

Anwendungen der Massenspektrometrie zur Strukturaufklärung von Alkaloiden, 7. Mitt.¹:

Neue Alkaloide aus *Gonioma Kamassi* E. Mey

Von

R. Kaschnitz und G. Spiteller*

Aus dem Organisch-Chemischen Institut der Universität Wien

Mit 4 Abbildungen

(Eingegangen am 4. März 1965)

Die Strukturen der in der Rinde von *Gonioma Kamassi* enthaltenen drei Nebenalkaloide Fluorocarpamin (III), Indolo[2,3-*a*]pyridocolin (V) und Dihydro-indolopyridocolin (VI) wurden auf Grund vorwiegend massenspektrometrischer Argumente abgeleitet.

With the aid of mass spectrometry it was possible to determine the structures of the three minor alkaloids Fluorocarpamin (III), Indolo[2,3-*a*]pyridocoline (V) and Dihydro-indolopyridocoline (VI), isolated from the bark of *Gonioma Kamassi*.

Die Rinde von *Gonioma Kamassi* E. Mey (Apocynaceae)** enthält eine große Anzahl von Alkaloiden, die verschiedenartigen Gruppen von Indolalkaloiden angehören. Bisher konnten in der Rinde die folgenden, in ihrer Struktur bereits bekannten Alkaloide nachgewiesen werden^{2,3}: Quebrachamin⁴, 1,2-Dehydroaspidospermidin^{4,5}, Aspidospermidin⁵, Aspido-

* Neue Adresse: 34 Göttingen, Organisch-Chem. Institut der Universität.

** Für das Drogenmaterial danken wir Dr. R. A. Dyer, Department of Agricultural Technical Services, Pretoria (Südafrika), und Dr. C. K. Marst, Forest Research Institute, Pretoria.

¹ 6. Mitt.: N. Neuner-Jehle und G. Spiteller, Mh. Chem. **96**, (1965), im Druck.

² E. Gellert und B. Witkop, Helv. Chim. Acta **35**, 114 (1952).

³ G. Spiteller, Z. analyt. Chem. **197**, 1 (1963).

⁴ K. Biemann und G. Spiteller, J. Amer. Chem. Soc. **84**, 4578 (1962).

⁵ K. Biemann, M. Spiteller-Friedmann und G. Spiteller, J. Amer. Chem. Soc. **85**, 631 (1963).

fraktinin^{3, 6}, Pleiocarpamin (I)⁷, Eburnamin⁸ und Akuammidin⁹. Die Droge enthält überdies in relativ großer Menge Rhazidin¹⁰, dessen basischer Bestandteil, Rhazidigenin, in seiner Struktur kürzlich abgeleitet werden konnte¹¹.

Bei der Identifizierung dieser, teilweise nur in geringer Menge vorhandenen Alkaloide spielte die Massenspektrometrie eine entscheidende Rolle: das Rohbasengemisch wurde an Al_2O_3 chromatographiert und die aus der Säule austretenden Fraktionen massenspektrometrisch untersucht. Da die meisten Indolalkaloide im Massenspektrometer zu charakteristischen Schlüsselbruchstücken abgebaut werden, ließ sich selbst aus Spektren nicht ganz gereinigter Substanzproben erkennen, welchem Strukturtyp die in den einzelnen Fraktionen enthaltenen Alkaloide zuzuordnen sind¹². Gleichzeitig ermöglichte dieses Verfahren die Aufklärung der Strukturen einiger bisher noch unbekannter Alkaloide.

Aus der „Fraktion A“ des wäßrigen Rindenextraktes (s. exper. Teil) wurden bei der Chromatographie an Al_2O_3 nach dem Pleiocarpamin (I) einige Fraktionen eluiert, die ein Alkaloid vom Molgewicht 338 enthielten. Wie das Massenspektrum (Abb. 1) zeigt, zerbricht das Alkaloid zu Schlüsselbruchstücken der Massenzahlen (*MZ*) 279, 265 und 121. Das Fragment der *MZ* 279, das durch Verlust einer Partikel von 59 Masseneinheiten (*ME*) aus dem Molekülion entstand, machte das Vorhandensein einer COOCH_3 -Gruppe möglich, während das Bruchstück der *MZ* 265 durch Abspaltung eines Teilchens der Summenformel $\text{C}_3\text{H}_5\text{O}_2$ gebildet werden konnte. Das Auftreten einer hohen Spitze bei der *MZ* 121 ist für Alkaloide,

⁶ C. Djerassi, H. Budzikiewicz, R. J. Owellen, J. M. Wilson, W. G. Kump, D. J. Le Count, A. R. Battersby und H. Schmid, *Helv. Chim. Acta* **46**, 742 (1963).

⁷ M. Hesse, W. v. Philipsborn, D. Schumann, G. Spiteller, M. Spiteller-Friedmann, W. I. Taylor, H. Schmid und P. Karrer, *Helv. Chim. Acta* **47**, 878 (1964).

⁸ Struktur: M. F. Bartlett und W. I. Taylor, *J. Amer. Soc.* **82**, 5941 (1960); Massenspektrum: M. Plat, D. Dohkac Manh, J. Le Men, M.-M. Janot, H. Budzikiewicz, J. M. Wilson, L. J. Durham und C. Djerassi, *Bull. Soc. Chim. France* **1962**, 1082; H. K. Schnoes, A. L. Burlingame und K. Biemann, *Tetrahedron Lett.* [London] **1962**, 993; G. Spiteller und M. Spiteller-Friedmann, *Mh. Chem.* **94**, 742 (1963).

