

# Über die Konstitution des Oxylypanins. Die Stellung der Hydroxylgruppe.

Von

F. Galinovsky, M. Pöhm und K. Riedl.

Aus dem II. Chemischen Laboratorium der Universität Wien.

(Eingelangt am 16. Sept. 1949. Vorgelegt in der Sitzung am 13. Okt. 1949.)

Die bisherigen Arbeiten<sup>1, 2</sup> über das Lupinenalkaloid Oxylypanin haben eindeutig bewiesen, daß dem Alkaloid das C—H—N-Gerüst des Sparteins zugrunde liegt und daß von den beiden Sauerstoffatomen eines in einer Lactamgruppe im Ring A und das zweite in einer Hydroxylgruppe angeordnet ist. In einer vor kurzem erschienenen Arbeit<sup>2</sup> konnten wir zeigen, daß die Hydroxylgruppe sekundären Charakter hat, dagegen wurde über ihre Stellung, für die es eine Reihe von Möglichkeiten gibt, noch keine Aussage gemacht.

Es war das Ziel der vorliegenden Arbeit, die Stellung der Hydroxylgruppe zu ermitteln und damit die Konstitution des Oxylypanins völlig festzulegen. Zu diesem Zweck führten wir eine erschöpfende Chromsäureoxydation des Alkaloids selbst und der aus ihm erhältlichen verwandten Basen Lupanin (I), Spartein (II), des durch katalytische Reduktion des Oxylypanins zugänglichen Oxysparteins<sup>3</sup> und der aus letzterem Produkt und dem Oxylypanin durch Wasserabspaltung gewonnenen ungesättigten Anhydroderivate<sup>2</sup> durch.

Hydrierte cyclische Basen sind im allgemeinen gegen Chromsäure ziemlich beständig, werden jedoch in stärker konzentrierter saurer Lösung, wie schon W. Koenigs<sup>4</sup> beim Piperidin gefunden hat, bei längerem Er-

---

<sup>1</sup> G. Bergh, Arch. Pharmaz. **242**, 416 (1904). — A. Beckel, Arch. Pharmaz. **248**, 451 (1910).

<sup>2</sup> F. Galinovsky und M. Pöhm, Mh. Chem. **80**, 864 (1949).

<sup>3</sup> Dieses Oxyspartein ist ein Monohydroxylderivat des Sparteins und darf nicht mit dem Oxydationsprodukt des Sparteins, das Lactamcharakter besitzt und fälschlich Oxyspartein genannt wird, verwechselt werden.

<sup>4</sup> Ber. dtsch. chem. Ges. **12**, 2341 (1879).

hitzen angegriffen. *P. Karrer* und *A. Widmer*<sup>5</sup> haben so die erschöpfende Chromsäureoxydation einiger cyclischer Basen, z. B. von Piperidin,  $\alpha$ -Pipicolin, Coniin, Spartein und Methylspartein, in schwefelsaurer Lösung durchgeführt und dabei einfache Aminosäuren, wie  $\beta$ -Alanin,  $\beta$ - und  $\gamma$ -Aminobuttersäure, erhalten.

Wir haben nun das Oxylyupanin und die aus ihm erhältlichen oben erwähnten Basen unter vergleichbaren Bedingungen in schwefelsaurer Lösung erschöpfend mit Chromsäure oxydiert, wobei diese Basen zu Bernsteinsäure und Aminosäuren abgebaut wurden. Die gebildete Bernsteinsäure, die fast rein anfiel, wurde stets quantitativ erfaßt. Die Tabelle I gibt die bei der Oxydation von Spartein, Lupanin, Oxylyupanin und Oxyspartein erhaltenen Mengen Bernsteinsäure, bezogen auf ein Millimol Base an.

Tabelle I.

