

SCHIZANTHIN A UND B, ZWEI NEUE TROPANALKALOIDE AUS SCHIZANTHUS PINNATUS

HELMUT RIPPERGER

Institut für Biochemie der Pflanzen, Forschungszentrum für Molekularbiologie und Medizin der Akademie der Wissenschaften der DDR, Halle (Saale), DDR

(Eingegangen 27 April 1978)

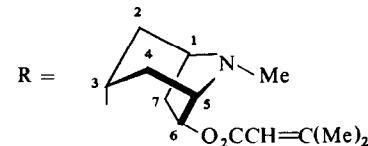
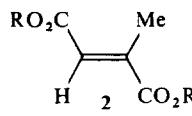
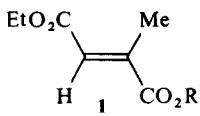
Key Word Index—*Schizanthus pinnatus*; Solanaceae; alkaloids; schizanthine A; schizanthine B; tropane esters; senecioic acid; mesaconic acid.

In Blättern und Stengeln von *Schizanthus pinnatus* Ruiz et Pav. wurden dragendorffpositive Substanzen gefunden [1]. Eine Untersuchung dieser Verbindungen schien besonders deshalb interessant, weil die Gattung *Schizanthus* innerhalb der Solanaceen eine sehr isolierte Stellung einnimmt und ihre systematischen Beziehungen unklar sind [2]. Durch DC ließen sich 7 Alkaloide nachweisen; davon wurden Schizanthin A und B mit Hilfe von Adsorptions- und Verteilungschromatographie isoliert. Wie im folgenden beschrieben wird, stehen die Strukturen 1 und 2 mit den spektroskopischen Eigen-

Die Verhältnisse werden zusammen mit den Ergebnissen bei der Strukturermittlung von Schizanthin B diskutiert (vgl. unten).

Hydrolyse von Schizanthin A ergab (+)-Tropan-3 α , 6 β -diol [10], dem (3R:6R)-Konfiguration zukommt [11].

Die Absorption von Schizanthin B bei 1723 und 1645 cm^{-1} sowie 221 nm beruht auf der Anwesenheit der α, β -ungesättigten Säurereste. Die Stärke der UV-Bande entspricht drei solchen Gruppen. Nach MS besitzt das Alkaloid die Summenformel $\text{C}_{31}\text{H}_{44}\text{N}_2\text{O}_8$. Die Fragmentierung steht mit einer 3,6-Diacyloxytropan-Struktur



schaften der Alkaloide und dem Ergebnis ihrer Hydrolyse in Einklang. Es handelt sich somit um Tropanalkaloide, von denen andere Vertreter vor allem aus mehreren Solanaceen-Gattungen isoliert wurden. Schizanthin A und B sind Ester der Mesoconsäure, die bisher bei Tropanalkaloiden noch nicht angetroffen wurde. Über das Vorkommen von Seneciosäuretropinester in *Dioscorea hispida* wurde dagegen berichtet [3].

Die Absorption von Schizanthin A bei 1720 und 1655 cm^{-1} sowie 221.5 nm ist auf die α, β -ungesättigten Säurereste zurückzuführen. Die Stärke der UV-Bande entspricht zwei derartigen Gruppen [4]. Die Summenformel ergab sich durch hochauflösende MS zu $\text{C}_{20}\text{H}_{29}\text{NO}_6$. Die Fragmentierung bewies eine 3,6-Diacyloxytropan-Struktur (vgl. experimentellen Teil). Im Elektronen-anlagerungs-MS [5] sind neben M^- die Säureanionen **a** und **b** (vgl. Abbildung 1) zu erkennen, was den Verhältnissen bei Atropin [5] entspricht. Die Fragmente bei 82, 94, 95 und 96 im Elektronenstoß-MS sind für 3,6-Diacyloxytropane typisch [4, 6, 7]. Die Peaks bei 122 und 138 bewiesen die Substitution im Pyrrolidinring [4, 6]. Ionen vom Typ **d** sind relativ stabil [3, 4]. Die Intensität des Fragments m/e 222 (49 %) zeigte, daß der Senecioyloxyrest an C-6 gebunden ist. Das analoge Ion, das durch Abspaltung des Senecioyloxyrests entsteht, ist bei m/e 280 zu erwarten. Die Intensität bei diesem Wert (0.5 %) entspricht jedoch nur dem Isotopenpeak des Fragments 279.

