmung (vgl. Tab. 2). Bemerkenswert ist die kleine Verschiebung, die die Signale von C(1'') und C(1''') durch den Catechin-Substituenten in **1** und **6** erfahren. Der γ -Effekt der O-Funktionen an C(5) und C(7) bzw. C(7) und C(8a) scheint die für C(1'') bzw. C(1''') durch die Substitution mit einem Phenylkern erwartete Tieffeldverschiebung praktisch aufzuheben.

Die Signalverdopplungen der den Skytanthin-Teilen zugeordneten Resonanzen deutet, im Zusammenhang mit den für einige C-Atome in β - und δ -Skytanthin doch recht unterschiedlichen ¹³C-Verschiebungen darauf hin, dass Kopsirachin zwei gleichartige Skytanthin-Reste enthält.

Zusammenfassend lässt sich festhalten, dass die planare Struktur **1** für Kopsirachin bewiesen wurde. Die relative Konfiguration an den Zentren C(2) und C(3) ist in Übereinstimmung mit derjenigen von (+)-Catechin (**2**). Die absolute Konfiguration des Catechin-Teiles in **1** konnte nicht geklärt werden. Es wurde sehr wahrscheinlich gemacht, dass die beiden Skytanthin-Teile untereinander gleich sind und an den gleichen Stellen mit Catechin verknüpft sind. Vermutlich handelt es sich um (+)- δ -Skytanthin.

5. Biogenetische Aspekte. – Der Biogeneseweg der Skytanthine ist noch nicht völlig geklärt. Es konnte gezeigt werden, dass diese Basen über zwei aus Mevalonsäure hervorgehenden Isopreneinheiten *via* Geraniol gebildet werden [12]. Dieser Syntheseweg steht in Übereinstimmung mit der Entstehung der Iridoide.

Inkorporationsexperimente mit tritiiertem Loganin zeigten, dass Loganin als Vorläufer für Skytanthine ausgeschlossen und eventuell Desoxyloganinsäure als Schlüsselverbindung postuliert werden muss [12]. Durch Einbau von NH₃ in letztere könnten die Skytanthine abgeleitet werden. Es wurde nachgewiesen, dass die *N*-Methylgruppe aus Methionin stammt [12].

Catechin könnte an einer intermediär gebildeten Immoniumverbindung nukleophil angreifen (Schema 4), wodurch nach Wiederholung dieses Vorganges Kopsirachin (**1**) entstehen könnte.

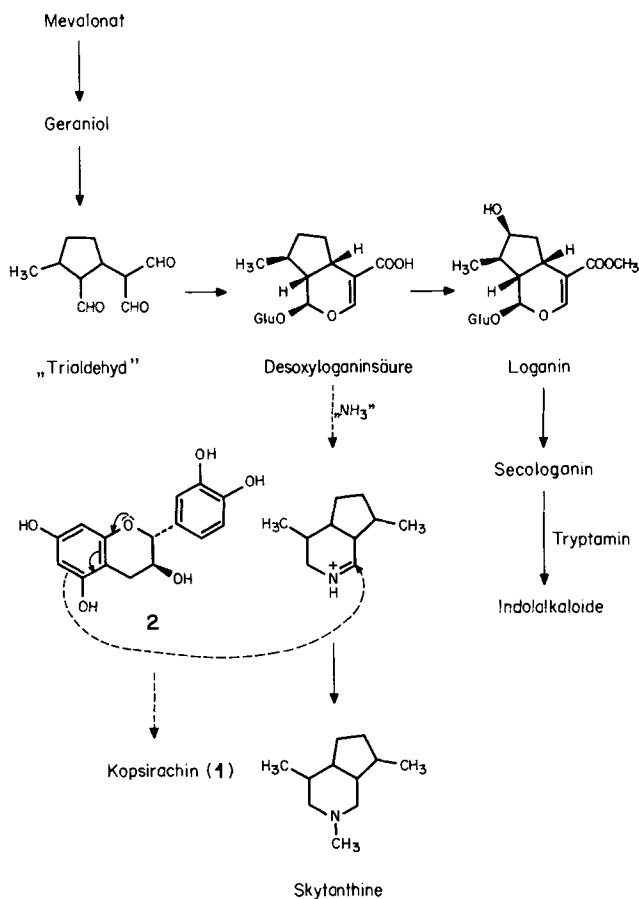
Da bei der Aufarbeitung des Pflanzenmaterials nur NH₃, nicht aber CH₃NH₂ verwendet wurde, kann angenommen werden, dass Kopsirachin natürlichen Ursprungs ist.