Base	mg Bernsteinsäure	Davon aus Ring A	Aus Ring D
Spartein . . . . .	20,4	10,2	10,2
Lupanin . . . . .	62,8	52,6	10,2
Oxylyupanin . . .	53,0	53,0	—
Oxyspartein . .	10,0	10,0	—

Von der Annahme ausgehend, daß die Ringe A und D des Sparteins (II) sowie der Ring D des Lupanins (I) bei der Chromsäureoxydation gleiche Mengen Bernsteinsäure geben, ließen diese Ergebnisse des oxydati-

ven Abbaus, wie aus der Tabelle ersichtlich ist, beim Oxylyupanin und Oxyspartein die Stellung der Hydroxylgruppe im Ring D als naheliegend erscheinen. Denn nur mit der Substitution des Ringes D in den beiden letzten Verbindungen und einer daraus folgenden Unmöglichkeit der Bildung von Bernsteinsäure aus diesem Ring sind die Ausbeuten an Bernsteinsäure bei der Oxydation dieser Basen zu erklären.

Die bei der Chromsäureoxydation des Oxylyupanins und der anderen genannten Basen entstandenen Aminosäuren wurden in der üblichen, im experimentellen Teil näher beschriebenen Weise isoliert und durch Verteilungschromatographie auf Filtrierpapier nach *R. Conden*, *A. H. Gordon* und *A. J. P. Martin*<sup>6</sup> getrennt und identifiziert. Aus Spartein erhielten wir in Übereinstimmung mit *Karrer* und *Widmer*<sup>5</sup> als Hauptprodukt  $\gamma$ -Aminobuttersäure, aus Lupanin  $\gamma$ -Aminobuttersäure und Glycin, welches wahrscheinlich aus dem Ring B stammt, aus Oxylyupanin  $\beta$ -Alanin und Glycin, dagegen keine Spur von  $\gamma$ -Aminobuttersäure, obgleich diese Aminosäure wegen der großen Empfindlichkeit ihrer Ninhydrinreaktion sehr leicht nachgewiesen werden kann, und schließlich aus Oxyspartein  $\gamma$ -Aminobuttersäure,  $\beta$ -Alanin und Glycin. Das

<sup>5</sup> Helv. chim. Acta 9, 886 (1926).

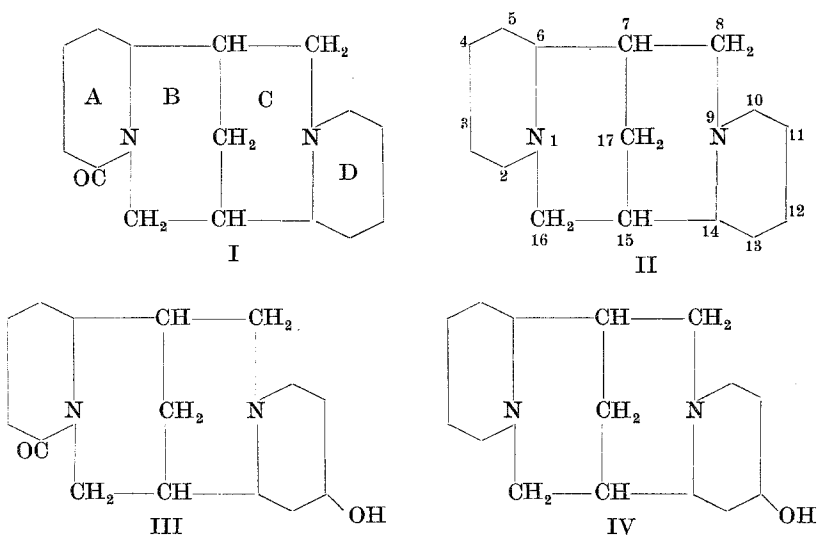
<sup>6</sup> Biochemic. J. 38, 224 (1944).

Anhydro-oxylupanin und Anhydro-oxysparteïn gaben die gleichen Aminosäuren wie Oxylupanin und Oxysparteïn, aus denen sie durch Wasserabspaltung entstanden waren, nur war eine deutliche Verschiebung im Mengenverhältnis der Aminosäure zugunsten des Glycins zu beobachten.