Über die Art der Säurereste gab die PMR Auskunft.

in Übereinstimmung (vgl. experimentellen Teil). Im Elektronen-anlagerungs-MS sind neben M^- die Säureanionen **a** und **b** zu erkennen. Das intensive Fragment **d** ($I = 58\%$) im Elektronenstoß-MS zeigte, daß der Senecioyloxyrest wie bei Schizanthin A an C-6 gebunden ist. Allerdings besitzt bei Schizanthin B das analoge Ion, das durch Abspaltung eines Senecioyloxyrests entsteht, die Intensität von 19 %. Dabei ist aber zu berücksichtigen, daß Schizanthin B zwei Senecioyloxyreste besitzt.

Die Konstitution und Stereochemie der Säurereste ergab sich aus der PMR. Die Zuordnung der Signale der vinylichen Protonen und Methylgruppen zur Mono- und Dicarbonsäure erfolgte mit Hilfe von INDOR-Messungen, wobei die Methylsignale bei δ 1.83, 1.90 und 2.18 ppm als Monitorlinien gewählt wurden. Es zeigte sich, daß die Methylgruppe bei 1.83 ppm mit dem Proton bei 6.82 ppm koppelt. Die beiden weiteren Methylgruppen koppeln mit dem Proton bei 5.67 ppm. Es handelt sich ausschließlich um Allylkopplungen. Das erstgenannte Spinsystem entspricht der Dicarbonsäure. Aufgrund der chemischen Verschiebung des olefinischen Protons handelt es sich um Mesoconsäure; für Mesocon- bzw. Citraconsäuredimethylester sind 6.69 bzw. 5.75 ppm (CCl_4) beschrieben worden [8]. Die Monocarbonsäure, die mit dem zweiten Spinsystem zu korrelieren ist, kann nur Seneciosäure sein, da bei Tiglin- und Angelicasäure vicinale Kopplungen vorliegen müssen. Die chemischen Verschiebungen aller drei Signale stimmen mit den erwarteten Werten gut überein.

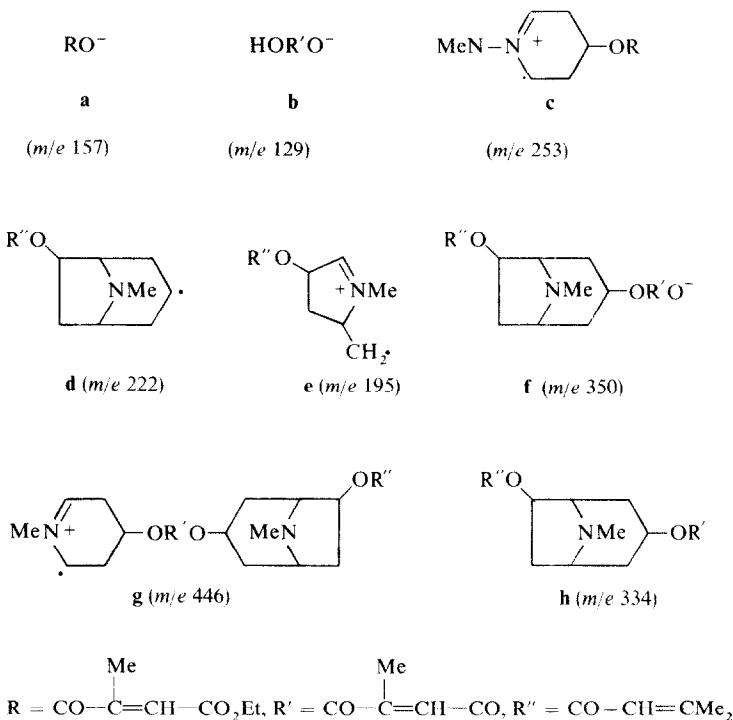


Abbildung 1. Massenspektroskopische Fragmentierung von Schizanthin A und B.

