

Anwendung der Massenspektrometrie zur Strukturaufklärung von Alkaloiden, 3. Mitt.:¹

Die Nebenalkaloide aus der Rinde von *Aspidosperma oblongum* A. DC.

(Kurze Mitteilung)

Von

G. Spitteller und M. Spitteller-Friedmann

Aus dem organisch-chemischen Institut der Universität Wien

(Eingegangen am 1. Juli 1963)

In Weiterführung unserer Untersuchungen über die Inhaltsstoffe der Rinde von *Aspidosperma oblongum* A. DC.^{2, 3} fanden wir nun mit Hilfe der Massenspektrometrie neben dem bereits früher isolierten β -Yohimbin und seinem vermutlichen 11-Methoxyderivat² noch 17 weitere Alkaloide, die alle das Ringsystem des β -Carbolins besitzen.

Für unsere Untersuchung standen uns nur 250 g Droge zur Verfügung. Aus dem in üblicher Weise erhaltenen Rohbasengemisch wurde zunächst der größte Teil des β -Yohimbins durch Anreiben mit Methanol abgetrennt. Die in der Mutterlauge befindlichen Basen wurden anschließend an einer Säule von Al_2O_3 chromatographiert (siehe Tab. 1). Die aus der Säule austretenden Fraktionen wurden zur Trockene gebracht und die öligen oder amorphen Rückstände stichprobenartig ohne weitere Reinigung massenspektrometrisch untersucht. Aus den so erhältlichen Spektren konnten wir die Molekulargewichte und die Schlüssel-Bruchstücke der in den einzelnen Fraktionen enthaltenen Alkaloide erkennen und dadurch einen Überblick über das Fortschreiten des Chromatogramms bekommen. Außerdem wurde es uns so möglich, alle Fraktionen, die gleiche Verbindungen enthielten, zu vereinen. Eine Reinigung der Alkaloide, die oft nur in Mengen unter 5 mg anfielen,

¹ 2. Mitt.: G. Spitteller, A. Chatterjee, A. Bhattacharya und A. Deb, *Mh. Chem.* **93**, 1220 (1962).

² G. Spitteller und M. Spitteller-Friedmann, *Mh. Chem.* **93**, 795 (1962).

³ Für die Überlassung des Rindenmaterials sind wir Herrn Dr. de Hulster, Panamaribo, Surinam Forest Service, zu großem Dank verpflichtet.

Tabelle 1

Lösungsmittelgemisch	Molekulargewicht	MZ der Schlüssel-Bruchstücke	Skelett-Typ
C ₆ H ₆ :CHCl ₃ = 80:20	352	156, 169, 170, 184, 223, 251, M—59, M—15	I
C ₆ H ₆ :CHCl ₃ = 70:30	382	186, 199, 200, 214, 253, 281, M—59, M—15	I
C ₆ H ₆ :CHCl ₃ = 60:40	412	216, 229, 230, 244, 283, 311, M—59, M—15	I
	382	186, 199, 200, 214, 253, 281, M—59, M—15	I
C ₆ H ₆ :CHCl ₃ = 55:45	412	216, 229, 230, 244, 283, 311, M—59, M—15	I
C ₆ H ₆ :CHCl ₃ = 40:60	352	156, 169, 170, 184, M—31	V
	382	186, 199, 200, 214, M—31	V
	354	156, 169, 170, 184, M—31	V
	384	186, 199, 200, 214, M—31	V
	354	156, 169, 170, 184, 251	IV
	384	186, 199, 200, 214, 281	IV
	356	156, 169, 170, 184, 253	IV
	386	186, 199, 200, 214, 283	IV
	296	156, 169, 170, 184, M—45	VI
	298	156, 169, 170, 184, 225, M—47, M—45, M—29	VI
	326	186, 199, 200, 214, M—45	VI
	328	186, 199, 200, 214, 255, M—47, M—45, M—29	VI
	354	156, 169, 170, 184, M—59	β-Yohimbin
	384	186, 199, 200, 214, M—59	11-Methoxy-β-Yohimbin