Es scheint hier kein analoger Fall zu Gentianin vorzuliegen, bei dem die Hauptmenge des Alkaloides bei der Aufarbeitung der Drogen mit NH₃¹²⁾ aus den Iridoiden Gentiopikrosid und Swertiamarin gebildet wurde [13].

6. Chemotaxonomische Betrachtungen. – Die Pflanzenfamilie der *Apocynaceae* wird nach Schumann [14], Pichon [15] und Markgraf in die drei Unterfamilien *Plumerioideae*, *Cerberoideae* und *Echitoideae* unterteilt. Alle bisher gefunden Indolalkaloide mit C₉/C₁₀-Monoterpeneinheiten wurden aus Pflanzen isoliert, die zur Unterfamilie *Plumerioideae* gerechnet werden. Entsprechend kommen Steroidalkaloide in Pflanzen der Unterfamilie *Echitoideae*, Tribus *Nerieae* vor. Die Gattung *Holarrhena*, bisher *Plumerio-*

¹²⁾ Gentianin besitzt keine *N*-Methylgruppe.

Schema 4. Möglicher Biogeneseweg von Kopsirachin (1)



ideae, Tribus *Alstoniae*, muss neu den *Nerieae* zugeordnet werden [16]. Aus der Gattung *Skytanthus* (Unterfamilie *Cerberoideae*, Tribus *Skytanthae*) wurden bisher nur die oben erwähnten *Skytanthus*-Alkaloide isoliert.

Die Gattung *Kopsia* ist dem Tribus *Rauwolfieae* (*Plumerioideae*) untergeordnet; dieses Tribus enthält u. a. die Gattungen *Rauwolfia*, *Cabucala*, *Ochrosia*, *Excavatia*, *Vallesia* und *Condylocarpon*. Pflanzen der genannten Gattungen sind besonders reich an Indolalkaloiden, die alle – bis auf *Kopsia* und *Vallesia* – Indolalkaloide mit nicht-umgelagertem Secologanin-Teil enthalten. *Kopsia* nimmt mit ihrem hohen Gehalt an komplizierten «Plumeran-Alkaloiden» («Kopsan-Alkaloide») und dem Fehlen von solchen Indolalkaloiden mit nicht umgelagertem Secologanin-Skelett eine Sonderstellung innerhalb dieser Gruppe ein. Somit erschien bisher die Stellung von *Kopsia* innerhalb des Tribus *Rauwolfieae* aus chemotaxonomischer Sicht sehr unbefriedigend [17]. Die Auffindung eines Alkaloides mit Skytanthin-Resten, nämlich das Hauptalkaloid Kopsirachin (1) in der Art *Kopsia dasyrachis*, erlaubt nun eine Neuordnung, bei der die Gattung *Kopsia* das Bindeglied zu den *Cerberoideae* herstellt. Die Art *K. dasyrachis* ist

einerseits eine typische *Kopsia*, ausgezeichnet durch ihren Gehalt an Kopsan-Alkaloiden [2], markiert aber andererseits durch ihr Hauptalkaloid mit Skytanthin-Resten den Übergang zu den Cerberioideae. Diese chemotaxonomischen Überlegungen wurden durch taxonomische Argumente gestützt [18].

Unser Dank gilt Herrn Prof. G. R. Waller, Oklahoma State University, Stillwater, U.S.A., für die Überlassung eines Extrakts aus *Skytanthus acutus*, Herrn Dipl.-chem. E. Schöpp für HPLC-Trennoperationen, den spektroskopischen Abteilungen unseres Institutes für die Aufnahme der Spektren und dem Schweizerischen Nationalfonds zur Förderung der wissenschaftlichen Forschung für die gewährte Unterstützung.

Experimenteller Teil

Allgemeines. Vgl. [2] sowie folgende Ergänzung: Optische Drehungen $[a]_D$ wurden auf einem Perkin-Elmer Polarimeter 241 gemessen.

