

EQUISETUMALKALOIDE; STAND DER CHEMISCHEN
ERFORSCHUNG 1975

Conrad Hans Eugster

Organisch-chemisches Institut der Universität Zürich,
Rämistrasse 76, CH-8001 Zürich, Schweiz

Herrn Professor Tsunematsu Takemoto anlässlich
seiner Emeritierung mit allen guten
Wünschen für die Zukunft gewidmet.

1 EINLEITUNG UND ALLGEMEINES

Seit meinem letzten zusammenfassenden Bericht über die Chemie der Equisetumalkaloide [1] sind zahlreiche neue Ergebnisse gewonnen worden, welche einen weiteren Uebersichtsartikel rechtfertigen, insbesondere auch deshalb, weil sie zum grösseren Teil unveröffentlicht oder erst in Dissertationen [2-5] niedergelegt sind.

Unter den Pteridophyten sind als alkaloidhaltig bekannt die Gattungen Lycopodium (Familie Lycopodiaceae, Reihe Lycopodiales, Klasse Lycopsida) und Equisetum (Familie Equisetaceae, Reihe

Equisetales, Klasse Sphenopsida)¹⁾. Hingegen sind aus den artenreichen Farngewächsen (Klasse Filicopsida) meines Wissens bis heute noch keine Alkaloide isoliert worden. Als verhältnismässig alkaloidreich unter den bisher untersuchten Arten erwies sich Equisetum palustre L. (Sumpfschachtelhalm), siehe Tabelle 1. In anderen Equisetumarten (E. arvense L., E. fluviatile L. (= E. limosum L.), E. hiemale L., E. robustum A. Br., E. telmateia Erh. (= E. maximum Lam.), E. giganteum L.) kommen viel kleinere Alkaloidgehalte vor.

Die Chemie der Equisetumalkaloide ist im Vergleich zu der der Lycopodium-Alkaloide viel weniger entwickelt, obschon das Ausgangsmaterial, der Sumpfschachtelhalm, stellenweise in sehr grossen Beständen vorkommt und leicht gesammelt werden kann. Doch ist der Alkaloidgehalt im Vergleich zu etwa L. complanatum, L. annotinum, L. clavatum wesentlich geringer. Dies und die Tatsache, dass die Equisetumalkaloide sehr schwierig zu isolieren und zu reinigen sind, vermag wenigstens zum Teil den Rückstand in der strukturellen Erforschung zu erklären. Für die nachfolgend beschriebenen Untersuchungen diente vor allem E. palustre als Ausgangsmaterial.

1) Ueberblick über die Chemie der Lycopodiumalkaloide [6]

E. palustre ist eine zirkumpolare, eurasiatisch-nordamerikanische Pflanze, die in ganz Europa; in Asien nordwärts bis 69° NB, südwärts bis Kleinasien, Turkestan, Mongolei, Himalaya, ostwärts bis Kamtschatka; in Nordamerika von Alaska südwärts bis Oregon, Illinois und New Jersey vorkommt²⁾. In der Schweiz ist der Sumpfschachtelhalm auf nassen, kalkreichen und kalkarmen Böden von Sumpf- und Verlandungsgebieten sowohl in der kollinen, montanen und subalpinen Stufe verbreitet und bildet stellenweise umfangreiche, fast reine Bestände. Er ist ein gefürchtetes Weidengift und verursacht wegen seiner Giftigkeit für das Rindvieh in den betroffenen Gebieten viele Probleme³⁾. Ein Gehalt von 7-13% im Frischgras wird als toxisch angegeben [8]. In der Schweiz traten gehäufte Vergiftungsfälle in frisch meliorierten Sumpfgebieten während des 2. Weltkrieges auf. Dies war auch der Grund, weshalb eine chemische Untersuchung begonnen wurde. Als toxische Inhaltsstoffe wurden schon lange Alkaloide vermutet. Sie sind auch bis heute die einzigen isolierten Verbindungen mit experimentell nachgewiesener Toxizität geblieben, obwohl Indizien für weitere schädliche Inhaltsstoffe, z.B. Antithiaminfaktoren, bestehen,

2) Verbreitungskarte [7].

3) Darüber besteht eine umfangreiche Literatur, vergleiche z.B.

[8-13]

vergleiche [9][11][13]. Hauptalkaloid im Sumpfschachtelhalm ist das sog. Palustrin⁴⁾. Leider haben die am Palustrin ausgeführten toxikologischen Untersuchungen immer noch ganz vorläufigen Charakter [14][15], aus dem einfachen Grund, weil das schwer zugängliche Alkaloid für die chemischen Untersuchungen benötigt wurde. Wie folgende Zusammenstellung zeigt, haben sich die Arbeiten am Palustrin über viele Jahre hingezogen.

1890 führte Panzercynski in Dorpat den ersten Nachweis für Alkaloide in E. palustre⁵⁾;

1904 wurde der Befund von C.E.J. Lohmann bestätigt⁵⁾;

1936 isolierten P. Glet, J. Gutschmidt und E. Glet Palustrin in ziemlich reiner Form (kristallisiertes Hydrochlorid); vorgeschlagene Summenformel $C_{12}H_{24}N_2O_2$;

1947 gelang P. Karrer und C.H. Eugster die Isolierung der kristallisierten, reinen Base; vorgeschlagene Summenformel $C_{17}H_{29}N_3O_2$ [14];

1953 wurde sie auf $C_{17}H_{31}N_3O_2$ festgelegt [16];

4) Ueber andere Alkaloide, die in gewissen Fällen das Palustrin mengenmässig übertreffen, wird in Abschnitt 5 berichtet.

5) Zitat nach [11].

- 1960 erfolgte der Nachweis von Spermidin und des makrocyclischen Baues [17];
- 1968 konnte die Konstitutionsformel angegeben werden [3][18][19]; die neuesten Arbeiten beziehen sich auf die Stereochemie inklusive Chiralität [4][20][21] sowie auf Synthesen [5][22].

Die ungewöhnlich lange Dauer der Arbeit hat Parallelen in anderen Alkaloidgruppen. Sie spiegelt zum Teil auch die Schwierigkeiten im Umgang mit diesen Stoffen.

2 VORKOMMEN UND NACHWEIS VON PALUSTRIN UND NEBENALKALOIDEN IN EQUISETUM-ARTEN

Der Alkaloidgehalt schwankt jahreszeitlich und standortabhängig stark; vergleiche Tabelle 1 und Literatur [10]. Man darf nicht vergessen, dass E. palustre botanisch eine Sammelart darstellt, die in systematisch-taxonomischer Hinsicht in Bezug auf Inhaltsstoffe noch kaum bearbeitet worden ist. Bei Grossextraktionen, die meist mit Material aus der Schweiz (Biberbrugg-Altmatt, Kt. Schwyz) ausgeführt wurden, haben wir aus 100 kg gemahlenem Trockenmaterial zwischen 20 und 80 g Rohbasengemisch erhalten. Wegen des polaren Charakters der Hauptalkaloide sind vollständige Extraktion und Abtrennung anderer polarer Stoffe nicht einfach. Die Zusammen-

Tabelle 1 Gesamtalkaloidgehalt von E. palustre verschiedener Herkunft (%-Gehalt bezogen auf Trockengewicht)

| Probe | | | %Gehalt | Autor | Bemerkungen |
|-----------------------------|---------|-----------|---------------|-------|---|
| Herkunft | Organ | gesammelt | | | |
| N-Deutschland | Wedel | 1955 | 0,08 bis 0,3 | [10] | Mehrere Probenahmen, Titration |
| " | " | 1956 | 0,02 " 0,19 | [10] | " " |
| " | " | 1957 | 0,02 " 0,09 | [10] | " " |
| " | " | 1958 | 0,02 " 0,09 | [10] | " " |
| " | " | 1959 | 0,02 " 0,08 | [10] | " " |
| N-Finnland | " | 1965 | 0,25 | [23] | Eine Probenahme, isolierte Basenfraction gewogen |
| Mittel-Finnland | " | 1965 | 0,05 | [23] | " " |
| S-Finnland | " | 1965 | 0,13 | [23] | " " |
| Schweiz: Andermatt | " | 1965 | 0,03 | [23] | " " |
| N-Deutschland: Oldenburg | " | 1965 | 0,08 | [23] | " " |
| " | " | 1965 | a) | [23] | " " |
| Finnland | " | 1967 | 0,06 bis 0,12 | [23] | Fünf Probenahmen, isolierte Basenfraction gewogen |
| " | Rhizome | 1967 | 0,08 " 0,1 | [23] | " " |
| Polen: Bydgoszcz | Wedel | 1965 | 0,10 | [23] | Eine Probenahme, isolierte Basenfraction gewogen |

a) 6.6.1965: 0,11%; 10.7.: 0,12%; 27.7.: 0,06%; 18.8.: 0,08%; 8.9.: 0,09%.

setzung der Rohbasen unterliegt ebenfalls jahreszeitlichen und standortabhängigen Schwankungen. Eine brauchbare Orientierung gibt die zweidimensionale Dünnschichtchromatographie auf Aluminiumoxid Merck (G)-Platten (20 x 20 cm) entweder mit System 1: Methylenchlorid - Aethanol (19:1) in der ersten und Benzol - Methanol (17:3) in der zweiten Richtung, oder mit System 2: t-Butanol - Methanol - Pyridin (9:2:2,5) zuerst und Aethanol - Chloroform - Essigester (10:7:3) nachher; siehe Figur 1. Geeignete Sprühreagentien sind die in der Alkaloidchemie gebräuchlichen (J₂, Dragendorff, Schlittler, Benzidinblau-Test, sowie der Bromcyantest nach Königs für Pyridine). Komplementär ist die Hochspannungselektrophorese in verschiedenen Puffern sehr brauchbar. Keine Erfolge wurden mit gaschromatographischen Methoden erzielt.

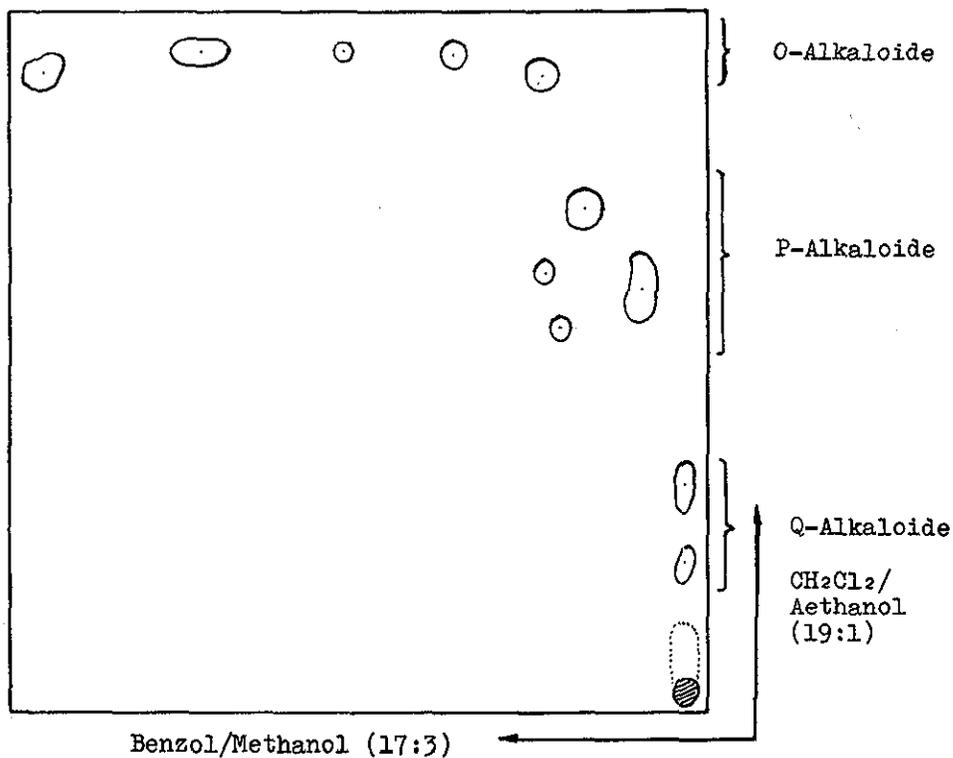
Mit der Dünnschichtchromatographie können drei Gruppen von Alkaloiden festgestellt werden, vergleiche Figur 1⁶⁾. Wir unterscheiden die folgenden drei Gruppen:

- Q-Gruppe: sehr polar, 3-4 starke Basen, nahe am Start, siehe
Abschnitt 5;

6) Es gibt auch Fälle, wo praktisch nur Palustrin und wenig Palustridin und Nicotin auftreten.

