

## Anwendung der Massenspektrometrie zur Strukturaufklärung von Alkaloiden, 1. Mitt.:

Die basischen Inhaltsstoffe der Rinde von *Aspidosperma oblongum* A. DC.

Von

G. Spitteller und M. Spitteller-Friedmann

Aus dem Organisch-chemischen Institut der Universität Wien

Mit 2 Abbildungen

(Eingegangen am 3. Mai 1962)

Die Rinde der *Aspidosperma oblongum* A. DC. enthält mehrere Alkaloide. Das Hauptalkaloid (ca. 75% der Gesamtbasenfraktion) konnte als  $\beta$ -Yohimbin (I) identifiziert werden. Durch Chromatographie an  $\text{Al}_2\text{O}_3$  wurde bisher ein Nebenalkaloid, allerdings nur in sehr geringer Menge, rein und kristallin erhalten. Es besitzt auf Grund seines Massenspektrums und seiner UV-Absorptionskurve das Skelett eines 11-Methoxy-yohimbins (II)\*.

1953 untersuchten *Banerjee* und *Lewis*<sup>1</sup> die Gesamtalkaloide der Rinde von *Aspidosperma oblongum* A. DC. (Apocynaceae) auf ihre pharmakologischen Eigenschaften. Die wäßrige Lösung der Hydrochloride der Gesamtbasenfraktion des Rindenextraktes zeigte eine sehr starke blutdrucksenkende, der Wirkung des Acetylcholins entgegengerichtete Wirksamkeit.

Durch die Freundlichkeit des Direktors des Suriname Forest-Service, Dr. *de Hulster*, kamen wir in den Besitz von 920 g Rinde von *Aspidosperma oblongum* A. DC.<sup>2</sup>

\* Wir folgen in der Bezifferung des Ringsystems dem Vorschlag von *G. Barger* und *C. Scholz* (Helv. chim. acta **16**, 1343 [1931]), welcher nicht den Grundsätzen der IUPAC-Nomenklatur (Ring-Index) entspricht.

<sup>1</sup> *J. N. Banerjee* und *J. J. Lewis*, Nature [London] **171**, 802 (1953).

<sup>2</sup> Wir möchten auch an dieser Stelle Herrn Dr. *de Hulster* für die Überlassung des Rindenmaterials recht herzlich danken.

Die stark bitter schmeckende Rinde wurde in der üblichen Weise mit Methanol ausgezogen. Das Rindenextrakt enthielt neben Harzen nur geringe Mengen saurer und neutraler Bestandteile. Sie wurden nicht näher untersucht. Der Gehalt an Rohbasen betrug 1%.

Zunächst gelang es nicht, aus dem offenbar recht komplexen Basengemisch eine kristalline Substanz zu erhalten. Nachdem in einem chromatographischen Vorversuch Impfkristalle erhalten worden waren, ließ sich auch aus der methanolischen Lösung des Rohbasengemisches eine kristalline Komponente vom Doppelschmelzpunkt 138—143° und 224—226° gewinnen.

Die Analysenwerte der Verbindung erlaubten nicht, zwischen den Bruttoformeln  $C_{20}H_{24}N_2O_3$  und  $C_{21}H_{26}N_2O_3$  zu unterscheiden. Die Analyse ergab ferner, daß das Alkaloid eine C—CH<sub>3</sub>-, jedoch keine N—CH<sub>3</sub>- oder C—CH<sub>3</sub>-Gruppe besitzt.

Das IR-Spektrum (Lösung) zeigte Banden bei 3600 cm<sup>-1</sup> (OH-Gruppe), 3460 cm<sup>-1</sup> (NH-Gruppe), 3020 cm<sup>-1</sup> (aromatische CH-Gruppe), 1730 cm<sup>-1</sup> (Estercarbonyl), 1625 und 1600 cm<sup>-1</sup> (Aromat) und 737 cm<sup>-1</sup> (1,2-substituierter Benzolring). Das UV-Spektrum hatte Maxima bei 227 m $\mu$  (log  $\epsilon$  = 4,64), 283 m $\mu$  (log  $\epsilon$  = 3,94) und 290 m $\mu$  (log  $\epsilon$  = 3,84). Nach dem IR- und UV-Spektrum enthält das Alkaloid also einen im Benzolteil unsubstituierten Indolkern.

Im Massenspektrum (Abb. 1) fand sich die Molekulargewichtsspitze bei der Massenzahl (MZ) 354, so daß der Verbindung die Bruttoformel  $C_{21}H_{26}N_2O_3$  zukommen mußte. Eine Spitze bei M—59 wies auf das Vorhandensein einer COOCH<sub>3</sub>-Gruppe hin, eine andere bei der MZ 169 machte einen im Benzolkern unsubstituierten Tetrahydro- $\beta$ -carbolinring wahrscheinlich.

