

## ÜBER DIE ALKALOIDE AUS *LOBELIA SYPHILITICA* L.—II<sup>1</sup> SYPHILOBIN A UND SYPHILOBIN F

R. TSCHESCHE, D. KLÖDEN und H. W. FEHLHABER  
Aus dem Organisch-Chemischen Institut der Universität Bonn

(Received 20 July 1964)

**Zusammenfassung**—Die Untersuchung der wasserunlöslichen Basenfraktion aus *Lobelia syphilitica* L. führte zur Isolierung von 2 neuen Alkaloiden, Syphilobin A und Syphilobin F. Die bisherigen Ergebnisse der Strukturaufklärung werden mitgeteilt.

**Abstract**—Investigation of the water insoluble base fraction from *Lobelia syphilitica* L. has led to the isolation of two new alkaloids, Syphilobin A and Syphilobin F; the studies on structural elucidation are described.

*Lobelia syphilitica* L., eine in Nordamerika heimische Lobelia-Art, wurde erstmals 1952 von Steinegger und Egger<sup>2</sup> auf den Alkaloidgehalt untersucht. Sie isolierten ein als Lophilin bezeichnetes Alkaloid, dessen Hydrochlorid die Summenformel  $C_{28}H_{40}N_2O_3Cl_2$  aufwies; weitere Versuche, chromatographisch einheitliche Alkaloide zu isolieren, blieben erfolglos.<sup>3</sup> Die Untersuchungen am hiesigen Institut wurden aufgenommen, als uns vor einigen Jahren grössere Mengen Extrakt dieser Pflanze zugänglich waren.<sup>4</sup> Aus der wasserlöslichen Basenfraktion konnten durch Extraktion mit Petroläther 7 neue Alkaloide isoliert und 5 davon als 2,6-disubstituierte Piperidin-derivate in Struktur und Konfiguration aufgeklärt werden.<sup>1</sup> Zahlreiche Vertreter dieses Strukturtyps, darunter auch das bekannte Lobelin, waren bereits früher von H. Wieland, C. Schöpf *et al.*<sup>5</sup> in *L. inflata* L. aufgefunden worden.

Beim Alkalisieren der in 5% Schwefelsäure gelösten Gesamtrohbasen aus *L. syphilitica* erhielt man einen amorphen braunen Niederschlag. Chromatographisches Verhalten und Löslichkeitseigenschaften unterschieden sich deutlich von den bekannten, oben erwähnten Inhaltsstoffen; es lag daher die Vermutung nahe, dass es sich um Alkaloide eines andersartigen Strukturtyps handelt.

Dünnschicht-chromatographisch liessen sich in diesem Gemisch mindestens 8 mit wässrigem Dragendorff—Reagenz anfärbare Verbindungen nachweisen. Nach Chromatographie an Kieselgel oder Aluminiumoxid konnten 2 Alkaloide kristallin erhalten werden, die wir Syphilobin A und Syphilobin F (die Buchstaben kennzeichnen ihre relative Lage im Dünnschicht-Chromatogramm) genannt haben. Letzteres war ebenfalls durch Extraktion des in Chloroform aufgenommenen Basengemisches mit Pufferlösungen zugänglich.

Dem Syphilobin A kommt nach Elementaranalyse und Massenspektrum die

<sup>1</sup> R. Tschesche, K. Kometani, F. Kowitz und G. Snatzke, *Chem. Ber.* **94**, 3327 (1961).

<sup>2</sup> E. Steinegger und F. Egger, *Pharm. Acta Helv.* **27**, 113 und 207 (1952).

<sup>3</sup> H. Schmid und E. Steinegger, *Pharm. Acta Helv.* **32**, 205 (1957).

<sup>4</sup> Herrn Prof. Gleisberg und Herrn Dr. Lang von der Chemischen Fabrik Promonta GmbH, Hamburg, danken wir auch hier sehr für den Anbau der Pflanzen bzw. die Herstellung des Extraktes.

<sup>5</sup> Vgl. die Zusammenfassung bei C. Schöpf und Th. Kauffmann, *Liebigs Ann.* **608**, 88 (1957).

Summenformel  $C_{23}H_{22}N_2O_2$  zu. Die N-Methylbestimmung und der Test auf sekundäre Amine nach Reindel und Hoppe<sup>6</sup> verliefen negativ; Titration mit Perchlorsäure in Dioxan<sup>7</sup> bewies die Anwesenheit zweier basischer Funktionen. Beide N-Atome müssen daher als tertiäre Amingruppierungen vorliegen. Die Zeisel-Bestimmung lieferte einen Wert für zwei Methoxylgruppen.