- P-Gruppe: mittelpolar, mit R_f ca. 0,5/0,2 (System 2, enthaltend
P₁ (= Palustrin), P₂, P₃, P₄ (siehe Abschnitt 5));

Figur 1 Dünnschichtchromatogramm der Gesamtbasen aus E. palustre
auf Aluminiumoxid (Merck G). Herkunft Biberbrugg
(Schweiz) 1967



- O-Gruppe: mittelpolar bis wenig polar, mehrere Komponenten, darunter Palustridin (R_f 0,96/0,82 System 2) und Nicotin; siehe Abschnitt 5.

Tabelle 2 Vorkommen von Alkaloiden in einigen Equisetumarten (oberirdische Teile). (* isoliert, ** chromatographischer Nachweis; vergleiche auch Angaben in [1]).

| | |
|------------------------|--|
| <u>E. palustre</u> | Palustrin*, Palustridin*, P ₂ *, P ₃ *, P ₄ *, O ₁ *, O ₂ *, O ₃ *, Q ₁ *, Q ₂ *, Nicotin*, β -Methoxypyridin**; Dimethylsulfon*. |
| <u>E. arvense</u> | Palustrin*, Nicotin*, β -Methoxypyridin*, nicht identifizierte Basen; Dimethylsulfon*. |
| <u>E. maximum</u> | Nicotin**; Dimethylsulfon** (fertile Sprosse). |
| <u>E. hiemale</u> | Nicotin*; Dimethylsulfon*. |
| <u>E. limosum</u> | Palustrin*; Palustridin**, Nicotin**, nicht identifizierte Basen; Dimethylsulfon**. |
| <u>E. silvaticum</u> | Palustrin**; Nicotin**, nicht identifizierte Basen; Dimethylsulfon**. |
| <u>E. robustum</u> | Nicotin*, nicht identifizierte Basen. |
| <u>E. ramosissimum</u> | nicht identifizierte Basen. |

3 MIKRONACHWEIS VON SPERMIDIN ALS BESTANDTEIL VON ALKALOIDEN

In neuerer Zeit ist mehr und mehr deutlich geworden, dass Spermidin und andere Polyamine in freier Form in der Natur verbreitet vorkommen [24]. Als Bestandteil von Alkaloiden ist Spermidin noch nicht häufig gefunden worden (Uebersicht siehe [5][25e][26]); es ist aber mit Bestimmtheit vorauszusehen, dass noch sehr viele verschiedenartige Spermidinalkaloide entdeckt werden. Zum raschen Nachweis, dass ein solcher Typ vorliegt, können vor allem zwei Methoden angewendet werden:

- In günstigen Fällen kann im Massenspektrum des N-Acetates am Vorliegen der Fragment-triade m/e 143, 157, 169 Spermidin erkannt werden [25], vorausgesetzt, N^3 ist nicht Ringbestandteil. Sind nämlich N^1 und N^3 Ringglieder, so verläuft die Fragmentierung anders. Dies ist z.B. beim Palustrin der Fall. Hingegen tritt die Triade im Massenspektrum des hydrolysierten (Amidgruppe), veresterten und acetylierten Produktes auf.

- Generell anwendbar ist die Mikrokalischmelze. Die in [2] beschriebene Methode ist einfach, schnell und eignet sich vor allem für den Mikrobereich. Da sie kaum bekannt geworden ist, sei die Vorschrift hier wiedergegeben: KOH-Pillen werden im Mörser zum Pulver zerrieben, zum Alkaloid im Reagensglas⁷⁾ im Verhältnis

1 Teil Alkaloid, 20 Teile KOH gegeben. Das Reagensglas wird dann an seiner offenen Seite zu einer nicht zu engen, ca. 30-40 cm langen Kapillare ausgezogen und diese im oberen Drittel so umgebogen, dass das Ende bequem in ein vorgelegtes Auffanggefäß getaucht werden kann. Hierauf mischt man den Inhalt gut durch und erhitzt ihn dann in einem geeigneten Heizbad (Sandbad, Salzbad, Woods Metall etc.) rasch auf ca. 350° . Das Auffanggefäß wird mit verdünnter HCl oder einem anderen Lösungsmittel beschickt. Etwas oberhalb 320° tritt Reaktion ein und die gebildeten Amine werden zusammen mit Wasserdampf und anderen Gasen rasch durch die Kapillare gejagt⁸⁾. Nach beendeter Reaktion hebt man die Kapillare aus der Vorlage (Gefahr des Zurücksteigens des Lösungsmittels!), schneidet sie oberhalb des Reagensglaskörpers ab und spült sie zur quantitativen Erfassung der Amine mit etwas Methanol durch. Die gesammelte Aminfraktion (Spermidin, Putreszin etc.) kann

7) Geeignet ist z.B. Jenaer-Gerätglas "Fiolax" 16 x 160 mm; Pyrex ist wegen der Alkaliempfindlichkeit weniger geeignet.

8) Diamine (Cadaverin, Putreszin), Spermidin, Spermin etc. sind wasserdampflich.

chromatographisch (geeignete Systeme siehe [1][2][24]) oder nach Acetylierung massenspektroskopisch [25] untersucht werden.

4 STRUKTUR VON PALUSTRIN

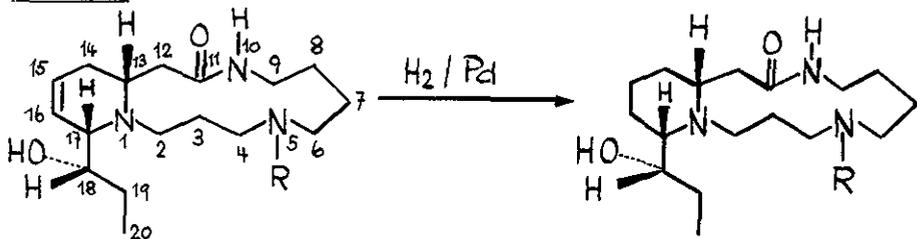
4.1. Abbaureaktionen

Die mit klassischen Methoden gewonnenen Ergebnisse hatten nicht zur vollständigen Konstitutionsbestimmung geführt. Sie wurden in [1] zusammengefasst. Ein bedeutendes Hindernis zur Erkennung der vorhandenen Funktionen war damals das Ergebnis des Herzig-Meyer-Abbaus (ausgeführt nach [27], wodurch regelmässig 1,1% N-CH₃ (berechnet für 1 N-CH₃ 4,0%) gefunden wurden [16]. Dass es sich wirklich um gebildetes JCH₃ gehandelt hatte, wurde durch Derivatisierung bewiesen [2]. Wir schlossen auf eine "schwer abspaltbare" N-CH₃-Gruppe. Mit dem Vorliegen des ersten NMR-Spektrums war diese Interpretation sofort hinfällig.

Ich erwähne dieses Detail, weil es auf seine Art die Schwierigkeiten zeigt, welche vor dem Aufkommen der spektroskopischen Methoden bei Strukturaufklärungen von neuartigen Stoffen bestanden.

Die Herkunft von JCH₃, welches beim Behandeln von Palustrin (1) mit HJ abgespalten wird, ist noch ungeklärt. Ähnliche Beobachtungen wurden am Cassin und β -Hydroxypiperidin [28], sowie am

Schema 1

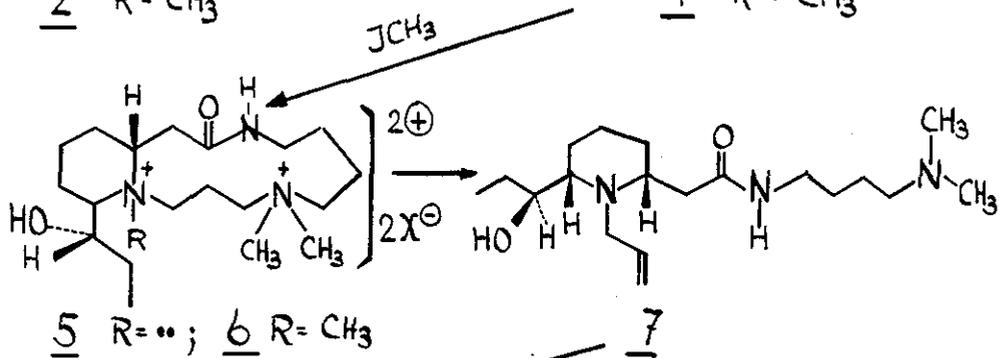


1 R = H⁹⁾

2 R = CH₃

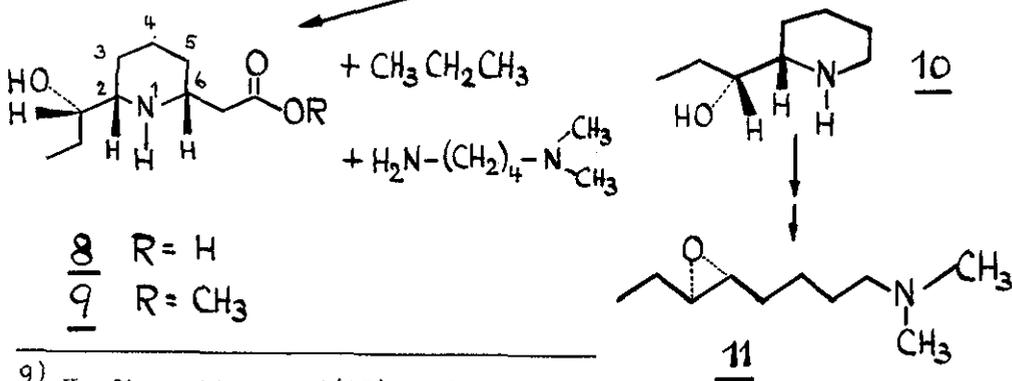
3 R = H

4 R = CH₃



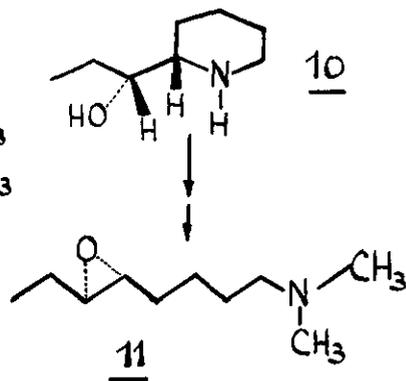
5 R = ..; 6 R = CH₃

7



8 R = H

9 R = CH₃



11

9) Konfiguration an C(13) noch nicht mit aller Sicherheit bewiesen; siehe die Diskussion in 4.4.

Oncinotin/Neonocinotin [29] gemacht.

Entscheidend für die Konstitutionsaufklärung war der Hoffmann'sche Abbau am Dihydropalustrin (3) zur wichtigen Dihydropalustraminsäure (8) [3][18][30]. Die Ausarbeitung einer exakt reproduzierbaren Vorschrift verlangte zahlreiche Experimente und verbrauchte den Hauptteil des Palustrins, siehe [3].

