

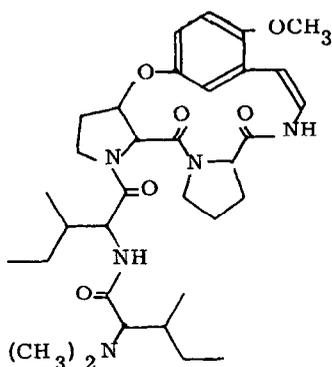
ALKALOIDE AUS RHAMNACEEN, XVI <sup>1)</sup>

Über die Struktur des Zizyphins-A

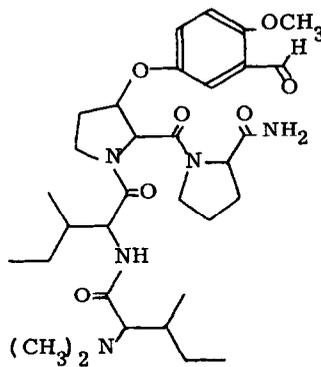
R. Tschesche, E. U. Kaußmann und G. Eckhardt

Institut für Organische Chemie und Biochemie der Universität, D-53 Bonn, Germany  
(Received in Germany 9 May 1973; received in UK for publication 1 June 1973)

Die für Zizyphin, das Hauptalkaloid aus *Zizyphus oenoplia* Mill., angegebene Struktur <sup>2)</sup>, die sich signifikant von der aller anderen bekannten Cyclopeptidalkaloide unterscheidet <sup>3)</sup>, wird berichtigt. Da die Rinde von *Zizyphus oenoplia* neben den bereits isolierten noch eine Reihe weiterer bisher unbekannter Peptidalkaloide enthält, soll das Hauptalkaloid, dessen Struktur nunmehr mit (I) beschrieben wird, als Zizyphin-A bezeichnet werden.



I Zizyphin-A



II Zizyphin-A-Aldehyd

Zizyphin-A (I) enthält ebenfalls das für die meisten Peptidalkaloide charakteristische Ringsystem aus Styrylamin bzw. Derivaten davon und zwei Aminosäuren, es entspricht damit im Strukturtyp dem kürzlich beschriebenen Mucronin-D <sup>1)</sup>. Bei der im Ringsystem eingebauten Hydroxyaminosäure handelt es sich um *trans*-3-Hydroxyprolin.

Zizyphin-A (Fp. 124-126°, krist. aus Chloroform/Petroläther,  $[\alpha]_D^{20} = 411^\circ$ ,  $c = 0,086$  in Chloroform,  $C_{33}H_{49}N_5O_6$ , massenspekt.) wurde aus dem nach früher beschriebenen Verfahren gewonnenen Alkaloid-Gemisch durch stufenweise Chromatographie an Kieselgel isoliert. IR-, UV- und NMR-Spektren und auch das Massenspektrum stimmen mit den bisher publizierten Daten überein <sup>2)</sup>.

Der chromatographische Nachweis des *trans*-3-Hydroxyprolins wurde nach dem bei den Amphibinen-B bis -E <sup>4)</sup> und dem Mucronin-D <sup>1)</sup> angewandten Verfahren geführt. Es ließ sich unter Verwendung authentischer Vergleichssubstanzen nicht nur nach Anfärbung, sondern auch nach  $R_f$ -Wert deutlich vom 4-Hydroxyprolin unterscheiden. Der chromatographische Befund wurde durch NMR-Messungen gestützt: Das Dublett bei  $\delta$  4,4 ( $J = 4,2$  Hz) <sup>2)</sup> ist dem C-2-Proton

des 3-Hydroxyprolins zuzuordnen. Es entsteht, wie Doppelresonanzversuche zeigen, durch Kopplung mit dem C-3-Proton ( $-\text{CH}_2-\text{CH}(\text{OR})-\text{CH}$ ,  $\delta$  5,25) der Hydroxyaminosäure und ist so von dem entsprechenden Signal des Prolins unterscheidbar. 4-Hydroxyprolin würde anstelle des Dubletts ein Multiplett erwarten lassen (zur Koppelkonstante vergl. Diskussion l. c.<sup>4</sup>).