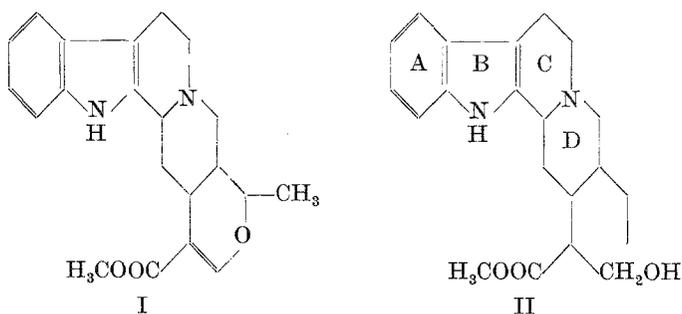
wurde dann durch neuerliches Chromatographieren an kleinen Säulen von Al₂O₃ bewirkt.

Die auf diese Weise aufgefundenen Alkaloide gehören vier verschiedenen Skelett-Typen an.

Die erste Alkaloidgruppe umfaßt 5 Verbindungen, die das Ringskelett I besitzen. Vertreter dieses Alkaloidtypus wurden schon früher von *Djerassi* und Mitarbeitern massenspektrometrisch untersucht⁴, so daß uns an Hand der Molekulargewichte und der charakteristischen Schlüssel-Bruchstücke eine rasche Zuordnung möglich wurde. Über den sterischen Bau der Verbindungen können wir allerdings, obwohl in den Spektren Unterschiede vorhanden sind, noch nichts aussagen.

⁴ *L. D. Antonaccio, N. A. Pereira, B. Gilbert, H. Vorbrueggen, H. Budzikiewicz, J. M. Wilson, L. J. Durham* und *C. Djerassi*, *J. Amer. Chem. Soc.* **84**, 2161 (1962).

Das zuerst aus der Säule austretende Alkaloid hatte das Molgewicht 352 und stellt damit den im aromatischen Teil unsubstituierten Grundkörper I dar. Es ist ebenso wie das folgende Alkaloid, das sich durch sein Molgewicht 382 als das kern-substituierte Methoxylderivat der ersteren Verbindung erwies, nur in Spuren vorhanden. In etwas größerer Menge fanden wir dann ein kern-substituiertes Dimethoxyderivat vom Molgewicht 412, dem mit hoher Wahrscheinlichkeit die Struktur des Isoreserpilins zukommt. Das nächste, wiederum nur in Spuren nachweisbare Alkaloid zeigte ein Molgewicht von 382 und stellt damit ein anderes, wahrscheinlich nur stereoisomeres kern-substituiertes Monomethoxyderivat des Grundkörpers I dar. Als letztes Alkaloid dieser Gruppe erhielten wir nochmals eine Verbindung mit dem Molgewicht 412. Es dürfte sich hierbei um Reserpilin handeln. Alkaloide dieses Grundtypus wurden kürzlich auch aus anderen *Aspidosperma*-Drogen isoliert^{5, 6}.



Der zweiten Alkaloidgruppe gehören acht Verbindungen an, die sich von dem in *Aspidosperma*-Drogen bisher noch nicht aufgefundenen Grundskelett eines Tetrahydro-geissoschizins (II) ableiten. Sie unterscheiden sich voneinander nur durch den verschiedenen Hydrierungsgrad bzw. durch das zusätzliche Vorhandensein einer Methoxygruppe im aromatischen Ring A. Ihre Trennung und Reindarstellung stieß daher und auch wegen der geringen Menge des uns zur Verfügung stehenden Materials auf große Schwierigkeiten, so daß wir die meisten Versuche zur Konstitutionsermittlung an Gemischen ausführen mußten. Die Rohreaktionsprodukte wurden wieder massenspektrometrisch untersucht. Aus der Verschiebung der Molekulargewichts- und Schlüssel-Bruchstück-Spitzen gegenüber dem Ausgangsmaterial konnte unschwer erkannt werden, in welcher Richtung eine Reaktion verlaufen war, so daß sich eine chemische Aufarbeitung der oft nur 2 mg betragenden Ansätze erübrigte.