Die ermittelten Daten legten die Vermutung nahe, daß das isolierte Alkaloid  $\beta$ -Yohimbin (I) sein könnte. Eine Mischschmelzpunktsprobe sowie der Vergleich der UV- und IR-Spektren und des  $R_f$ -Wertes (s. unten) mit authentischem  $\beta$ -Yohimbin (I)<sup>3</sup> bestätigte diese Annahme.

Zur weiteren Untersuchung der Gesamtbasenfraktion versuchten wir, zunächst durch eine papierchromatographische Trennung einen Überblick über die in der Rinde von *Aspidosperma oblongum* A. DC. enthaltenen Alkaloide zu gewinnen. Nach *Kaiser* und *Popelak*<sup>4</sup> eignet sich zur papierchromatographischen Trennung von Yohimbinalkaloiden am besten mit Formamid imprägniertes Papier. Als Laufmittel für die aufsteigenden Chromatogramme wurde ein Gemisch von mit Formamid gesättigtem n-Heptan—Methyläthylketon im Verhältnis 1:1 in einer NH<sub>3</sub>-Atmosphäre verwendet. Der Nachweis der einzelnen Alkaloide war

<sup>3</sup> Wir danken Herrn Dr. *D. Stauffacher* bestens für die Überlassung einer Probe von authentischem  $\beta$ -Yohimbin.

<sup>4</sup> *F. Kaiser* und *A. Popelak*, Chem. Ber. **92**, 278 (1959).

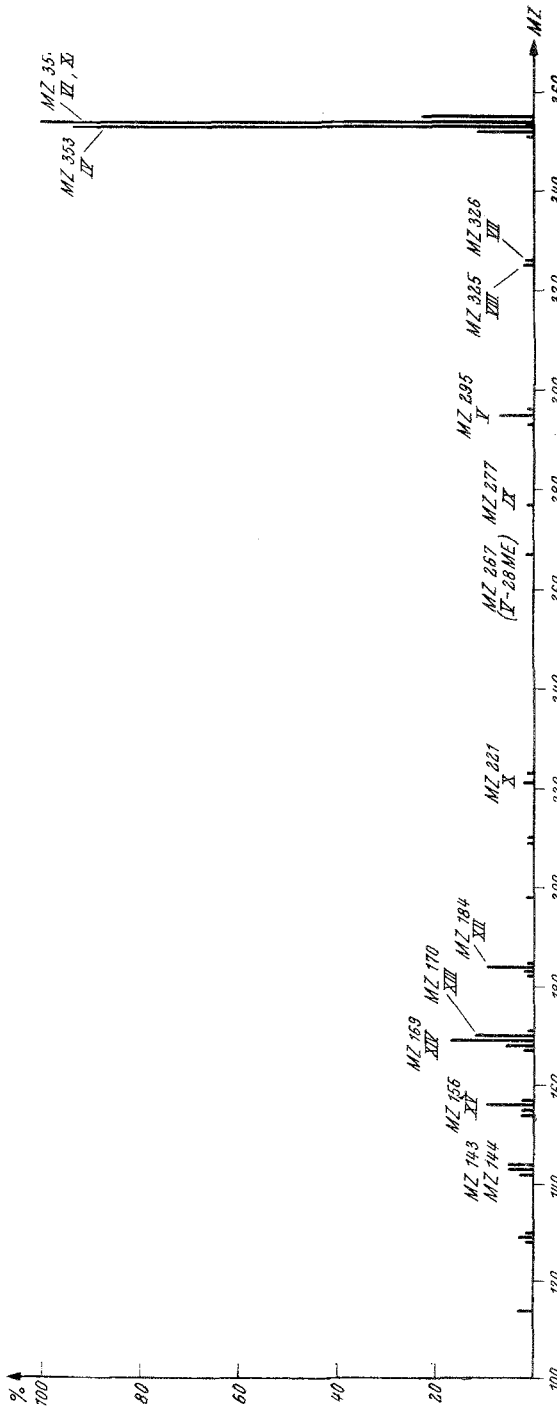


Abb. 1. Massenspektrum des  $\beta$ -Yohimbins

durch ihre Fluoreszenz im UV-Licht möglich<sup>4, 5</sup>. Wir konnten auf diese Weise das Vorhandensein von mindestens 9 Alkaloiden feststellen. Die mit der Front laufenden Alkaloide ließen sich besser durch absteigende Chromatographie trennen.