⁹ Struktur: J. Levy, J. Le Men und M.-M. Janot, *C. r. hebdomad. Sé. Acad. Sci.* **253**, 131 (1961). Massenspektrum: 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).

¹⁰ A. Chatterjee, C. R. Ghosal, N. Adityachaudhury und S. Ghosal, *Chem. and Ind.* **1961**, 1034.

¹¹ M. Spiteller-Friedmann, R. Kaschnitz, G. Spiteller, A. Chatterjee, N. Adityachaudhury und G. Ganguli, *Mh. Chem.* **95**, 1228 (1964).

¹² G. Spiteller und M. Spiteller-Friedmann, *Mh. Chem.* **94**, 779 (1963).

die ein ähnliches Skelett wie das Norfluorocurin (II) besitzen, charakteristisch⁷.

Ein Vergleich des Massenspektrums der aus *Gonioma Kamassi* isolierten Verbindung mit dem des Norfluorocurins ergab eine weitgehende Übereinstimmung, da auch das Norfluorocurin Schlüsselbruchstücke der *MZ* 279, 265 und 121 zeigt. Es war daher wahrscheinlich, daß das aus *Gonioma Kamassi* isolierte Alkaloid das gleiche Ringgerüst besitzt und

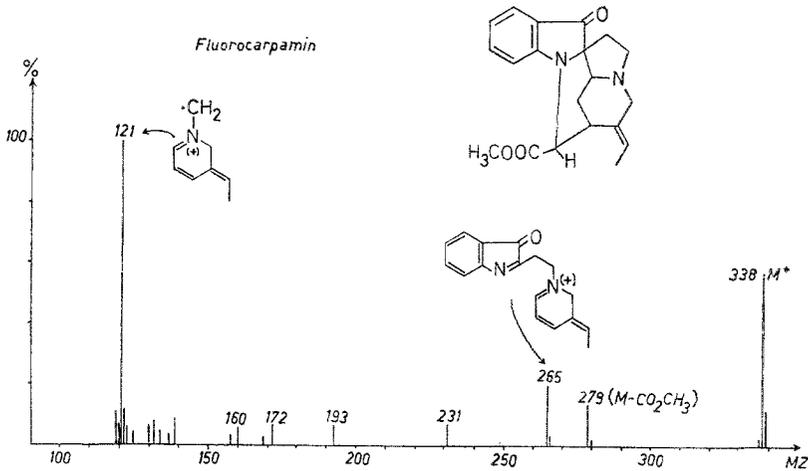
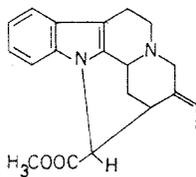


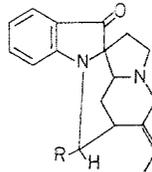
Abb. 1

nur an Stelle der CH_2OH -Gruppe eine Carbomethoxygruppe enthält, so daß es um 28 *ME* schwerer als Norfluorocurin ist und ihm somit die Struktur III zugeschrieben werden kann.

Eine Bestätigung für die aus dem Massenspektrum abgeleitete Struktur III des neuen Alkaloids lieferte sein UV-Spektrum, das mit Maxima bei 235, 257 und 398 $m\mu$ ein für den Chromophor von Pseudoindoxyl-derivaten¹³ charakteristisches Aussehen zeigte.



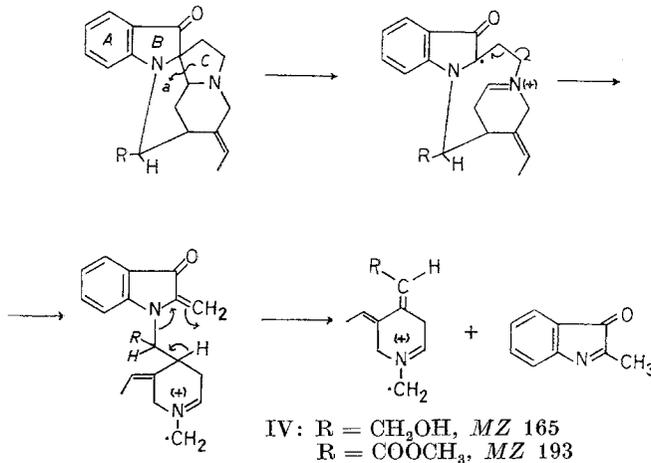
I: Pleiocarpamin

II: R = CH_2OH , Norfluorocurin
III: R = $COOCH_3$, Fluorocarpamin

¹³ M. Goutarel, M.-M. Janot, F. Mathys und V. Prelog, *Helv. Chim. Acta* **39**, 743 (1956).

Die Strukturformeln der im Massenspektrometer entstehenden Hauptfragmente, die schon früher bei der Besprechung des Massenspektrums von Norfluorocurin⁷ vorgeschlagen wurden, sind in Abb. 1 eingezeichnet.

