

SCUTIANIN-G, EIN WEITERES CYCLOPEPTIDALKALOID AUS *SCUTIA BUXIFOLIA**

RUDOLF TSCHESCHE und DIRK HILLEBRAND

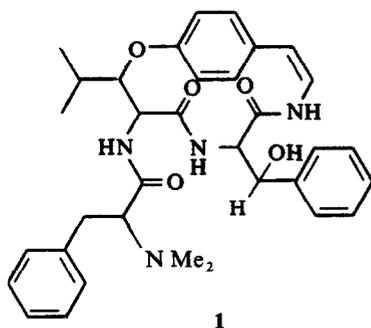
Institut für Organische Chemie und Biochemie der Universität Bonn, Max-Planck-Str. 1, D-5300 Bonn, Deutschland

(Received 25 April 1977)

Key Word Index—*Scutia buxifolia*; Rhamnaceae; peptide alkaloid; scutianine-G; diastereoisomer of scutianine-D and -E.

Abstract—From the bark of *Scutia buxifolia*, in addition to already described peptide alkaloids, a new compound of this class, Scutianine-G, has been isolated and its structure elucidated. This alkaloid contains a 14-membered ring system and belongs to the Frangulanine-type; it is diastereoisomer of Scutianine-D and -E.

Im Rahmen unserer Untersuchungen auf Cyclopeptidalkaloide von Rhamnaceen gelang es, ein weiteres, bisher unbekanntes Alkaloid zu isolieren und seine Struktur weitgehend aufzuklären. Die Rinde von *S. buxifolia* wurde wie üblich extrahiert und das erhaltene Rohbasengemisch durch mehrstufige Säulen- und Schichtchromatographie an Kieselgel in die Komponenten zerlegt. Neben den bereits beschriebenen Alkaloiden Scutianin-A [2], -B [3], -C, -D und -E [4] sowie -F [5] wurde zusätzlich eine Scutianin-G benannte Verbindung 1 in sehr kleinen Mengen isoliert. Die Summenformel von 1 wurde durch hochauflösende Massenspektrometrie zu $C_{34}H_{40}N_4O_5$ ermittelt.



Aufgrund der spektrometrischen Untersuchungen ergab sich eine weitgehende Übereinstimmung von 1 mit den diastereomeren Scutianin-D und -E [6], die neben L- auch D-Aminosäuren enthalten. Chromatographisch zeigten sich jedoch deutlich unterschiedliche R_f -Werte. Zur Bestimmung der Konfiguration der beteiligten Aminosäuren wurde Scutianin-G zunächst ozonisiert und anschließend hydrolysiert. Papierchromatographisch ließen sich *erythro*- und *threo*-Hydroxyleucin, *erythro*- und *threo*-Phenylserin und *N,N*-Dimethylphenylalanin nachweisen. Unter den Hydrolyse-Bedingungen hat daher wohl eine teilweise Racemisierung

stattgefunden, bei der ein Teil des *threo*-Hydroxyleucins sich in die *erythro*-Form, ein Teil des *threo*-Phenylserins in das *erythro*-Isomere umwandelte.

Vorversuche mit authentischen Vergleichssubstanzen ergaben eine Reaktion mit dem Enzym L-Aminosäureoxidase nur bei L-*threo*-Hydroxyleucin und L-*erythro*-Phenylserin.

Untersuchungen mit den Stereoisomeren *erythro*- und *threo*-Hydroxyleucin (L- bzw. D-) sind in der Literatur bisher nicht beschrieben worden. Die Ergebnisse von Greenstein [5] mit *erythro*- bzw. *threo*-Phenylserin (L-Form) konnten durch unsere Experimente bestätigt werden. Im Hydrolysat von Scutianin-G wurde lediglich *threo*-Hydroxyleucin umgesetzt. Dies legt den Schluß nahe, daß bei 1 Hydroxyleucin in der L-, Phenylserin jedoch in der D-Konfiguration vorliegen. Einen endgültigen Beweis würde die Reaktion der Aminosäuren mit D-Aminosäureoxidase liefern, bisher gelang eine Umsetzung weder bei entsprechenden Vergleichssubstanzen st auch mit dem Hydrolysat noch. Auch Greenstein [5] konnte keinen Angriff von D-Aminosäureoxidase auf D-*erythro*- und D-*threo*-Phenylserin feststellen. Über Untersuchungen mit D-*erythro*- und D-*threo*-Hydroxyleucin mit D-Aminosäureoxidase ist bisher nicht berichtet worden.