Eine teilweise präparative Auftrennung des Alkaloidgemisches war durch Chromatographie an  $\text{Al}_2\text{O}_3$  möglich. Dadurch ließ sich zeigen, daß die Hauptmenge der aus der Rinde von *Aspidosperma oblongum* A. DC. gewonnenen Alkaloide (ca. 75%) aus  $\beta$ -Yohimbin besteht. Die ersten Fraktionen des Chromatogramms enthielten keine kristallisierbaren Verbindungen. Eine massenspektrometrische Untersuchung der amorphen Substanzen zeigte, daß sie im wesentlichen aus einem Gemisch von zwei Alkaloiden bestehen, die ein Molekulargewicht von 326 bzw. 328 haben. Sie unterscheiden sich offenbar nur darin, daß das eine Alkaloid eine Äthyliden- oder Vinylseitenkette trägt, während das andere eine Äthylseitenkette besitzt. Beide Verbindungen haben ein Tetrahydro- $\beta$ -carbolinskelett, das im Benzolteil durch eine Methoxylgruppe substituiert ist. Die Untersuchung dieser Verbindungen ist noch nicht abgeschlossen.

Die Mittelfractionen des Chromatogramms enthielten reines  $\beta$ -Yohimbin. Wie sich aus den Massenspektren der höheren Fraktionen ablesen ließ (Abb. 2), bestanden sie nicht nur aus  $\beta$ -Yohimbin, sondern noch aus einem anderen Alkaloid, das ein Molgewicht von 384 besitzt. Aber nicht nur die Spitze des Molekularions war gegenüber der des  $\beta$ -Yohimbins (MG 354) um 30 Masseneinheiten nach höheren Massenzahlen verschoben, auch die Spitzen der wesentlichsten Bruchstücke lagen um 30 Masseneinheiten höher als im Spektrum des  $\beta$ -Yohimbins.

Nun werden im Massenspektrometer hauptsächlich Bindungen im aliphatischen Teil einer Verbindung gesprengt, da hierzu die geringste Energie erforderlich ist. Enthält der aromatische Teil einer Verbindung einen schwer abspaltbaren Substituenten, so zeigt ihr Massenspektrum gegenüber dem einer im aromatischen Teil unsubstituierten Verbindung eine Verschiebung um die entsprechende Zahl Masseneinheiten.

Aus dem Auftreten solcher Verschiebungen läßt sich, wie schon wiederholt gezeigt wurde<sup>6, 7, 8</sup>, mit Sicherheit ableiten, daß die untersuchten Verbindungen das gleiche Kohlenstoffskelett besitzen. Da eine Verschiebung von 30 Masseneinheiten dem Mehrgehalt von  $\text{OCH}_2$  entspricht, ergibt sich, daß das Alkaloid vom MG 384 im Indolteil mit einer Methoxylgruppe substituiert sein muß.

<sup>5</sup> D. Staufacher, *Helv. chim. Acta* **44**, 2006 (1961).

<sup>6</sup> K. Biemann und G. Spitteller, *Tetrahedron Letters* **1961**, 299.

<sup>7</sup> K. Biemann, M. Spitteller-Friedmann und G. Spitteller, *Tetrahedron Letters* **1961**, 485.

<sup>8</sup> B. Gilbert, J. M. Ferreira, R. J. Owellen, C. E. Swanholm, H. Budzikiewicz, L. J. Durham und C. Djerassi, *Tetrahedron Letters* **1962**, 59.