Das Spektrum des neuen Alkaloids ermöglichte aber auch die Strukturzuordnung für ein Bruchstück geringerer Häufigkeit: dem Ion der *MZ* 193 im Spektrum von III entspricht ein Ion der *MZ* 165 in dem des Norfluorocurins (II). In diesem Ion muß demnach noch die funktionelle Gruppe enthalten sein. Nach Spaltung der Bindung *a* könnte über ein Zwischenprodukt IV im Zuge einer *McLafferty*-Umlagerung das Ion der *MZ* 193 bzw. 165 entstehen:



Das Fragment der *MZ* 172 ist in beiden Spektren vorhanden, so daß es die funktionelle Gruppe nicht mehr enthalten kann. Es ist anzunehmen, daß dieses Bruchstück die Ringe A, B und C enthält; allerdings kann mit dem bisher zur Verfügung stehenden Spektrenmaterial der Weg, auf dem dieses Ion entsteht, nicht erkannt werden.

Die Struktur der Verbindung III macht es wahrscheinlich, daß zwischen ihr und Pleiocarpamin (I) der gleiche biogenetische Zusammenhang wie in den analogen Paaren Mavacurin—Fluorocurin^{14, 15} und Ibogain—Ibolutein¹⁶ besteht. Aus diesem Grunde soll das neue Alkaloid *Fluorocarpamin* genannt werden.

¹⁴ H. Bickel, E. Giesbrecht, J. Kebrle, H. Schmid und P. Karrer, Helv. Chim. Acta **37**, 553 (1954).

¹⁵ H. Fritz, Th. Wieland und E. Besch, Ann. Chem. **611**, 268 (1958).

¹⁶ D. F. Dickel, C. L. Holden, R. C. Maxfield, L. E. Pascek und W. I. Taylor, J. Amer. Chem. Soc. **80**, 123 (1958).

Es wurde postuliert^{14, 15, 16}, daß die Pseudoindoxylalkaloide (Fluorocurin bzw. Ibolutein) in der Pflanze aus den Indolderivaten (Mavacurin bzw. Ibogain) durch Oxydation und anschließende Umlagerung entstehen. Eine derartige Umwandlung könnte auch die Bildung von Fluorocarpamin aus Pleiocarpamin, das bereits früher in *Gonioma Kamassi* gefunden wurde³, bewirken.

Im Falle des Fluorocurins war es möglich, das primäre Oxydationsprodukt, Profluorocurin¹⁵, neben der Ausgangsverbindung Mavacurin und dem Umlagerungsprodukt Fluorocurin aus der gleichen Pflanze zu gewinnen¹⁷. In der Rinde von *Gonioma Kamassi* konnte bisher kein dem Profluorocurin analoges Intermediärprodukt der Fluorocarpaminbildung nachgewiesen werden.

Hingegen kann das β -Hydroxyindoleninderivat Rhazidigenin¹¹ als biogenetisches Oxydationsprodukt von Quebrachamin betrachtet werden, analog dem aus Tabernanthe-Arten isolierten β -Hydroxyindoleninalkaloid, welches das Zwischenprodukt bei der Bildung von Ibolutein aus Ibogain darstellt¹⁶.

Weil die erwähnten Indolalkaloide Mavacurin und Ibogain beim Stehen ihrer Lösungen an der Luft durch Autoxydation die entsprechenden Oxydations- und Umlagerungsprodukte bilden^{13, 16, 18}, war es von vornherein nicht auszuschließen, daß auch Fluorocarpamin aus dem in der Droge vorhandenen Pleiocarpamin im Laufe der Aufarbeitung entstanden war. Dies ist aber wenig wahrscheinlich, da das Alkaloid auch bei einer sehr raschen und schonenden Aufarbeitung der Droge, die eine Oxydation ausschloß, aufzufinden war.

Über die Isolierung und Strukturaufklärung weiterer Alkaloide aus der „Fraktion A“ mit den Molgewichten 292, 294, 310 und 324 soll später berichtet werden.

Der Hauptbestandteil der „Fraktion B“ war Rhazidin, das infolge seiner hohen Wasserlöslichkeit nur teilweise im Basengemisch A enthalten war. Daneben konnte eine geringe Menge Quebrachamin und Spuren von 1,2-Dehydroaspidospermidin und Aspidofraktinin aufgefunden werden.

Weiters wurden zwei intensiv gelb gefärbte Verbindungen, die sich schon bei der Gewinnung der „Fraktion B“ durch einen pH-abhängigen Farbwechsel der wäßrigen Lösung des Gemisches von Gelbbraun auf Rotorange bemerkbar machten, erhalten. Eine solche Farbänderung ist für Verbindungen mit dem Chromophor des Sempervirins^{19, 20} charakteristisch.

Durch Säulenchromatographie konnte zunächst eine der beiden Verbindungen als gelbrote, amorphe Base isoliert werden. Ihr Massenspektrum (Abb. 2), das sehr arm an Bruchstücken ist, zeigt ein Molgewicht von 218, die Molekülionspitze ist gleichzeitig die höchste Spitze des Spektrums. Dem doppelt positiv geladenen Molekülion entspricht eine Spitze bei *MZ* 109. Einer Spitzengruppe bei den *MZ* 190, 191 und 192

¹⁷ H. Asmis, H. Schmid und P. Karrer, *Helv. Chim. Acta* **37**, 1983 (1954).