⁵ B. Gilbert, L. D. Antonaccio und C. Djerassi, *J. Org. Chem.* **27**, 4702 (1962).

⁶ N. Dastoor und H. Schmid, *Experientia* [Basel] **19**, 297 (1963).

Das Hauptalkaloid dieser Gruppe zeigte ein Molekulargewicht von 354 und die für einen unsubstituierten β -Carbolinring charakteristischen Bruchstücke der Massenzahl (MZ) 156, 169, 170 und 184. Eine Spitze bei M—31 machte das Vorhandensein einer CH_2OH -Gruppe wahrscheinlich. Eine weitere, sehr charakteristische Spitze bei der MZ 251 (d. i.

M—103) wies auf das Vorliegen einer $\text{HC} \begin{cases} \text{COOCH}_3 \\ \text{CH}_2\text{OH} \end{cases}$ -Gruppe hin. Das

Hauptalkaloid vom Molekulargewicht 354 war von einem anderen, dessen Molekulargewichtsspitze und Schlüssel-Bruchstücke um 30 Masseneinheiten zu höheren Massenzahlen verschoben lagen, begleitet. Ein drittes und viertes Alkaloid, die allerdings nur in geringer Menge vorhanden waren, zeigten die Molekulargewichte 356 und 386. Es lag daher die Vermutung nahe, daß in den Alkaloiden vom Molgewicht 354 bzw. 384 eine Doppelbindung vorhanden ist.

Eine katalytische Hydrierung des Gemisches mit Pd/C führte zur Bildung von zwei Verbindungen, die das Molekulargewicht 356 bzw. 386 zeigten. Damit war die Anwesenheit einer Doppelbindung in den Alkaloiden vom Molgewicht 354 bzw. 384 nachgewiesen. Auch das Hydrierungsprodukt zeigte eine Schlüssel-Bruchstück-Spitze bei M—103. Da-

durch erhielt die Annahme vom Vorhandensein einer $\text{HC} \begin{cases} \text{COOCH}_3 \\ \text{CH}_2\text{OH} \end{cases}$ -

Gruppe eine weitere Stütze. Zum Nachweis der COOCH_3 -Gruppe wurde das Gemisch mit LiAlH_4 reduziert. Wie erwartet, zeigte das Reaktionsprodukt ein um 28 Masseneinheiten niedrigeres Molekulargewicht von 326 bzw. 356. Die Schlüssel-Bruchstück-Spitzen bei den MZ 251 und 281 behielten auch im LiAlH_4 -Reduktionsprodukt ihre Lage bei und zeigten

so mit hoher Wahrscheinlichkeit die Anwesenheit einer $\text{CH} \begin{cases} \text{CH}_2\text{OH} \\ \text{CH}_2\text{OH} \end{cases}$ -

Gruppe an.

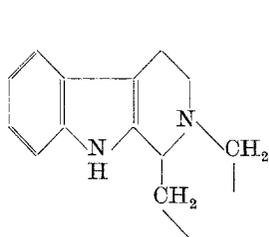
Da durch das Auftreten der Schlüssel-Bruchstücke der MZ 156 und 184 die Teilformel III feststand, ergab sich unter Einbau der fehlenden Atome in III für das Alkaloid vom Molgewicht 354 als wahrscheinliche Strukturformel IV. Die Lage der Doppelbindung in der Seitenkette ließ sich allerdings aus dem Massenspektrum nicht ermitteln.