Das UV-Spektrum zeigte Maxima bei 221, 254, 275, 321 (Schulter), 337 und 353  $m\mu$ ; demnach liegt ein konjugiertes aromatisches System vor. Mit Palladiumkohle war die Substanz nicht hydrierbar.

Für Syphilobin F ergab sich aus Elementaranalyse und Massenspektrum die Summenformel  $C_{23}H_{26}N_2O_3$ . Beide Stickstoffatome liegen auch hier tertiär vor. Nach Zeisel wurden zwei Methoxylgruppen und durch Zerewitinoff-Bestimmung ein aktiver Wasserstoff nachgewiesen. Im IR-Spektrum traten Aromatenabsorptionen und eine OH-Bande bei  $3610\text{ cm}^{-1}$  auf. Diese Hydroxylgruppe liess sich mit Diazomethan methylieren und mit Acetanhydrid in Pyridin acetylieren. Die Carbonylbande des Acetoxy-Derivats lag bei  $1765\text{ cm}^{-1}$  und musste daher einem Enol- oder Phenolester zugeschrieben werden; da die Basizität einer der beiden Stickstoffe laut Titrationskurve stark verringert war, sollte diese Sauerstofffunktion sich an einem aromatischen N-Heterocyclus befinden. Diese Feststellung konnte durch die UV-Spektren bestätigt werden: Syphilobin F absorbierte bei 274 und 280  $m\mu$ , woraus sich auf isolierte aromatische Chromophore schliessen liess. In alkalischer Lösung wurde zusätzlich ein Maximum bei 306  $m\mu$  und eine Schulter bei 243  $m\mu$  gemessen. Diese ungewöhnlich starke bathochrome Verschiebung entspricht den für 3-Hydroxypyridine beobachteten Werten.<sup>8,9</sup> In Übereinstimmung damit trat in 1n HCl neben den Maxima der freien Base eine Schulter bei 294  $m\mu$  auf.<sup>9</sup>

Die geringen Substanzmengen erschwerten die Konstitutionsermittlung der Alkaloide auf chemischem Wege ausserordentlich. Beim Syphilobin F führten Abbaureaktionen, wie die Pyrolyse, Zinkstaub-Destillation und  $KMnO_4$ -Oxydationen zu komplexen, chromatographisch nicht auftrennbaren Gemischen. Mit Palladiumkohle war keine Wasserstoffaufnahme zu erreichen, mit Adams-Katalysator in Eisessig wurden bis zu 12 Mol Wasserstoff aufgenommen, ohne dass ein einheitliches Reaktionsprodukt gefasst werden konnte. Dehydrierungsversuche mit Palladiumkohle in siedendem Dekalin lieferten in etwa 3-proz. Ausbeute ein amorphes Material, das laut Massenspektrum durch Abspaltung von 2 Mol Wasserstoff entstanden war. Das Hauptprodukt der Reaktion ergab das gleiche Massenspektrum wie Syphilobin F; da es sich von diesem aber dünn-schicht-chromatographisch eindeutig unterschied, sollte es ein Konfigurations-Isomeres davon sein. Gestützt wird diese Annahme dadurch, dass dieses Isomere seinerseits unter den gleichen Dehydrierungsbedingungen dasselbe Substanzgemisch wie Syphilobin F lieferte.

Die Auswertung der Fragmentierung im Massenspektrometer erlaubte es, Einblick in die Struktur der vorliegenden Alkaloide zu gewinnen. Die Spektren von Syphilobin A und Syphilobin F, sowie dessen O-Methyl- und O-Acetyl-Derivat werden in Abb. 1

<sup>6</sup> F. Reindel und W. Hoppe, *Chem. Ber.* **87**, 1103 (1954).

<sup>7</sup> Ch. W. Pifer, E. G. Wollish und M. Schmall, *Analyt. Chem.* **25**, 310 (1953); J. S. Fritz, *Ibid.* **25**, 407 (1953).

<sup>8</sup> H. Specker und H. Gawrosch, *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **75**, 1338 (1942).

<sup>9</sup> D. E. Metzler und E. E. Snell, *J. Amer. Chem. Soc.* **77**, 2431 (1955); T. R. Govindachari und S. Rajapa, *Soviet Physics*, 1306 (1958).