¹⁸ R. Goutarel und M.-M. Janot, *Ann. pharm. franç.* **11**, 272 (1953); (*Chem. Zbl.* **1955**, 6290).

¹⁹ E. Bächli, C. Vamvacas, H. Schmid und P. Karrer, *Helv. Chim. Acta* **40**, 1167 (1957).

²⁰ N. A. Hughes und H. Rapoport, *J. Amer. Chem. Soc.* **80**, 1604 (1958).

können Ionen zugeordnet werden, die durch Abspaltung von H_2CN , HCN und Acetylen aus dem Molekülion entstehen. Kleine Spitzen bei $M-1$ und $M-2$ entsprechen der Abspaltung von H bzw. H_2 . Ein Massenspektrum derartigen Aussehens ließ das Vorliegen eines aromatischen, heterocyclischen Moleküls ohne Alkylseitenketten vermuten.

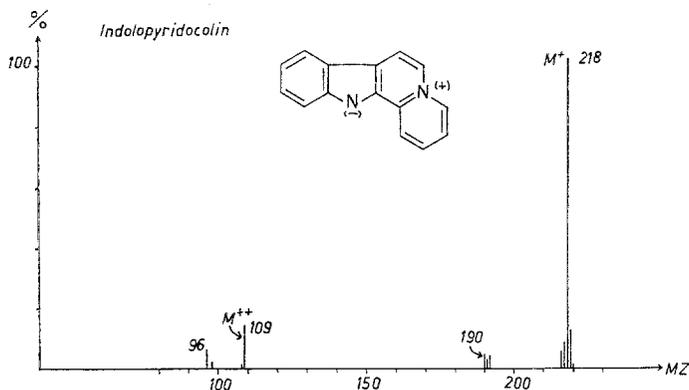
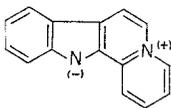


Abb. 2

Das UV-Spektrum des Alkaloids zeigte in saurer Lösung Maxima bei 219, 245, 292, 343 und 387 $\text{m}\mu$ und in alkalischer Lösung bei 212, 240 (Schulter), 254 (Schulter), 287, 315, 360 und 444 $\text{m}\mu$. Es entspricht damit den in der Literatur angegebenen Werten für eine Anhydroniumbase mit Sempervirin-chromophor^{19, 21}.

Diese Befunde sind am besten mit der Struktur V für das neue Alkaloid zu vereinbaren:



V

Eine Verbindung gleicher Struktur, Indolo[2,3-*a*]pyridocolin*, wurde bereits früher von *Prasad* und *Swan* synthetisiert²¹. Durch Vergleich des Alkaloids V mit einer Probe der synthetischen Verbindung** konnte die Identität beider Verbindungen sichergestellt werden: beide zeigen das

* Im Ring Index (2. Auflage, 1960) wird die Verbindung V als Indolo[2,3-*a*]chinolizin bezeichnet (RRI 4503), wir schließen uns aber der von *Prasad* und *Swan* verwendeten Nomenklatur an.

** Für eine Probe von authentischem Indolo[2,3-*a*]pyridocolin danken wir Herrn Prof. *G. A. Swan*, Newcastle upon Tyne.

²¹ *K. B. Prasad* und *G. A. Swan*, J. Chem. Soc. 1958, 2024.

gleiche UV- und Massenspektrum, ihre Pikrate besitzen den gleichen Zersetzungspunkt (250—255°).

Die Verbindung V, die hier zum erstenmal als Naturprodukt aufgefunden wurde, kann als Grundkörper vieler Anhydroniumbasen, wie z. B. von Sempervirin¹⁹ oder Flavopereirin^{19, 20}, aufgefaßt werden.

Neben dem Alkaloid V konnte eine zweite gelb gefärbte Base aus dem Alkaloidgemisch B isoliert werden. Ihr UV-Spektrum [Maxima in saurer Lösung bei 235, 292, 348 und 389 m μ und in alkalischer Lösung bei 240 (Schulter), 255 (Schulter), 287, 316 und 357 m μ .] zeigte wieder die

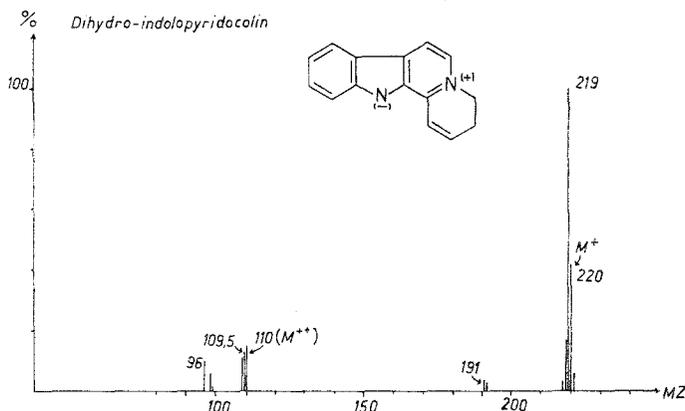


Abb. 3

Gegenwart des Chromophors einer Anhydroniumbase der Sempervirin-gruppe.