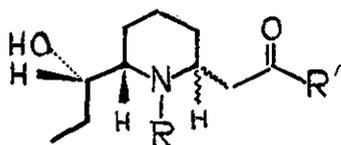
Für die selektive N-Methylierung von Palustrin (1) und Dihydropalustrin (3) zu den N-Methylderivaten 2 bzw. 4 eignet sich, entgegen ursprünglich geäußerten Befürchtungen wegen eventuell eintretenden intramolekularen Cyclisierungsreaktionen [16], die Methode von Eschweiler-Clarke recht gut; siehe die Vorschriften in [2][3]. Sie hat sich inzwischen auch an anderen Spermidinalkaloiden bewährt [29][31], ohne dass Ringschlussreaktionen beobachtet wurden. Die Quaternierung führt zuerst zu monoquaternären (5), unter schärferen Bedingungen auch zu diquaternären Salzen [3][16]. Bei der Pyrolyse von 6 ($X = OH^-$) wird eine an N(1) stehende Methylgruppe vorwiegend als Methanol abgespalten. Fragmentierung tritt bei 5 und 6 unter Bildung einer N-Allylverbindung (7) ein. Bekanntlich bildet Conhydrin (10) beim Hoffmann'schen Abbau das Epoxid 11. Eine analoge Reaktion an 6 erscheint durchaus als möglich; sie wurde jedoch

noch nicht beobachtet. Da die Reaktionsprodukte je nach Ausführungsform recht verschieden sind, haben wir möglichst nur mit dem monoquaternären Produkt 5 gearbeitet. Palustrin eignet sich für den Hoffmann-Abbau mindestens unter den von uns angewendeten Bedingungen nicht. Nach katalytischer Reduktion der Desbase 7 (Pd/C-Methanol) und Hydrolyse (Rückfluss mit 6 N HCl während 6^h) zu Dihydropalustraminsäure (8) und as.-N-Methylputreszin konnte der dabei eingetretene Verlust einer C₃-Einheit nicht sofort verstanden werden, vor allem auch deshalb nicht, weil NMR-spektroskopisch in 7 eine Allyl- und im hydrierten Produkt eine Propylgruppe nachweisbar waren. Obschon in [3] auf gewisse Unstimmigkeiten (Integrale nicht in Ordnung, Aufspaltung von Signalen, wo Singlette zu erwarten gewesen wären) aufmerksam gemacht wurde, nahmen wir zunächst an, dass es sich um einen bei der Hydrolyse eingetretenen Verlust von Propen oder Propylchlorid handle. Neuere Untersuchungen haben jedoch gezeigt [32], dass Desalkylierungen an 12, 13 und 15¹⁰⁾ auch unter verschärften Bedingungen nicht eintreten und dass somit sterische Faktoren

¹⁰⁾ n-Octylrest eingeführt zum bequemen gaschromatographischen Nachweis von eventuell gebildetem n-Octylchlorid.

oder Nachbargruppeneffekt keine Rolle spielen. Vielmehr handelt es sich um eine hydrogenolytische Abspaltung des Allylrestes. So führte die katalytische Reduktion von 16 und 17 mit Pd/C in Methanol innert sehr kurzer Zeit zum Gemisch 12 + 18 (ca. 1:1, dünnschichtchromatographischer Nachweis auf Alox, Benzol/Chloroform 10:1; Aufspaltung des OCH₃-Signals im NMR) bzw. 13 + 19 (ca. 1:1). Es zeigte sich ferner, dass eine Unterscheidung zwischen 9, 12 und 16, besonders wenn diese Verbindungen als Gemisch vorliegen, weder NMR- noch massenspektroskopisch leicht durchzuführen ist. Andererseits stellten wir bei 17 ein zu 7

Schema 2



- | | | |
|-----------|---|--|
| <u>12</u> | R = n-Propyl, R' = OCH ₃ | |
| <u>13</u> | R = n-Propyl, R' = NH-(CH ₂) ₃ -N(CH ₃) ₂ | |
| <u>14</u> | R = n-Octyl, R' = OCH ₃ | |
| <u>15</u> | R = n-Octyl, R' = NH-(CH ₂) ₃ -N(CH ₃) ₂ | |
| <u>16</u> | R = Allyl, R' = OCH ₃ | |
| <u>17</u> | R = Allyl, R' = NH-(CH ₂) ₃ -N(CH ₃) ₂ | |
| <u>18</u> | R = H, R' = OCH ₃ | |
| <u>19</u> | R = H, R' = NH-(CH ₂) ₃ -N(CH ₃) ₂ | |
| <u>20</u> | R = n-Propyl, R' = OH | |

sehr ähnliches NMR.-Spektrum fest.

Aus diesen Ergebnissen muss geschlossen werden, dass in dem durch Hydrierung von 7 und anschliessender Hydrolyse entstandenen Gemisch nicht nur 8, sondern auch 20 enthalten war. Da jedoch aus eingesetztem 7 (800 mg) nach Säulenchromatographie an 1,2 kg Cellulose 340 mg 8 (= 72%) und 200 mg as.-N-Dimethylputreszin (= 73%) erhalten wurden, muss die Hydrogenolyse in überwiegendem Mass eingetreten sein, vor allem auch in Anbetracht der bei der chromatographischen Trennung eingetretenen Verluste. Es ist bekannt, dass Hydrogenolyse von Allyl-Ammoniumsalzen sehr leicht eintritt [33]. Dass sie auch unter milden basischen Bedingungen so leicht erfolgt, war für uns unerwartet.

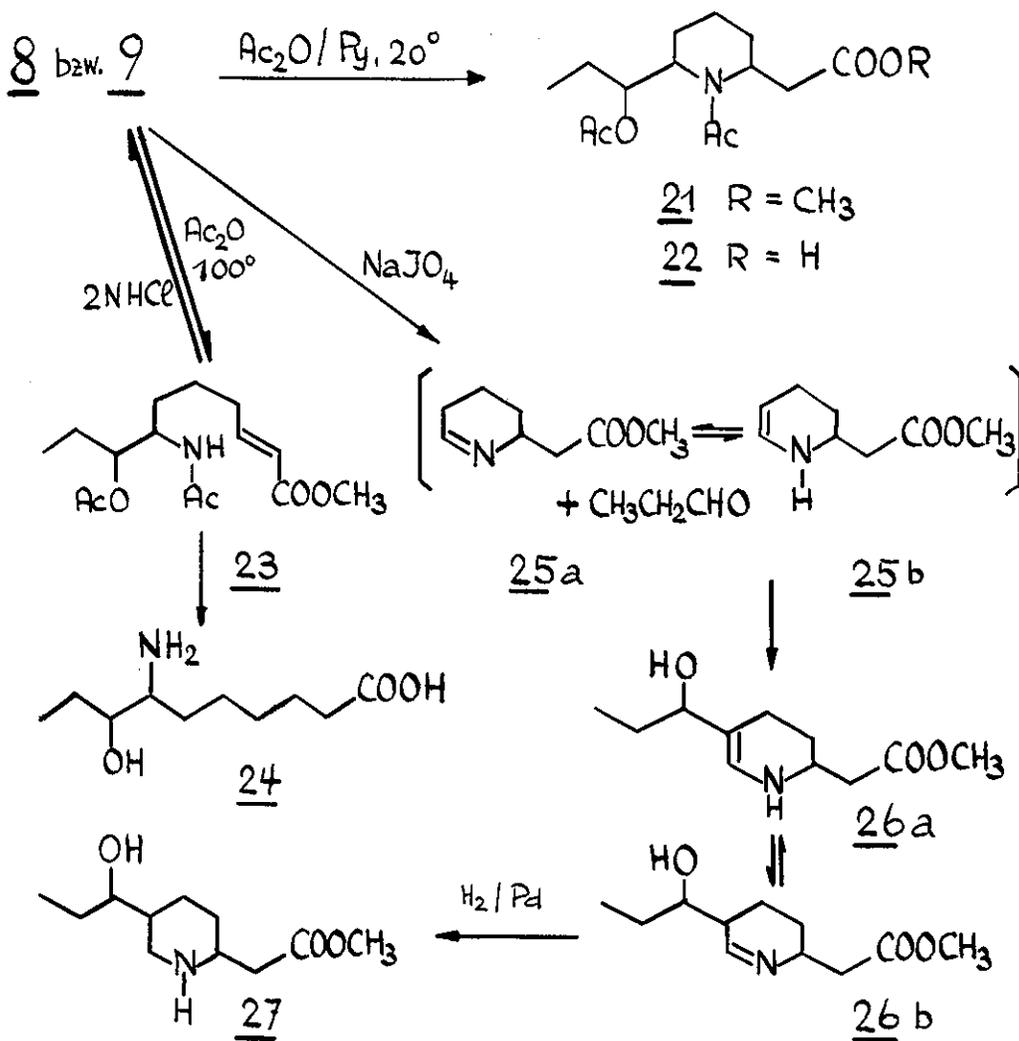
Der in Abschnitt 4.1 skizzierte Abbau an Palustrin (1) klärte vor allem die Spermidinsequenz im Sinne von Piperidin-N-C₃-N-C₄-NH-C₂. Doch sei im Hinblick auf neuere Ergebnisse bei der Untersuchung der Oncinotisalkaloide [29] betont, dass für die geschilderten Abbaureaktionen stets mehrfach über das Dihydrochlorid umkristallisiertes Palustrin eingesetzt wurde. Dies schliesst natürlich ein eventuelles Vorkommen von Palustrin mit umgekehrter Spermidinsequenz unter den Equisetum-alkaloiden nicht aus.

4.2 Konstitution der Dihydropalustraminsäure (8)

Die wesentlichen chemischen und spektroskopischen Daten zur Konstitutionsaufklärung von 8 (ohne Stereochemie) sind in [3][18] mitgeteilt worden. Hier seien einige zusätzliche Informationen über die besondere Reaktivität dieser Molekel zusammengestellt.

2,6-Disubstituierte Piperidine sind bekanntlich am NH mit Standardmethoden sehr schwer alkylierbar. 8 macht hierin keine Ausnahme: Weder die N-Methylierung noch die Herstellung eines Oxazolidins ist uns geglückt. Hingegen entsteht mit Ac₂O/Pyridin ein O,N-Diacetat (21), das jedoch keine selektive Verseifung zuließ, da beide Acetylgruppen mit vergleichbarer Geschwindigkeit abgespalten wurden. Der Methylester 21 verseift schon mit Wasser zur kristallisierten Säure 22. Acetylierungen in Ac₂O unter Rückfluss ergaben ein Gemisch, das zu ca. 25% einen ungesättigten Ester (vermutlich 23; Geometrie der Doppelbindung nicht bekannt) enthielt mit λ_{max} 215 nm, welcher bei der Esterhydrolyse mit 2 N HCl wieder Ausgangsmaterial (8; Stereochemie unbekannt!) ergab. Katalytische Reduktion mit Pt/Eisessig des Acetylierungsgemisches 21 + 23 und Esterhydrolyse führte zu 8 mit 30% einer Ninhydrin-positiven Aminocarbonsäure (24 ?).

Schema 3



Diese vor längerer Zeit durchgeführten Versuche [34] sollten mit modernen Untersuchungsmethoden wiederholt werden. Sie werden hier nur im Hinblick auf die Ausführungen in Abschnitt 4.4 erwähnt.

Quantitative Oxydationen mit H_2O_4 in einem Acetatpuffer pH 4,5 nach [35] zeigten, dass 2 innert 15 Min 1,0 Moläquivalente verbraucht, während 1 unter diesen Bedingungen nicht oxydiert wurde. Der unter den Reaktionsprodukten zu erwartende Propionaldehyd war nicht aufzufinden und zudem konnte der zurückisolierte Ester weder elektrophoretisch noch papierchromatographisch von 2 eindeutig unterschieden werden, ausser dass er ein λ_{\max} 275 nm ($\log \epsilon$ 2,3) aufwies und katalytisch hydrierbar war! Das Reduktionsprodukt wurde als Hydrochlorid kristallisiert. Auch es war mit 2-Hydrochlorid in chromatographischer Hinsicht äusserst ähnlich [34].