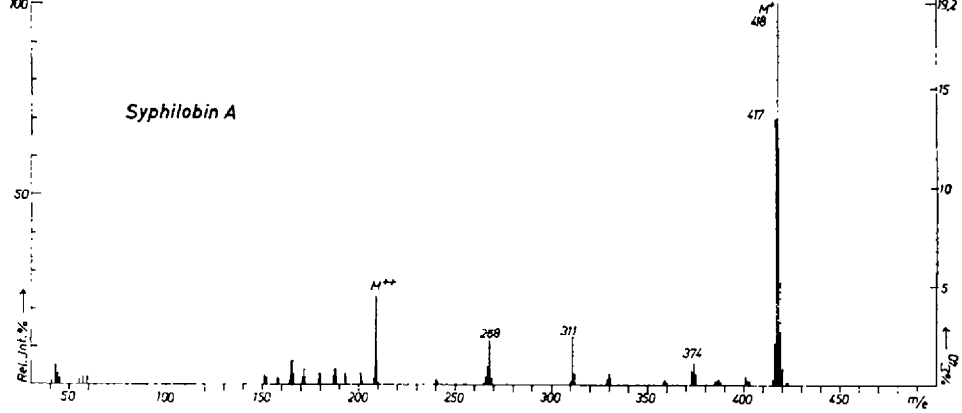
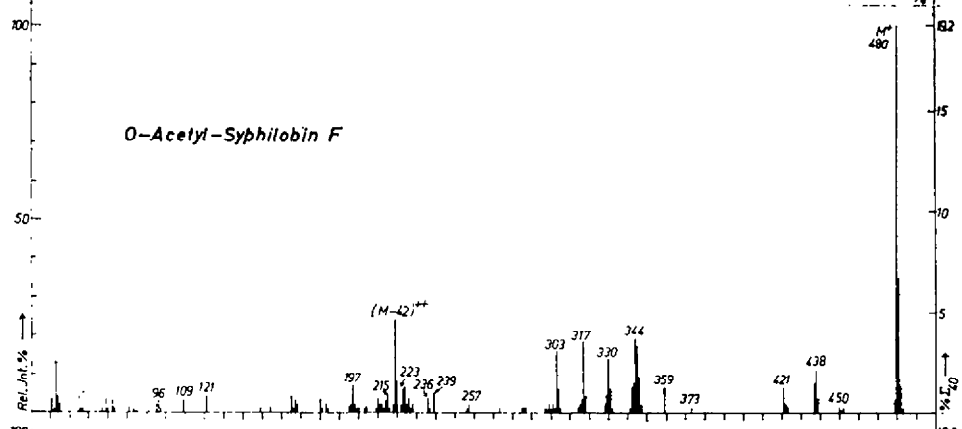
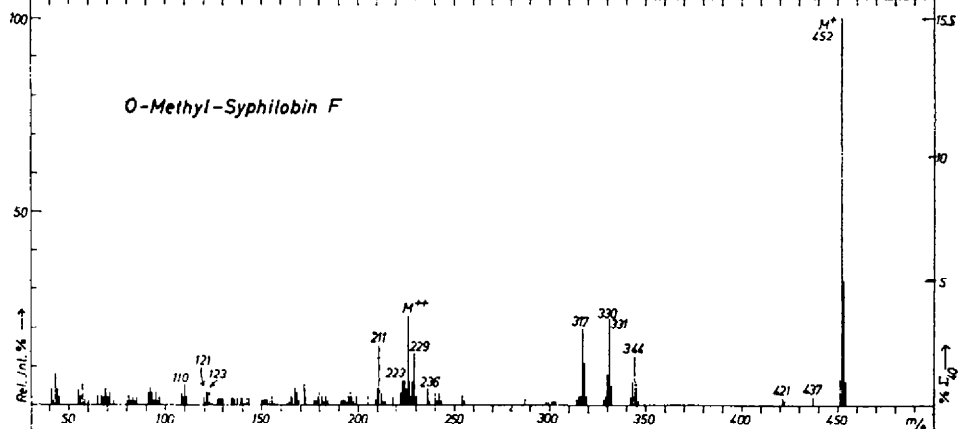
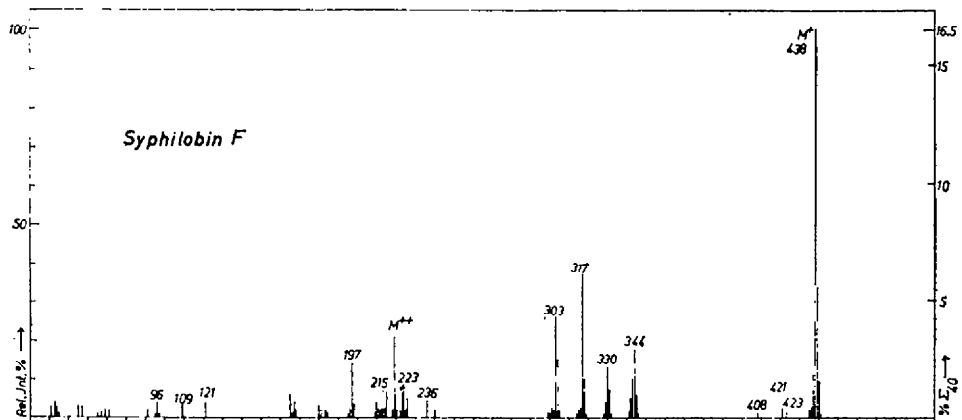
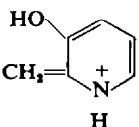
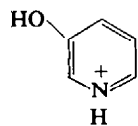