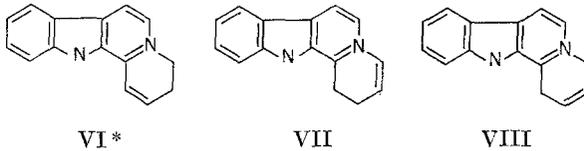
Im Massenspektrum der Verbindung (Abb. 3) liegt die Molgewichtsspitze bei der MZ 220, die Basisspitze aber bei $M-1$. Eine Spitze bei MZ 110 entspricht dem doppelt positiv geladenen Moleküllion, und bei MZ 109,5 erscheint das doppelt geladene ($M-1$)-Ion. Kleine Spitzen bei den MZ 191 und 192 sind Ionen zuzuordnen, die durch Abspaltung von H_2CN und HCN aus dem Bruchstück der MZ 219 entstehen können.

Mit Hilfe dieser aus UV- und Massenspektrum gewonnenen Daten läßt sich für das Alkaloid mit dem Molgewicht 220 die Struktur eines im Ring D dihydrierten Indolopyridocolins der Formeln VI oder VII ableiten. Die Formel VIII, in der die fragliche Doppelbindung isoliert vorliegt, ist weniger wahrscheinlich, da das UV-Spektrum des Alkaloids mehr dem des Indolopyridocolins als dem eines quarternären β -Carbolins²² ähnelt.

Zur Bestätigung dieser Strukturhypothese wurde an dem Alkaloid VI (bzw. VII) ein Reduktionsversuch mit Zinkstaub (in methanol. H_2SO_4) unternommen, der zu einem Gemisch von Reaktionsprodukten führte.

²² H. Schwarz und E. Schlittler, Helv. Chim. Acta **34**, 629 (1951).

Im Massenspektrum dieses Gemisches (Abb. 4 zeigt einen Ausschnitt davon) war im Molgewichtsbereich eine Spitzengruppe bei den MZ 223—226 vorhanden, so daß bei der Reduktion 4 bzw. 6 Wasserstoffatome in das Molekül aufgenommen worden sein mußten.



Da die Verbindungen zwei Stickstoffatome enthalten, müssen ihre Molekülionen eine gerade Massenzahl besitzen: MZ 224 und 226. Die hohe Spitze bei der MZ 225 ist daher als ein ($M-1$)-Bruchstück einer Verbindung vom Molgewicht 226 anzusehen.

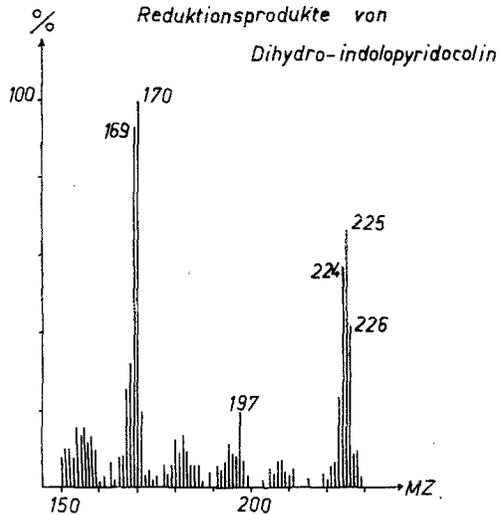
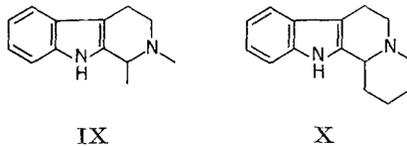


Abb. 4

Die höchsten Spitzen des Spektrums liegen bei den MZ 169 und 170. Eine solche Doppelspitze ist für das Strukturelement IX charakteristisch³:



* In den Formeln VI—VIII sind die Ladungszeichen versehentlich weggeblieben; sie sind analog Formel V zu ergänzen.

Da weiters neben einer Molekülionspitze bei *MZ* 226 noch eine ziemlich intensive Spitze bei *MZ* 197 zu erkennen ist, kann mit hoher Wahrscheinlichkeit angenommen werden, daß eine Komponente des Reaktionsgemisches Tetramethylentetrahydro- β -carbolin (X) ist, da die Schlüsselbruchstücke dieser Verbindung bei den *MZ* 169/70, 197, 225 (Basis) und 226 (Molgewicht) liegen⁹.

Die Entstehung von X bei der Reduktion von Dihydro-indolopyridocolin ist als ein weiterer Hinweis auf die Richtigkeit der Strukturhypothese VI bzw. VII zu werten.

Über weitere Verbindungen mit Sempervirinchromophor, die aus dem Rohbasengemisch isoliert werden konnten, soll später berichtet werden.

Die Rinde von *Gonioma Kamassi* E. Mey zeigt demnach bezüglich der in ihr enthaltenen Alkaloide eine große Ähnlichkeit mit den basischen Inhaltsstoffen, die aus *Rhazia stricta* Decaisne isoliert wurden. In den beiden Pflanzen, die innerhalb der Familie der Apocynaceen zur selben Subtribus (Alstoniinae) gehören, wurden bisher folgende Verbindungen als gemeinsame Inhaltsstoffe aufgefunden^{8, 10, 23, 24}: Quebrachamin, 1,2-Dehydroaspidospermidin, Aspidospermidin, Eburnamin, Akuammidin und Rhazidin. Es wäre daher möglich, daß eine genauere Untersuchung der *Gonioma Kamassi* und der *Rhazia stricta* weitere Ähnlichkeiten ergibt.

