

ALKALOIDE AUS RHAMNACEEN, XI <sup>1)</sup>

Amphibin-A, ein cyclisches Peptidalkaloid aus  
Ziziphus *amphibia* A.Cheval.

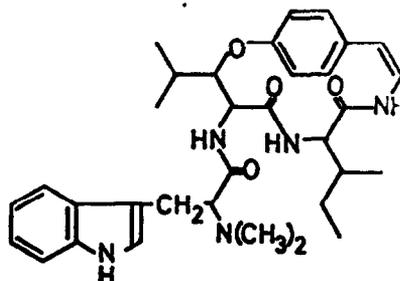
R.Tschesche, E.U.Kaußmann und H.-W.Fehlhaber\*

Institut für Organische Chemie und Biochemie der Universität, D-53 Bonn, Germany

(Received in Germany 13 January 1972; received in UK for publication 31 January 1972)

Aus der Rinde von Ziziphus *amphibia*, einem am Lauf des Niger beheimateten Strauch, wurden fünf neue cyclische Peptidalkaloide, Amphibin-A, -B, -C, -D und -E isoliert. Während Amphibin-A (I) dem am weitesten verbreiteten Peptidalkaloid-Typ mit 14-gliedrigem Ringsystem angehört<sup>2)</sup>, weisen die Alkaloide Amphibin-B, -C, -D und -E einige strukturelle Besonderheiten auf; sie werden daher an anderer Stelle ausführlich behandelt.<sup>3)</sup>

I (Amphibin-A)



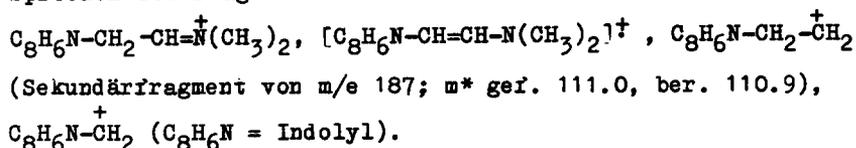
Amphibin-A findet sich in der unpolarsten Fraktion der basischen Inhaltsstoffe von Ziziphus *amphibia*.<sup>4)</sup> Es kristallisiert leicht aus Methylenchlorid/Methanol in farblosen Nadeln vom Schmp. 237-239° (Zers.);  $[\alpha]_D^{20} = -310^\circ$  ( $c = 0,021$  in Methanol). Die Summenformel ergibt sich durch hochauflösende Massenspektrometrie und Elementaranalyse zu  $C_{33}H_{43}N_5O_4$ .

Amphibin-A läßt sich über Palladium auf Aktivkohle in Methanol zu einem Dihydro-Derivat hydrieren. (Nachweis durch hochauflösende Massenspektrometrie). Im Säure-hydrolysat von Dihydro-Amphibin-A wurden papierchromatographisch durch Vergleich mit authentischen Verbindungen 3-Hydroxy-leucin, Isoleucin und p-Tyramin nachgewiesen; letzteres entstammt der ursprünglich im Molekül vorhandenen

\* Neue Anschrift: Farbwerke Hoechst AG, D-6230 Frankfurt 80

p-Hydroxystyrylamineinheit. Der vierte Baustein des Amphibin-A, N,N-Dimethyltryptophan, wird bei der sauren Hydrolyse zerstört und entzieht sich so dem chromatographischen Nachweis.

