

Massenspektrometrische Strukturermittlung von 21-Oxogelsemin

3. Mitt. über Gelsemium-Alkaloide¹

Von

A. Nikiforov*, J. Latzel, K. Varmuza und M. Wichtl

Aus dem Organisch-Chemischen Institut der Universität Wien,
dem Institut für Allgemeine Chemie
der Technischen Hochschule Wien, Österreich,
und dem Institut für Pharmakognosie der Universität Marburg/L.,
Bundesrepublik Deutschland

Mit 3 Abbildungen

(Eingegangen am 11. September 1974)

Structure Elucidation of 21-Oxogelsemin by Mass Spectrometry

The structure of a further minor alkaloid of Gelsemium sempervirens (L.) Ait., could be elucidated on the basis of mass-spectrometrical and chemical evidence as 21-oxogelsemin (3). The mass spectra of 3 and of its hydrogenation product (4) are discussed.

In zwei vorhergehenden Mitteilungen haben wir über die Struktur der Nebenalkaloide Gelsemiumalkaloid A² (Gelsevirin³) und 14-Hydroxygelsemicin¹ aus Gelsemium sempervirens (L.) berichtet. Bei der *GC—MS*-Untersuchung der Nebenalkaloid-Fraktion, mit höherem *R_f*-Wert als Gelsemin im *DC*, konnten wir neben den Spuren der bereits bekannten Alkaloide Gelsemin (1)^{4,5} und Gelsevirin (2)^{2,3} noch ein weiteres, bisher unbekanntes Alkaloid (3) mit dem Molekulargewicht 336 und einem Schlüsselbruchstück *m/e* 122 auffinden, das in der Droge etwa in der gleichen Menge wie 2 vorliegt. Über die Struktur dieser Verbindung, die im Hinblick auf die bisher nur teilweise geklärte Biogenese der Gelsemium-Alkaloide⁴ von besonderem Interesse ist, soll nun im folgenden berichtet werden.

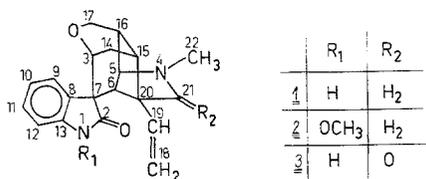
Da eine vollständige dünnschichtchromatographische Trennung von Gelsemin und 3 nicht zu erreichen war, haben wir mittels einer Kombination von präparativer Gaschromatographie und massen-

* Herrn Prof. Dr. O. Hoffmann-Ostenhof zum 60. Geburtstag gewidmet.

spektrometrischer Fragmentographie⁶ versucht **3** abzutrennen. So gelang es uns, 2—3 mg der Verbindung **3** in reinster Form zu gewinnen.

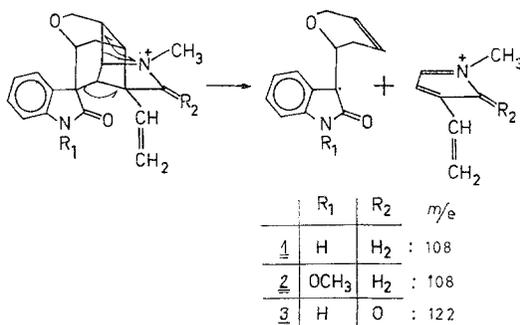
Im Hinblick auf die bereit bekannte Fragmentierung des Gelsemins (**1**) (M_r 322, Schlüsselbruchstück m/e 108)^{2,3} und Gelsevirins **2** (M_r 352,

Formelschema I



Schlüsselbruchstück m/e 108) kann die Verschiebung der Ionen 336 und 122 im *MS* von **3** um 14 Masseneinheiten in Bezug auf das *MS* des Gelsemins (unter Zugrundelegung eines Gelsemingerüstes für **3**) entweder als eine zusätzliche Substitution mit einer Methylengruppe oder als Ersatz einer vorhandenen Methylengruppe durch eine Carbonylgruppe im Bruchstück m/e 108 von Gelsemin erklärt werden. Sowohl die *GC—MS*-Kopplung unter hochauflösenden Bedingungen als auch ein hochaufgelöstes Massenspektrum der isolierten reinen Substanz mit Direkteinlaßsystem ergaben übereinstimmend für die Ionen 336 bzw. 122 Summenformeln $C_{20}H_{20}N_2O_3$ (M_r : ber. 336,147, gef. *MS—GC*: 336,148 bzw. 336,149 mit Direkteinlaß), bzw. C_7H_8NO (ber. 122,061, gef. 122,060⁵ mit *DE*) und zeigten, daß die erwähnte Massenverschiebung

Formelschema II



durch eine Carbonylgruppe verursacht wird, die an Stelle einer CH_2 -Gruppe auftritt. Da diese Carbonylgruppe in dem Bruchstück enthalten sein muß, das dem Ion der Masse 108 bei Gelsemin entspricht, kommt

hiefür nur die Position 21 in Frage. Auf Grund dieses Ergebnisses kann man nun die Verbindung **3** als 21-Oxogelsemin bezeichnen.