Das Massenspektrum des Zizyphins-A ist denen der Amphibine-B bis -E, der Mauritine A und B<sup>5</sup>) und des Mucronins-D weitgehend analog. (Tabelle 1). Die Seitenkette aus N,N-Dimethylisoleucin und Isoleucin ist nicht mit dem Stickstoff des Styrylamins, sondern mit dem Hydroxyprolin verknüpft ( $\underline{k}$ ,  $\underline{n}$ ,  $\underline{o}$ ). Aromat, Prolin und Hydroxyprolin bilden einen Ring ( $\underline{f}$  -  $\underline{j}$ ), der aus den sich überlappenden Bruchstücken  $\underline{p}$  -  $\underline{u}'$  rekonstruiert werden kann. Das Ion  $\underline{u}'$  tritt in der hier beschriebenen Form bei den Peptidalkaloiden von analogem Strukturtyp nicht auf, es wurde aber im Massenspektrum des ebenfalls Prolin im Ring enthaltenden Centhiumin<sup>6</sup>) gefunden. Die Summenformeln aller in der Tabelle aufgeführten Fragmente sind durch hochauflösende Massenspektrometrie abgesichert.

Nach oxidativer Spaltung der Doppelbindung in I mit  $\text{OsO}_4/\text{NaJO}_4$  in wässr. Aceton<sup>1</sup>) entstand die entsprechende Dicarboxylverbindung ( $\text{M}^+$ : m/e 643), die außerordentlich leicht zum Amido-Aldehyd II hydrolysierte. Das Massenspektrum von II ( $\text{M}^+$ : m/e 615) zeigt die charakteristischen Peaks aller im Zizyphin-A enthaltenen Aminosäuren. McLafferty-Umlagerung liefert für den Aromaten das Ion III und das Tetrapeptid-Ion IV. Der weitere Abbau von IV führt zu den Ionen V, VI und VII und bestätigt die aus dem Massenspektrum des Zizyphins-A abgeleitete Verknüpfung der Aminosäuren

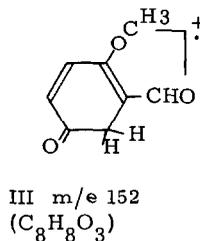
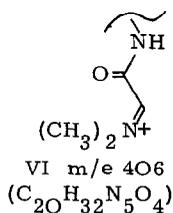
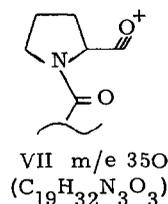
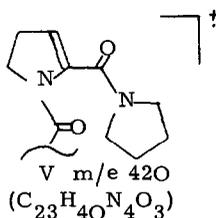
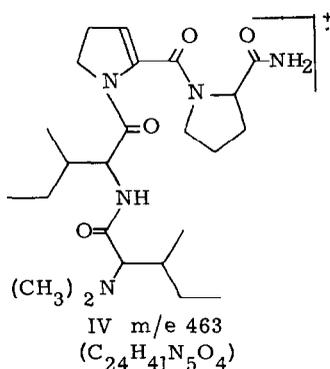
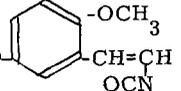
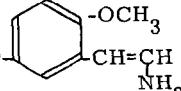
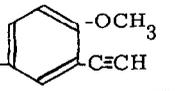
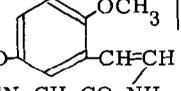


Tabelle: Charakteristische Bruchstück-Ionen im Massenspektrum von Zizyphin-A.  
 In den Formeln steht X für das 13-gliedrige Ringsystem einschließlich 3-Hydroxy-prolin.  
 Die Bezeichnung der Ionen entspricht der in l. c.<sup>1 u. 3)</sup> verwandten.