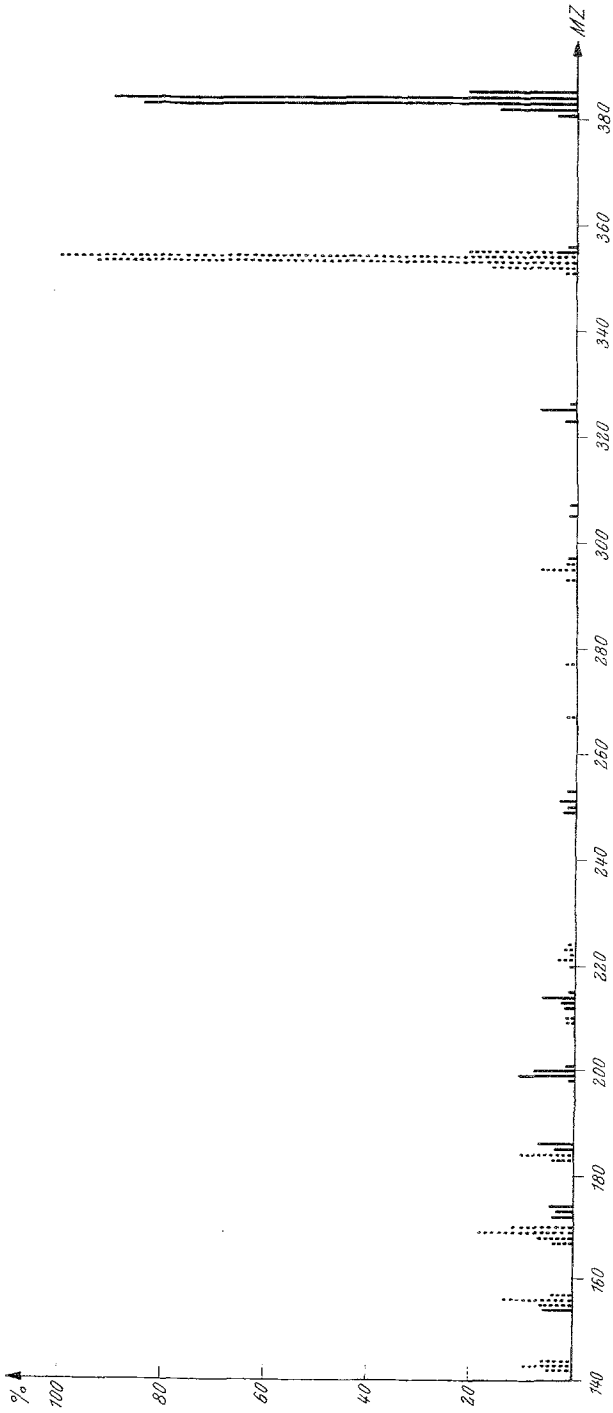


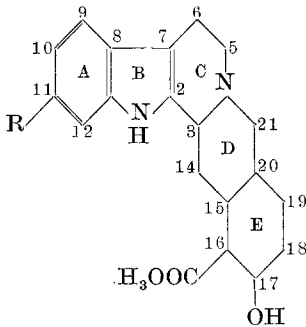
Abb. 2

Eine neuerliche, sorgfältige chromatographische Trennung aller das Alkaloid mit dem Molekulargewicht 384 enthaltenden Fraktionen führte zur Isolierung einer Verbindung vom Schmelzpunkt 148—149°, die im Papierchromatogramm nur einen Fleck zeigte und daher rein sein sollte.

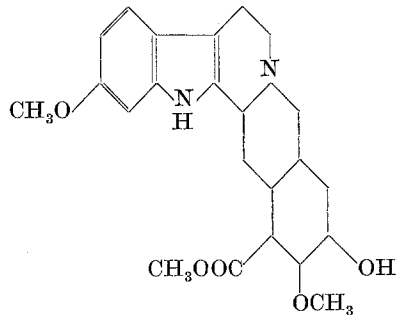
Das UV-Spektrum des Alkaloids zeigte Maxima bei 228 m $\mu$  ( $\log \epsilon = 4,47$ ), 271 m $\mu$  ( $\log \epsilon = 3,67$ ) und 297 m $\mu$  ( $\log \epsilon = 3,72$ ), sowie Minima bei 251 m $\mu$  ( $\log \epsilon = 3,46$ ) und 281 m $\mu$  ( $\log \epsilon = 3,62$ ). Es ist somit praktisch ident mit dem des Reserpsäuremethylesters III<sup>9</sup>. Daher ist anzunehmen, daß die Methoxylgruppe in der Verbindung vom Schmp. 148—149° die gleiche Stellung am Ring einnimmt wie in III. Ihr kommt demnach die Struktur eines in Stellung 11 methoxylierten Yohimbins (II) zu.

Die isolierte Menge reichte *nicht* für die Elementaranalyse und Drehwertbestimmung. UV- und Massen-Spektrum ermöglichten aber *trotzdem* die Sicherstellung der Konstitution.

Über den räumlichen Bau von II können wir aus dem Massenspektrum allein keine Aussagen machen. Da II aber gemeinsam mit  $\beta$ -Yohimbine vorkommt, und andere Yohimbineisomere in der Rinde von *Aspidosperma oblongum* A. DC. nicht aufgefunden wurden, ist anzunehmen, daß II dieselbe Konfiguration besitzt wie I.



I: R = H  
II: R = OCH<sub>3</sub>



III

Bisher wurden noch keine mit einer Methoxylgruppe im Kern substituierten Yohimbine in der Natur aufgefunden. Es ist jedoch möglich, daß das Gambirin<sup>10</sup>, für das die Bruttoformel C<sub>22</sub>H<sub>26</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub> angegeben wurde, mit II, dessen Summenformel C<sub>22</sub>H<sub>28</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub> ist, ident sein könnte. Gambirin hat einen Schmp. von 144—145°, ist eine einsäurige Base und gibt die gleichen Farbreaktionen wie das Yohimbine<sup>10</sup>.

<sup>9</sup> A. Furlenmeier, R. Lucas, H. B. MacPhillamy, J. M. Müller und E. Schlittler, *Experientia* [Basel] **9**, 331 (1953).

<sup>10</sup> T. Pavolini, F. Gambarin und G. Montecchio, *Ann. Chimica* **40**, 654 (1950); *Chem. Zbl.* **1952**, 5096.

## Diskussion der Massenspektren

Wesentlichen Anteil an der raschen Strukturermittlung von II hatte die Massenspektrometrie. Yohimbinverbindungen sind praktisch nicht flüchtig. Sie waren daher bis vor kurzem für eine massenspektrometrische Untersuchung ungeeignet. Im Jahre 1959 beschrieben erstmals *Finan* und *Reed* die Aufnahme von Massenspektren von im herkömmlichen Sinn nicht flüchtigen organischen Stoffen<sup>11</sup>. Sie hatten die Substanz nicht in der üblichen Weise als Dampf der Ionisationskammer zugeführt, sondern die feste Verbindung direkt in die Ionisationskammer gebracht und dort dem Beschuß mit Elektronen ausgesetzt.