Demnach deuten die Reaktionen von 1 mit dem Enzym L-Aminosäureoxidase eindeutig auf das Vorliegen von L- β -Hydroxyleucin und D- β -Phenylserin hin. Letztere Verbindung wurde schon im Scutianin -E [6] und Lasiodin-A [7] nachgewiesen. D-*erythro*- β -Hydroxyleucin ist im Scutianin-E [6] wahrscheinlich gemacht worden.

Zur Klärung der in der Literatur auftretenden Unstimmigkeiten bei der Bezeichnung der aus *S. buxifolia* isolierten Cyclopeptidalkaloide möchten wir folgenden Vorschlag machen: Die von der Bonner Arbeitsgruppe isolierten Scutianine-A [2], -B [3], -C, -D und -E [4], -F [1] und -G behalten ihre Benennung bei. Die von den Mitarbeitern des Departamento de Quimica Organica, Facultad de Farmacia y Bioquimica, Buenos Aires, Argentina, in ihrer ersten Mitteilung [8] über Cyclopeptidalkaloide aus *S. buxifolia* beschriebene Verbindung Scutianin-C könnte mit einem unserer Scutianine-D, -E oder -G identisch sein. Da jedoch von den argentinischen

*Alkaloide aus Rhamnaceen, Part 30; for Part 29 see ref. 1.

Autoren keine Aussagerüber die Konfiguration der bei der Hydrolyse auftretenden Aminosäuren gemacht wurde, ist eine Zuordnung nicht möglich. Die in einer weiteren Veröffentlichung [9] beschriebenen Alkaloide Scutianin-C—möglicherweise ein Kunstprodukt—und -D könnten die Bezeichnungen Scutianin-I und -H erhalten.

EXPERIMENTELLER TEIL

Die Schmelzpunkte wurden mit einem Mikroskopheiztisch nach Weygand, die optischen Drehungen mit dem Perkin-Elmer-Polarimeter 141 bestimmt. Die Massenspektren wurden mit einem MS-9 (A.E.I.) durch Verdampfen der Proben in der Ionenquelle (bei ca 220°) bei einer Elektronenenergie von 70 eV aufgenommen. Zur Dünnschichtchromatographie wurde verwendet Kieselgel HF₂₅₄ (Fa. Merck), zur präparativen Schichtchromatographie Kieselgel PF₂₅₄ (Fa. Merck), zur Papierchromatographie die Sorten 2043b (Fa. Schleicher & Schüll) und Nr. 1 (Whatman) und zur Säulenchromatographie ungesiebtes Kieselgel (Fa. Herrmann). Die Synthesen von *erythro*- und *threo*-Hydroxyleucin erfolgten nach Akabori [10], von *erythro*- β -Phenylserin nach Harada [11]. Scutianin-G (I) wurde durch mehrfache Entwicklung in den Systemen CHCl₃-MeOH (96:5) und CHCl₃-EtOAc-MeOH (10:5:1) erhalten (15 mg aus 5 kg Rinde) und kristallisierte in farblosen Nadeln aus EtOH-H₂O. Schmp. 162°; $[\alpha]_D^{20} - 112^\circ$ (*c* = 0.02, MeOH). IR (KBr): 3300–3600 (OH), 3200 (NH), 1640 (Amid), 1605 (C=C), 1500 (Aromat), 1235 und 1045 (Phenolether) cm⁻¹. UV (MeOH): Aromatenendabsorption. PMR (CDCl₃): $\delta = 0.95$ (*d*, *J* = 6.2 Hz, CH—CH₃), 1.22 (*d*, *J* = 6.2 Hz, CH—CH₃), 2.15 (*s*, NMe₂), 6.37–6.81 (*m*, Olefin- und austauschbare Protonen) und 7.03–7.58 (*m*, Aromatenprotonen). MS [12]: M⁺ *m/e* 584, 148 (*a*), 493 (*b*), 195 (*c*), 353 (*e*), 190 (*f*), 135 (*i*), und 97 (*m*). C₃₄H₄₀N₄O₅ Mol.-Masse Ber. 584.2999 Gef. 584.2991 (MS).