Das Bruchstück der Masse 122 weist, wie bei Gelsemin das Ion m/e 108, günstige Ladungsstabilität und Konjugation auf, was in seiner hohen Intensität zum Ausdruck kommt.

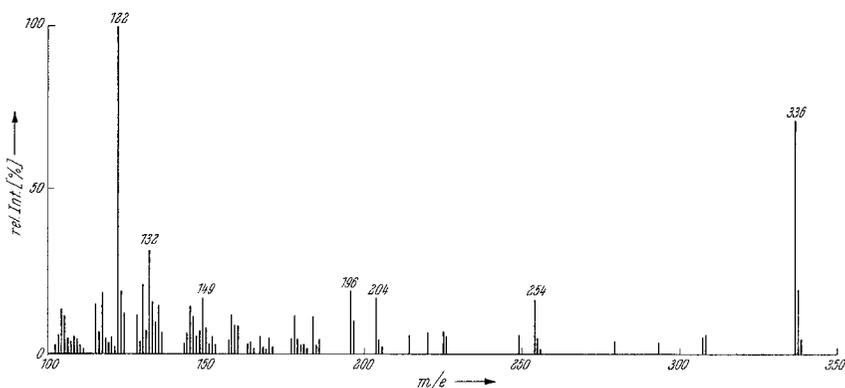


Abb. 1

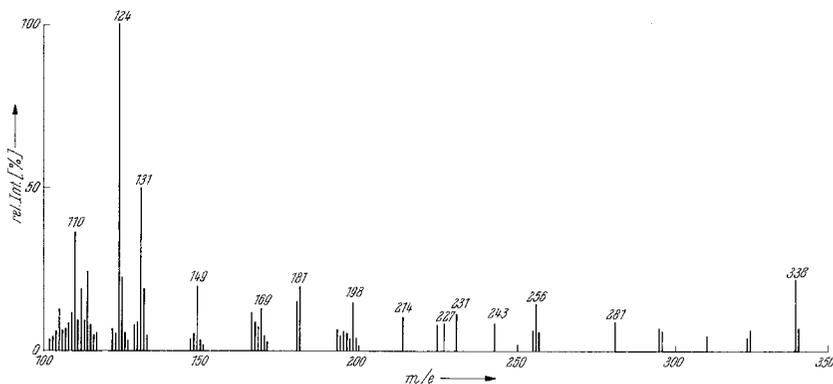


Abb. 2

Dieser Strukturvorschlag wird gestützt auch durch die Massenspektren des Dihydro-oxogelsemins (**4**) und die Deuterierung von **3** bzw. **4** (siehe Abb. 1, 2). Nach Hydrierung von **3** wird das Molekulargewicht (M_r) um 2 Masseneinheiten erhöht, gleichzeitig tritt die erwartete Verschiebung des Ions m/e 122 auf 124 ein; das Schlüsselbruchstück m/e 122 muß daher eine intakte Vinylgruppe enthalten. Entsprechend werden die Ionen m/e 122 (**3**), sowie 124 (**4**) nach der erfolgten Deuterierung im Gegensatz zum Molekülion *nicht* um eine Masseneinheit verschoben.

Ein Vergleich der *CD*-Kurve des 21-Oxogelsemins mit den *CD*-Kurven der bereits bekannten Gelsemium-Alkaloide¹ (siehe Abb. 3) läßt klar die Zugehörigkeit von 21-Oxogelsemin zur Gelsemin-Reihe erkennen; die Übereinstimmung von **3** mit **1** im Oxindolteil des Moleküls