Diese Arbeitstechnik erfordert für jede neue Probe ein Belüften der Ionisationskammer und ist daher sehr zeitraubend. Dieser Nachteil kann durch den Einbau einer Vakuumschleuse in das Massenspektrometer behoben werden<sup>12</sup>. Die Substanz wird in diesem Fall in einem Graphittiegelchen, das geregelt aufheizbar ist, über eine Vakuumschleuse in die Ionenquelle gebracht. Da in der Ionenquelle eine Temperatur von ca. 150° herrscht, sind für diese Art der Untersuchung nur solche Verbindungen geeignet, die bei dieser Temperatur noch keinen zu großen Dampfdruck zeigen. Durch vorsichtiges Aufheizen des Tiegelchens wird die Substanz allmählich verdampft. Während zur Aufnahme eines Massenspektrums bei der üblichen Stoffeinbringung über das Gasvorratsgefäß und die Düse die Verbindung einen Dampfdruck von ca. 10<sup>-2</sup> Torr entwickeln muß, genügt bei der direkten Einführung in die Ionenquelle ein solcher von 10<sup>-6</sup> Torr. Ein derartig niedriger Dampfdruck wird von den meisten organischen Verbindungen noch ohne Zersetzung erreicht. Die Intensität der Spitzen ist bei der Verdampfung aus dem Graphittiegelchen sehr stark von oft nur geringen Schwankungen des Heizstromes abhängig, so daß für die Aufnahme derartiger Spektren eine eigene Arbeitstechnik erforderlich ist:

Während des Aufheizens des mit ca. 0,5 mg beschickten Graphittiegelchens wird dauernd mit großer Durchlaufgeschwindigkeit (ca. 1 Min.) der Massenbereich 100—350 durchfahren. So kann erkannt werden, wann die zur Aufnahme eines genügend intensiven Spektrums nötige Verdampfungstemperatur erreicht ist. Um eine zu plötzliche Verdampfung zu vermeiden, darf die Temperatursteigerung nur langsam erfolgen. Zeigt das „Durchlaufspektrum“ die gewünschte Intensität, so wird, um die Einstellung eines konstanten Dampfdruckes zu ermöglichen, noch 5 Min. gewartet und dann das „erste Kontrollspektrum“ aufgenommen. Erst daran schließt sich die Aufnahme des „Zählspektrums“. Dieses wird mit einer für das Zählen und Vermessen des Spektrums geeigneten Geschwindigkeit (für den Massenbereich 20—350 ca. 20 Min.) gefahren. Schließlich wird mit der gleichen Geschwindigkeit, die zur Aufnahme des „ersten Kontrollspektrums“ verwendet wurde, das „zweite Kontrollspektrum“ aufgenommen.

Der Vergleich von „erstem“ und „zweitem Kontrollspektrum“ zeigt, ob während des Durchlaufens des „Zählspektrums“ der Dampfdruck konstant war und ob eventuell eine thermische Zersetzung der Substanz eintrat.

<sup>11</sup> P. A. *Finan* und R. I. *Reed*, *Nature* [London] **184**, 1866 (1959).

<sup>12</sup> C. *Brunnee*, *Z. Instrumentenkde.* **68**, 97 (1960).

Die so erhältlichen Massenspektren sind zwar wegen der geringen, fast unvermeidbaren Intensitätsschwankungen nicht quantitativ auswertbar, jedoch zur qualitativen Analyse organischer Verbindungen durchaus geeignet.

Im Massenspektrum des  $\beta$ -Yohimbins (Abb. 1) ist, so wie in den Spektren anderer Indolalkaloide<sup>13, 14</sup>, die Spitze des Molekularions (MZ 354) sehr ausgeprägt.

Eine starke Spitze bei M—1 zeigt die leichte Abspaltbarkeit von einem Wasserstoffatom an. Es muß angenommen werden, daß dieses Bruchstück durch Verlust des Wasserstoffatoms am C-3 gebildet wird, da auf diese Weise ein durch Resonanz besonders gut stabilisiertes Kation, IV, entstehen kann. In ähnlicher Art wird die in den Massenspektren von Verbindungen mit Sarpaginskelett erkennbare bevorzugte Abspaltung von einem H erklärt<sup>13</sup>.

Die Stabilität des Yohimbinmoleküls zeigt sich am Fehlen größerer Spitzen im Massenbereich 200—353. Lediglich der Verlust der Carbo-methoxygruppe ist durch Bruch einer einzigen Bindung möglich, so daß eine relativ intensive Spitze bei der MZ 295 (im Spektrum von II bei MZ 325), V, auftritt.