TABELLE 1. FRAGMENTIERUNG DES SYPHILOBINS F DURCH ELEKTRONENBESCHUSS

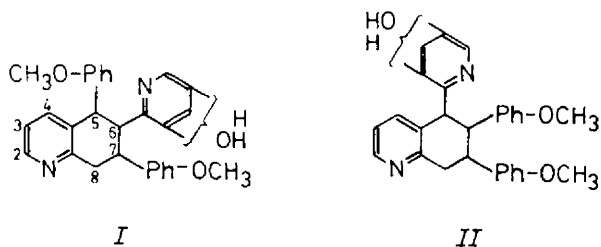
| Ion     | Summenformel  | entsprechende Ionen im |              | Fragment (Py = Pyridin-, Ph =  |
|---------|---|------------------------|--------------|--|
|         |   | O-Me-äther             | O-Acetat*    | Phenylkern; freie Valenzen deuten das Fehlen eines H-Atoms an)   |
| m/e 438 | C <sub>29</sub> H <sub>46</sub> N <sub>2</sub> O <sub>3</sub> | m/e 452                | m/e 480; 438 | M <sup>+</sup>   |
| 437     | C <sub>28</sub> H <sub>45</sub> N <sub>2</sub> O <sub>3</sub> | 451                    | 479; 437     | [M - H] <sup>+</sup>   |
| 423     | C <sub>27</sub> H <sub>43</sub> N <sub>2</sub> O <sub>3</sub> | 437                    | —            | [M - CH <sub>3</sub> ] <sup>+</sup>  |
| 421     | C <sub>28</sub> H <sub>45</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub> | 421                    | 421          | [M - OH] <sup>+</sup>  |
| 408     | C <sub>27</sub> H <sub>44</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub> | 422                    | 450          | [M - OCH <sub>2</sub> ] <sup>+</sup>   |
| 344     | C <sub>23</sub> H <sub>32</sub> NO <sub>2</sub>               | 344                    | 344          | [M - HO-Py-] <sup>+</sup>  |
| 343     | C <sub>23</sub> H <sub>31</sub> NO <sub>2</sub>               | 343                    | 343          | [M - HO-Py] <sup>+</sup>   |
| 342     | C <sub>23</sub> H <sub>30</sub> NO <sub>2</sub>               | 342                    | 342          | [M - HO-Py - H] <sup>+</sup>   |
| 331     | —   | 345                    | 373; 331     | [M - CH <sub>3</sub> O-Ph-] <sup>+</sup>   |
| 330     | C <sub>22</sub> H <sub>30</sub> NO <sub>2</sub>               | 330                    | 330          | [M - HO-Py-CH <sub>2</sub> ] <sup>+</sup>  |
| 329     | C <sub>22</sub> H <sub>29</sub> NO <sub>2</sub>               | 329                    | 329          | [M - HO-Py-CH <sub>3</sub> ] <sup>+</sup>  |
| 317     | C <sub>30</sub> H <sub>17</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub> | 331                    | 359; 317     | [M - CH <sub>3</sub> O-Ph-CH <sub>3</sub> ] <sup>+</sup>   |
| 304     | —   | 318                    | 346; 304     | [M - CH <sub>3</sub> O-Ph-CH=CH <sub>2</sub> ] <sup>+</sup>  |
| 303     | C <sub>19</sub> H <sub>16</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub> | 317                    | 345; 303     | [M - CH <sub>3</sub> O-Ph-C <sub>2</sub> H <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>   |
| 236     | C <sub>16</sub> H <sub>14</sub> NO                            | 236                    | 236          | $\left. \begin{array}{l} \text{CH}_3\text{O}-\text{Ph} \\ \text{Py} \end{array} \right\} \text{C}_4\text{H}_4^+$               |
| 224     | C <sub>15</sub> H <sub>14</sub> NO                            | 224                    | 224          | $\left[ \begin{array}{l} \text{CH}_3\text{O}-\text{Ph} \\ \text{Py} \end{array} \right] \text{C}_3\text{H}_4^+$                |
| 223     | C <sub>15</sub> H <sub>13</sub> NO                            | 223                    | 223          | $\left[ \begin{array}{l} \text{CH}_3\text{O}-\text{Ph} \\ \text{Py} \end{array} \right] \text{C}_3\text{H}_3^+$                |
| 215     | C <sub>13</sub> H <sub>13</sub> NO <sub>2</sub>               | 229                    | 257; 215     | $\left[ \begin{array}{l} \text{HO}-\text{Py} \\ \text{CH}_3\text{O}-\text{Ph} \end{array} \right] \text{CH}_2^+$               |
| 197     | C <sub>11</sub> H <sub>9</sub> N <sub>2</sub> O               | 211                    | 239; 197     | $\left. \begin{array}{l} \text{HO}-\text{Py} \\ \text{Py} \end{array} \right\} \text{C}_2\text{H}_2^+$                         |
| 121     | —   | 121                    | 121          | CH <sub>3</sub> O-Ph-CH <sub>2</sub> <sup>+</sup>  |
| 109     | —   | 123                    | — ; 109      | CH <sub>3</sub> -Py <sup>+</sup> -OR bzw.  |
| 96      | —   | 110                    | — ; 96       |   |