Experimenteller Teil

Extraktion der Rinde von Gonioma Kamassi E. Mey

500 g der fein gemahlenden Rinde wurden im Soxhlet-Extraktor 7 Stdn. mit Wasser extrahiert. Aus dem dunkelbraunen Wasserauszug wurden Spuren von unlöslichem Material abfiltriert und das Filtrat im Vak. fast bis zur Trockene eingedampft, in verd. Essigsäure gelöst und 5 Stdn. mit Chloroform (*Chlf.*) extrahiert. Der rotbraune *Chlf.*-Extrakt wurde mehrmals (bis eine Probe mit *Mayers* Reagens negativ ausfiel) mit 1*n*-HCl ausgeschüttelt. Diese salzsaure Lösung wurde mit verd. NaOH alkalisch gemacht (bei dieser pH-Änderung fiel dunkles Harz aus, das verworfen wurde) und mit *Chlf.* ausgeschüttelt. Nach Trocknen und Abdampfen des *Chlf.* verblieben 1,5 g Basengemisch A₁, dessen Massenspektrum Verbindungen der Molgewichte 280, 282, 292, 294, 296, 298, 308, 310, 312, 322, 338 und 352 zeigte.

Die wäßrige, essigsäure Lösung des Rindenextraktes wurde mit NH₃ auf pH 9—10 gestellt und über Nacht mit *Chlf.* weiterextrahiert. Der so gewonnene *Chlf.*-Extrakt wurde in der oben beschriebenen Weise auf Basen aufgearbeitet und lieferte 0,6 g Basengemisch A₂, dessen Zusammensetzung nach Ausweis des Massenspektrums dem des Gemisches A₁ gleich war, so daß beide vereinigt werden konnten: 2,1 g „Fraktion A“.

²³ N. Adityachaudhury, C. R. Ghosal und G. Ganguli, Indian J. Chem. **1**, 95 (1963).

²⁴ G. F. Smith und M. A. Wahid, J. Chem. Soc. **1963**, 4002.

Die verbleibende wäßrige Phase wurde mit konz. NaOH auf pH 12—13 gestellt. Dabei war eine charakteristische Farbänderung von Gelbbraun auf Rotorange zu beobachten. Eine *Chlf.*-Extraktion und Aufarbeitung auf Basen lieferte 0,3 g „Fraktion B“.

Die wäßrige, stark alkalische Phase wurde mit konz. HCl auf pH 2—3 gebracht, von einer geringen Menge braunen Niederschlages abfiltriert und mit essigsaurer Ammonium-Reineckatlösung gefällt. Nach Stehen über Nacht wurde der hellbraune Niederschlag abgesaugt, mit Wasser gewaschen und in wäßrigem Aceton gelöst. Die erhaltene rotbraune Lösung wurde von etwas Unlöslichem abzentrifugiert und anschließend die Alkaloid-reineckate mit Silbersulfat- und Bariumchloridlösung²⁵ in die Chloride umgewandelt (2 g „Fraktion C“, bisher nicht näher untersucht).

Die mit Wasser vorextrahierte Rinde wurde anschließend 12 Stdn. mit Methanol ausgezogen. Die erhaltene, trübbraune Lösung konnte auch durch Zentrifugieren nicht geklärt werden. Nach Eindampfen im Vak. wurde der Rückstand mit 5proz. Essigsäure versetzt und nach mehrtägigem Stehen abzentrifugiert. Das Filtrat wurde über Nacht mit Äther extrahiert und lieferte nach dem Trocknen und nach Aufarbeitung auf Basen einen gelblichen Rückstand, der langsam zu kristallisieren begann (0,2 g).

Durch Chromatographie mit Benzol/Petroläther 1:1 an 10 g Al₂O₃ (Merck, neutral) wurden daraus 80 mg Quebrachamin erhalten, die durch Sublimation bei 130—140°/10⁻³ Torr weiter gereinigt werden konnten (Schmp. 146—147°, $[\alpha]_D = -103^\circ$ [Aceton]).

Aufarbeitung der „Fraktion A“

Das Basengemisch (2,1 g) wurde zunächst einer chromatographischen Vortrennung an 150 g Al₂O₃ unterworfen. Mit etwa 2,5 l *Chlf.* wurden die weniger polaren Basen eluiert. Dann kam mit 2 l *Chlf.* + 1—2% MeOH eine an Akuammidin angereicherte Fraktion (0,4 g) von der Säule, zuletzt lieferte das Nachspülen mit 1 l MeOH 0,8 g Rhazidin, das noch stark verunreinigt war.

Reinigung von Akuammidin: Durch Chromatographie der akuammidin-hältigen Fraktion an 40 g Al₂O₃ (Elutionsmittel *Chlf.*) wurden ca. 40 mg braun gefärbten Roh-Akuammidins erhalten, das beim Stehen mit *Chlf.* auskristallisierte (mit *Chlf.* + 4% MeOH wurde das restliche Substanzgemisch, 0,35 g, von der Säule gelöst und nach Abdampfen des Lösungsmittels zum Gemisch der weniger polaren Basen zugegeben). Zur weiteren Reinigung wurde auf Basen aufgearbeitet und an einer kleinen Säule (von etwa 2 g Al₂O₃) mit *Chlf.* chromatographiert. Nach dem Eindampfen des Eluates verblieben 12 mg der farblosen Verbindung, die aus *Chlf.* als Solvat auskristallisierte: Schmp. 240—243° (Zersetzung), $[\alpha]_D$ (der lösungsmittelfreien Verbindung) = + 20° (Methanol).