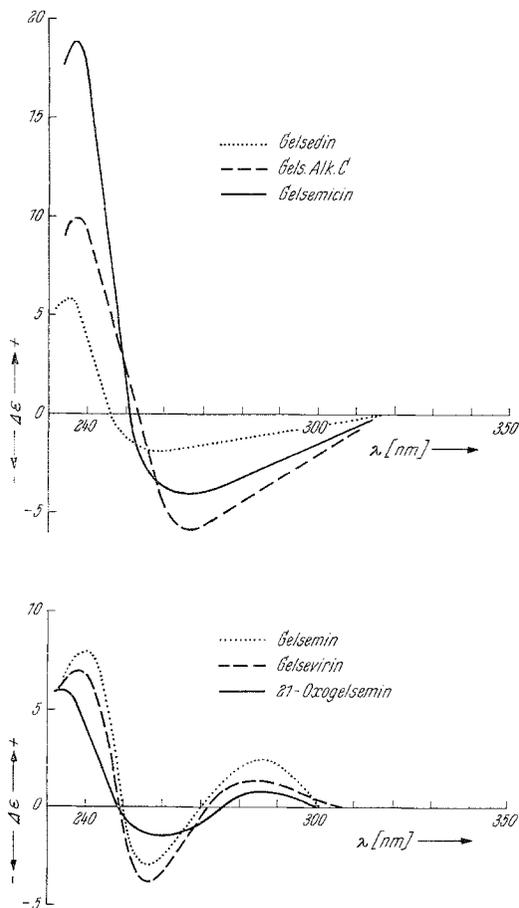


Abb. 3

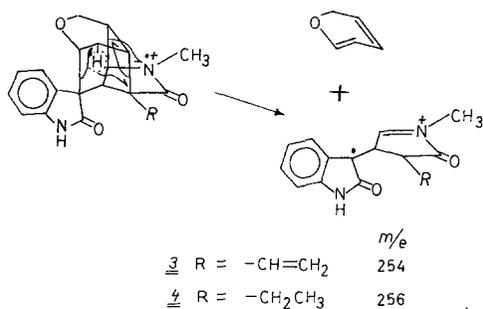
wird durch die beinahe identischen UV-Spektren der beiden Verbindungen ebenfalls bestätigt.

Durch die Hochauflösung des Ions m/e 256 (gef. 256,120₁, ber. C₁₅H₁₆N₂O₂: 256,121₂) im Spektrum von **4** konnte eine weitere Fragmentierung aufgedeckt werden, die bei **1** nicht bekannt ist, die aber auch bei **3** ablaufen kann. Der abgespaltene Rest von C₅H₈O kann nur als Fragmentierung des ursprünglichen Pyranringes unter einer H-Übertragung (höchstwahrscheinlich C-14) erklärt werden.

Die Massenverschiebung um 2 Masseneinheiten nach der Hydrierung und die Änderung von 254 auf 255 (3), beziehungsweise 256 auf 257 (4) nach der Deuterierung (Oxindol-Rest) untermauern die angegebene Bruchstückbildung.

Da das Ion m/e 227 im Spektrum von 4 in der Hochauflösung als Dublett (227,082₁ und 227,120₁; ber. C₁₃H₁₁N₂O₂: 227,082₁ bzw. C₁₄H₁₅N₂O: 227,118₄) auftritt, scheint eine weitere Abspaltung von

Formelschema III



C₂H₅[•] bzw. CHO[•] von dem Ion m/e 256 möglich. Entsprechende metastabile Übergänge wurden nicht gefunden. Das Oxogelsemin (3) zeigt diese Fragmentierung nicht.

Im Massenspektrum des Dihydrooxogelsemins (Abb. 2) tritt auch das Ion m/e 214 auf; dies entspricht laut Hochauflösung (gef.: 214,083₁ ± ± 20 ppm, C₁₃H₁₂NO₂ ber.: 214,068₈) dem bei der Bildung des Ions 122 abgespaltenen Oxindolrest, der offenbar auch die Ladung übernehmen kann. Dies wird durch die Verschiebung zu der Masse 215 im Spektrum der deuterierten Verbindung bestätigt. Beim Oxogelsemin (3) wurde eine derartige Bruchstückbildung nicht festgestellt.

Der eine von uns (A. N.) dankt dem Deutschen Akademischen Austauschdienst für die Gewährung eines Stipendiums, da ein Teil dieser Arbeit am Organisch-Chemischen Institut der Universität Göttingen in der Abteilung von Herrn Prof. Dr. G. Spiteller ausgeführt wurde, dem wir gemeinsam mit Herrn Dr. G. Remberg für wertvolle Diskussionen danken. Herrn Doz. Dr. H. Falk verdanken wir die Aufnahme des CD-Spektrums und für das stets fördernde Interesse möchten wir Herrn Prof. Dr. U. Schmidt auch an dieser Stelle verbindlichsten Dank sagen.

Dem Fonds zur Förderung der wissenschaftlichen Forschung danken wir für die Beistellung eines CH-7 Massenspektrometers.