Ziemlich unerwartet findet sich eine Spitze bei M—28 und M—29. Wir können die Bildung dieser Bruchstücke nur so deuten, daß  $\beta$ -Yohimbin ebenso wie andere hydroaromatische Verbindungen ein Mol Äthylen abspaltet. Ein Bruch der Bindung zwischen C-17 und C-18 müßte zur Bildung des Ions VI führen, das unter Verlust von  $\text{CH}_2=\text{CH}_2$  das Fragment der MZ 326, VII, ergeben könnte. Durch Eliminierung des H-Atoms am C-15 entsteht dann das Fragment der MZ 325, VIII.

Das Spaltstück bei der MZ 277 (im Spektrum von II bei MZ 307) wird wohl durch Verlust der  $\text{COOCH}_3$ -Gruppe und eines Mols  $\text{H}_2\text{O}$  gebildet, so daß ihm die Struktur IX zukommen dürfte. Die Spitze bei MZ 267 (im Spektrum von II bei MZ 297) läßt sich als Abspaltung eines Mols Äthylen und der  $\text{COOCH}_3$ -Gruppe deuten.

Interessant sind die Fragmente der MZ 221 und 223 (im Spektrum von II bei MZ 251 und 253). Die Intensität der Spitze bei MZ 221 steigt mit der Zeit an, die der Spitze bei MZ 223 sinkt dagegen ab. Das Bruchstück der MZ 221 entsteht also wahrscheinlich teilweise durch thermische Zersetzung. Es ist anzunehmen, daß es durch Verlust eines Teiles des Ringes E gebildet wird, so daß ihm die Strukturformel X entsprechen könnte.

Die Hauptspaltstücke im Massenspektrum des  $\beta$ -Yohimbins liegen bei den Massenzahlen 184, 170, 169 und 156. Am leichtesten wird, ähnlich wie *Biemann*<sup>13</sup> für Verbindungen mit dem Ringskelett des Sarpagins

<sup>13</sup> K. *Biemann*, J. Amer. Chem. Soc. **83**, 4801 (1961).

<sup>14</sup> K. *Biemann* und M. *Friedmann-Spitteller*, J. Amer. Chem. Soc. **83**, 4805 (1961).



zeigen konnte, die Bindung zwischen den C-Atomen 13 und 14 gebrochen. Die positive Ladung am C-3 in diesem Ion, XI, ist durch Mesomerie mit dem Indolring und dem N-4 recht gut stabilisiert. Dieses Fragment kann durch Bruch der Bindung zwischen den C-Atomen 20 und 21 ein Bruchstück der MZ 184, XII (im Spektrum von II bei MZ 214), bilden.

Bei Sprengung der Bindung zwischen C-21 und N-4 entsteht ein Ion der MZ 170, XIII (im Spektrum von II bei MZ 200), das durch Eliminierung eines Wasserstoffatoms und Wanderung eines anderen das charakteristische, stabile Fragment der MZ 169, XIV (im Spektrum von II bei MZ 199), ergibt.

Für die Massenspektren vieler Indolalkaloide sind Bruchstücke bei den MZ 143 und 144 sowie bei MZ 156 charakteristisch. Sie entsprechen einem im Bz-Kern unsubstituierten Indol- oder Indolin-Teil mit insgesamt 2 bzw. 3 C-Atomen in den Stellungen 2 und 3. Es ist sehr wahrscheinlich, daß in diesen Fragmenten Bruchstücke vorliegen, in denen der Indolring zum Chinolinring aufgeweitet wurde<sup>15</sup>, so daß dem Spaltstück der MZ 156 (im Spektrum von II bei MZ 186) die Struktur eines Vinylchinolins, XV, zukäme.

Die Massenspektren wurden mit einem Atlas-CH 4-Massenspektrometer, das mit einer Vakuumschleuse und einer TO 4-Ionenquelle versehen war, aufgenommen. Die Ionisierungsspannung betrug 70 eV. Alle Spitzen, deren Intensität 2% oder mehr der Basisspitze betrug, wurden vermessen und in den Abbildungen graphisch dargestellt.

Wir wollen auch an dieser Stelle der Atlas Meß- und Analysetechnik GmbH, durch deren Entgegenkommen die Ausführung dieser Arbeit ermöglicht wurde, bestens danken. Für die Aufnahme und Interpretation der IR-Spektren danken wir Herrn Doz. Dr. J. Derkosch, für die Ausführung der Analysen Herrn H. Bieler.