Eine zwanglose Deutung dieser zunächst unverständlichen Resultate ergibt sich nach Aufklärung der Konstitution der Dihydropalustraminsäure wie folgt: Bei der oxydativen Abspaltung der Hydroxypropylseitenkette muss das Piperidein 25 entstehen. Es kann mit dem gebildeten Propionaldehyd sofort zu 26 weiter reagieren, unter Umständen mit Verschiebung der Doppel-

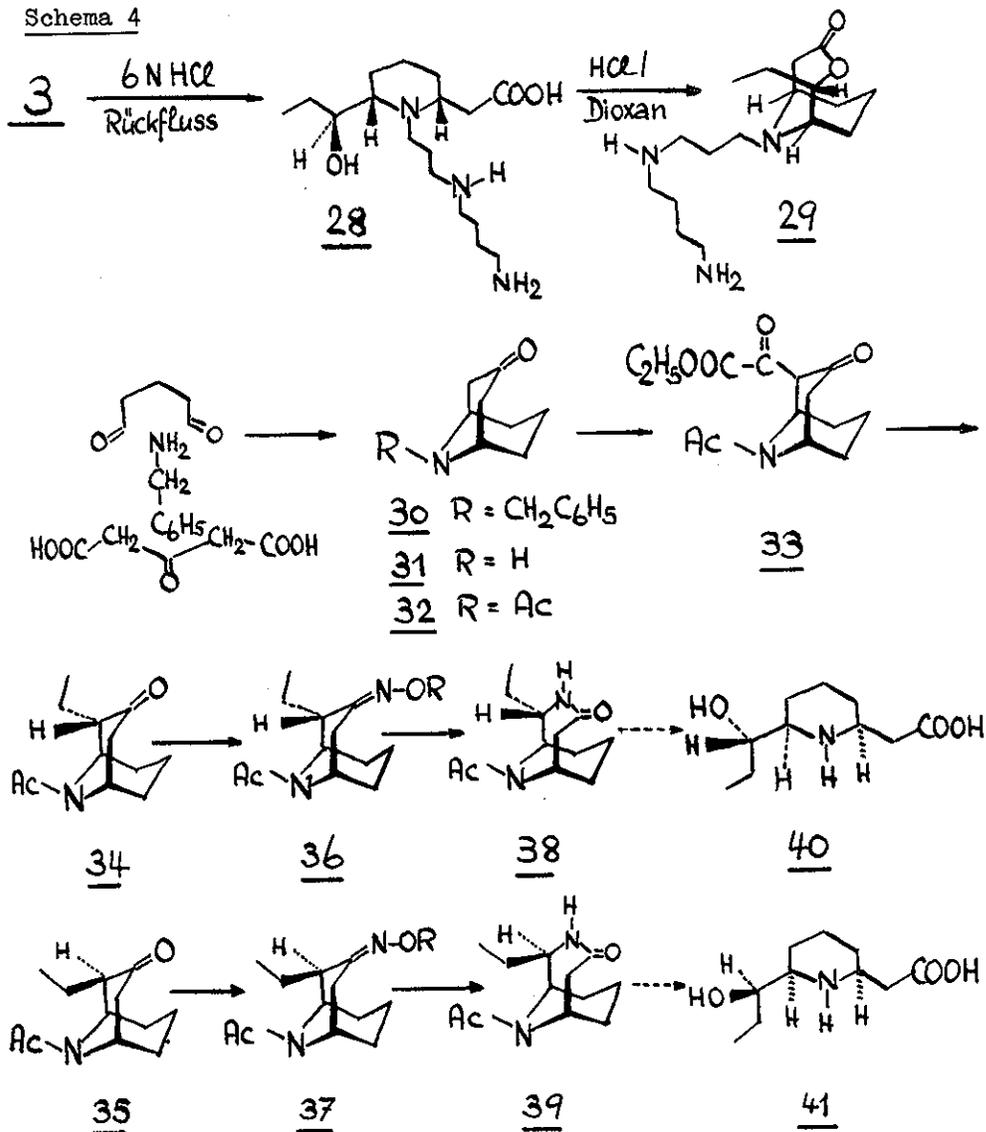
bindung. Nach katalytischer Reduktion dürfte der zu 9 isomere Aminocarbonester 27 vorgelegen haben.

Der gesuchte, aufgrund von Resultaten der modifizierten Kuhn-Roth-Oxydation und des massenspektroskopischen Verhaltens von 1 und 9 zu erwartende Propionaldehyd, konnte hierauf bei HJO₄-Oxydationen bei pH 7-8 und gleichzeitigem Durchblasen von N₂ durch die Reaktionsmischung (Dinitrophenylhydrazin-Reagens unmittelbar über Reaktionsraum, getrennt durch Glasfritte) abgefangen und identifiziert werden [18].

4.3 Synthese der isomeren Dihydropalustraminsäuren [3][4][20] [23][36][37][38]

Die Synthese von 8 und seiner Stereoisomeren wurde auf drei ganz verschiedenen Wegen in Angriff genommen mit dem Ziel, gleichzeitig mit dem Identitätsbeweis auch die Stereochemie zu klären. Als Grundlage diente der Befund [36], wonach sich aus Dihydropalustrin nach Verseifung des Lactams unter geeigneten Bedingungen ein Lacton herstellen liess mit Carbonylbande bei 1733 cm^{-1} (CHCl₃; als N-Diacetylverbindung isoliert und gereinigt) und massenspektrometrischem Fragmentierungsverhalten, das mit Struktur 29 in Uebereinstimmung steht. Daraus schlossen wir auf cis-Stellung der 2,6-Substituenten am Piperidinring in 8, 9 und vermutlich auch in

Schema 4



1, 2, 3 etc.. Ueber die threo- oder erythro-Konfiguration der Seitenkette liess sich, da kein Oxazolidin gewonnen werden konnte, zunächst nichts aussagen.

4.3.1 2,6-Disubstituierte Pyridine als Ausgangsmaterial.

Da die katalytische Reduktion von 2,6-disubstituierten Pyridinen bevorzugt cis-Piperidine ergibt und sich zudem funktionelle Gruppen in α -alkylierte Pyridine leicht in der Seitenkette einführen lassen, wurden zahlreiche Versuche in dieser Richtung unternommen, jedoch ohne Erfolg (Zusammenfassung [4]).

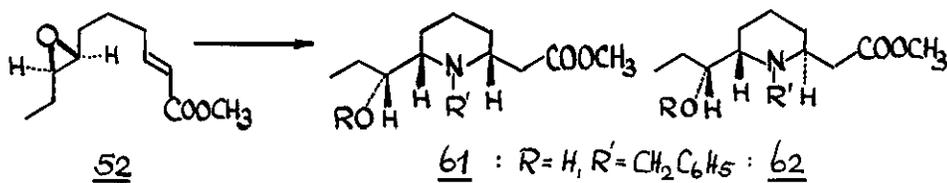
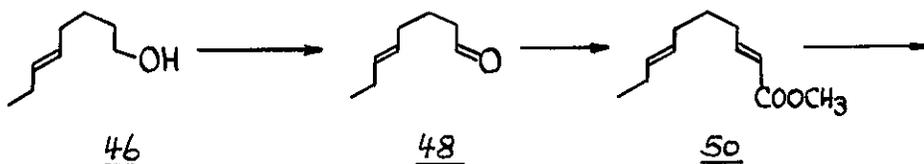
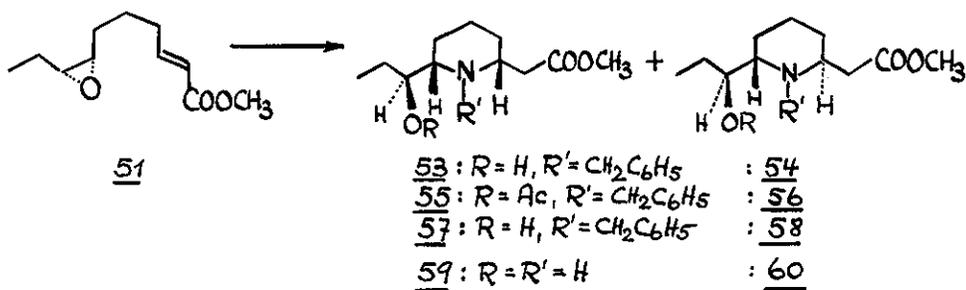
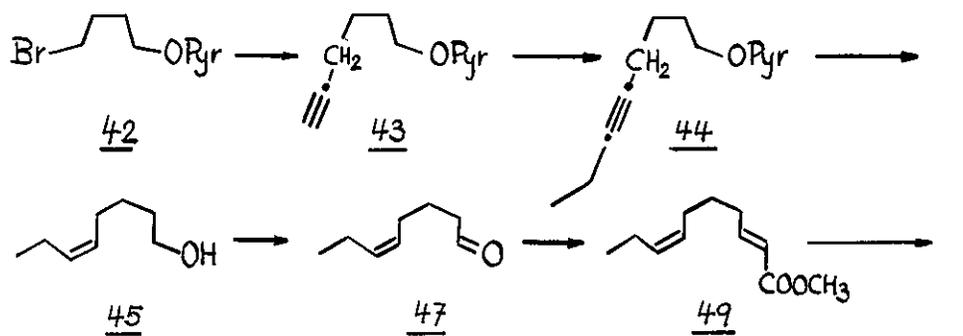
4.3.2 Weg über N-Acetylgranatonin (Schema 4). Durch Mannich-Reaktion mit Glutardialdehyd, Benzylamin und Acetondicarbonsäure wurde in guter Ausbeute N-Benzylgranatonin (30) und daraus nach Hydrogenolyse und Acetylierung N-Acetyl-granatonin (32) hergestellt [3][23][36][38]. Die Monoäthylierung bot Schwierigkeiten wegen der rasch eintretenden Weiter-alkylierung. Gut gelang sie am Oxalyl-derivat 33 [37]. Momose gelang auch die Trennung der Stereoisomeren 34 und 35, die alle Voraussetzungen für eine stereoselektive Synthese der (+)-erythro- bzw. threo-cis-Dihydropalustraminsäuren besitzen. Leider führte die Baeyer-Villiger-Oxydation nicht zur Lactonbildung, so dass der Umweg über die Oxime und deren Beckmann-Umlagerung zu den bicyclischen Lactamen 38 und 39

gewählt wurde [37]. Diese Umlagerung gelang ohne Schwierigkeiten an den Tosyloximen 36 und 37. Auf der Stufe der Lactame 38 und 39 musste diese vielversprechende Synthese aus äusseren Gründen abgebrochen werden. Sie ist bisher nicht wieder aufgenommen worden.

4.3.3 Weg über 7,8-Epoxi-2-decen-1-säureester [4][20] (Schema 5). Dieser neue Weg zu 2,6-substituierten Piperidinen beruht auf dem Gedanken, den Stickstoff durch eine Michael-Addition an eine Acrylsäure und eine intramolekulare Oeffnung eines geeignet platzierten Epoxides einzuführen, womit je nach Wahl der Geometrie des substituierten Epoxides die threo- bzw. erythro-Konfiguration der Seitenkette festgelegt werden kann. Ueber die Stereochemie am Piperidinring (cis oder trans) konnten keine Voraussagen gemacht werden.

Ausgehend von 42 wurde über bekannte Schritte das Acetylen 44 hergestellt und dieses katalytisch in das (Z)-Isomer 45 und mit Na/NH₃ in das (E)-Isomer 46 übergeführt. Alle weiteren Schritte wurden parallel geführt. Die Oxydation von 45 bzw. 46 mit dem Collins-Reagens gab die Aldehyde 47 bzw. 48; Wittig-Horner-Reaktion mit dem Anion aus Diäthylphosphinoessigsäureäthylester (NaH/Benzol) zu den Acrylsäuren 49 bzw. 50 bot keine Schwierigkeiten.

Schema 5



(42-56 sind Racemate.
Es ist nur je ein
Enantiomeres gezeichnet.)

Es entstanden vorwiegend trans- α,β -ungesättigte Ester. Selektive Epoxidation zu 51 bzw. 52 gab die gewünschten Ausgangsmaterialien. Für den Piperidin-Ringschluss erwies sich Benzylamin als am besten geeignet. Die erwünschten Piperidine 53 + 54 bzw. 61 + 62 entstanden in Ausbeuten von ca. 50%. Die Trennung der erythro-cis/trans- und threo-cis/trans-Paare konnte an den O-Acetaten (55/56 bzw. 63/64) chromatographisch an Alox mit Benzol erreicht werden. Nach saurer Verseifung der O-Acetylgruppe (HCl/Methanol) und katalytischer Entbenzylierung (15proz. Pd/C in methanolischer HCl; vergleiche [33c] wurden die reinen Hydrochloride 59, 60, 67, 68 erhalten; Eigenschaften vergleiche Tabelle 3.

