

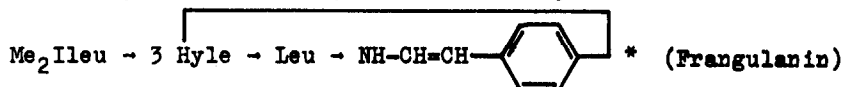
ALKALOIDE AUS RHAMNACEEN, V¹
 FRANGANIN UND FRANGUFOLIN, ZWEI WEITERE PEPTID-ALKALOIDE
 AUS RHAMNUS FRANGULA L.²

Rudolf Tschesche und Hartmut Last

Organisch-Chemisches Institut der Universität Bonn

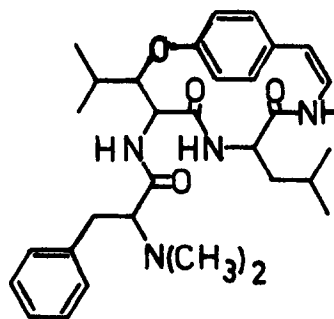
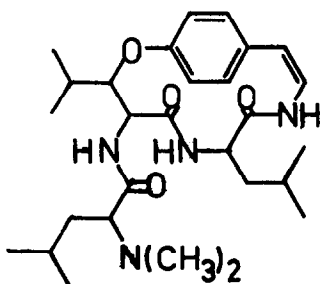
(Received in Germany 13 March 1968; received in UK for publication 20 March 1968)

Wie früher beschrieben³, konnten in der Rinde von Rhamnus frangula L. (Rhamnaceae) 6 mit Dragendorffs-Reagenz⁴ anfärbbare Inhaltsstoffe festgestellt werden. Außer für das Hauptalkaloid Frangulanin³ konnte jetzt die Struktur eines



weiteren Alkaloids aus der Rinde, von uns als Franganin bezeichnet, ermittelt werden. Es handelt sich um die zuvor³ mit dem R_F-Wert 0.96 erwähnte Komponente (chromatographiert auf Kieselgel-PF₂₅₄-Schichten im System Chloroform/Methanol (9:1)). Etwa 100 kg Rinde ergaben 50 mg Franganin. Zusätzlich konnte in frischen Blättern von Rhamnus frangula, die Mitte Oktober in der Umgebung von Bonn gesammelt worden waren, eine siebente mit Dragendorffs-Reagenz braun anfärbbare Komponente beobachtet werden. Dieses im obengenannten System mit der Lösungsmittelfront laufende Alkaloid, von dem wir aus 10 kg Blättern 60 mg isolierten, erhielt den Namen Frangufolin.

Beide Alkaloide lassen sich in die Reihe der bereits aufgeklärten durch eine Ätherbrücke cyclisierten Peptid-Alkaloide^{1,3,5} einordnen, es kommen ihnen die Strukturen (1) bzw. (2) zu.



Isolierung und Eigenschaften: Die aus der Rinde erhaltenen Rohalkaloide³ wurden durch Chromatographie an Aluminiumoxyd der Aktivitätsstufe IV von Farbstoffen weitgehend befreit und das Franganin mittels präparativer Schichtchromatographie an Kieselgel-PF₂₅₄-Schichten im System Chloroform/Methanol 9:1 abgetrennt. Letzte Farbstoffreste entfernte man durch mehrfaches Ausschütteln mit viel Petroläther (40°-60°) gegen wenig Methanol, dabei wurde der Farbstoff in der Methanolphase angereichert. Franganin ließ sich aus Petroläther (80°-110°) in farblosen Nadeln vom Schmp. 248° (beginnende Sublimation um 210°) kristallisieren; $[\alpha]_D^{22} = -302^\circ$ (c = 0,1; Chloroform). Das Molekulargewicht beträgt (massenspektrometrisch bestimmt) 500, die Summenformel wurde durch hochauflösende Massenspektrometrie zu $C_{28}H_{44}N_4O_4$ ermittelt.