Die Tabelle 2 gibt die Stärke der mit Ninhydrin erhaltenen Farbflecken an. Als Lösungsmittelgemisch war n-Butanol-Eisessig-Wasser (4 : 1 : 5) verwendet worden.

Tabelle 2.

Base	$\gamma$ -Aminobuttersäure $R_F=0,31$	$\beta$ -Alanin $R_F=0,23$	Glycin $R_F=0,14$
Sparteïn . . . . .	+++	+	—
Lupanin . . . . .	+++	+	++
Oxylupanin . . . . .	—	+++	++
Oxysparteïn . . . . .	++	++	+
Anhydro-oxylupanin	—	++	+++
Anhydro-oxysparteïn	++	++	++



Das wichtigste Ergebnis der papierchromatographischen Trennung der Aminosäuren ist das *völlige* Fehlen der  $\gamma$ -Aminobuttersäure unter den Oxydationsprodukten des Oxylupanins und des Anhydro-oxylupanins. An ihre Stelle tritt hier das  $\beta$ -Alanin, welches beim Oxylupanin eindeutig das Hauptprodukt der Oxydation vorstellt. Diese Tatsachen lassen für das Alkaloid selbst die Formel eines 12-Oxylupanins (III)<sup>7</sup> und für

<sup>7</sup> Die Bezifferung des Ringsystems (siehe Formel II) erfolgte nach *J. F. Couch*, *J. Amer. chem. Soc.* **58**, 688 (1936).

das Reduktionsprodukt daraus die Formel eines 12-Oxysparteins (IV) annehmen. Wenn die Hydroxylgruppe am C-Atom 13 haften würde, wäre  $\gamma$ -Aminobuttersäure als Oxydationsprodukt zu erwarten.

Auch die augenfällige Verschiedenheit der Stärke der Ninhydrinreaktionen des  $\beta$ -Alanins und des Glycins aus Oxylupanin (III) und seiner Anhydrobase einerseits und dem Oxyspartein (IV) und seiner Anhydrobase andererseits kann aus den angegebenen Konstitutionsformeln erklärt werden. Beim Oxylupanin und Oxyspartein entstehen größere Mengen  $\beta$ -Alanin als Glycin, da die Oxydation vorwiegend zwischen C-12 und C-13 angreift<sup>8</sup>. Bei der Wasserabspaltung aus Oxylupanin und Oxyspartein bildet sich, wie zu erwarten ist, in annähernd gleichen Mengen die beiden möglichen ungesättigten Basen, die dann bei der Oxydation  $\beta$ -Alanin und Glycin in annähernd äquivalenten Mengen ergeben. Auch diese Ergebnisse stehen also mit der Formel III des Oxylupanins im besten Einklang.

Es ist zu erwarten, daß die verteilungschromatographische Trennung von Aminosäuren in ähnlicher Weise wie hier beim Oxylupanin auch bei anderen Alkaloiden zur Klärung von Konstitutionsfragen herangezogen werden kann. Auch für das Studium der Oxydation von hydrierten cyclischen Basen ergeben sich neue Möglichkeiten. Versuche nach beiden Richtungen sind im Gange.

### Experimenteller Teil.

#### A. Erschöpfende Chromsäureoxydation des Oxylupanins und der anderen Basen.

1. *Oxylupanin*. 250 mg Oxylupanin wurden mit 0,8 g  $\text{CrO}_3$ , 0,6 ccm konz. Schwefelsäure und 2 ccm Wasser 1 Std. am siedenden Wasserbad erhitzt, wonach das Oxydationsmittel verbraucht war; nach Zugabe der gleichen Mengen  $\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{H}_2\text{SO}_4$  und  $\text{CrO}_3$  wurde die Lösung weitere 40 Stdn. am Wasserbad erhitzt. Sodann wurde die geringe Menge an unverbrauchtem  $\text{CrO}_3$  durch  $\text{SO}_2$  reduziert und die saure Lösung im Extraktor erschöpfend mit Äther ausgezogen, wozu zirka 50 Stdn. notwendig waren. Nach dem Trocknen und Abdestillieren des Äthers wurden 50,1 mg weiße Kristalle erhalten, die ohne weitere Reinigung bei  $182^\circ$  schmolzen. Nach dem Umlösen aus Äther lag der Schmp. bei  $184^\circ$  und blieb in Mischung mit Bernstein säure unverändert. Äquivalentgewicht des Rohproduktes der Ätherextraktion: Gef. 58,96, für Bernstein säure ber. 59,04.