Dementsprechend konnte der Nebenbase vom Molgewicht 356 die Struktur eines Dihydroderivates von IV und jenem vom Molgewicht 384 die eines kernsubstituierten Methoxyderivates von IV zugeteilt werden. Für ein viertes Alkaloid vom Molgewicht 386 ergab sich in analoger Weise die Struktur eines Dihydroderivates der Verbindung vom Molgewicht 384.

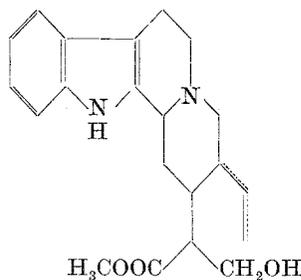
Noch vor dem Alkaloid vom Molgewicht 354 trat ein Alkaloid vom Molgewicht 352 aus der Säule. Wir vermuteten, daß in ihm, so wie im

Geissoschizin, die Gruppierung $\begin{matrix} \text{COOCH}_3 \\ \diagup \text{C} \\ \diagdown \text{CHOH} \end{matrix}$ vorhanden ist. Um dies

nachzuweisen, wurde die Verbindung mit LiAlH_4 reduziert. Sie ergab eine Substanz vom Molgewicht 326, die sich nach ihrem Massenspektrum, abgesehen von möglichen sterischen Unterschieden, als mit dem LiAlH_4 -Reduktionsprodukt der Base vom Molekulargewicht 354 ident erwies. Es war also neben der COOCH_3 -Gruppe gleichzeitig eine enolische $\text{C}=\text{C}$



III



IV

CHOH -Gruppe reduziert worden, so daß mit dieser Reaktion eindeutig

die Gruppierung $\begin{matrix} \text{COOCH}_3 \\ \diagup \text{C} \\ \diagdown \text{CHOH} \end{matrix}$ nachgewiesen war. Gleichzeitig bestätigte

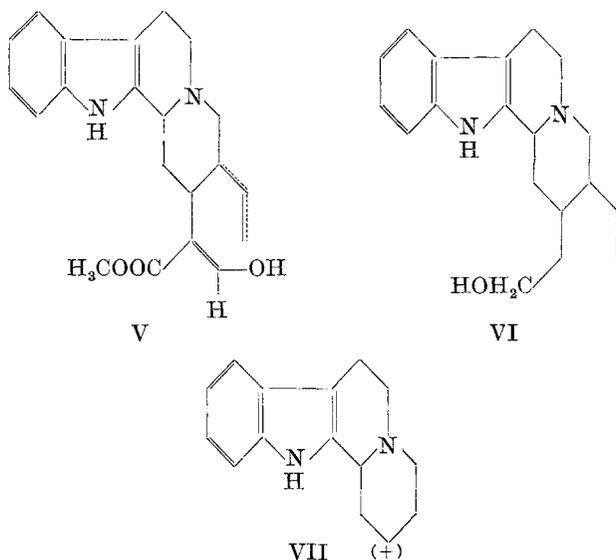
sich dadurch die Annahme, daß das Alkaloid vom Molgewicht 354 eine

$\begin{matrix} \text{COOCH}_3 \\ \diagup \text{C} \\ \diagdown \text{CH}_2\text{OH} \end{matrix}$ -Gruppe enthält.

Auch das Alkaloid vom Molgewicht 352, dem somit das Skelett eines Geissoschizins mit unbekannter Lage der Doppelbindung in der Seitenkette V zukommt, wird von seinem Dihydroderivat (Molgewicht 354) begleitet. Ebenso treten die kernsubstituierten Methoxylderivate dieser Verbindung auf. Sie zeigen die Molgewichte 382 bzw. 384.

Die Stellung der Methoxygruppe konnten wir bisher nicht bestimmen, da wir die Methoxyverbindungen nicht in so reiner Form, daß sie zur Aufnahme eines UV-Spektrums geeignet war, isolieren konnten. Es ist aber anzunehmen, daß die Methoxygruppe so wie in den anderen methoxylierten Verbindungen der Droge in Stellung 11 sitzt.