\* Das Acetat spaltet leicht COCH<sub>3</sub> ab; die so entstandenen Ionen werden mit angegeben.

wiedergegeben, die korrespondierenden Peaks der drei letztgenannten Verbindungen in Tabelle 1 zusammengestellt. Die charakteristischen Verschiebungen einer Reihe von Massenpeaks um 14 bzw. 42 Masseneinheiten in den Spektren dieser Derivate ermöglichte es, die so markierte Hydroxylgruppe in diesen Fragmenten zu erkennen. Zur Deutung erwies es sich als unumgänglich, die Bruchstück-Ionen des Syphilobins F mit einem hochauflösenden Instrument auszumessen.<sup>10</sup> Die Summenformeln und die nun unmittelbar möglichen Aussagen über die Struktur der Spaltstücke sind in Tabelle 1 ebenfalls aufgeführt.

Die wichtigsten Fragment-Ionen entstanden offensichtlich durch Abspaltung von  $\text{Py-OH} (\pm \text{H})$  und  $\text{CH}_2\text{-Py-OH} (+\text{H})$  sowie von  $\text{CH}_3\text{O-Ph-}$ ,  $\text{CH}_3\text{O-Ph-CH}_2$  und  $\text{CH}_3\text{O-Ph-CH}_2\text{-CH}_2 (-\text{H})$ . Entsprechend traten im unteren Massenbereich, wie zu erwarten, die Ionen  $m/e$  96, 109 und 121 auf (vgl. Tab. 1). Demnach sind der Hydroxypyridin- und ein Methoxyphenyl-Ring über aliphatische C-Atome miteinander bzw. mit den Skelettrest verknüpft. Die Integration des Kernresonanz-Spektrums ergab, dass neben den O-Methyl-Signalen insgesamt 14 aromatische und 5 aliphatische Protonen vorliegen; der Skelettrest sollte daher ebenfalls zwei aromatische Ringe enthalten.

Diese Befunde führten in Verbindung mit Überlegungen zur Biogenese des Alkaloids zu der Annahme, dass es durch Dimerisierung—unter gleichzeitiger Wasserabspaltung und Dehydrierung—zweier Moleküle vom Typ des Phenyl-norlobelols<sup>5</sup> entstanden sein könnte. Nach Stabilitätsbetachtungen anhand von Dreiding-Molekülmodellen sind nur die Partialstrukturen I und II möglich, von denen jedoch I biogenetisch bevorzugt sein sollte.



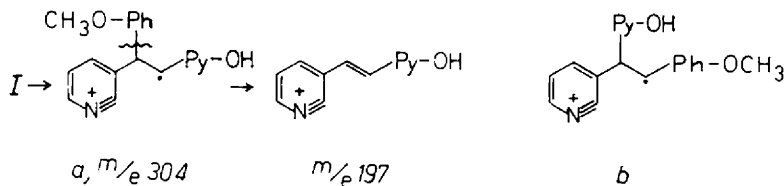
Eine genauere Diskussion der Massenspektren erlaubte die Entscheidung zugunsten der Formel I: Die Abspaltung von  $\text{CH}_3\text{O-Ph-}$  aus dem Molekular-Ion erfordert die ungewöhnliche Sprengung einer CH-Aryl-Bindung. Dies wäre nur bei I zu erwarten, da hier die Bindung zum Methoxy-phenyl-Ring an C-5  $\beta$ -ständig zur 3-Position eines Pyridin-Ringes liegt und damit besonders aktiviert ist.<sup>11,12</sup> Die Abspaltung des Hydroxypyridin-Ringes dagegen dürfte durch die in der *o*-Stellung verringerte Elektronendichte<sup>13</sup> bewirkt worden sein. Einen weiteren Hinweis lieferte die Bildung des Fragment-Ions  $m/e$  197, das aus dem Ion  $m/e$  304 durch Verlust von  $\text{CH}_3\text{O-Ph-}$  entstand, wie ein metastabiler Peak bei  $m/e$  127·7 (Ber. 127·66) beweist ( $m^*$  für