Von der aus den Blättern gewonnenen Rohbasenfraktion ließ sich Frangufolin durch präparative Schichtchromatographie im System Chloroform/Methanol 20:1 isolieren. Es wurde mit Äther von Chlorophyll befreit. Aus Äthanol/Wasser oder Methylenchlorid/Methanol/Äther erhielt man farblose Nadeln vom Schmp. 244° (beginnende Sublimation um 200°); $[\alpha]_D^{22} = -299^\circ$ (c = 0,1; Chloroform). Das Massenspektrum lieferte das Molekulargewicht 534, die durch hochauflösende Massenspektrometrie ermittelte Summenformel betrug $C_{31}H_{42}N_4O_4$.

Die IR-, UV- und CD-Spektren stimmen weitgehend mit denen der bekannten Cyclopeptid-Alkaloide überein³. Das NMR-Spektrum in $CDCl_3$ von Franganin (1) zeigt ein charakteristisches Singulett für N,N-Dimethyl-Protonen bei $\tau = 7.75$. Im NMR-Spektrum von Frangufolin (2) findet man 2 überlagerte Dubletts für die Methyl-Protonen des Leucins bei $\tau = 9.35$ und 9.40 ($J = 5.5$ Hz), 2 weitere Dubletts für die Methyl-Protonen des β -Hydroxyleucins bei $\tau = 8.75$ und 9.01 ($J = 6.5$ Hz) und außerdem das typische Singulett für die N,N-Dimethyl-Gruppierung bei $\tau = 7.77$; ferner erkennt man 2 olefinische Protonen um $\tau = 3.5$ und 9 aromatische Protonen bei $\tau = 2.7 - 3.0$.

Beide Alkaloide entfärbten alkalische Kaliumpermanganatlösung auf Grund der vorhandenen C=C-Doppelbindung. Es gelang, beide Verbindungen über vorreduziertes Platinoxid in Methanol katalytisch in Dihydroderivate zu überführen. Dihydrofranganin lieferte aus Methanol/Wasser farblose Nadeln vom Schmp. 281°;

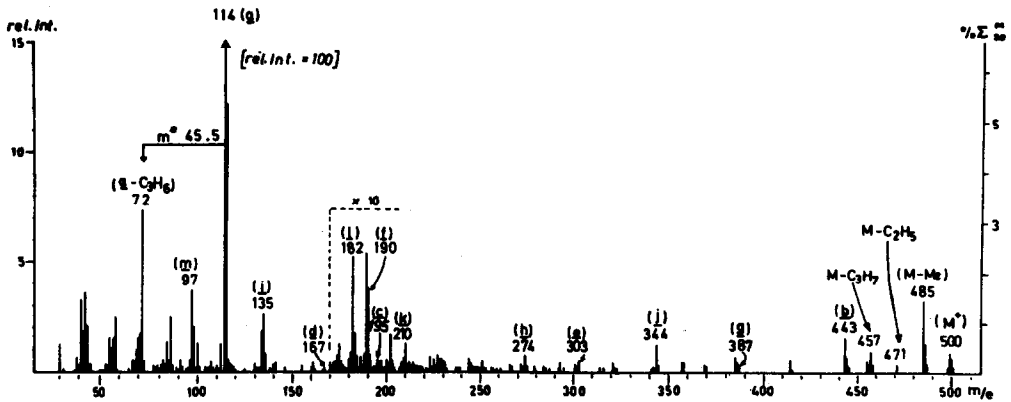
$[\alpha]_D^{22} = -58^\circ$ ($c = 0,1$; Chloroform). Dihydrofrangufolin kristallisierte aus dem gleichen Lösungsmittelgemisch in farblosen Nadeln vom Schmp. 285° (beginnende Sublimation bei 200°); $[\alpha]_D^{22} = -66^\circ$ ($c = 0,1$; Chloroform)

Hydrolysen.