1. *Isolierung*. Die aus getrockneten Blättern (1,0 kg) von *Kopsia dasyrachis* gemäss der in [2] beschriebenen Prozedur erhaltene Rohbase (9,84 g) wurde über eine kurze Säule (200 g, Kieselgel, $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$ 9:1) filtriert. Von den daraus resultierenden Fraktionen wurde die unpolare auf präp. HPLC mit $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}/25\text{proz. NH}_3$ -Lösung 97:3:0,15, die polarere mit $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}/25\text{proz. NH}_3$ -Lösung 90:10:1 weiterbehandelt. Die Fraktionen, die Kopsirachin, das polarste der Alkaloide, enthielten, wurden auf präp. HPLC ($\text{CHCl}_3/\text{MeOH}/25\text{proz. NH}_3$ -Lösung 95:5:0,2 und $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$ 9:1) weiterbehandelt. Dabei wurde bei der Verwendung von basischem Elutionsmittel die reproduzierbare Bildung mehrerer Verunreinigungen beobachtet. Ein Verzicht auf Zusatz von NH_3 ergab breite Pike mit starkem Tailing und schlechter Auflösung. Deshalb musste mehrmals chromatographiert werden. Es wurden schliesslich 547 mg Kopsirachin (1) erhalten.

2. *Kopsirachin* (1). Weisses, amorphes Pulver. Kaliumiodoplatinat-Reagens: violett; FeCl_3 : grau-violett. $[\alpha]_D^{25} = +65,8^\circ$ (CHCl_3 , $c = 0,987$). UV: max 281 (3,88); min 256 (3,71); Inf. 233 (4,35). IR: 3590, 3545, 2960, 2870, 2820, 1620, 1510 br. $^1\text{H-NMR}$ (40°): 6,72–6,94 (m, H-C(2')), H-C(5'), H-C(6''); 6,40 (br. s, 5OH, verschwindet bei D_2O -Zugabe); 4,42 (d, $J = 9$, H-C(2)); 3,78–3,94 (m, H-C(3)); 3,59 und 3,34 (2d, $J = 11$, H-C(1''), H-C(1''')); 3,14 (br. dd, $J = 6$ und 16, $\text{H}_{\text{eq}}\text{-C}(4)$); 2,90 (br. d, $J \approx 6,1\text{H}$); 2,50–2,70 (m, 2H); 2,29 und 2,08 (2s, 2 NCH_3); 1,88–2,38 (m, 12H); 1,38–1,66 (m, 4H); 1,08–1,22 (m, 2H); 0,94 und 0,87 (2d, $J \approx 5,6\text{H}$) und 0,75 (d, $J \approx 6,6\text{H}$): 3H-C(10''), 3H-C(11''), 3H-C(10'''), 3H-C(11'''). Entkopplungsexperimente: Einstrahlung bei 4,42 \rightarrow 3,78–3,94 (Veränderung); 3,86 \rightarrow 4,42 (s), 3,14 (d, $J = 16$), 2,50–2,70 (Veränderung); 3,14 \rightarrow 3,78–3,94 (Veränderung), 2,50–2,70 (Veränderung). 2D-Experiment: s. *Theoret. Teil*. $^{13}\text{C-NMR}$: s. *Tab. 2*. MS (B): 166 (73, $\text{C}_{11}\text{H}_{20}\text{N}$), 165 (40, $\text{C}_{11}\text{H}_{19}\text{N}$), 150 (82, $\text{C}_{10}\text{H}_{16}\text{N}$), 123 (28, $\text{C}_8\text{H}_{13}\text{N}$), 122 (66, ca. 70% $\text{C}_8\text{H}_{12}\text{N}$, ca. 30% C_9H_{14}), 108 (43, $\text{C}_7\text{H}_{10}\text{N}$), 84 (30), 58 (91), 44 (100). FD-MS: 620 (M^+), 456, 455, 290, 166, 165. Anal. ber. für $\text{C}_{37}\text{H}_{57}\text{N}_2\text{O}_6$ (620,39): C 71,56, H 8,45, N 4,51; gef.: C 69,81, H 8,65, N 4,94.