Aus den Daten von Tabelle 3 ergibt sich, dass die Stereoisomeren sehr ähnliche Eigenschaften besitzen, vor allem, was Massenspektren und chromatographisches Verhalten betrifft. Deutliche Unterschiede finden sich in Schmelzpunkten, IR- und NMR-Spektren, so dass die Identität des Abbauproduktes aus Palustrin mit der threo-cis-Palustraminsäure gesichert ist. Es wäre also ausgeschlossen gewesen, ein bei der Hydrolyse der Hoffmann-Base 7 entstandenes Stereoisomeres chromatographisch abzutrennen; das wäre nur bei der durchgeführten Umkristallisation denkbar. Auf jeden Fall ist die durch Abbau erhaltene Dihydropalustraminsäure nach allen

Tabelle 3 Eigenschaften der stereoisomeren rac. Dihydro-
palustraminsäuremethylester

| Kriterium | <u>9</u> (Abbau) | <u>59</u> (threo- cis) | <u>60</u> (threo- trans) | <u>67</u> (erythro- cis) | <u>68</u> (erythro- trans) |
|--|--|--|---|--|--|
| Smp. Hydrochlorid | 183° | 176-177° | 0el | 155-157° | 147-148° |
| Sdp. ^{a)} | 70°/0,0001 | 82°/0,001 | 70°/0,001 | 80°/0,001 | 75°/0,001 |
| R _F -Werte ^{b)} | 0,72 | 0,71 | 0,72 | 0,76 | 0,72 |
| ^{c)} | 0,90 | 0,90 | 0,90 | 0,90 | 0,90 |
| Elektrophorese ^{d)} | 3,90 cm | 3,90 cm | 3,90 cm | 3,90 cm | 3,90 cm |
| ^{e)} | 5,00 cm | 5,00 cm | 5,00 cm | 5,00 cm | 5,00 cm |
| IR ^{f)} (CHCl ₃) | 2941, 1732 1439, 1293 966 | 2967, 1733 1440, 1295 966 | 2956, 1730 1439, 1290 966 | 2950, 1727 1444, 1289 965, 865 | 2950, 1727 1435, 1290/ 1280, 971 |
| MS ^{g)} | ^m / _e 216(1 %) 214 (1) 168 (8) 156(100) 142 (10) 124 (26) 96 (7) 82 (41) 55 (91) 41 (6) | 216 (1 %) 214 (1) 186 (8) 156(100) 142 (13) 124 (30) 112 (8) 96 (10) 82 (50) 55 (12) 41 (10) | 216 (1 %) 214 (1) 186 (7) 156(100) 142 (10) 124 (16) 112 (5) 96 (9) 82 (53) 55 (19) 41 (17) | 216 (1 %) 214 (1) 186 (3) 170 (2) 156(100) 142 (14) 124 (17) 96 (12) 82 (60) 55 (20) 41 (20) | 216 (1 %) 214 (1) 186 (3) 170 (3) 156(100) 142 (9) 124 (14) 96 (9) 82 (43) 55 (16) 41 (16) |

(Fortsetzung Tabelle 3 siehe nächste Seite)

(Fortsetzung Tabelle 3)

| Kriterium | <u>9</u> (Abbau) | <u>59</u> (threo- cis) | <u>60</u> (threo- trans) | <u>67</u> (erythro- cis) | <u>68</u> (erythro- trans) |
|---|---|---|--|--|--|
| NMR h) (D ₂ O) | | | | | |
| | H _A 1,8; H _C /H _B 4,40 & 4,37 H _D 4,0; H _F 3,6; H _G 4,59 | H _A 1,8; H _C /H _B 4,42 & 4,39 H _D 4,0; H _F 3,7; H _G 4,58 | H _A 1,8; H _C /H _B 4,7; H _D 4,2; H _F 3,7; H _G 4,60 | H _A 1,8; H _C /H _B 4,5; H _D 4,1; H _F 3,7; H _G 4,58 | H _A 1,8; H _C 4,9; H _D 4,2; H _E 4,5; H _F 3,8; H _G 4,59 |
| <p>a) Kugelrohr, Luftbadtemperatur; b) Papierchromatographie, Whatman No.1, sec. Butanol/Aethanol/H₂O/Essigsäure (15:5:5:1); c) do. mit sec. Butanol/Aethanol/NH₃ (1:9 verd.) (15:5:5); d) 500 V, pH 1,9, 60 Min; e) do. 120 Min; f) nur starke und mittelstarke Banden angegeben); g) aufgenommen an Hydrochloriden; h) Angabe von Bandenschwerpunkten ohne Multiplizitäten, 100 MHz; relative δ-Werte wegen externem TMS-Standard. Korrektur gegenüber TMS_{intern} ca. 0,8 bis 0,9 ppm.</p> | | | | | |

vorliegenden Daten einheitlich gewesen.

Die Zuordnung zur threo- bzw. erythro-Reihe bei den Syntheseprodukten folgt aus den bekannten Gesetzmässigkeiten bei der nucleophilen Oeffnung von cis- und trans-Epoxiden; diejenige der Zuordnung zur cis- bzw. trans-Reihe bedarf eines Kommentars:

1) Mit ausführlichen NMR-Untersuchungen an 53, 54, 61 und 62 unter Zuhilfenahme von $\text{Eu}(\text{FOD})_3$ hat P.C.Wälchli [4] die α -Protonen am Piperidinring sowie die benachbarten Protonen der Seitenketten soweit verschieben können, dass mit Entkoppelungsexperimenten die Kopplungsparameter bestimmt werden konnten. Daraus ergab sich axiale Lage der beiden Protonen an C(2) und C(6) in 61, axiale Lage für H-C(2) und äquatoriale für H-C(6) in 64¹¹⁾.

2) die diastereotopen N- $\text{CH}_2\text{-C}_6\text{H}_5$ -Protonen erscheinen in 59 und 67 als Singlette, in 60 und 68 als AB/System mit $J_{\text{gem}} = 14$ bzw. 15 Hz, was auffällig an das bekannte Beispiel der stereoisomeren 2,6-Dimethyl-N-benzylpiperidine [41] erinnert und damit wohl als

11) In diesem Zusammenhang muss an die Ergebnisse von Johnson [39] und Chow et al. [40] erinnert werden, wonach 2- und 2,6-cis-disubstituierte N-Acyl-methylpiperidine wegen der $A^{(1,3)}$ -Spannung bevorzugt Konformationen mit axialen Methylgruppen einnehmen.

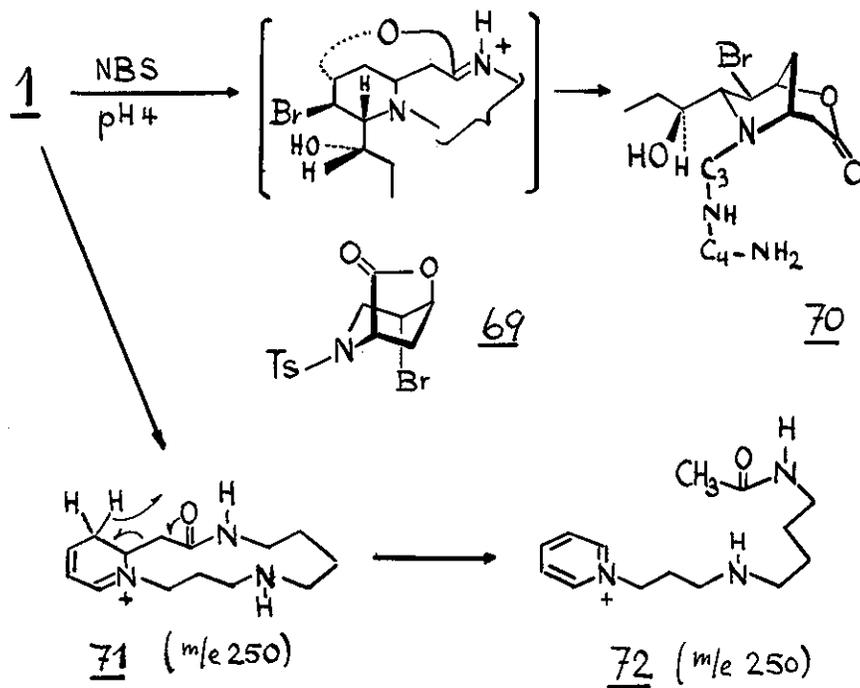
zusätzlicher Hinweis auf die Geometrie des 2,6-disubstituierten Piperidinrings gewertet werden darf.

3) In N-Alkylpiperidinen ist die Konformation mit äquatorialem N-Substituenten bevorzugt. Es erscheinen dann die axialen (zum nichtbindenden Orbital am N antiperiplanar stehenden) α -Protonen deutlich bei höherem Feld als die äquatorialen (synclinalen) [42]. In den stereoisomeren Dihydropalustraminsäuren ist dieser Effekt deutlich zu erkennen (siehe Tabelle 4) und kann als weiteres Argument für die sterische Zuordnung dienen [4].

Tabelle 4 Chemische Verschiebung der Piperidin- α -Protonen in den stereoisomeren Dihydropalustraminsäuren

| | $\delta H(2)$ | | $\delta H(6)$ | |
|-----------------------------|---------------|------------------------|---------------|------------------------|
| erythro-trans (<u>62</u>) | 2,54 | $\Delta \delta = 0,02$ | 3,38 | $\Delta \delta = 0,32$ |
| erythro-cis (<u>61</u>) | 2,52 | | 3,06 | |
| threo-trans (<u>54</u>) | 2,60 | $\Delta \delta = 0$ | 3,50 | $\Delta \delta = 0,10$ |
| threo-cis (<u>53</u>) | 2,60 | | 3,40 | |
| threo-trans (<u>56</u>) | 2,89 | $\Delta \delta = 0,23$ | 3,46 | $\Delta \delta = 0,47$ |
| threo-cis (<u>55</u>) | 2,66 | | 2,99 | |

Schema 6



Aus diesen Gründen teilen wir der Dihydropalustraminsäure aus Palustrin die threo-cis-Konfiguration zu. Betreffend ihrer absoluten Konfiguration siehe Abschnitt 4.4.

4.3.4 Lage der Doppelbindung in Palustrin. Wenn man Palustrin bei pH 4 mit N-Bromsuccinimid umsetzt, analog Erfahrungen von Witkop et al. [43], so lässt sich ein Bromlacton isolieren, das im IR eine Carbonylbande bei 1770 cm^{-1} (KBr) aufweist [34]. Es muss sich demnach um ein δ -Lacton handeln, denn bicyclische γ -Lactone, z.B. das aus Baikianin von Izumiya et al. [43] hergestellte Lacton 69 zeigt diese Bande bei 1805 cm^{-1} . Dem Bromlacton aus Palustrin weisen wir deshalb Struktur 70 zu.

Auch massenspektrometrische Argumente, wie die sehr leicht erfolgende Abspaltung der Hydroxypropylseitenkette (Ion 71) sowie die dominierende McLafferty-Umlagerung zum Pyridiniumion 72, lassen sich für die $\Delta^{1,5}$ -Stellung der Doppelbindung im Palustrin anführen; vergleiche [19].

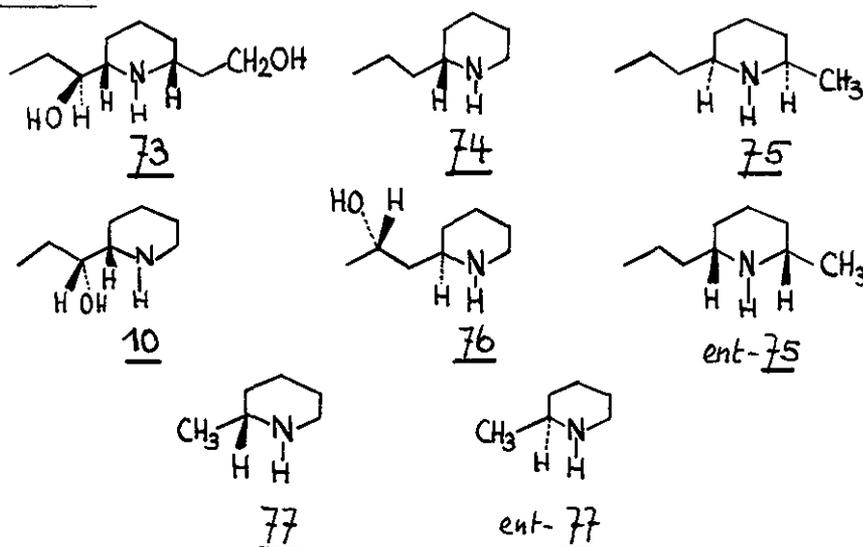
4.4 Absolute Konfiguration von (-)-Dihydropalustraminsäure (8) sowie von Palustrin (1).

a) Da die ORD-Kurve von Dihydropalustraminalkohol (73) zwischen 375 und 600 nm einen schlichten, negativen und nach Ansäuern einen schlichten, positiven Verlauf zeigt, darf nach bekannten Ableitungen

[44] auf (S)-Chiralität der sekundären Alkoholgruppe geschlossen werden¹²⁾. Daraus folgt wegen der nachgewiesenen threo-Konfiguration auch (S)-Chiralität für C(2) in 8 bzw. C(17) in 1 und, weil 8 ein cis-2,6-disubstituiertes Piperidin ist, (R)-Chiralität für C(6).