Ion	Struktur	m/e	Ion	Struktur	m/e
<u>a</u>	$(\text{CH}_3)_2 \overset{\dagger}{\text{N}}=\underset{\text{C}_4\text{H}_9}{\text{C}}\text{H}$	114	<u>m</u>	$(\text{CH}_3)_2 \text{-N-CH-CO-}\overset{\dagger}{\text{N}}\text{H}=\underset{\text{C}_4\text{H}_9}{\text{C}}\text{H}$	227
<u>b</u>	$(\text{CH}_3)_2 \overset{\dagger}{\text{N}}=\text{CH-CO-NH-}\underset{\text{C}_4\text{H}_9}{\text{C}}\text{H-CO-X}$	554	<u>n</u>	$\text{H-CO-NH-}\underset{\text{C}_4\text{H}_9}{\text{C}}\text{H-CO-N}^+$ 	209
<u>c</u>	$\text{H-CO-NH-}\underset{\text{C}_4\text{H}_9}{\text{C}}\text{H-CO-X}^{\dagger}$	498	<u>o</u>	$\text{OCN-}\underset{\text{C}_4\text{H}_9}{\text{C}}\text{H-CO-N}^+$ 	235
<u>d</u>	$\text{OCN-}\underset{\text{C}_4\text{H}_9}{\text{C}}\text{H-CO-X}^{\dagger}$	496	<u>p</u>	 -CO-N 	193
<u>f</u>	$\text{OHC-X}^{\dagger}$	385	<u>q</u>	 -CO-N 	165
<u>g</u>	$^+\text{O}\equiv\text{C-X}$	384	<u>r</u>	 -O- 	259
<u>h</u>	$\text{H}_2\text{-}^+\text{X}$	358	<u>s</u>	 -O- 	233
<u>i</u>	$\text{H-X}^{\dagger}$	357	<u>t</u>	 -O- 	216
<u>i</u>	$\text{X}^+$	356	<u>u</u>	 -O- 	288
<u>k</u>	$(\text{CH}_3)_2 \text{N-}\underset{\text{C}_4\text{H}_9}{\text{C}}\text{H-CO-NH-}\underset{\text{C}_4\text{H}_9}{\text{C}}\text{H-CO-N}^+$ 	324	<u>u'</u>	$\text{HO-}\underset{\text{C}_4\text{H}_9}{\text{C}}\text{H-CO-NH-}\underset{\text{C}_4\text{H}_9}{\text{C}}\text{H-CO-N}^+$  $\text{CH}_2=\text{CH-CH}_2$	
<u>l</u>	$(\text{CH}_3)_2 \text{N-}\underset{\text{C}_4\text{H}_9}{\text{C}}\text{H-CO-NH-}\underset{\text{C}_4\text{H}_9}{\text{C}}\text{H-C}\equiv\text{O}^+$	255			

Das Massenspektrum des Mucronin D-Aldehyds ist analog. Das UV-Spektrum von II gleicht sowohl in neutraler und in saurer Lösung dem des Mucronin-D-Aldehyds und dem vor 2, 5-Dimethoxybenzaldehyd und klärt die Stellung der Substituenten am Aromaten.

Diskussion: Die früheren experimentellen Ergebnisse stehen mit der berichtigten Struktur in Einklang. Die zuvor als Strukturelement des Zizyphins angenommene Diketopiperazin-Einheit dürfte erst unter den drastischen Reaktionsbedingungen (trockene Destillation bei 330°) aus Prolin und Hydroxyprolin entstanden sein. Aus dem Auftreten von 2-Methylbutanal nach Perjodat-Spaltung des zuvor zum Amin reduzierten Alkaloids darf nicht zwingend auf eine sek.-sek.-Amid-Folge im Zizyphin-A geschlossen werden, da auch tert. Amine mit NaJO<sub>4</sub> reagieren<sup>7)</sup>. Darauf, daß das Vorliegen von 3-Hydroxyprolin verschiedene Abbau-Reaktionen des Alkaloids leichter erklärbar macht, wurde schon früher hingewiesen (vgl. l. c.<sup>2)</sup>, Anm. 17, l. c.<sup>3)</sup>, S. 172).

Da die Struktur des Zizyphinins, eines Nebenalkaloids aus *Zizyphus oenoplia*, durch Überführung in Dihydro-Zizyphin vom Zizyphin abgeleitet wurde<sup>8)</sup>, müssen die hier vorgenommenen Korrekturen auch für Zizyphinin gelten.

Wir danken der Stiftung Volkswagenwerk für die zur Anschaffung des Massenspektrometers bereitgestellten Mittel sowie der Deutschen Forschungsgemeinschaft für die Gewährung von Sachmitteln.

#### Literatur

- 1) XV. Mittel. : R. Tschesche, S. T. David, J. Uhlendorf und H. -W. Fehlhäber, Chem. Ber. 105, 3106 (1972)
- 2) E. Zbiral, E. L. Menard und J. M. Müller, Helv. Chim. Acta 48, 404 (1965)
- 3) E. W. Warnhoff, Fortschr. Chem. org. Naturstoffe (Wien) XXVIII, 162 (1971)
- 4) R. Tschesche, E. U. Kaußmann und H. -W. Fehlhäber, Chem. Ber. 105, 3094 (1972)
- 5) R. Tschesche, H. Wilhelm und H. -W. Fehlhäber, Tetrahedron Letters 1972, 2609
- 6) G. Boulvin, R. Ottinger, M. Pais und G. Churdoglu, Bull. Soc. Chim. Belges, 78, 583 (1969)
- 7) vgl. z. B. : H. Möhrle, Arch. Pharmaz. 302, 762 (1969)
- 8) M. Pailer, E. Haslinger und E. Zbiral, Mh. Chem 100, 1608 (1969)