Beispielsweise wurden für einen Seneciosäureester die Werte 1.87, 2.14 und 5.52 ppm (CDCl_3) gefunden [9]. Diese Analyse ist in Einklang mit der Beobachtung, daß die Singuletts bei 1.90 und 2.18 ppm breiter sind als das Singulett bei 1.83 ppm.

Die Zuordnung der Signale von Schizanthin A bei 5.62 und 6.69 ppm zu den olefinischen Protonen der Mono- und Dicarbonsäure wird durch ihre Halbbandenbreiten gestützt, die 12 bzw. 5 Hz betragen. Die chemischen Verschiebungen entsprechen Senecio- und Mesaconsäure. Ungeklärt ist, an welche Carboxylgruppe der Mesaconsäure Tropandiol gebunden ist. Ein zusätzliches CH_3 -Singulett bei 1.93 ppm neben den Signalen bei 1.81, 1.88 und 2.18 ppm kann mit dem Vorliegen beider Isomerer (1 und Isomeres) erklärt werden.

Hydrolyse von Schizanthin B lieferte (3*R*:6*R*)-Tropan-3*α*,6*β*-diol. Aus diesen Befunden ergab sich Struktur 2 für Schizanthin B.

Es ist unwahrscheinlich, daß Schizanthin A durch Äthanolyse von Schizanthin B während der Aufarbeitung entstanden ist, denn nach 7tägigem Stehen der äthanolischen Lösung von Schizanthin B bei Raumtemperatur konnte Schizanthin A nicht nachgewiesen werden.

EXPERIMENTELLES

Pflanzenmaterial. Das Samenmaterial stammt aus dem Sortiment des Zentralinstituts für Genetik und Kulturpflanzenforschung der Akademie der Wissenschaften der DDR, Gatersleben. Die Pflanzen wurden in Halle (Saale) im Freiland angebaut. Vergleichsmaterial befindet sich im Besitz des Autors.

Rohalkaloid. An der Luft getrocknete Blätter und Stengel wurden mit MeOH bei Raumtemperatur extrahiert. Nach Einengen des Extrakts i.Vak. versetzte man den Rückstand mit

0.5 N HCl, reinigte durch Ausschütteln mit C_6H_6 -Et₂O (1:1), versetzte mit NH₃ und extrahierte mit CHCl₃-EtOH (2:1). Abdampfen des Lösungsmittels i.Vak. ergab öliges Alkaloidgemisch in einer Ausbeute von 0.67%.

Schizanthin A (1). Das Rohalkaloid wurde an Si gel mit Cyclohexan-CHCl₃-NEt₃ (40:10:1) sowie anschließend an Silicium mit C₆H₆ chromatographiert. Man erhielt 1 als farbloses Öl in 0.0038 proz. Ausbeute; $[\alpha]_D^{22} -24.6^\circ$ (CHCl₃; c 0.92); $R_f = 0.49$ [Si gel G, Cyclohexan-CHCl₃-NEt₃ (5:4:1), v_{ClCl₄} cm⁻¹: 1720, 1655, 1265, 1230, 1150 (C=C-CO₂R), $\lambda_{\text{max}}^{\text{ECD}}$ nm (log ϵ): 221.5 (4.43), PMR (100 MHz, CCl₄, TMS): δ 1.33 (t , $J = 7$ Hz, OCH₂CH₃), 1.81 (s, CH₃ von Mesoconsäure), 1.88 (s, CH₃ von Seneciosäure), 1.93 (s, CH₃ von Mesoconsäure; vgl. Diskussion im allgemeinen Teil), 2.18 (s, CH₃ von Seneciosäure), 2.45 (s, NCH₃), 3.20 (m, NCH), 4.25 (q , $J = 7$ Hz, OCH₂CH₃), 5.00 (m, 3-H [6]), 5.43 (m, 6-H [6]), 5.62 (m H von Seneciosäure), 6.69 ppm (m, H von Mesoconsäure). Electro-nenanlagerungs-MS 2-4 eV m/e (rel. Int.): 379 (M⁺; 100), 157 (a; 44), 129 (b; 18). Elektronenstoß-MS 70 eV m/e (rel. Int.): 379.1991 (berechnet für C₂₀H₂₉NO₅, 379.1995, M⁺; 7), 334.1664 (berechnet für C₁₈H₂₄NO₅, 334.1654, M - OC₂H₅; 3), 306.1695 (berechnet für C₁₇H₂₄NO₄, 306.1705, M - C₃H₅O₂; 2), 296.1510 (berechnet für C₁₅H₂₂NO₅, 296.1498, M - Senecioyl; 2), 279.1466 (berechnet für C₁₅H₂₁NO₄, 279.1470, M - Seneciosäure; 5), 253.1307 (berechnet für C₁₃H₁₉NO₄, 253.1314; e; 5), 238.1425 (berechnet für C₁₃H₂₀NO₃, 238.1443, d + O; 38), 222.1482 (berechnet für C₁₃H₂₀NO₂, 222.1494, d; 49), 221.1431 (berechnet für C₁₃H₁₉NO₂, 221.1416, M - H₅C₂O₂ CCH=C(CH₃)CO₂H; 33), 195.1256 (berechnet für C₁₁H₁₇NO₂, 195.1259, e; 18), 138.0926 (berechnet für C₈H₁₂NO, 138.0919, 238 - Seneciosäure; 54), 122.0975 (berechnet für C₈H₁₂N, 122.0970, d - Seneciosäure; 95), 121 (221 - Seneciosäure; 38), 96 (44), 95.0737 (berechnet für C₆H₉N, 95.0735; 100), 83.0496 (berechnet für C₆H₈N, 94.0657; 100), 82.0657 (berechnet für C₅H₈O, 83.0497, Senecioyl; 64), 82.0658 (berechnet für C₅H₈N, 82.0657; 43).