### Experimenteller Teil

#### *Extraktion der Rinde von *Aspidosperma oblongum* A. DC.*

250 g fein gemahlene Rinde von *Aspidosperma oblongum* A. DC. wurden in 1 l Methanol am siedenden Wasserbad unter Rückflußkühlung erhitzt. Der Drogenrückstand wurde abgenutscht und nochmals in gleicher Weise ausgezogen. Die vereinigten Filtrate engte man am Rotationsverdampfer zur Trockene ein und nahm dann in Chloroform auf. Zur Abtrennung der Basen wurde die Chloroformlösung mehrmals mit 10proz. HCl extrahiert. Die vereinigten salzsauren wäßrigen Lösungen wurden alkalisiert und anschließend mit  $\text{CHCl}_3$  ausgezogen.

Der Drogenrückstand der Methanolextraktion (2,3 g) wurde noch zweimal mit je 1 l  $\text{CH}_3\text{OH}$ , dem 3% Essigsäure zugesetzt worden waren, in der

<sup>15</sup> J. H. Beynon und A. E. Williams, *Appl. Spectroscopy* **13**, 101 (1959).

Hitze ausgezogen. Die Filtrate arbeitete man in gleicher Weise wie oben auf. So wurden nochmals 0,2 g Rohbasen erhalten. Der Gesamtalkaloidgehalt der untersuchten Probe der Rinde von *aspidosperma oblongum* A. DC. beträgt demnach 1%.

Aus der Lösung der in  $\text{CH}_3\text{OH}$  aufgenommenen Rohalkaloide schieden sich nach dem Anreiben mit auf chromatographischem Weg gewonnenen Kristallen (s. unten) 810 mg einer Verbindung vom Schmp.  $135\text{--}142^\circ$  ab. Nach dem Schmelzen bildeten sich neuerlich Kristalle, die endgültig u. Zers. zwischen  $220$  und  $224^\circ$  schmolzen.

Zur Analyse wurde die Verbindung aus Methanol umkristallisiert und 10 Stdn. bei  $100^\circ$  im Vak. getrocknet. Schmp. (Zers.):  $224\text{--}226^\circ$ .

$\text{C}_{21}\text{H}_{26}\text{N}_2\text{O}_3$  (354,43). Ber. C 71,16, H 7,39, N 7,90,  $\text{OCH}_3$  8,74.  
Gef. C 70,25, H 7,48, N 7,89,  $\text{OCH}_3$  7,84.

Molekulargewicht (massenspektrometrisch): 354.

Beim Trocknen der aus Methanol umkristallisierten Substanz im Vak. bei  $100^\circ$  trat ein Gewichtsverlust von 14,8% auf, entsprechend dem Gehalt von 2 Mol Kristallmethanol. Drehung der getrockneten Verbindung (in Alkohol):  $[\alpha]_D^{20} = -14^\circ \pm 3^\circ$ .

Für die Mischprobe mit authentischem  $\beta$ -Yohimbin<sup>3</sup> erwies es sich als zweckmäßig, die Substanz aus Alkohol umzukristallisieren. Die aus Alkohol umkristallisierte Verbindung enthält kein Lösungsmittel gebunden, die Kristalle sind daher besser ausgebildet und der Schmelzpunkt ist schärfer:  $228\text{--}229^\circ$  (u. Zers.). Keine Depression mit authentischem  $\beta$ -Yohimbin.

Das aus dem Alkaloid mit Alkohol/HCl dargestellte *Hydrochlorid*<sup>16</sup> zeigte nach dem Umkristallisieren einen Zersp. von  $287\text{--}291^\circ$ .

#### *Papierchromatographische Auftrennung des Rohbasengemisches*

Die Papierchromatogramme wurden im wesentlichen nach der Vorschrift von *Kaiser* und *Popelak*<sup>4</sup> ausgeführt. Die  $R_f$ -Werte sind von der Vorbehandlung des Papiers sehr stark abhängig und auch bei sorgfältiger Arbeitsweise nur schwer reproduzierbar. Die Methode ist jedoch gut geeignet zur Feststellung der Zahl der in einem Alkaloidgemisch enthaltenen Alkaloide, zur Reinheitsprüfung und zur Identifizierung unbekannter Alkaloide, wenn authentisches Vergleichsmaterial vorhanden ist, das mitlaufen kann.

Zur Vorbehandlung wurden die Papierstreifen (Schleicher & Schüll 2043 b Mgl) für 150 sec in eine Mischung von 20% Formamid (frisch destilliert) und 80% Aceton getaucht, dann zwischen Filterpapier abgepreßt und in einem auf  $80^\circ$  geheizten Trockenschrank 120 sec belassen. Das so vorbehandelte Papier wurde sofort verwendet. Als Laufmittel diente ein Gemisch von n-Heptan—Methyläthylketon im Verhältnis 1:1, das vorher mit Formamid gesättigt worden war. Die Chromatogramme ließ man in  $\text{NH}_3$ -Atmosphäre laufen. Die einzelnen Alkaloide ließen sich durch ihre Fluoreszenz beim Bestrahlen mit UV-Licht erkennen.

<sup>16</sup> A. Hofmann, Helv. Chim. Acta 38, 536 (1955).