Wir haben versucht, dieses Resultat anderweitig zu bestätigen, vergleiche Schema 7.

Schema 7



12) Die Effekte waren, da nur noch wenig Substanz zur Verfügung stand, sehr schwach.

b) α -substituierte Piperidine zeigen im Bereich von 185-220 nm Cotton-Effekte, die auf die $n \rightarrow \sigma^*$ -Uebergänge zurückzuführen sind. Vor allem von Craig [44] und Beyerman [45] sind in zahlreichen Arbeiten Chiralität und chiroptische Eigenschaften von (vor allem monosubstituierten) Piperidinen verknüpft worden. Wir haben nun versucht, durch Superposition der CD-Kurven von monosubstituierten Piperidinen diejenige eines disubstituierten nachzuahmen, ein Verfahren, das natürlich ähnliche Konformationen und ähnliche Solvatationseffekte voraussetzt [21]. Tatsächlich ergab die Addition der $\Delta\epsilon$ -Werte von (-)-Coniin (74) mit denen von (+)- α -Pipicolin (ent-77) recht gut die Kurve von (+)-Dihydropinidin (ent-75), während gar keine Uebereinstimmung durch Addition von 74 und 77 entstand. Ebenso lieferte die Additionsmethode der $\Delta\epsilon$ -Werte von (+)-Conhydrin (10) mit denen von (-)-Sedridin (76) eine genügende Uebereinstimmung mit der Kurve von Dihydropalustraminalkohol (73), während die Superposition von (+)-Conhydrin mit (+)-Sedridin eine andere Kurve mit einem positiven Maximum bei 205 nm (Messungen in H₂O) oder 195 nm (Messungen in Methanol), das in der Kurve von 73 gar nicht vorhanden ist, ergab. Auch das schwach negative Extremum bei 225 nm, das 73 aufweist, wird in der Superpositionskurve deutlich.

Aus diesen Resultaten folgt (S)-Chiralität für C(2) und (R) für C(6) in 73 und folglich auch in 8.

c) In Tabelle 5 sind Ergebnisse zusammengefasst, die mit einer modifizierten Horeau-Methode [46] erzielt worden sind [32].

Tabelle 5 Bestimmung der absoluten Konfiguration der sekundären Alkoholfunktion in Palustrin und Derivaten mit der modifizierten Horeau-Methode nach [46]^{a)}

| Substanz | Verhältnis (S,R)- Amid : (R,R)-Amid | Peak-increment | Chiralität |
|-------------|--|----------------|------------|
| (-)-Menthol | 1 : 0,835 | -17,5 | R |
| <u>10</u> | 1 : 0,860 | -14,7 | R |
| <u>76</u> | 1 : 1,014 | + 1,5 | S |
| <u>9</u> | 1 : 1,025 | + 2,6 | S |
| <u>4</u> | 1 : 1,091 | + 9,5 | S |
| <u>2</u> | 1 : 1,078 | + 9,2 | S |
| <u>1</u> | 1 : 1,049 | + 5,0 | S |

a) Bedingungen: Glaskapillarkolonne OV 101 + FFAP; 23 m x 0,3 mm, isotherm 160°, 0,55 atm H₂. Modellversuch mit Cyclohexanol.

Sie zeigen, dass diese elegante Mikro-gaschromatographische Methode an den Modellsubstanzen 10 und 76 die richtige Chiralität zu bestimmen gestattet und dass an Palustrin (1), N-Methylpalustrin (2), N-Methyldihydropalustrin (4) und Dihydropalustraminsäuremethylester (9) übereinstimmend die (S)-Chiralität für den sekundären Alkohol abgeleitet werden kann.

Die geschilderten Experimente beweisen die absolute Konfiguration der Dihydropalustraminsäure im Sinn der Strukturformel 8. Sie trifft auch für C(17) und C(18) für Palustrin (1) zu. Für C(13) ist gleiche Chiralität wie bei der Dihydropalustraminsäure wahrscheinlich, aber noch nicht bewiesen, da bei den Verseifungen Inversion durch β -Elimination und nachfolgende Michael-Reaktion eingetreten sein könnte, wie das z.B. bei Lobeliaalkaloiden mehrfach beobachtet wurde [47]. Es gibt allerdings einige Argumente, welche gegen eine Isomerisierung an C(13) in Dihydropalustrin während der Hydrolyse mit 6 N HCl sprechen: (-)-Dihydropalustraminsäure ist sterisch einheitlich; bei den Syntheseprodukten 55, 56, 63, 64 ist bei der Entacetylierung und Entbenzylierung zu 57, 58, 65, 66 bzw. 59, 60, 67, 68 nie ein Uebergang der einen sterischen Reihe in die andere beobachtet worden; eine Michael-addition eines Amins an eine Acrylsäure in 6 N HCl dürfte kaum

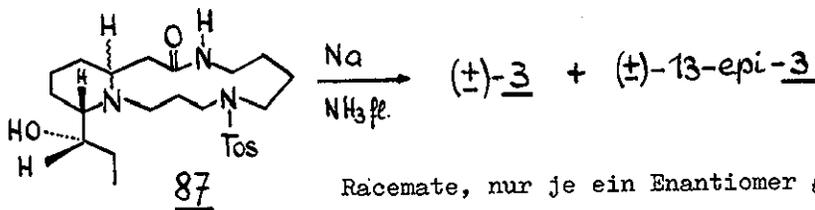
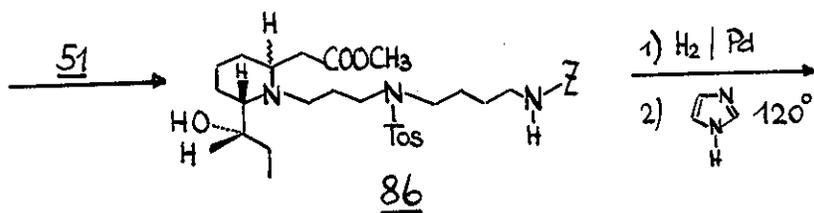
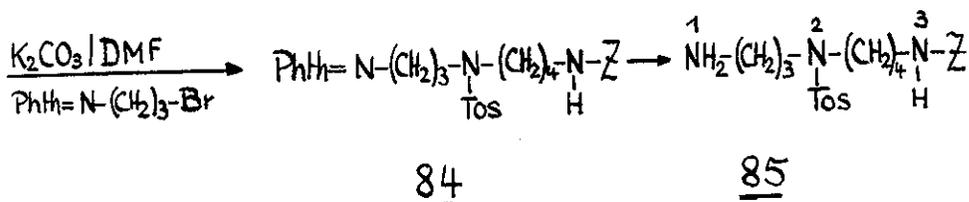
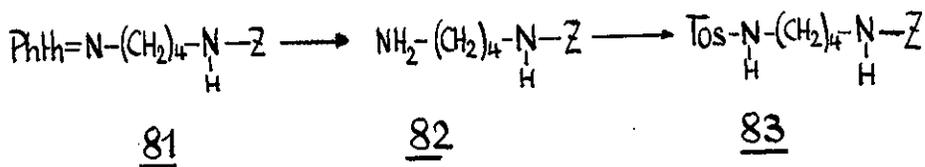
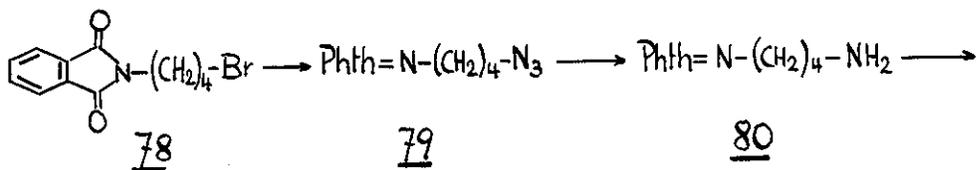
eintreten. Alles dies spricht für (R)-Konfiguration an C(13) in Palustrin. Trotzdem halten wir fest, dass ein eigentlicher Beweis dafür noch aussteht.

Systematisch ist Palustrin als (+)-(13R:17S)-17[1'-(S)-Hydroxypropyl-(1')]-1,5,10-triazabicyclo[11,4,0]heptadec-15-en-11-on zu bezeichnen.

4.5. Synthese von Dihydropalustrin-Stereoisomeren [5][22]

Das in 4.3.3 beschriebene Verfahren zur Synthese der cis- und trans-threo-Dihydropalustraminsäuren ist grundsätzlich auch für die Synthese von beliebig N-alkylsubstituierten Piperidinen brauchbar, wie die Herstellung der Verbindungen 12 bis 17 bereits gezeigt hatte. Für eine Uebertragung auf Dihydropalustrin muss die Reaktion auf ein geeignet geschütztes Spermidin ausgedehnt werden. Damit ein regiospezifischer Einbau in den Piperidinring bzw. in die Lactamgruppe sichergestellt ist, musste zuerst ein entsprechend geschütztes Spermidin aufgebaut werden. Seine Schutzgruppen wurden so gewählt, dass sie entweder die Amidverknüpfung zuerst und den Piperidinringschluss nachher oder aber das umgekehrte Vorgehen erlaubten. Die Schutzgruppe am N² hatte deshalb folgenden Bedingungen zu genügen: einerseits den Aufbau des Spermidins zu ermöglichen, bei Folgereaktionen Substitutionen an diesem N-Atom

Schema 8



Racemate, nur je ein Enantiomer gezeichnet.

zu verhindern, die selektive Abspaltung der Schutzgruppen an N¹ und N³ zu erlauben, Ringschlüsse zu überdauern und schliesslich unter relativ milden Bedingungen selber abspaltbar sein. Diese vielfältigen Bedingungen erfüllt in fast idealer Weise die klassische Tosylgruppe.

Schwierigkeiten waren für den Ringschluss zum 13-gliedrigen Lactam vorzusehen. Da nicht vorzusehen war, ob der Ringschluss durch Lactambildung oder durch die Piperidin-cyclisation sich leichter vollziehen lässt, wurde die erste Möglichkeit vorgezogen, auch deshalb, weil wir uns hier auf vielfältige Erfahrungen in der Peptidchemie abstützen konnten. Ganz unbekannt war die Stereochemie der entstehenden Piperidine; nach 4.3.3 verläuft diese Cyclisation leider nicht stereospezifisch. Es war deshalb vorzusehen, dass ein Gemisch von Dihydropalustrin + 13-epi-Dihydropalustrin entstehen würde.

Ausgehend von N-(4-Brombutyl-)phthalimid (78) wurde auf dem in Schema 8 angegebenen Weg zuerst das Azid 79 (Smp. 37°; 88,5%) und durch katalytische Reduktion das Amin 80 (Hydrochlorid Smp. 196°; 72%) gewonnen. Nach Einführung des Z-Restes (81, Smp. 105°; 87%) und hydrazinolytische Abspaltung des Phthaloylrestes (82, Öl; 97%) wurde das Amin tosyliert (83, Smp. 79°; 93%) und dann am

Tosyl-N_H- mit N-(3-Brom-n-propyl)-phthalimid alkyliert. Diese Stufe verlangte zahlreiche Versuche. Sie gelang in DMF/K₂CO₃ mit mässiger Ausbeute zum dreifach geschützten Spermidin 84; Smp 78,5^o; 38%).