<sup>10</sup> Herrn Prof. K. Biemann, Mass. Inst. Techn., und Herrn Dr. H. J. M. Fitches, A. E. I. Ltd., Manchester, sind wir zu grossem Dank für diese Aufnahmen verpflichtet.

<sup>11</sup> K. Biemann, *Mass Spectrometry*, S. 130 und 131, McGraw-Hill, New York (1962).

<sup>12</sup> A. R. Katritzky, *Physical Methods in Heterocyclic Chemistry*, Bd. I, S. 130. Academic Press, New York and London (1963).

$m/e$  318  $\rightarrow$  211 beim O-Methyläther: Gef. 140.1; Ber. 140.00). Die erforderliche Spaltung erscheint aus den oben genannten Gründen nur beim Ion a (vgl. untenstehende Formulierung) zwingend. In dem Struktur II entsprechenden Ion b dagegen müsste HO—Py— abgespalten werden. Es sei an dieser Stelle darauf hingewiesen, dass die Summenformel des Ions  $m/e$  197 die Anwesenheit einer der O-Methylgruppen am Pyridinring ausschloss und damit die getroffene Zuordnung ermöglicht hatte. Die im mittleren Massenbereich auftretenden Peaks mit geringer Intensität lassen eindeutige Aussagen nicht zu; sie müssen zum Teil durch Umlagerungsreaktionen erklärt werden.



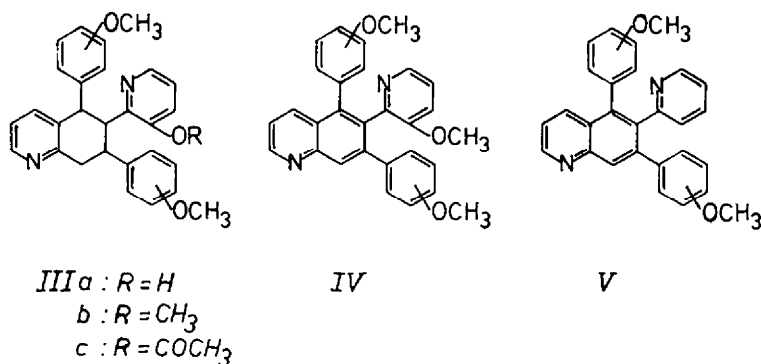
Das Protonenresonanz-Spektrum, das wegen der schlechten Löslichkeit des Alkaloids Syphilobin F nur von dessen O-Methyläther in Deuteriochloroform aufgenommen werden konnte, bestätigte die postulierte Struktur und ermöglichte gleichzeitig die Fixierung der Hydroxylgruppe. Von den 5 aliphatischen Protonen waren 3 von den  $\text{OCH}_3$ -Signalen bei  $\tau = 6.30, 6.48$  und  $6.51$  überlagert, ein Proton erschien als Dublett bei  $\tau = 5.28$  ( $J = 6.5$  Hz) und eines als Quadruplett bei  $\tau = 5.75$  ( $J = 6.5$  und  $4$  Hz); das erstere ist C-5, das letztere C-6 zuzuordnen (vgl. I). Das  $\alpha$ -Pyridin-Proton an C-2 lieferte ein Quadruplett bei  $\tau = 1.53$  ( $J = 5$  und  $2$  Hz). Ein weiteres Quadruplett bei  $\tau = 2.06$  ( $J = 3$  und  $3$  Hz) muss ebenfalls einem  $\alpha$ -Pyridin-Proton zugeschrieben werden; die ausserordentlich starke chemische Verschiebung zu höherem Feld kann nur durch eine dazu  $p$ -ständige OR-Gruppe erklärt werden.<sup>13</sup> Die nach den UV-Spektren noch offen gebliebene Frage, ob die OH-Gruppe die 3- oder 5-Stellung des—über C-2 mit dem Tetrahydrochinolin-System verknüpften—Pyridin-Ringes einnimmt, war somit zugunsten der 3-Stellung beantwortet. Aus dem komplexen Multipllett der übrigen 12 Aromaten-Protonen liessen sich über die Position der  $\text{OCH}_3$ -Gruppen in den Phenylringen keinerlei Schlüsse ziehen.