3. *O,O'-Dimethylkopsirachin* (4). Die Lösung von 100 mg 1 in 4 ml Et_2O und 1 ml MeOH wurde mit einem Überschuss an frisch zubereitetem CH_2N_2 versetzt und 17 Std. bei 20° stehengelassen. Das überschüssige CH_2N_2 wurde mit AcOH vernichtet, die Lösung eingedampft, der Rückstand in verd. NaHCO_3 -Lösung aufgenommen und mit CHCl_3 extrahiert. Es wurden 97 mg 4 erhalten. Kaliumiodoplatinat-Reagens: violett; FeCl_3 : rotbraun. UV: max 277 (3,66); min 256 (3,39); Inf. 282 (3,63), 230 (4,31). IR: 3580, 3000, 2950, 2870, 1620 br., 1510. $^1\text{H-NMR}$: 6,90–7,10 (m, H-C(2')), H-C(5'), H-C(6''); 4,57 (d, $J = 9$, H-C(2)); 3,90–4,08 (m, H-C(3)); 3,92 und 3,90 (2s, 2 OCH_3); 3,40 und 3,28 (2d, $J = 11$, H-C(1''), H-C(1''')); 3,24 (dd, $J = 6$ und 16, $\text{H}_{\text{eq}}\text{C}(4)$); 2,56–2,76 (m, 3H); 2,18 und 2,07 (2s, 2 NCH_3); 1,84–2,30 (m, $\approx 15\text{H}$); 1,44–1,68 (m, 4H); 1,10–1,22 (m, 2H); 0,92 (d, $J = 6,5$), 0,86 (d, $J = 6$), 0,75 (d, $J = 7$) und 0,72 (d, $J = 5$): 3H-C(10''), 3H-C(11''), 3H-C(10'''), 3H-C(11'''). MS (B): 648 (23, M^+), $\text{C}_{39}\text{H}_{56}\text{N}_2\text{O}_6$, 633 (25), 496 (10), 495 (13), 180 (29), 166 (18), 165 (30), 150 (100), 122 (47), 108 (23), 44 (57).

4. *Acetylierung von 4*. Die Lösung von 68 mg 4 in 2 ml Ac_2O wurde mit 30 mg AcONa versetzt und 21 Std. bei 20° gerührt. Nach Eindampfen des Gemisches i. HV. wurde der Rückstand in verd. NaHCO_3 -Lösung aufgenommen und mit CHCl_3 extrahiert. Das Rohprodukt schien zumindest teilweise *O,O''-Triacetyl-O''-O'''-dimethylkopsirachin* (5) zu enthalten: IR: 1755, 1740, 1620, 1600, 1510 br. MS (B): 774 (28, M^+), 732 (72), 717 (74), 690 (55), 688 (44), 675 (97), 660 (29), 646 (82), 580 (42), 579 (50), 538 (61), 537 (67), 521 (43), 479 (94), 326 (39), 314 (40), 180 (40), 166 (52), 165 (45), 151 (74), 150 (100), 122 (48), 108 (24).

Chromatographie des Rohproduktes an Kieselgel ($\text{CHCl}_3/\text{MeOH}/25\text{proz. NH}_3$ -Lösung 90:10:0,5) lieferte 40,6 mg amorphes *O-Acetyl-O''-O'''-dimethylkopsirachin* (6). Kaliumiodoplatinat-Reagens: violett. UV: max 278;

min 257; Inf. 282, 228. IR: 3000, 2960, 2880, 1740, 1620 br., 1515 br. $^1\text{H-NMR}$: 6,85–7,00 (*m*, H–C(2'), H–C(5'), H–C(6')); 5,24 (*dt*, $J = 6$ und 9, H–C(3)); 4,77 (*d*, $J = 9$, H–C(2)); 3,90 und 3,86 (2*s*, 2OCH₃); 3,36 und 3,24 (2*d*, $J = 11$, H–C(1''), H–C(1''')); 3,22 (*dd*, $J = 6$ und 16, H_{eq}–C(4)); 2,69 (*dd*, $J = 9$ und 16, H_{ax}–C(4)); 2,56–2,76 (*m*, 2H); 2,17 und 2,06 (2*s*, 2NCH₃); 1,87 (*s*, CH₃CO); 1,80–2,28 (*m*, $\approx 14\text{H}$); 1,42–1,56 (*m*, 4H); 1,06–1,22 (*m*, 2H); 0,94 (*d*, $J = 6,5$), 0,88 (*d*, $J = 6$), 0,77 (*d*, $J = 7$) und 0,74 (*d*, $J = 6$): 3H–C(10''), 3H–C(11''), 3H–C(10'''), 3H–C(11'''). Entkopplungsexperimente: Einstrahlung bei 5,24→4,77 (*s*), 3,22 (*d*, $J = 16$), 2,69 (*d*, $J = 16$); 4,77→5,24 (*dd*, $J = 6$ und 9); 3,22→5,24 (*t*, $J = 9$), 2,69 (Veränderung); 2,69→5,24 (Veränderung), 3,22 (Veränderung); 2,14→0,94 (*s*), 0,88 (*s*), 0,77 (*s*) und 0,74 (*s*). MS (B): 690 (45, M^+ , C₄₁H₅₈N₂O₇¹³), 675 (61, C₄₀H₅₅N₂O₇), 538 (26, C₃₁H₄₀NO₇), 537 (25, C₃₁H₃₉NO₇), 479 (67, C₃₀H₄₃N₂O₃), 326 (27, C₂₀H₂₄NO₃), 314 (17, C₁₉H₂₄NO₃), 180 (32, C₁₀H₁₂O₃), 166 (44, C₁₁H₂₀N), 165 (38, ca. 60% C₁₁H₁₉N, ca. 40% C₉H₉O₃), 152 (22), 151 (50, C₉H₁₁O₂), 150 (100, C₁₀H₁₆N), 122 (44, ca. 60% C₈H₁₂N, ca. 40% C₉H₁₄), 108 (22); m^+ : 180→151, 180→165.