Nach erneuter Hydrazinolyse des Phthaloylrestes in 84 zum Amin 85 (Hydrochlorid Smp. 105,3-107,7^o; 80%) wurde sowohl mit dem (Z)-Epoxid 51 als auch mit dem Isomeren 52 reagieren gelassen, wobei im ersten Fall das Piperidin 86 (Oel; 26%) und im zweiten das Epimer (erythro) in deutlich besserer Ausbeute (35%) entstand. Beide erwiesen sich als cis-trans-Gemische, deren Trennung noch nicht gelungen ist. Weder NMR.-spektroskopisch noch dünnschichtchromatographisch konnten Anhaltspunkte über seine relative Zusammensetzung erhalten werden. Nach vielen negativen Versuchen [5] konnte der Lactamringschluss nach hydrogenolytischer Entfernung des Z-Restes in einer Imidazolschmelze nach [48] erzwungen werden. Dabei entstand 87 im Gemisch mit zwei anderen, noch nicht aufgeklärten Verbindungen, die sich in der Hochspannungs-Elektrophorese voneinander unterscheiden liessen. Hier wurde erstmals ein Vergleich mit aus Palustrin hergestelltem 4-Tosyl-dihydro-palustrin möglich: Elektrophorese und Dünnschichtchromatographie zeigten Uebereinstimmung. Das Rohprodukt 87 wurde mit Na in NH₃

fl. nach Rudinger [49] enttosyliert und die erhaltenen Basen ((+)-3 + (+)-13-epi-3) durch Kugelrohrdestillation gereinigt. Das erhaltene Öl konnte bisher nicht kristallisiert werden, vermutlich deshalb, weil ein Stereoisomerenmisch vorliegt. Die in Tabelle 6 zusammengestellten Daten zeigen, dass die Synthese zu einem mit natürlichem Dihydropalustrin äusserst ähnlichen Produkt geführt hat. NMR-Spektren zeigten bei den Syntheseprodukten im Unterschied zum (+)-Dihydropalustrin ein schwach aufgespaltenes Triplett der Methylgruppe bei δ 1,04. Im übrigen war der Kurvenverlauf sehr ähnlich. Im IR.-Spektrum der freien Basen waren im threo-(+)-3-Syntheseprodukt alle Banden des (+)-3 (aus 1) enthalten, dazu aber eine Reihe weiterer. Schwer zu deuten sind die Fragmentationen mit m/e 181 und 110, die nur in den Syntheseprodukten auftreten.

Zweifellos liegt im Syntheseprodukt (+)-3 vor, jedoch noch stark verunreinigt mit dem C(13)-Epimeren. Die Synthese bestätigt grundsätzlich die Struktur von Palustrin; sie muss aber in Bezug auf Ausbeuten und Stereoselektivität des Piperidin-Ringschlusses noch ausgebaut werden.

Tabelle 6 Vergleich der Eigenschaften von (+)-Dihydropalustrin¹³⁾ mit den Syntheseprodukten

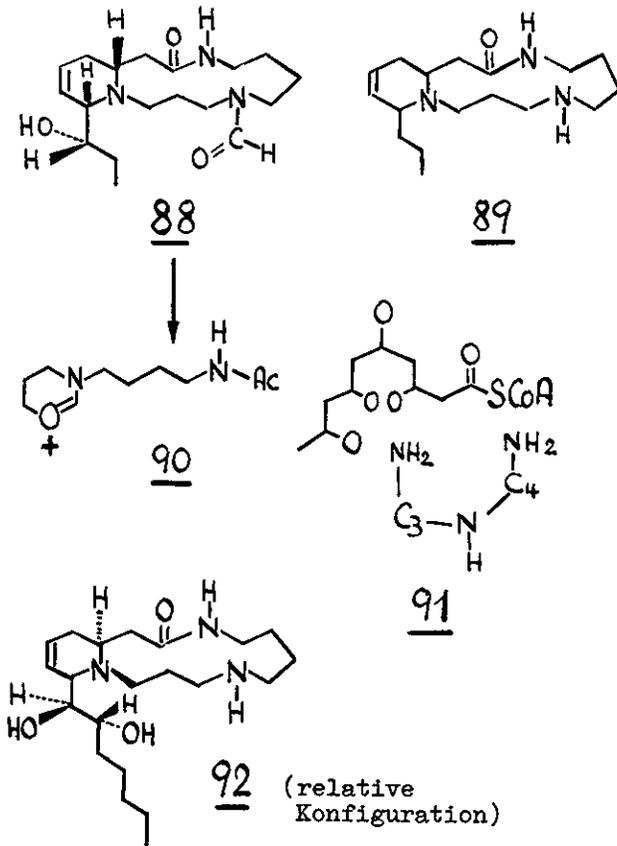
| | (+)- <u>2</u> (aus <u>1</u>) | (±)- <u>2</u> (threo) | (±)- <u>3</u> (erythro) |
|---|--|---|---|
| Sdp. der freien Base ^{a)} | 130-140° [16] | 150° | 135° |
| Elektrophorese ^{b)} | 5,95 cm | 6,15 cm | 6,10 cm |
| R _F -Wert ^{c)} | 0,47 | 0,47 | 0,47 |
| Massenspektrum | M ⁺ 311 (0,7)% 282 (4,1) 252 (100) 224 (4,1) 96 (46) 70 (38) 55 (32) 41 (55) | 311 (3,9)% 282 (4,5) 252 (100) 224 (4,5) 181 (61) 110 (50) 96 (57) 70 (31) 55 (26) 41 (34) | 311 (2,4)% 282 (5,7) 252 (100) 224 (4,3) 181 (19) 110 (23) 96 (41) 70 (35) 55 (37) 41 (57) |
| a) Kugelrohrdestillation, Luftbadtemperatur; b) 600 V pH 1,63, 65 Min, Whatman No.1-Papier; c) sec. Butanol-Aethanol-H ₂ O-Essigsäure (15:5:5:1), Whatman No.1-Papier, 17 ^h absteigend. | | | |

13) Kristallisiertes, aus (+)-Palustrin hergestelltes Dihydropalustrin mit Smp. 94° hat $[\alpha]_D = +34^\circ$ in H₂O und $-19,7^\circ$ in Aethanol.

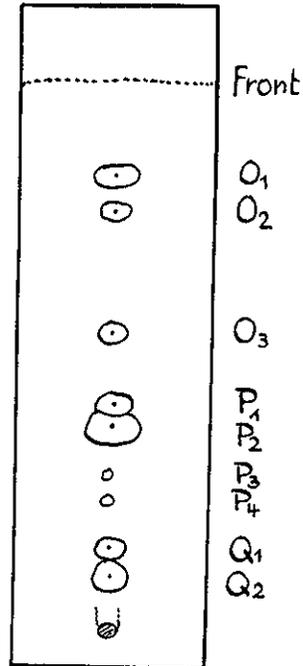
5 ANDERE EQUISETUMALKALOIDE [23][36]

Bei einzelnen Grossektionen, besonders von Material, das im Sommer in der Schweiz gesammelt worden war, stellten wir eine sehr komplizierte Basenzusammensetzung fest. Daraus liess sich

Schema 9



Figur 2



DC der Gesamtbasen
(Ernte 1967) auf
Alox G, CHCl₃-CH₃OH
(19:1)

Palustrin nur mühsam und mit grossen Verlusten rein isolieren. Im Gegensatz dazu wiesen Rohbasen aus norddeutschem oder finnischem Sumpfschachtelhalm meist eine einfachere Zusammensetzung mit überwiegendem Palustringehalt auf. Wir haben versucht, einige der Begleitbasen näher zu charakterisieren. Die Ergebnisse haben grösstenteils orientierenden Charakter und geben erste Anhaltspunkte für zukünftige Untersuchungen [36]; vergleiche Figuren 1 und 2.

O-Gruppe. Es handelt sich um mehrere, relativ schwach basische und wenig polare (DC auf Alox!) Alkaloide. Keines davon konnten wir kristallisiert und rein erhalten, ausgenommen Palustridin (88) und Nicotin, die beide auch in der O-Gruppe angetroffen werden. Massenspektren an den chromatographisch angereicherten O-Basen lassen erkennen, dass sie nicht zum Palustrintypus gehören, sondern ein ähnliches Fragmentierungsverhalten wie P₂ und die Q-Alkaloide aufweisen (siehe unten). Nach Infrarotspektren sind Amid- und möglicherweise auch Esterfunktionen anwesend.

Nicotin wird in Equisetumarten häufig angetroffen, siehe Tabelle 2. Die Struktur des Palustridins ist nun im Sinne von 88 aufgeklärt worden [19]. Es ist auf Alox viel weniger polar

als Palustrin und bildet nur ein Monohydrochlorid (Smp. 203,1-204,2° (Zers.); stark bittere wässrige Lösung). Die N-Formylgruppe ist im IR- und NMR-Spektrum mit Banden bei 1667 cm^{-1} bzw. δ 8,42 ppm leicht zu erkennen. Durch milde Hydrolyse von 88 (0,25 N HCl in H_2O -Dioxan (1:1)) erhielten wir Palustrin (1). Formylierung von 1 ($\text{HCOOH}/\text{Ac}_2\text{O}$) gab dementsprechend in guter Ausbeute 88. Als sehr charakteristisches Fragment in Massenspektren von N₂-acylierten Spermidinalkaloiden erscheint bei 88 das Oxazinium-ion 90 (vergleiche [19][25]).

P-Gruppe. Das in sehr kleiner Menge isolierte, nicht kristallisierte Alkaloid P₃ ist allem Anschein nach Deoxypalustrin (89) mit Summenformel $\text{C}_{17}\text{H}_{31}\text{N}_3\text{O}_2$ (durch massenspektrometrische Hochauflösung bestimmt). Sein Fragmentierungsverhalten stimmt mit Konstitution 89 sehr gut überein: der M^+ -Pik ist relativ stark ausgeprägt und die Abspaltung der Propylgruppe ist durch Hochauflösung des Ions m/e 250 gesichert.

In grösserer Menge wurde das Alkaloid P₂ isoliert. Es lässt sich von Palustrin (= P₁) nur mit Mühe trennen. Seine Struktur ist trotz verschiedener Versuche noch nicht geklärt, da sich einige spektroskopische Befunde noch nicht deuten lassen, vermutlich wegen Uneinheitlichkeit der isolierten Base. Gesicherte Fakten

sind: Summenformel $C_{19}H_{33}N_3O_2$, zwei konjugierte, katalytisch leicht reduzierbare Doppelbindungen mit $\lambda_{\max}^{\text{alko}}$ 267 nm (ϵ 3,5) und Schultern bei 258 und 281,5 nm. Daraus sowie aus dem NMR-Spektrum, das ein 4 H-Multipllett bei δ 5,4 ppm zeigt, kann auf ein homoanullares Dien geschlossen werden. Spermidin ist amidisch gebundener Bestandteil (Mikro-KOH-Schmelze) mit zum Palustrin analogen Einbaumodus; denn die saure Hydrolyse am Tetrahydroprodukt mit nachfolgender Acetylierung und Fischer-Veresterung ergibt im Massenspektrum die typische Fragmenttriade der Ionen m/e 143, 159, 169 [25].

Q-Gruppe. Es handelt sich um starke Basen mit sehr kleinen R_f -Werten, siehe Figur 1. Trennung und Reindarstellung bieten sehr grosse Schwierigkeiten. Genauer untersucht wurden bisher nur die Alkaloide Q_1 und Q_2 . Sie haben sich laut Massenspektren als mit Palustrin isomer erwiesen. Mikro-KOH-Schmelze gibt Spermidin. Es ist in den Alkaloiden amidisch gebunden. Acetylierung liefert ein Gemisch von N-Monoacetat mit einem O,N-Diacetat. Eine C-C-Doppelbindung ist nachgewiesen (NMR). Massenspektren von P_2 und Q_1 , Q_2 zeigen eine auffallende Aehnlichkeit. In beiden Fällen tritt ein initialer Verlust von $C_2H_3O^+$ (m/e 43) ein, obwohl NMR-spektroskopisch die Anwesenheit einer Acetylgruppe ausgeschlossen

werden kann. Vermutlich ist P₂ zu Q₁ und Q₂ homolog (Mehrgehalt einer Vinylgruppe).

Erfolg bei der Strukturaufklärung der Alkaloide aus der O- und Q-Gruppe sowie bei P₂ dürfte sich dann einstellen, wenn das bisher noch ungelöste Trennproblem gemeistert werden kann.