Chromatogramm der „Fraktion A“: Das Alkaloidgemisch (0,85 g) wurde an einer Säule von 100 g Al₂O₃ chromatographiert. Ein Gemisch von Benzol + 10% Petroläther eluierte etwa 1—2 mg Quebrachamin. (Die Hauptmenge dieses Alkaloids fand sich im Methanolauszug der Rinde.) Dann wurde, beginnend mit reinem Benzol, am Fraktionskollector weitergearbeitet und Fraktionen zu je 20 ml aufgefangen:

²⁵ J. Kapfhammer und C. Bischoff, Z. physiol. Chemie **191**, 179 (1930).

| Fraktion, Nr. | Lösungsmittel |
|---------------|---------------------------|
| 1—53 | Benzol |
| 54—130 | Benzol + 1% <i>Chlf.</i> |
| 131—141 | Benzol + 2% <i>Chlf.</i> |
| 142—167 | Benzol + 4% <i>Chlf.</i> |
| 168—194 | Benzol + 10% <i>Chlf.</i> |
| 195—206 | Benzol + 15% <i>Chlf.</i> |
| 207—439 | Benzol + 25% <i>Chlf.</i> |
| 440—521 | Benzol + 40% <i>Chlf.</i> |
| 522—532 | Benzol + 50% <i>Chlf.</i> |
| 533—583 | <i>Chlf.</i> + 40% Benzol |
| 584—596 | <i>Chlf.</i> + 30% Benzol |
| 597—634 | <i>Chlf.</i> + 20% Benzol |
| 635—660 | <i>Chlf.</i> |

Alkaloidgehalt der einzelnen Fraktionen, nach Ausweis der Massenspektren:

| Fraktion, Nr. | |
|---------------|---|
| 1—75 | keine Alkaloide |
| 76—190 | 1,2-Dehydroaspidospermidin |
| 191—240 | Aspidofraktinin |
| 241—260 | Aspidofraktinin + Pleiocarpamin |
| 261—275 | Pleiocarpamin + Aspidofraktinin + Aspidospermidin + + <i>MG</i> 310* + <i>MG</i> 324 |
| 276—305 | Pleiocarpamin (in Spuren) |
| 306—335 | Fluorocarpamin + Pleiocarpamin |
| 336—355 | Fluorocarpamin |
| 356—385 | Fluorocarpamin + <i>MG</i> 294 A |
| 386—410 | <i>MG</i> 294 A + Fluorocarpamin |
| 411—440 | <i>MG</i> 294 A (in Spuren) |
| 441—485 | <i>MG</i> 292 + Eburnamin + <i>MG</i> 294 A |
| 486—499 | Eburnamin + <i>MG</i> 294 A + <i>MG</i> 292 |
| 500—560 | <i>MG</i> 294 A + Eburnamin (in Spuren) |
| 561—660 | Akuammidin (in Spuren) neben viel nichtbasischem Material |

* Zur Bezeichnung von Verbindungen unbekannter Struktur wird ihr Molgewicht verwendet.

Fluorocarpamin (Fraktion Nr. 336—355): Nach Aufarbeitung auf Basen verblieben 13 mg Rohalkaloid, das an Al_2O_3 mit Benzol + 15% *Chlf.* chromatographiert wurde. Die gelbe, grünlich fluoreszierende Lösung lieferte nach dem Eindampfen 5 mg der reinen, amorphen Base.

UV-Spektrum in Äthanol: λ_{max} in $m\mu$ (log ϵ): 398 (3,13); 257 (3,64); 235 (4,05). λ_{min} in $m\mu$ (log ϵ): 346 (2,58); 248 (3,61).

Chromatogramm der „Fraktion B“

Das rot gefärbte Alkaloidgemisch (0,3 g) wurde in *Chlf.* gelöst, an 2 g Al_2O_3 adsorbiert und an 35 g Al_2O_3 chromatographiert, wobei Fraktionen zu je 20 ml aufgefangen wurden:

| Fraktion, Nr. | Lösungsmittel |
|---------------|---------------------------|
| 1—10 | Benzol |
| 11—20 | Benzol + 1% <i>Chlf.</i> |
| 21—30 | Benzol + 5% <i>Chlf.</i> |
| 31—40 | Benzol + 10% <i>Chlf.</i> |
| 41—50 | Benzol + 20% <i>Chlf.</i> |
| 51—60 | Benzol + 40% <i>Chlf.</i> |
| 61—70 | Benzol + 50% <i>Chlf.</i> |
| 71—83 | <i>Chlf.</i> + 40% Benzol |
| 84—112 | <i>Chlf.</i> + 30% Benzol |
| 113—123 | <i>Chlf.</i> + 15% Benzol |
| 124—143 | <i>Chlf.</i> |
| 144—270 | <i>Chlf.</i> + 1% MeOH |
| 271—299 | <i>Chlf.</i> + 2% MeOH |
| 300—337 | <i>Chlf.</i> + 5% MeOH |
| 338—368 | <i>Chlf.</i> + 7% MeOH |
| 369—378 | <i>Chlf.</i> + 10% MeOH |
| 379—400 | <i>Chlf.</i> + 15% MeOH |
| 401—411 | <i>Chlf.</i> + 25% MeOH |