Nach diesen Ergebnissen möchten wir für das Syphilobin F die Struktur IIIa vorschlagen; zur Konfiguration an den drei Asymmetriezentren können keine Angaben gemacht werden. Dem eingangs beschriebenen Dehydrierungsprodukt des methylierten Alkaloids (IIIb) kommt damit die Formel IV zu.

Das Massenspektrum von IV wies neben dem Molekular-Ion  $m/e$  448 nur wenige Fragmente auf, die auf den Verlust von H,  $\text{CH}_3$ ,  $\text{CH}_2\text{O}$ ,  $\text{CH}_3\text{O}$ ,  $\text{CH}_3 + \text{CO}^{14}$  und  $\text{CH}_3\text{O—Ph—}$  zurückzuführen sind. Im Bereich von 150 bis 210 Masseneinheiten wurde interessanterweise jedoch eine ganze Reihe relativ intensiver Gruppen doppelt geladener Ionen registriert.

Die Struktur des Syphilobins A sollte aufgrund des Massenspektrums (vgl. Abb. 1) in enger Beziehung zu dem Dehydrierungsprodukt IV stehen, da dieselben doppelt

<sup>13</sup> Das  $\alpha$ -Pyridin-Proton liegt z.B. für 2-Methyl-3-hydroxy-pyridin bei  $\tau = 1.94$ , für das 5-Hydroxy-Isomere bei  $\tau = 1.77$ ; vgl. W. Brügel, *Z. Elektrochem., Ber. Bunsenges. physik. Chem.* **66**, 159 (1962).



geladenen Ionengruppen mit den gleichen Intensitätsverhältnissen auftraten. Das Bruchstück m/e 374 dürfte durch Abspaltung von CH<sub>3</sub> + CO aus dem bemerkenswert intensiven M-1-Peak,<sup>14</sup> das Ion m/e 311, das seinerseits wieder CH<sub>3</sub> + CO zu m/e 268 verliert, durch Abspaltung von CH<sub>3</sub>O—Ph— aus dem Molekular-Ion zu deuten sein. Aufgrund dieser Analogie sowie biogenetischer Überlegungen nehmen wir an, dass Syphilobin A die Konstitution V hat. Aus Materialmangel waren weitere Untersuchungen bisher nicht möglich.

Die beschriebenen Alkaloide stellen einen neuen Strukturtyp dar. Unmittelbar vor Beendigung dieser Arbeit erschien die Publikation einer Arbeitsgruppe der Ciba Pharm. Comp., New Jersey,<sup>15</sup> in der die Struktur des von Manske<sup>16</sup> aus *L. cardinalis* L. isolierten Lobinalins mitgeteilt wurde. Dieses Alkaloid besitzt das gleiche Kohlenstoffskelett wie Syphilobin A und F, jedoch keine Sauerstofffunktionen; von den heterocyclischen Ringen liegt einer als Piperidin, der andere als  $\Delta^1$ -Piperidein vor. Derartige Strukturen sind wahrscheinlich als biogenetische Vorstufen der beiden neuen Alkaloide aus *L. syphilitica* aufzufassen.

Wir danken der Stiftung Volkswagenwerk e.V. für das zur Verfügung gestellte Massenspektrometer und der Deutschen Forschungsgemeinschaft für die Gewährung von Sachmitteln.

#### EXPERIMENTELLES

Die Schmelzpunkte wurden auf einem Mikroskop-Heiztisch nach Weygand, die optische Drehung mit dem Perkin-Elmer Polarimeter, Modell 141, bestimmt. Die Elementaranalysen wurden von Dr. A. Schoeller (Kronach), Dr. F. Pascher (Bonn), A. Bernhardt (Mülheim) sowie in der Mikroanalytischen Abteilung unseres Instituts ausgeführt. Die Aufnahme der UV-Spektren erfolgte am Cary 14-Spektrophotometer, der IR-Spektren mit dem Perkin-Elmer Gerät, Modell 221 mit Gitter-Prismen-Austauscheinheit. Die Kernresonanz-Spektren wurden am Varian A 60 mit Tetramethylsilan als internem Standard vermessen. Die Massenspektren wurden mit dem Atlas-Massenspektrometer CH 4 aufgenommen; Elektronenenergie 70 eV, Elektronenstrom 20  $\mu$ A, Temperatur der Ionenquelle ca. 70 bis 120°; die Substanzen wurden mit Hilfe eines Graphit-Tiegels direkt in die Ionenquelle eingeführt und dort verdampft.<sup>17</sup>

<sup>14</sup> Diese Fragmentierung wird bei aromatischen Methyläthern häufig beobachtet; vgl. H. Budzikiewicz, C. Djerassi und D. H. Williams, *Interpretation of Mass Spectra of Organic Compounds*, S. 253. Holden-Day, San Francisco (1964).