Ozonolyse. 10 mg Scutianin-G wurden in 50 ml Ameisensäure gelöst und 12 hr bei Raumtemperatur ozonisiert. Nach dem Abdampfen des Lösungsmittels erhitzte man den Rückstand mit 15 ml HBr (48%) 3 hr unter N₂-Atmosphäre. Anschließend wurde das HBr abgezogen und das Hydrolysat über KOH getrocknet. Den Rückstand nahm man in 3 ml H₂O dest. auf und chromatographierte in folgenden Systemen: (1) MeCOEt-*n*-BuOH-NH₃-H₂O (3:5:1:1) [5] zur Trennung von *erythro*- und *threo*- β -Hydroxyleucin-Entwicklung: Ninhydrin. (2) *n*-BuOH-H₂O-Me₂CO-NH₃ (8:6:1:1) [13]; zur Unterscheidung von *erythro*- und *threo*- β -Phenylserin-Entwicklung: Ninhydrin. (3) *n*-Bu₂CO-Py-H₂O-HOAc (70:15:15:2) [14]; zum Nachweis von *N,N*-Dimethylphenylalanin-Entwicklung mit Rhodamin-B und Ninhydrin bzw. Jod. Im Hydrolysat von 1 ließen sich so Hydroxyleucin, Phenylserin und *N,N*-Dimethylphenylalanin nachweisen.

Konfigurationsbestimmung mit L-Aminosäure-oxidase [15]. 5 mg L-Aminosäure-oxidase aus *Crotalus atrox* (Serva) wurden in 2 ml 0.1 M Tris-HCl-Puffer von pH 7.2 gelöst. Dazu gab man 1 ml Vergleichsaminosäurelösung bzw. 1 ml Hydrolysat und inkubierte etwa 24 hr in O₂-Atmosphäre. Die Reaktionslösungen wurden auf 1 ml eingengt und mit Vergleichssubstanzen bzw. unbehandeltem Hydrolysat chromatographiert. Von den Vergleichsaminosäuren wurden L-*threo*-Hydroxyleucin und L-*erythro*-Phenylserin oxidiert.

Konfigurationsbestimmung mit D-Aminosäure-oxidase [15]. 3 mg D-Aminosäure-oxidase, in 2 ml 0.1 M Pyrophosphatpuffer vom pH 8.2 gelöst, wurde mit 1 ml Vergleichsaminosäurelösung bzw. 1 ml Hydrolysat versetzt. Nach 48 hr Inkubation in O₂-Atmosphäre wurde mit Vergleichssubstanzen bzw. unbehandeltem Hydrolysat chromatographiert. Eine Oxidation der Aminosäuren konnte nicht beobachtet werden.

Anerkennung—Herrn Dr. E. Ammermann danken wir für die Isolierung von Scutianin-G.

LITERATUR

1. Tschesche, R., Hillebrand, D., Wilhelm, H., Ammermann, E. und Eckhardt, G. (1977) *Phytochemistry* **16**, 1025.
2. Tschesche, R., Welters, R. und Fehlhaber, H.-W. (1967) *Chem. Ber.* **100**, 323.
3. Tschesche, R., Ammermann, E. und Fehlhaber, H.-W. (1971) *Tetrahedron Letters* 4405.
4. Tschesche, R. und Ammermann, E. (1974) *Chem. Ber.* **107**, 2274.
5. Greenstein, J.P., Birnbaum, S. M. und Otey, M. C. (1950) *J. Biol. Chem.* **204**, 210.
6. Tschesche, R., Kauffmann, E. U. und Eckhardt, G. (1973) *Tetrahedron Letters* 2577.
7. Marchand, J., Pais, M., Monseul, X. und Jarreau, F.X. (1969) *Tetrahedron* **25**, 937.
8. Merkuza, V. M., Sierra, M. G., Mascaretti, O. A., Ruveda, E., Chang, C.-J. und Wenkert, E. (1974) *Phytochemistry* **13**, 1279.
9. Sierra, M. G., Mascaretti, O. A., Merkuza, V. M., Tosti, E. L., Ruveda, E. A. und Chang, C.-J. (1974) *Phytochemistry* **13**, 2865.
10. Ikutari, Y., Okuda, T. und Akabori, S. (1960) *Bull. Chem. Soc. Japan* **33**, 582.
11. Harada, K. (1966) *J. Org. Chem.* **31**, 1407.
12. Fehlhaber, H.-W. (1968) *Z. Anal. Chem.* **235**, 91.
13. Shaw, K. N. F. und Fox, S. W. (1953) *J. Am. Chem. Soc.* **75**, 3421.
14. Fahmy, A. R., Niederwasser, A., Pataki, G. und Brenner, M. (1961) *Helv. Chim. Acta* **44**, 2012.
15. Greenstein, J. P. und Winitz, M. (1961) *Chemistry of Amino Acids*, Vol 1 p. 1786. Wiley, New York.