Schizanthin B (2). Das Rohalkaloid wurde an Si gel mit $\text{CHCl}_3\text{-NET}_3$ (49:1), anschließend an Kieselgur, das mit 50%

seines Gewichts 0.5 M Phosphatpuffer pH 6.8 imprägniert war [6], mit Pentan und schließlich an Kieselgur, das 50% seines Gewichts 0.5 M Phosphatpuffer pH 5.8 enthielt, mit Et_2O chromatographiert. 2 wurde als amorphes Pulver in 0.014 proz. Ausbeute erhalten: $[\alpha]_{\text{D}}^{22} -64.7^\circ$ (CHCl_3 ; c 0.71); $R_f = 0.09$ [Si gel G, Cyclohexan- CHCl_3 - NEt_3 (5:4:1)] bzw. 0.41 (Si gel G, CHCl_3 - Me_2CO - NEt_3 (5:4:1)]. $\nu_{\text{max}}^{\text{CCl}_4} \text{cm}^{-1}$: 1723, 1654, 1268, 1230, 1150, ($\text{C}=\text{C}-\text{CO}_2\text{R}$). $\lambda_{\text{max}}^{\text{EtOH}} \text{nm}$ ($\log \varepsilon$): 221 (4.52). PMR (100 MHz, CDCl_3 , TMS): δ 1.83 (s, CH_3 von Mesoaconsäure), 1.90 (s, CH_3 von Seneciosäure), 2.18 (s, CH_3 von Seneciosäure), 2.52 (s, NCH_3), 3.27 (m, NCH), 5.12 (m, 3-H [6]), 5.46 (m, 6-H [6]), 5.67 (m, H von Seneciosäure), 6.82 ppm (m, H von Mesoaconsäure). Elektronenansetzung-MS 2-4 eV m/e (rel. Int.): 572 (M^- ; 100), 350 (f; 54), 129 (b; 71). Elektronenstoß-MS 6-16 eV m/e (rel. Int.): 572.3091 (berechnet für $\text{C}_{31}\text{H}_{44}\text{N}_2\text{O}_8$ 572.3098, M^+ ; 62), 489 (M - Senecioyl; 16), 473 (M - Senecioyloxy; 19), 472 (M - Seneciosäure; 16), 446 (g; 49), 352.1757 (berechnet für $\text{C}_{18}\text{H}_{26}\text{NO}_6$ 352.1760, f + 2H^+ ; 49), 346 (g - Seneciosäure; 9), 334 (h; 6), 306 (h - CO; 19), 252 (352 - Seneciosäure; 11), 238 (d + O; 23), 222.1488 (berechnet für $\text{C}_{13}\text{H}_{20}\text{NO}_2$ 222.1494, d; 58), 221 (d - H; 25), 195 (e; 9), 138 (238 - Seneciosäure; 63), 122 (d - Seneciosäure; 79), 121 (221 - Seneciosäure; 34), 96 (65), 95 (100), 94 (100), 83 (Senecioyl; 63), 82 (65).