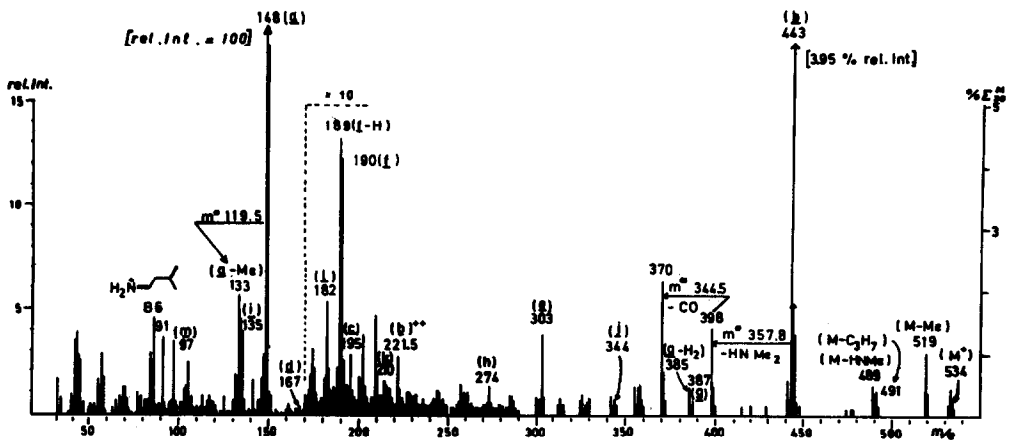
Durch Hydrolyse der beiden Alkaloide mit 6 n-HCl im Bombenrohr bei 110° erhielt man jeweils 4 Aminosäuren. Der chromatographische Vergleich mit authentischen Verbindungen auf Celluloseplatten⁶ in verschiedenen Systemen zeigte, daß es sich in (1) um β -Hydroxyleucin, Leucin, Glycin und N.N-Dimethylleucin handelt, während bei (2) die Aminosäuren β -Hydroxyleucin, Leucin, Glycin und N.N-Dimethylphenylalanin identifiziert werden konnten**. Das Glycin ist offensichtlich unter den Hydrolysebedingungen aus β -Hydroxyleucin⁸, entstanden. Dieses gehört, wie durch vergleichende Chromatographie⁹ gezeigt werden konnte, der threo-Reihe an. In den Hydrolysaten der Dihydroderivate konnte zusätzlich p-Tyramin aufgefunden und über das UV-Spektrum des Kupplungsproduktes mit Diazosulfanilsäure¹⁰ ($\lambda_{\max} = 319 \text{ m}\mu$) identifiziert werden.

Massenspektren.***

Franganin (1) und Frangufolin (2) lassen sich zwanglos in das für Alkaloide dieses Typs geltende Fragmentierungsschema^{3,5,8,11} einordnen. Die Massenspektren beider Alkaloide weisen eine große Ähnlichkeit mit dem des Hauptalkaloids Frangulanin³ auf. Sämtliche Fragmente des Frangulanins, die für die Struktur des Ringsystems und die Anknüpfung der Seitenkette charakteristisch sind, findet man in den Spektren von (1) und (2) wieder. Als wichtige Unterschiede zum Frangulanin treten lediglich die für die N.N-Dimethyl-aminosäuren typischen, sehr intensiven Bruchstücke $R-\text{CH}=\overset{+}{\text{N}}\text{Me}_2$ sowie M-R und deren Sekundärfragmente hervor: Bei (1) sind dies der base peak m/e 114 $[\text{C}_2\text{H}_5\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}=\overset{+}{\text{N}}\text{Me}_2]$, dessen für N.N-Dimethylleucin typisches Sekundärfragment m/e 72 $[\text{CH}_2=\text{CH}-\overset{+}{\text{N}}\text{Me}_2]$ ^{15,8} und der Peak m/e 443 $[M-\text{C}_4\text{H}_9]$, bei (2) der base peak m/e 148 $[\text{C}_6\text{H}_5-\text{CH}_2-\text{CH}=\overset{+}{\text{N}}\text{Me}_2]$, das mit 4% relativer Intensität ungewöhnlich häufige Bruchstück m/e 443 $[M-\text{C}_6\text{H}_5\text{CH}_2]$, sowie einige Sekundärfragmente hiervon $[m/e 443 - \text{HNMe}_2]$, $m/e 443 - \text{HNMe}_2 - \text{CO}]$. Damit müssen alle drei Alkaloide das gleiche 14-gliedrige Ringsystem aufweisen. Sie unterscheiden sich lediglich durch die N.N-Dimethyl-