Die Alkaloide der dritten Gruppe enthalten das Ringskelett des Dihydro-corinantheols VI. Sie zeigten die Molgewichte 296, 298, 326 bzw. 328. Durch katalytische Hydrierung konnten die Alkaloide der Molgewichte 296 und 326 unter Aufnahme von einem Mol H_2 in die Verbindungen der Molgewichte 298 bzw. 328 übergeführt werden, so daß damit die in



unserer ersten Arbeit² ausgesprochene Vermutung, daß sich die beiden Alkaloide der Molekulargewichte 326 und 328 nur durch die Anwesenheit einer Doppelbildung voneinander unterscheiden, ihre Bestätigung fand. Aus der Verschiebung der Schlüssel-Bruchstücke um 30 Masseneinheiten in dem Alkaloid des Molekulargewichts 328 gegenüber jenem vom Molekulargewicht 298 konnte gefolgert werden, daß sie ein kernsubstituiertes Methoxyderivat der Verbindung vom Molekulargewicht 298 darstellt. Alle vier Alkaloide zeigten die für β -Carboline charakteristischen Spaltstücke, ebenso eine Spitze bei M—45, aus deren Auftreten wir auf das Vorhandensein einer $\text{CH}_2\text{—CH}_2\text{—OH}$ -Gruppe schlossen. Eine Spitze bei M—29 bzw. M—47 in den Spektren der Dihydroverbindungen ließ sich nur als Verlust einer C_2H_5 -Gruppe bzw. von C_2H_5 und H_2O erklären, so daß sich, da außerdem ein Schlüssel-Bruchstück bei MZ 225 bzw. 255 auftrat, für das wir die Struktur VII annehmen, als wahrscheinlichste Strukturformel für das Alkaloid vom Molekulargewicht 298 die des Dihydro-corinantheols VI ergab. Die Aufnahme eines Vergleichsspektrums mit authentischem Material⁷ bestätigte die Vermutung. Der Verbindung vom Molekulargewicht 296 kommt demnach die Struktur der entsprechenden, in der Seitenkette ungesättigten Dehydroverbindung zu, und bei den Alkaloiden vom Molekulargewicht 326 und 328 handelt es sich um die entsprechenden kernsubstituierten Methoxyverbindungen.

Wir nehmen an, daß die beiden letzteren Verbindungen mit den Alkaloiden AD IV und AD VI, die kürzlich von *Dastoor* und *Schmid* aus

⁷ Für eine Vergleichsprobe danken wir Herrn Prof. *Djerassi*, Stanford, bestens.

der Rinde von *Aspidosperma discolor* A. DC. isoliert wurden, ident sind⁶. Für sie wurde das Skelett eines 11-Methoxy-dihydrocorynantheols bzw. seines 19,20-Dehydroderivates abgeleitet. Auch Dihydro-corynantheol wurde bereits in *Aspidosperma*-Drogen aufgefunden⁵.

Über die Alkaloide der vierten Gruppe, die als β -Yohimbin und sein 11-Methoxyderivat identifiziert wurden, berichteten wir bereits in unserer vorhergehenden Arbeit².

Alle untersuchten Verbindungen sind relativ schwer flüchtig. Um eine thermische und katalytische Zersetzung nach Möglichkeit auszuschließen, wurden die Proben direkt in die Ionenquelle des Massenspektrometers gebracht⁸. Die Verdampfungstemperatur betrug zwischen 100° und 150°. Zur Untersuchung diente ein Atlas CH 4-Gerät, das vom Österreichischen Forschungsrat dem mineralogischen, organisch-chemischen und physikalisch-chemischen Institut der Universität Wien zur Verfügung gestellt wurde.

⁸ G. Spittler und M. Spittler-Friedmann, *Mh. Chem.* **94**, 742 (1963).