Durch Behandlung von **4** mit (D₆)Ac₂O/(D₃)AcONa wurde entsprechend O-*Trideuterioacetyl*-O'-O''-*dime-thylkopsirachin* ((D₃)-**6**) erhalten. MS (B): 693 (62, M^+), 678 (87), 541 (37), 540 (39), 479 (96), 326 (36), 314 (24), 181 (32), 166 (61), 165 (41), 152 (32), 151 (59), 150 (100), 122 (41), 108 (21).

5. *Oxydativer Abbau zu 3,4-Dimethoxybenzoesäure (7, Veratrumsäure)*. Zu einer Lösung von 10 mg **4** in 1 ml Aceton und 0,2 ml AcOH wurden 15 mg KMnO₄ gegeben und das Gemisch 30 Min. bei 50° gerührt. Dann wurde H₂O zugegeben, mit verd. H₂SO₄ auf pH 2–3 gestellt, mit Et₂O extrahiert und anschliessend chromatographiert (AcOEt/MeOH 9:2): 1,6 mg **7**. MS (A): 182 (100, M^+), 167 (34), 165 (12), 139 (13), 121 (18), 111 (29), 77 (31).

Die Identifizierung erfolgte anhand des durch Umsetzung von **7** mit CH₂N₂ erhaltenen Methylesters **8** mittels GC (*Carlo-Erba*-Gerät mit Säule SE 52) durch Vergleich mit authentischem **8**.

6. *Pyrolyse von 1*. Auf drei Kugelrohre (ca. 3 cm \varnothing) verteilt wurden 45 mg **1** pyrolysiert (Metallbad 200–210°, 8×10^{-5} Torr, je ca. 2 Min.) und das Destillat in einer mit flüssigem N₂ gekühlten Kühlfalle aufgefangen. Der Inhalt der Kühlfalle wurde anschliessend in 1 ml 6*N* HCl/MeOH 1:1 gelöst und mit Zn-Staub 50 Min. bei 20° gerührt. Dann wurde das Gemisch filtriert, das Filtrat eingengt, mit verd. NaHCO₃-Lösung neutralisiert und mit Et₂O extrahiert: 8,3 mg (35%) δ -Skytanthin (**3 δ**). Kaliumiodoplatinat-Reagens: violett. $[\alpha]_D^{20} = +7,6 \pm 1,9$ (CHCl₃, $c = 0,83$). $^{13}\text{C-NMR}$: s. Tab. 2. MS(A): 167 (40, M^+), 166 (77), 152 (15), 110 (14), 84 (20), 68 (16), 67 (12), 58 (100), 44 (93).

Das Pyrolyseprodukt enthält 3% eines anderen Skytanthin-Isomeren (α - oder γ -Skytanthin), wie der GC-Vergleich mit authentischem Skytanthin-Gemisch aus *Skytanthus acutus* zeigte. Die verschiedenen Komponenten dieses Gemisches haben folgende Retentionszeiten (*Carlo-Erba*-Gerät, Säule SE 52, 70° isotherm) und prozentuale Anteile: 8,93 Min. (3%), 11,24 Min. (1%), 11,48 Min. (3,5%, entspricht Hauptprodukt aus **1**), 12,31 Min. (87%), 15,60 Min. (5,5%, nach GC/MS vermutlich ein Dehydroskytanthin mit $M^+ = 165$).