N,N-Dimethyltryptophan läßt sich jedoch durch die Absorptionsbanden des Indolchromophors im UV-Spektrum ( $\lambda_{\max} = 273 \text{ m}\mu$ ,  $\log \epsilon = 3.82$ ;  $\lambda_{\max} = 281 \text{ m}\mu$ ,  $\log \epsilon = 3.83$ ;  $\lambda_{\max} = 290 \text{ m}\mu$ ,  $\log \epsilon = 3.73$ ; Methanol), durch das Signal der N,N-Dimethylgruppierung im NMR-Spektrum (in  $\text{CF}_3\text{COOH}$ ,  $\tau = 6.8$ , dd, 6 Protonen) sowie durch folgende Peaks im Massenspektrum identifizieren<sup>5</sup>): m/e 187 (base-peak,  $\text{C}_{12}\text{H}_{15}\text{N}_2$ ), m/e 186 ( $\text{C}_{12}\text{H}_{14}\text{N}_2$ ), m/e 144 ( $\text{C}_{10}\text{H}_8\text{N}$ ), m/e 130 ( $\text{C}_9\text{H}_8\text{N}$ ); sie entsprechen den Fragment-Ionen



Aus dem Massenspektrum (Fig. 1\*) wurde nach dem für Peptidalkaloide mit 14-gliedrigem Ring beschriebenen Fragmentierungsschema<sup>6</sup>) die Struktur des Amphibin-A abgeleitet. Von allen nachstehend genannten Bruchstück-Ionen konnten mittels hochauflösender Massenspektrometrie die Summenformeln abgesichert werden.

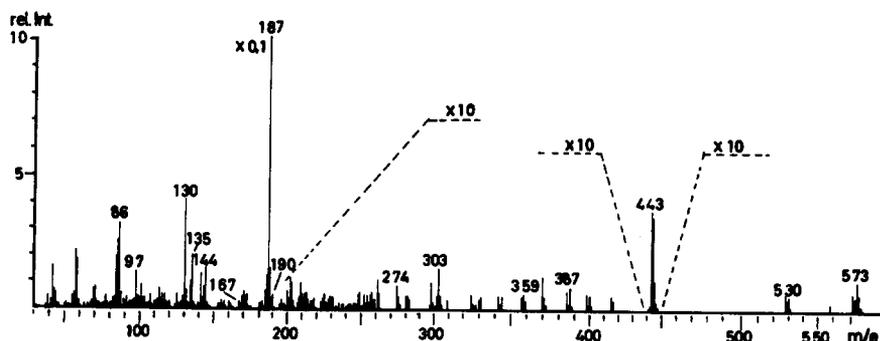
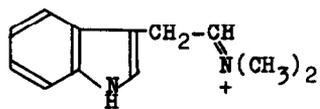
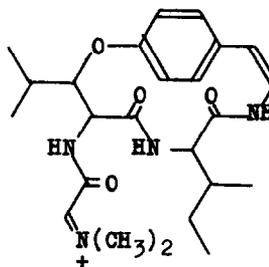


Fig. 1. Massenspektrum des Amphibin-A

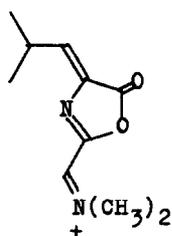
\* Die Aufnahme des Massenspektrums und die Bestimmung der Elementarzusammensetzung für Molekül- und Fragment-Ionen erfolgte mit dem Massenspektrometer MS 9 (A.E.I.) durch direkte Einführung der Substanz in die Ionenquelle (Temperatur  $175^\circ\text{C}$ , Elektronenenergie 70 eV).