Chromatogramm aufsteigend:

Fleck	$R_f$ -Wert	Fluoreszenz	Bemerkung
1	0,10	grüngelb	
2	0,15	grüngelb, sehr stark	Verbindung II
3	0,26	grüngrau	$\beta$ -Yohimbin
4	0,42	gelb	
5	0,60	orange	
6	0,72	orange	
7	0,81	gelb	
8	0,89	gelb	
9	0,99	gelb	

Chromatogramm absteigend:

Fleck	$R_f$ -Wert	Fluoreszenz	Bemerkung
1	0,02	grüngelb	
2	0,05	grüngelb, sehr stark	Verbindung II
3	0,10	grüngrau	$\beta$ -Yohimbin
4	0,16	orange	
5	0,26	orange	
6	0,40	grünblau	
7	0,55	gelb	
8	0,62	grau, sehr schwach	
9	0,74	grau, sehr schwach	
10	0,87	grau, sehr schwach	

*Trennung der Gesamibasenfraktion durch Chromatographie an  $Al_2O_3$* 

Das nach Abtrennung der Hauptmenge des  $\beta$ -Yohimbins aus zwei Ansätzen erhaltene Rohbasengemisch, 3,4 g, wurde in  $CHCl_3$  aufgenommen und mit 20 g  $Al_2O_3$  (Merck, neutral) zur Trockene gebracht. Die an  $Al_2O_3$  adsorbierten Alkaloide wurden nun an einer Säule aus 250 g  $Al_2O_3$  (Merck, neutral) chromatographiert. Die mit Hilfe eines Fraktionssammlers aufgefängenen Fraktionen zu je 20 ml prüfte man papierchromatographisch auf ihre Einheitlichkeit.

Beginnend mit reinem Benzol wurde unter steigendem Zusatz von  $CHCl_3$  eluiert.

Fraktion	Lösungsmittel
1—20	Benzol
21—130	Benzol + 10% $CHCl_3$
131—200	Benzol + 20% $CHCl_3$
201—300	Benzol + 30% $CHCl_3$
301—450	Benzol + 40% $CHCl_3$
451—600	Benzol + 50% $CHCl_3$
601—680	Benzol + 80% $CHCl_3$
681—720	$CHCl_3$
721—760	Essigester
761—800	$CH_3OH$

Die Fraktionen 1—180 enthielten keine Alkaloide. Die Fraktionen 181—240 (25 mg) bestanden aus einem sich an der Luft rasch dunkel färbenden Öl, das im aufsteigenden Papierchromatogramm die Farbflecken 6—9 zeigte. Es wurde nicht näher untersucht.

Die Fraktionen 241—290 (185 mg) stellten ein Gemisch der Alkaloide, die im Papierchromatogramm die Farbflecke 4—9 zeigten, dar. Sie enthielten, wie sich massenspektrometrisch zeigen ließ, hauptsächlich zwei Verbindungen der Molekulargewichte 326 und 328.

Die Fraktionen 301—360 (280 mg) stellten ein Gemisch der Verbindungen vom Molekulargewicht 326 und 328 sowie von  $\beta$ -Yohimbin dar.

Die Fraktionen 361—570 (1,4 g) bestanden aus fast reinem  $\beta$ -Yohimbin.

In den Fraktionen 571—690 (235 mg) war neben  $\beta$ -Yohimbin die Verbindung II enthalten. Auf den Papierchromatogrammen dieser Fraktionen zeigte sich der auffallend stark gelbgrün fluoreszierende Fleck 2. Daneben fand sich auch das Alkaloid, das den Fleck 1 gibt.

Die Fraktionen 691—770 bestanden aus 24 mg eines nicht weiter untersuchten Öles. Durch Nachwaschen mit Methanol wurden schließlich noch 840 mg einer dunkel gefärbten harzigen Verbindung eluiert.

#### *Isolierung von II*

Die Fraktionen 591—650 (182 mg) wurden nochmals an einer Säule aus 70 g  $\text{Al}_2\text{O}_3$  (Merck, neutral) mit einem Gemisch Benzol/ $\text{CHCl}_3$  im Verhältnis 6:4 chromatographiert.

Aus den Fraktionen 89—94 (61 mg) ließ sich fast reines  $\beta$ -Yohimbin gewinnen. Die Fraktionen 95—106 (73 mg) bestanden aus einem Gemisch von  $\beta$ -Yohimbin und II. In den Fraktionen 107—136 (21 mg) war die Verbindung II stark angereichert. Durch zweimaliges Umkristallisieren aus Aceton wurde ein in weißen Nadeln kristallisierendes Alkaloid (II) vom Schmp. 148—149° erhalten. Die Reinheit der Verbindung ergab sich aus dem Papierchromatogramm, auf dem nur der charakteristisch gelbgrün fluoreszierende Farbfleck zu sehen war.