Massenspektrum des Franganins



Massenspektrum des Frangulolins

(die Bezeichnung der Ionen entspricht der früher getroffenen Zuordnung^{3,5g})

aminosäuren: Frangulanin besitzt N.N-Dimethylisoleucin, Franganin (1) N.N-Dimethyllleucin und Frangufolin (2) enthält N.N-Dimethylphenylalanin, (1) bzw. (2) stellen damit in Bezug auf die ringständige α -Aminosäure Isomere des Adouetins X^{5h} bzw. Adouetins Y^{5h} dar. Der Unterschied der Alkaloide besteht darin, daß die aus Rhamnus frangula L. isolierten Verbindungen Leucin im Ringsystem enthalten, während die aus Waltheria americana L. gewonnenen Isoleucin an der gleichen Stelle eingebaut enthalten. Da sich ein Unterschied zwischen Leucin und Isoleucin in Bezug auf die ringständige Aminosäure im Massenspektrum nicht auswirkt^{3,11}, ist zu erwarten, daß die Massenspektren von (1) und (2) mit denen vom Adouetin X bzw. Adouetin Y' gleich sind. Soweit man es den publizierten Daten^{5h} entnehmen kann, trifft dies zu.

Herrn Dr.H.-W.Fehlhaber danken wir sehr für die Aufnahme und Diskussion der Massenspektren, Herrn Dr.G.Legler für mannigfache Anregungen, der Stiftung Volkswagenwerk für die zur Anschaffung des Massenspektrometers bereitgestellten Mittel und der Deutschen Forschungsgemeinschaft für Sachmittel.

LITERATUR

- 1 IV.Mitteilg.: R.Tschesche, E.Frohberg und H.-W.Fehlhaber, Tetrahedron Letters 1968, 1311.
- 2 Auszug aus der Dissertat. H.Last, Univ. Bonn 1968.
- 3 R.Tschesche, H.Last und H.-W.Fehlhaber, Chem.Ber. 100, 3237-3943 (1967).
- 4 R.Munier, Bull.Soc.chim.France 1952, 852.
- 5 a) E.Zbiral, E.L.Ménard und J.M.Müller, Helv.chim.Acta 48, 404 (1965).
b) M.Pais, X.Monseur, X.Lusinchi und R.Goutarel, Bull.Soc.chim.France 1964, 817.
c) M.Pais, F.-X.Jarreau, X.Lusinchi und R.Goutarel, Ann.Chimie 1966, 83.
d) E.W.Warnhoff, J.C.N.Ma und P.Reynolds-Warnhoff, J.Amer.chem.Soc. 87, 4198 (1965).
e) R.Tschesche, R.Welters und H.-W.Fehlhaber, Chem.Ber. 100, 323 (1967).
f) M.Pais, J.Marchand, X.Monseur, F.-X.Jarreau und R.Goutarel, C.R.hebd. Séances Acad.Sci. 264, 1409 (1967).
g) R.Tschesche, J.Rheingans, H.-W.Fehlhaber und G.Legler, Chem.Ber. 100, 3924 (1967).
h) M.Pais, J.Marchand, F.-X.Jarreau und R.Goutarel, Bull.Soc.Chim.France, 1968, im Druck.
- 6 P.Wollenweber, J. of Chromatography, 9, 369 (1962).
- 7 M.Justisz et P. de la Llosa, Bull.Soc.Chim.France 1963, 2913 .
- 8 Th.Wieland, H.Cords und E.Keck, Chem.Ber. 87, 1312 (1954).
- 9 H.A.Buston und J.Bishop, J.biol.Chemistry 215, 217 (1955).
- 10 L.Behrendt, Dissertat. Univ. Bonn 1968.
- 11 H.W.Fehlhaber, Z.Analyt.Chem., im Druck.

* Die Nomenklatur entspricht den Vorschlägen der IUPAC-IUB Commission on Biochemical Nomenclature, Biochim.biophysica Acta [Amsterdam] 121, 1 (1966).

** Zur Anfärbung der Aminosäuren und bezüglich der verwendeten Lösungsmittelsysteme siehe^{3,7}.

*** Die Massenspektren wurden mit dem Massenspektrometer MS 9 (A.E.I.) durch Verdampfen der Substanz direkt in der Ionenquelle (Temperatur ca. 200°) bei einer Elektronenenergie von 70 eV aufgenommen. Zur exakten Massenbestimmung arbeitete man bei einem Auflösungsvermögen von etwa 14000.