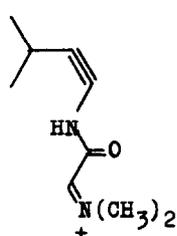
a m/e 187



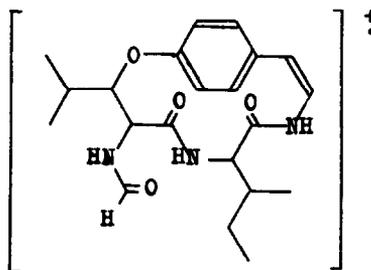
b m/e 443



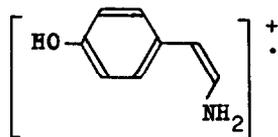
c m/e 195



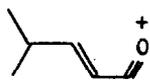
d m/e 167



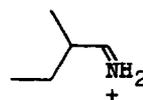
g m/e 387



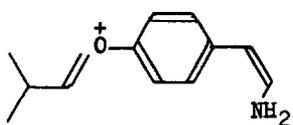
i m/e 135



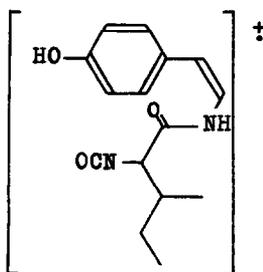
m m/e 97



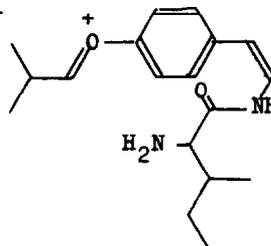
m/e 86



f m/e 190



h m/e 274



e m/e 303

Den base peak des Spektrums liefert das Aminfragment des endständigen N,N-Dimethyltryptophans (m/e 187, a). \* Die Ionen i (m/e 135) und m (m/e 97) sowie das Aminfragment m/e 86 kennzeichnen die Einzelbausteine p-Hydroxystyrylamin, Hydroxyleucin und Isoleucin. Das Ion p (m/e 443) liefert die Sekundärbruchstücke c (m/e 195) und d (m/e 167), die den Zusammenhang zwischen der Seitenketten-Aminosäure und dem im Ring eingebauten Hydroxyleucin zeigen. Die Ionen r (m/e 190) und n (m/e 274) zeigen, daß das p-Hydroxystyrylamin einerseits mit dem  $\beta$ -Hydroxyleucin veräthert, andererseits mit dem Isoleucin amidartig verbunden ist. Das Ion e (m/e 303) enthält alle drei Gruppen in dieser Anordnung. Die Ionen j, k und l aus dem Fragmentierungsschema<sup>6)</sup> sind nicht sicher nachweisbar. Das Fehlen dieser Ionen wurde vor allem bei Peptidalkaloiden mit einer um eine Aminosäure verlängerten Seitenkette beobachtet.<sup>7)</sup> Bei Amphibin-A dürfte das endständige N,N-Dimethyltryptophan, das einen hohen Anteil der Ionenausbeute beansprucht, dafür verantwortlich sein, daß weniger bevorzugte Fragmentierungen nicht mehr wahrnehmbar sind.

Der Stiftung Volkswagenwerk danken wir für die zur Anschaffung des Massenspektrometers bereitgestellten Mittel, der Deutschen Forschungsgemeinschaft für die Gewährung von Sachmitteln.

### Literatur

- 1) X.Mitteilung: R.Tschesche, E.Ammermann und H.-W.Fehlhaber, Tetrahedron Letters 46, 4405 (1971)
- 2) E.W.Warnhoff, Peptide Alkaloids, in Fortschr. der Chemie organischer Naturstoffe, Bd. 28, 162 (1970), Springer-Verlag Wien-New York
- 3) R.Tschesche, E.U.Kaufmann und H.-W.Fehlhaber, Chem.Ber., im Druck
- 4) Die experimentellen Einzelheiten finden sich bei E.U.Kaufmann, Dissertation, Universität Bonn 1971
- 5) vgl. H.F.Grützmacher, Apotheker-Ztg. 106, 377 (1966)
- 6) H.-W.Fehlhaber, Z.Anal.Chem. 235, 91 (1968); R.Tschesche, J.Rheingans, H.-W.Fehlhaber und G.Legler, Chem.Ber. 100, 3924 (1967)
- 7) M.Pais und F.-X.Jarreau in Chemistry and Biochemistry of Aminoacids Peptides and Proteins, (Herausg. B.Weinstein), Vol. 1, Marcel Dekker Inc. New York 1971.

---

\* Die Kennzeichnung der Ionen entspricht der im zitierten Fragmentierungsschema.<sup>6)</sup>