Alkaloidgehalt der einzelnen Fraktionen, nach Ausweis der Massenspektren:

| Fraktion, Nr. | |
|---------------|---|
| 1—14 | Quebrachamin (2 mg) |
| 15—58 | keine Alkaloide |
| 59—95 | <i>MG</i> 296 A + 1,2-Dehydroaspidospermidin + Aspidofraktinin (insgesamt 1—2 mg) |
| 96—142 | keine Alkaloide |
| 143—162 | <i>MG</i> 296 B + <i>MG</i> 294 B (zusammen 9 mg) |
| 163—178 | Indolopyridocolin + Rhazidin (in Spuren) |
| 179—321 | Rhazidin (roh 150 mg) |
| 322—348 | keine Alkaloide |
| 349—368 | Dihydroindolopyridocolin (4 mg) |

Spätere Fraktionen enthielten keine Alkaloide mehr.

Indolopyridocolin (Fraktion Nr. 163—178): Das Rohalkaloid (4 mg) wurde an einer kleinen Säule (1 g Al₂O₃) nochmals chromatographiert (*Chlf.* + 1—2% MeOH). Zur Herstellung des *Pikrates* wurde eine äthanol. Lösung der reinen orangegelb gefärbten Base (2,5 mg) mit äthanol. Pikrinsäurelösung versetzt, eingedampft und der Rückstand mit MeOH/Dimethylformamid in der Wärme aufgenommen und 2 Tage stehen gelassen. Es bildeten sich einige Kristalle, deren Zersetzungspunkt bei 252—255° lag. Das Pikrat von authentischem Indolo[2,3-*a*]pyridocolin zeigte einen Zersp. von 250—255°.

UV-Spektrum (λ in $m\mu$):

a) in verd. äthanol. HCl

| | | | |
|-------------------------------------|------------|------------|------------|
| λ_{\max} (log ϵ): | 387 (3,58) | 343 (3,76) | 292 (3,64) |
| | 245 (3,93) | 219 (4,00) | |
| λ_{\min} (log ϵ): | 377 (3,56) | 305 (3,54) | 268 (3,50) |
| | 229 (3,92) | | |

b) in verd. äthanol. KOH

| | | | |
|-------------------------------------|------------|---------------|---------------|
| λ_{\max} (log ϵ): | 444 (3,10) | 360 (3,80) | 315 (3,61) |
| | 287 (3,92) | 254 (3,73) sh | 240 (3,86) sh |
| | 212 (4,23) | | |
| λ_{\min} (log ϵ): | 420 (3,11) | 328 (3,54) | 309 (3,60) |
| | 261 (3,67) | | |

Das synthetische Indolopyridocolin zeigte ein ganz gleichartiges UV-Spektrum, allerdings liegen bei dem Naturprodukt die Extinktionswerte um ca. 0,3 log ϵ -Einheiten tiefer, was auf nicht abtrennbare Beimengungen zurückgeführt werden kann.

Dihydro-indolopyridocolin (Fraktion Nr. 349—368): Die Hälfte der Rohbase wurde an Al_2O_3 mit *Chlf.* + 8—9% MeOH chromatographiert. Nach dem Eindampfen des Eluats verblieb 1 mg der reinen, orangegelb gefärbten Base.

UV-Spektrum (λ in $m\mu$):

a) in verd. äthanol. HCl

| | | | |
|-------------------------------------|------------|------------|------------|
| λ_{\max} (log ϵ): | 389 (3,28) | 348 (3,45) | 292 (3,33) |
| | 235 (3,67) | | |
| λ_{\min} (log ϵ): | 378 (3,23) | 306 (3,23) | 272 (3,18) |

b) in verd. äthanol. KOH

| | | | |
|-------------------------------------|---------------|---------------|------------|
| λ_{\max} (log ϵ): | 357 (3,51) | 316 (3,37) sh | 287 (3,71) |
| | 255 (3,61) sh | 240 (3,76) sh | |
| λ_{\min} (log ϵ): | 327 (3,33) | 263 (3,56) | |

Reduktionsversuch am Dihydro-indolopyridocolin: Die Hälfte (2 mg) des chromatographisch erhaltenen Rohalkaloids wurde in methanol.-schwefelsaurer Lösung unter Zusatz von Zinkstaub einige Stdn. am Wasserbad erhitzt. Es war eine deutliche Aufhellung der Lösung zu beobachten. Nach dem Eindampfen wurde auf Basen aufgearbeitet und vom erhaltenen Reduktionsprodukt ein Massenspektrum (Abb. 4) aufgenommen.

Die Massenspektren wurden an einem Atlas-CH-4-Gerät aufgenommen, das vom Österreichischen Forschungsrat dem Mineralogischen, Organisch-Chemischen und Physikalisch-Chemischen Institut der Universität Wien zur Verfügung gestellt wurde, wofür wir auch an dieser Stelle bestens danken.