Mittels semipräp. HPLC (Et₂O/MeOH/*tert*-Butylamin 98,5:1,5:0,15) konnte die Hauptkomponente rein erhalten und durch ihren $[\alpha]_D^{20}$ -Wert (+19°; [8]: +16°) und den Schmp. ihres Pikrats (134–136°; [8]: 135°) als β -Skytanthin (**3 β**) identifiziert werden. $^{13}\text{C-NMR}$: s. Tab. 2.

¹³) Gemessen von Herrn Dr. W. Vetter, F. Hoffmann-La Roche & Co. AG, Basel, auf einem AEI MS 50, wofür ihm an dieser Stelle herzlich gedankt sei.

LITERATURVERZEICHNIS

- [1] *G. Neukomm, F. Roessler, S. Johne & M. Hesse*, *Planta Med.* **48**, 246 (1983).
- [2] *K. Homberger & M. Hesse*, *Helv. Chim. Acta* **65**, 2548 (1982).
- [3] *M. Hasegawa & T. Shirato*, *J. Am. Chem. Soc.* **74**, 6114 (1952).
- [4] *D. Gross, W. Berg & H. R. Schütte*, *Phytochemistry* **12**, 201 (1973).
- [5] *H. Budzikiewicz, C. Djerassi & D. H. Williams*, 'Structure Elucidation of Natural Products by Mass Spectrometry', Vol. 1, 'Alkaloids', Holden-Day Inc., San Francisco, 1964, S. 225ff; *M. Hesse & H. O. Bernhard*, in 'Progress in Mass Spectrometry', Vol. 3, 'Alkaloide', Verlag Chemie, Weinheim, 1975, S. 18ff.
- [6] *J. W. Clark-Lewis*, *Austr. J. Chem.* **21**, 3025 (1968); *S. E. Drewes*, *J. Chem. Soc. (C)* **1968**, 1140.
- [7] *J. G. Sweeny & G. A. Iacobucci*, *J. Org. Chem.* **44**, 2298 (1979).
- [8] *E. J. Eisenbraun, A. Bright & H. H. Appel*, *Chem. Ind. (London)* **1962**, 1242.
- [9] *D. T. Coxon, A. Holmes & W. D. Ollis*, *Tetrahedron Lett.* **1970**, 5241.
- [10] *J. W. Clark-Lewis, L. M. Jackman & T. M. Spotswood*, *Austr. J. Chem.* **17**, 632 (1964).
- [11] *E. Wenkert & H. E. Gottlieb*, *Phytochemistry* **16**, 1811 (1973).
- [12] *D. Gross, W. Berg & H. Schütte*, *Biochem. Physiol. Pflanz.* **163**, 576 (1972); *H. Auda, H. R. Juneja, E. J. Eisenbraun, G. R. Waller, W. R. Kays & H. H. Appel*, *J. Am. Chem. Soc.* **89**, 2476 (1967).
- [13] *H.-G. Floss, U. Mothes & A. Rettig*, *Z. Naturforsch. B* **19**, 1106 (1964); *T. R. Govindachari, S. S. Sathe & N. Viswanathan*, *Indian J. Chem.* **4**, 201 (1966).
- [14] *K. Schumann*, in 'Die Natürlichen Pflanzenfamilien', Vol. IV, Eds. A. Engler und K. Prantl, 1895, 109.
- [15] *M. Pichon*, *Mem. Mus. Nat. Hist. Nat. Nou. Ser.* **24**, 111 (1948); *idem*, *ibid.* **27**, 153 (1948); *idem*, *Not. Syst.* **13**, 212, 230 (1948).
- [16] *D. Ganzinger & M. Hesse*, *Lloydia* **39**, 326 (1976).
- [17] *M. V. Kısakürek, A. J. M. Leeuwenberg & M. Hesse*, 'Alkaloids: Chemical and Biological Perspectives' Vol. 1, ed. S. W. Pelletier, J. Wiley Sons, Inc., New York, 1983 p. 211.
- [18] *M. E. Fallen*, Dissertation Universität Zürich 1983.