Die wäBr. Lösung wurde nun mit einer siedenden Lösung von 15 g Barium-

---

<sup>8</sup> Daß eine solche Oxydation nicht an beiden von einem substituierten Ring-C-Atom ausgehenden Bindungen in gleicher Weise angreift, ist in ähnlichen Fällen beobachtet worden. Die Stelle der Ringsprengung kann auch von der Konfiguration des nächsten asymm. C-Atoms beeinflußt werden; siehe z. B. Oxydation von bezüglich C-5 konfiguratativ verschiedenen Sterinen und Gallensäuren: *H. Wieland*, *E. Dane* und *C. Martius*, Hoppe Seyler's Z. physiol. Chem. **215**, 15 (1933).

Tabelle 3. n-Butanol-Eisessig-Wasser (4:1:5).

Aminosäure	$R_F$ bei 22° C	Farbreaktion mit Ninhydrin
Glycin .....	0,14—0,15	violett
$\beta$ -Alanin .....	0,22—0,24	blauviolett
$\gamma$ -Aminobuttersäure .....	0,31	violett
Ninhydrinpositive Substanzen	$R_F$ bei 22° C	Farbreaktion mit Ninhydrin
Aus Oxylupanin .....	0,08 0,14 0,19 0,23	sehr schwach, rosa violett sehr schwach, violett blauviolett
Aus 12-Oxysparteïn .....	0,08 0,14 0,22 0,31	sehr schwach, rosa violett blauviolett violett
Aus Lupanin .....	0,14 0,19 0,22 0,31	violett sehr schwach, violett schwach, blauviolett violett
Aus Sparteïn .....	0,22 0,31	schwach, violett violett

Tabelle 4. Phenol-0,25% Ammoniak.

Aminosäuren	$R_F$ bei 22° C	Farbreaktion mit Ninhydrin
Glycin .....	0,42	violett
$\beta$ -Alanin .....	0,68	blauviolett
$\gamma$ -Aminobuttersäure .....	0,76	violett
Ninhydrinpositive Substanzen	$R_F$ bei 22° C	Farbreaktion mit Ninhydrin
Aus Oxylupanin .....	0,42 0,68	violett blauviolett
Aus 12-Oxysparteïn .....	0,68 0,76	blauviolett violett
Aus Lupanin .....	0,42 0,68 0,76	violett schwach, blauviolett violett
Aus Sparteïn .....	0,76	violett

hydroxyd in 50 ccm Wasser versetzt, vom ausgefällten  $\text{BaSO}_4$  und  $\text{Cr}(\text{OH})_3$  abfiltriert, wobei der Niederschlag gut mit heißem Wasser gewaschen wurde. Die alkalische Lösung wurde 5 Min. zum Sieden erhitzt, dann im Vak. ein-

geengt und 12 Std. mit Äther extrahiert; in die wäbr. Lösung wurde hierauf  $\text{CO}_2$  eingeleitet, vom  $\text{BaCO}_3$  abfiltriert, die Lösung im Vak. zur Trockene eingedampft, der Rückstand in wenig 50%igem Alkohol aufgenommen, nochmals  $\text{CO}_2$  eingeleitet, filtriert und abermals im Vak. eingedampft. Es hinterblieben 90 mg eines schwach gelb gefärbten Aminosäuregemisches, das eine intensive Blauviolett färbung mit Ninhydrin gab.