6 SCHLUSSBEMERKUNGEN

Palustrin war das erste Alkaloid, in dem Spermidin als Baustein nachgewiesen worden ist [17]. Seither sind eine ganze Reihe von solchen Verbindungen im Pflanzenreich entdeckt worden¹⁴⁾. Palustrin gehört biogenetisch ohne Zweifel zu dem Typus, der aus der Vereinigung einer Polyketidmolekel mit Spermidin hervorgegangen ist. Ein anderer Typus lässt sich auf reaktive Zwischenprodukte der Phenylpropanbiogenese zurückführen. Im Palustrin ist eine modifizierte Caprinsäure (C₁₀) eine regiospezifische Reaktion mit Spermidin-N³ eingegangen. Es dürften deshalb wohl auch homologe Alkaloide mit Palustrin-ähnlicher Struktur unter den Equisetum-alkaloiden zum Vorschein kommen. Eine Verbindung dieser Art ist das sog. Cannabisativin (92), welches kürzlich in Hanf (Cannabis sativa L.) aufgefunden worden ist [50]. Hier ist ein Myristin-

14) Zusammenfassungen [5][24][26]

säurederivat (C_{14}) Partner des Spermidins geworden. Seine vom Palustrin abweichende Stereochemie (erythro-Aminoalkohol, trans-Piperidin) ist röntgenstrukturanalytisch festgelegt worden. Die absolute Konfiguration ist noch nicht bekannt.

Die Arbeit am Palustrin hatte ich 1947 als Student im Rahmen einer Ferienarbeit bei Prof. Paul Karrer begonnen. Isolierung der reinen Base und ihre generelle Charakterisierung gelangen in kurzer Zeit, doch reichten weder meine chemischen Kenntnisse noch die damals zur Verfügung stehenden spektroskopischen Hilfsmittel zur Aufklärung dieses neuartigen Strukturtyps aus. Immerhin war das Interesse an diesem Problem geweckt worden, so dass ich später immer dann, wenn ich Mitarbeiter dafür interessieren konnte, wieder darauf zurückkam. Es ist nicht zu bestreiten, dass diese mühsamen Arbeiten im Institut nicht immer beliebt waren.

Dafür, dass unsere Arbeiten am Palustrin heute, wie in diesem Uebersichtsartikel deutlich geworden ist, zu einem gewissen Abschluss gebracht werden konnten, habe ich einerseits der jahrelangen und grosszügigen finanziellen Unterstützung des "Schweizerischen Nationalfonds zur Förderung der wissenschaftlichen Forschung" und andererseits der Mitarbeit von Diplomanden, Doktoranden und Postdoktoranden zu danken. Es sind dies

(in zeitlicher Reihenfolge seit Beginn der Arbeiten am Projekt):
 Dr.D.K.Patel, Dr.R.Griot, Dr.C.G.Baumann(†), Dr.W.Dietsche,
 Dr.W.Paulus, Dr.C.W.Mayer, Dr.W.Trueb, Dr.C.L.Green, Frau dipl.
 chem. Gabriele Mukherjee-Müller, Dr.P.C.Wälchli, Frau dipl.chem.
 Elisabeth Wälchli-Schaer. Bei der Beschaffung und Extraktion des
 Ausgangsmaterials haben viele Personen mitgeholfen, von denen
 stellvertretend nur das unvergessene Ehepaar H.Hochstrasser(†)
 genannt sei. Ferner danke ich für massenspektrometrische Beratung
 der Herren Prof.G.Spiteller (Göttingen, BRD), Prof.J.Wilson
 (Manchester, GB) und Prof.M.Hesse (Zürich, Schweiz). Wertvolle
 Vergleichssubstanzen überliessen uns die Herren Prof.B.Franck
 (Münster, BRD), Prof.C.Schöpf(†) (Darmstadt, BRD), Prof.R.K.Hill
 (Athens, USA), Dr.W.H.Tallent (Preoria, USA), Prof.E.Leete
 (Minneapolis, USA); Pflanzenproben erhielten wir aus Oldenburg
 (BRD) von Dr.W.Holz und Dr.W.Richter, aus Tielenhemme (BRD) von
 E.Potthast, aus Finnland von Dr.P.Borg (Helsinki) und Dr.J.Mukula
 (Tikkurila), aus Polen von Prof.Z.Sochoń und Dr.Maria Chwastek
 (Bydgoszcz). Auf zahlreiche andere, hier nicht namentlich genannte
 Hilfeleistungen wird in den Einzelpublikationen speziell
 hingewiesen.

LITERATUR

- 1 C.H. Eugster, Vierteljahresschrift Naturforsch. Ges. Zürich, 1960, 105, 261.
- 2 C.G. Baumann, "Ueber Schachtelhalm-Alkaloide", Dissertation Universität Zürich, 1958.
- 3 C.W. Mayer, "Beiträge zur Konstitution von Palustrin, dem Hauptalkaloid aus *Equisetum palustre* L.", Dissertation Universität Zürich, 1968.
- 4 P.C. Wälchli, "Synthese der isomeren Dihydropalustraminsäuren und Struktur von Palustrin", Dissertation Universität Zürich, 1973.
- 5 Elisabeth Wälchli-Schaer, "Synthese von Dihydropalustrin und dessen Stereoisomeren", Dissertation Universität Zürich, in Vorbereitung.
- 6 D.B. MacLean, "The Lycopodium Alkaloids", in R.H.F. Manske (Ed.), The Alkaloids, Academic Press, New York, 1967, 10, 305; 1973, 14, 348.
- 7 E. Hultén, "The circumpolar Plants", Kungl. Svensk. Vet. Handl., 1962, 8, No. 5.
- 8 M. Gerlach, Fortschr. d. Landwirtschaft 1929, 4, 377.
- 9 I. Uotila, Acta agraria fennica 1956, 90, 1-155; J. Sci. agr. Soc. Finland 1957, 29, 121.

- 10 W. Holz und W. Richter, Angew. Botanik 1960, 34, 28.
- 11 A. von Kries, "Der Sumpfschachtelhalm", Dissertation Technische Universität Berlin, 1962; Zeitschr. f. Kulturtechnik und Flurbereinigung 1964, 5, 424.
- 12 J. Mukula, Annales agriculturae fenniae 1963, 2, Suppl. 4, 1-57.
- 13 P.J.V. Borg, Annales Botanici Fennici 1967, 4, 35; 1971, 8, 93.
- 14 P. Karrer und C.H. Eugster, Helv. chim. acta 1948, 31, 1062.
- 15 H. Kern, Mitteil. biol. Bundesanstalt Berlin-Dahlem, 1957, Heft 87.
- 16 C.H. Eugster, R. Griot, P. Karrer, Helv. chim. acta 1953, 36, 1387.
- 17 C.G. Baumann, W. Dietsche, C.H. Eugster, Chimia 1960, 14, 85.
- 18 C. Mayer, W. Trueb, J. Wilson, C.H. Eugster, Helv. chim. acta 1968, 51, 661.
- 19 C.L. Green, C. Mayer, C.H. Eugster, Helv. chim. acta 1969, 52, 673.
- 20 P. Wälchli und C.H. Eugster, Angew. Chem. 1973, 85, 172.
- 21 Gabriele Mukherjee-Müller, "Bestimmung der absoluten Konfiguration der Dihydropalustraminsäure mit Hilfe von

CD-Messungen im Gebiet von 185-210 nm", Diplomarbeit Universität Zürich, 1970.

22 Elisabeth Wälchli-Schaer und C.H. Eugster, Chimia 1974, 28, 728.

23 V. Meier und C.H. Eugster, unveröffentlicht, 1968/1969.

24 a) T.A. Smith, Phytochem. 1970, 9, 1479; 1975, 14, 865;

b) U. Bachrach, "Function of Naturally-occurring Polyamines", Academic Press, New York, 1973; c) S.S. Cohen, "Introduction to

the Polyamines", Prentice Hall, Englewood Cliffs, New York, 1971;

d) H. Tabor und C. Tabor, Adv. Enzymol. 1972, 36, 203;

e) A. Raina, Acta physiol. scand. 1963, 60, Suppl. 218; N. Bagni, Gazzetta bot. Ital. 1968, 102, 67.

25 a) H. Bosshardt und M. Hesse, Angew. Chem. 1974, 86, 256;

b) E. Schöpp und M. Hesse, Helv. chim. acta 1973, 56, 124;

c) H. Bosshardt, H.J. Veith und M. Hesse, Org. Mass Spectrom.

1972, 6, 325; d) E. Lerch und M. Hesse, Helv. chim. acta 1972,

55, 1883; e) H.J. Veith, Dissertation Universität Zürich, 1972.

26 M.M. Badawi, K. Bernauer, P. van den Broek, D. Gröger,

A. Guggisberg, S. Johne, I. Kompis, F. Schneider, H.J. Veith,

M. Hesse, H. Schmid, Pure and Applied Chem. 1973, 33, 81.

27 F. Pregl und H. Roth, "Quantitative organische Mikroanalyse",

5. Auflage, Springer-Verlag, Wien, 1947, S. 232.
- 28 R.J. Highet, J. org. Chemistry 1964, 29, 471, Fussnote 7.
- 29 A. Guggisberg, M.M. Badawi, M. Hesse, H. Schmid, Helv. chim. acta 1974, 57, 414.
- 30 W. Dietsche und C.H. Eugster, Chimia 1960, 14, 353.
- 31 H.J. Veith, M. Hesse, H. Schmid, Helv. chim. acta 1970, 53, 1355.
- 32 P. Wälchli und C.H. Eugster, unveröffentlicht, 1973.
- 33 a) H. Emde, Helv. chim. acta 1932, 15, 1330; b) D.R. Howton, J. Amer. chem. Soc. 1947, 69, 2555; c) W.H. Hartung und R. Simonoff, Organic Reactions (Ed. R. Adams) 1953, 7, 263.
- 34 W. Paulus und C.H. Eugster, unveröffentlicht, 1961.
- 35 S. Suzuki und J.L. Strominger, J. biol. Chem. 1960, 235, 2768.
- 36 C.L. Green und C.H. Eugster, unveröffentlicht, 1968/1969.
- 37 T. Momose und C.H. Eugster, unveröffentlicht, 1970.
- 38 W. Trueb und C.H. Eugster, unveröffentlicht, 1967.
- 39 R.A. Johnson, J. org. Chem. 1968, 33, 3627.
- 40 Y.L. Chow, C.J. Colón, J.N.S. Tam, Canad. J. Chem. 1968, 46, 2821.
- 41 R.K. Hill und T.-H. Chan, Tetrahedron 1965, 21, 2015.
- 42 E. Fujita und K. Fuji, J. chem Soc. (C) 1971, 1651;

- H.P. Hamlow, S. Okuda, N. Nakagawa, Tetrahedron Letters 1964, 2553; F. Bohlmann, D. Schumann, H. Schulz, Tetrahedron Letters 1965, 173; J.B. Lambert, R.G. Keske, R.E. Carhart, A.P. Jovanovich, J. Amer. Chem. Soc. 1967, 89, 3761; M. Tsuda und Y. Kawazoe, Chem. Pharm. Bull. (Japan) 1968, 16, 702.
- 43 W.B. Lawson, A. Patchornik, B. Witkop, J. Amer. chem. Soc. 1960, 82, 5918; A. Patchornik, W.B. Lawson, E. Gross, B. Witkop, ibid. 1960, 82, 5923; N. Izumiya, J.E. Francis, A.V. Robertson, B. Witkop, ibid. 1962, 84, 1702.
- 44 J.C. Craig und S.K. Roy, Tetrahedron 1965, 21, 1847.
- 45 H.C. Beyermann, L. Maat, J.P. Visser, J. Cymerman Craig, R.P.K. Chan, S.K. Roy, Rec. trav. chim. Pays-Bas 1969, 88, 1012; H.C. Beyerman, L. Maat, C.A. Moerman, ibid. 1971, 90, 1326 und frühere Arbeiten.
- 46 C.J.W. Brooks und J.D. Gilbert, Chem. Commun. 1973, 194.
- 47 F. Galinovsky, G. Bianchetti, O. Vogl, Mh. Chem. 1953, 84, 1221; A. Ebnöther, Helv. chim. acta 1958, 41, 386; B. Franck, Chem. Ber. 1959, 92, 1001.
- 48 Th. Wieland und K. Vogeler, Angew. Chem. 1962, 904.
- 49 J. Rudinger und H. Maassen van den Brink-Zimmermanová, Helv. chim. acta 1973, 56, 2216.

50 H.L. Lotter, D.J. Abraham, C.E. Turner, J.E. Knapp,
P.L. Schiff jr., D.J. Slatkin, Tetrahedron Letters 1975, 2815.

Received, 26th September, 1975