Experimenteller Teil

Die Aufnahme der Massenspektren erfolgte mit den Massenspektrometern CH-7 und SM-1 B der Fa. Varian MAT (Ionenquellentemp. 150 °C, Elektronenenergie 70 eV; Verdampfungstemperatur im Direktinlaßsystem etwa 120°). Für die Aufnahme der GC—MS-Spektren stand eine Kombination von CH-7 Massenspektrometer mit einem Varian Aerograph 1200 Gaschromatographen zur Verfügung. Für die GC-Trennungen verwendeten wir eine 2 ft lange Glassäule $\frac{1}{8}$ " mit 2% OV-17 auf Chromosorb 80—90. Die Auswertung der hochaufgelösten MS wurde ausgeführt mit FORTRAN IV-Programm LIS 11⁷ auf einer Rechenanlage IBM 360. Die Deuterierungen wurden direkt im Einlaßsystem des Massenspektrometers mit CH₃OD ausgeführt. Die CD-Kurven wurden mit einem Roussel-Jouan-Dichrographen Mod. B, die UV-Spektren mit einem Carry UV-Spektrometer 1115 in CH₃OH registriert.

Die Reindarstellung von 3

Die Lösung von 300 mg des nach ² erhaltenen Extraktes in 2 ml CH₂Cl₂ wurde über eine mit Kieselgel G (Merck) gefüllte Säule (20 × 130 mm) mit CHCl₃—Aceton—Diäthylamin⁸ (6 : 4 : 1) als Laufmittel chromatographiert. Es wurden Fraktionen von 1 ml gesammelt. Die Auftrennung in die einzelnen Zonen konnte gut durch Bestrahlung der Säule mit UV-Licht (366 nm) verfolgt werden, da die Farbstoffe und einige Nebenalkaloide blau bis gelb fluoreszieren. Nach dieser Methode war die Trennung gut mit einem Dünnschichtchromatogramm des Extraktes vergleichbar und kontrollierbar. Wir erhielten 15 mg einer Fraktion von Nebenalkaloiden mit dem *R_f*-Wert zwischen Gelsemin (**1**, *R_f* = 1,00) und Gelsevirin (**2**, *R_f* = 1,20) als gelbes Öl.

Zur weiteren Reinigung wurde diese Fraktion mit Hilfe der präp. DC über drei analytische DC-Platten (Kieselgel 60 F₂₅₄, Schichtdicke 0,25 mm) mit dem gleichen Laufmittel gereinigt. Nach der Extraktion und Umfällen aus CH₂Cl₂-Cyclohexan erhielten wir 2 mg von **3** mit Schmp. 136 bis 145 °C, das im DC einheitlich war (*R_f*-Wert bezogen auf Gelsemin: 1,07).

UV: (CH₃OH): 252 nm, log ε = 3,7; 282 nm, log ε = 3,25.

Bei der Wiederholung haben wir aus rohem **3** mittels der präp. GC—MS⁶ 2 mg reines 21-Oxogelsemin (**3**), Schmp. 148—150 °C, erhalten. MS siehe Abb. 1.

Mikrohydrierung von 3

1 mg **3** in 0,2 ml Methanol wurden mit 0,5 mg PtO₂ in der Mikrohydrierungsapparatur nach Clausson-Kaas und Limborg⁹ 24 Stdn. bei Raumtemp. ohne Überdruck quantitativ hydriert. Das Massenspektrum des DC-einheitlichen Abdampfrückstandes zeigt Abb. 2.

Literatur

- ¹ 2. Mitt.: M. Wichtl, A. Nikiforov, G. Schulz, Susanne Sponer und K. Jentzsch, Mh. Chem. **104**, 99 (1973).
- ² M. Wichtl, A. Nikiforov, Susanne Sponer und K. Jentzsch, Mh. Chem. **104**, 87 (1973).

- ³ *E. Wenkert, C.-J. Chang, D. W. Cochran und R. Pellicciari*, *Exper.* **28**, 377 (1972).
- ⁴ *H. Conroy und J. K. Chakrabarti*, *Tetrahedron Letters* **1959/4/6**.
- ⁵ *F. M. Lovell, R. Pepinsky und A. J. C. Wilson*, *Tetrahedron Letters* **1959/4/1**.
- ⁶ *A. Nikiforov und J. Latzel*, *Mh. Chem.*, in Vorbereitung.
- ⁷ *A. Nikiforov und J. Latzel*, *Mh. Chem.*, in Vorbereitung.
- ⁸ *D. Waldi, K. Snackers und F. Munter*, *J. Chromatogr.* **6**, 61 (1961).
- ⁹ *N. Claussion-Kaas und F. Limborg*, *Acta Chem. Scand.* **1**, 884 (1947).

*Dr. A. Nikiforov
Organisch-Chemisches Institut
Universität Wien
Währinger Straße 38
A-1090 Wien
Österreich*