2. *12-Oxysparteïn*. 100 mg Base wurden mit 0,35 g  $\text{CrO}_3$ , 0,3 ccm konz.  $\text{H}_2\text{SO}_4$  und 1,3 ccm  $\text{H}_2\text{O}$  1 Std., nach Zugabe der gleichen Menge Oxydationslösung weitere 30 Std. am Wasserbad erhitzt. Die Aufarbeitung geschah wie beim Oxylupanin. Es wurden 4 mg Bernsteinsäure und 75 mg Aminosäuren erhalten.

3. *Lupanin*. 162 mg d-Lupanin wurden mit 0,45 g  $\text{CrO}_3$ , 0,4 ccm  $\text{H}_2\text{SO}_4$  und 1,3 ccm  $\text{H}_2\text{O}$  1 Std., nach Zugabe der gleichen Menge Oxydationslösung weitere 40 Std. am Wasserbad erhitzt. Die Aufarbeitung erfolgte wie oben beschrieben. Ausbeute: 40,9 mg Bernsteinsäure und 60 mg Aminosäuren.

4. *Sparteïn*. 215 mg Sparteïnsulfat wurden mit insgesamt 0,86 g  $\text{CrO}_3$ , 0,8 ccm  $\text{H}_2\text{SO}_4$  und 2,4 ccm  $\text{H}_2\text{O}$  45 Std. erhitzt: 10,4 mg Bernsteinsäure und 90 mg Aminosäuren.

5. *Anhydro-oxylupanin*. 50 mg der durch Wasserabspaltung aus Oxylupanin erhaltenen ungesättigten Verbindung<sup>2</sup> wurden mit insgesamt 0,4 g  $\text{CrO}_3$ , 0,4 ccm  $\text{H}_2\text{SO}_4$  und 1,4 ccm  $\text{H}_2\text{O}$  40 Std. erhitzt: 18 mg Aminosäuren.

5. *Anhydro-oxysparteïn*. 60 mg Base<sup>2</sup> wurden mit 0,45 g  $\text{CrO}_3$  in 2 ccm 5%iger  $\text{H}_2\text{SO}_4$  35 Std. am Wasserbad erhitzt: 40 mg Aminosäuren.

## B. Verteilungschromatographische Trennung der Aminosäuren auf Filtrierpapier.

Die Chromatogramme wurden eindimensional in Glaszylindern von 50 cm Höhe und 20 cm Durchmesser nach der Methode von *Consden, Gordon und Martin*<sup>6</sup> ausgeführt, wobei ausschließlich *Whatman* Nr. 1-Filtrierpapier benützt wurde. Als Lösungsmittelgemische kamen n-Butanol-Eisessig-Wasser (4:1:5)<sup>9</sup> und Phenol-0,25%iges wäbr. Ammoniak zur Verwendung. Die Vergleichslösung war an Glycin,  $\beta$ -Alanin und  $\gamma$ -Aminobuttersäure jeweils 1%ig.

Von den bei den Oxydationen erhaltenen Aminosäuregemischen wurden 2%ige Lösungen bereit und von diesen 5 bis 8  $\mu\text{l}$  für jedes Chromatogramm verwendet. Die Ergebnisse der Papierchromatogramme sind in den Tabellen 3 und 4 zusammengestellt.

Die in der Tabelle 3 mit den  $R_F$ -Werten 0,08 und 0,19 angeführten Substanzen wurden, da die Farbreaktion immer nur sehr schwach ausfiel und ihnen auch im Rahmen dieser Arbeit keine weitere Bedeutung zukommt, nicht näher untersucht. Die in den Tabellen 3 und 4 angegebenen  $R_F$ -Werte von Glycin,  $\beta$ -Alanin und  $\gamma$ -Aminobuttersäure stimmen mit den Literaturwerten, soweit sie bekannt sind, überein.

Die bei der Oxydation der Anhydrobasen von Oxylupanin und 12-Oxysparteïn erhaltenen Aminosäuren waren die gleichen wie bei den Ausgangsstoffen, doch waren die Intensitäten der Farbreaktionen mit Ninhydrin verschieden, wie schon in Tabelle 2 angegeben wurde.

<sup>9</sup> S. M. Partridge, *Biochem. J.* **42**, 238 (1948).