(3R:6R)-*Tropan-3 α ,6 β -diol*. Die Lösung von 46 mg Schizanthin A in 3.8 ml EtOH wurde im zugeschmolzenen Rohr mit 0.38 g $\text{Ba}(\text{OH})_2$ in 7.5 ml H_2O 5 Std. auf 100° erhitzt. Nach Ansäuern mit verdünnter H_2SO_4 und Zentrifugieren wurde mit Et_2O ausgeschüttelt. Man neutralisierte die wäßrige Phase mit BaCO_3 , zentrifugierte und engte i. Vak. ein. Pikrat: aus H_2O , dann aus MeOH - Et_2O 26 mg (55%) vom Schmp. 250-254° (Zers.) (Lit. [12]: Schmp. 252°). Freie Base: Die wäßrige Lösung des Pikrats wurde mit H_2SO_4 schwach angesäuert, Pikrinsäure mit viel Et_2O ausgeschüttelt, die wäßrige Phase mit BaCO_3 neutralisiert, zentrifugiert und i. Vak. eingeengt. Den Rückstand extrahierte man mit EtOH: Schmp. 210° (aus EtOH- Et_2O), $[\alpha]_{\text{D}}^{22} +14.9^\circ$ (EtOH; c 0.28) (Lit. [10]: Schmp. 209-210°, $[\alpha]_{\text{D}}$

+24° (EtOH). - Bei Hydrolyse von Schizanthin B erhielt man das Pikrat in 65 proz. Ausbeute. Es erwies sich nach Schmp., IR bzw. Schmp. und $[\alpha]_{\text{D}}$ der freien Base als identisch mit dem Produkt aus Schizanthin A.

Anerkennung—Herrn Dr. J. Kruse, Gatersleben, danke ich für Samen von *S. pinnatus*, Herrn Dr. H. Meyer, Halle, für INDOR-Messungen und den Herren Professor Dr. H. Budzikiewicz, Köln, und Dr. P. Franke, Berlin für die hochauflösenden MS-Messungen sehr herzlich.

LITERATUR

1. Aurich, O., Osske, G., Pufahl, K., Romeike, A., Rönsch, H., Schreiber, K. und Sembdner, G. (1965) *Kulturpflanze* **13**, 621.
2. Takhtajan, A. (1973) *Evolution und Ausbreitung der Blütenpflanzen*. VEB Gustav Fischer, Jena.
3. Döpke, W. (1976) *Ergebnisse der Alkaloid-Chemie 1960-1968*. Akademie-Verlag, Berlin.
4. Evans, W. C. und Major, V. A. (1966) *J. Chem. Soc. (C)* 1621.
5. von Ardenne, M., Steinfelder, K. und Tümler, R. (1971) *Elektronenansetzung-Massenspektrographie organischer Substanzen*. Springer, Berlin.
6. Evans, W. C. und Lampard, J. F. (1972) *Phytochemistry* **11**, 3293.
7. Blossey, E. C., Budzikiewicz, H., Ohashi, M., Fodor, G. und Djerassi, C. (1964) *Tetrahedron* **20**, 585.
8. Jackman, L. M. und Wiley, R. H. (1960) *J. Chem. Soc.* 2886.
9. Herz, W., Aota, K. und Hall, A. L. (1970) *J. Org. Chem.* **35**, 4117.
10. Fodor, G. und Kovács, Ö. (1953) *J. Chem. Soc.* 2341.
11. Fodor, G. (1967) in *The Alkaloids, Chemistry and Physiology* (Manske, R. H. F., ed.) Vol. IX. Academic Press, New York.
12. Boit, H.-G. (1961) *Ergebnisse der Alkaloid-Chemie bis 1960*, Akademie-Verlag, Berlin.