<sup>15</sup> M. M. Robison, W. G. Pierson, L. Dorfman, B. F. Lambert und R. A. Lucas, *Tetrahedron Letters* 1513 (1964).

<sup>16</sup> R. H. F. Manske, *Canad. J. Res.* **16 B**, 445 (1938).

<sup>17</sup> G. Spittler, C. Brunné, K. Heyns und H. F. Grützmaier, *Z. Naturforsch.* **17 b**, 856 (1962).

Kieselgel G (Merck) diente zur analytischen, Kieselgel H (Merck) zur präparativen Dünnschicht-Chromatographie. Das zur Säulen chromatographie benutzte Kieselgel bzw. Aluminiumoxid (Woelm) wurde durch Sieben auf einheitliche Korngrösse gebracht.

*Gewinnung der Rohbasen.* Die getrocknete Droge wurde mit Trichloräthylen extrahiert. Im Mittel wurden 3 kg Gesamtextrakt aus 100 kg getrocknetem Pflanzenmaterial erhalten. 4.5 kg Trichloräthylen-Extrakt nahm man in ca. 60 l peroxidfreien Äther auf; nicht gelöste Bestandteile (1.2 kg) filtrierte man ab. Die Lösung sowie der fein pulverisierte Rückstand wurden erschöpfend mit 5-proz. Schwefelsäure ausgezogen, die sauren Auszüge vereinigt und mehrere Male mit peroxidfreiem Äther ausgeschüttelt. In der Ätherphase befanden sich 15 g nichtbasische Verunreinigungen. Die schwefelsauren Auszüge wurden mit Ammoniumcarbonat alkalisiert ( $p_H$  9), wobei ein dunkelbraun gefärbter Niederschlag auftrat, der nach Lösen in 5-proz. Schwefelsäure wieder mit Ammoniumcarbonat ausgefällt wurde. Nach Waschen mit destilliertem Wasser und anschliessendem Trocknen erhielt man ein braunes Pulver, das in Chloroform aufgenommen wurde; die Lösung wurde mit Wasser gewaschen und über Natriumsulfat getrocknet. Nach Abdestillieren des Lösungsmittels im Vakuum erhielt man 18 g Rohbasen. Dünnschicht-chromatographisch liessen sich mit dem Laufmittel Chloroform-5% Methanol und durch Anfärbung mit wässrigem Dragenforff-Reagenz mindestens acht Alkaloide nachweisen. Andere Laufmittel wie Äther, Benzol-Methanol-Gemische, Essigester, Aceton, zum Teil mit Zusätzen von Eisessig, Ameisensäure oder Diäthylamin erbrachten keine besseren Trennungen. Die Alkaloide wurden in der Reihe fallender  $R_F$ -Werte mit den Buchstaben A bis H bezeichnet.

*Syphilobin A (V).* 17.5 g des obigen Rohbasengemisches wurden an einer Aluminiumoxidsäule (720 g) mit Benzol, Benzol-Chloroform-Gemischen, Chloroform und Chloroform-Methanol-Gemischen chromatographiert. Die Zusammensetzung der Eluate wurde dünn-schicht-chromatographisch verfolgt. Aus der Fraktion Benzol-50% Chloroform konnten 400 mg eines rotbraunen Öls gewonnen werden, das chromatographisch einheitlich war. Die folgenden Fraktionen (bis zu dem Eluat mit Chloroform-2% Methanol) bestanden aus Gemischen der acht Basen (8.7 g). Bei Steigerung des Methanolgehaltes bis zu 5% erhielt man aus 5 Komponenten bestehende Gemische (2.7 g; Basen D bis H). Aus 400 mg des rotbraunen Öls kristallisierten nach Zugabe von 50 ml Äther und einwöchigem Stehen bei  $-10^\circ$  in Büscheln angeordnete Nadeln aus. Zweimaliges Umkristallisieren lieferte 144 mg Syphilobin A (V) vom Schmp.  $192-194^\circ$ ;  $[\alpha]_D^{25} = \pm 0^\circ$  ( $c = 0.93$ ; Pyridin). ( $C_{28}H_{34}N_2O_3$ , 438.5); Ber. C, 80.36; H, 5.30; N, 6.69; 2  $OCH_3$ , 14.82. Gef. C, 80.08; H, 5.33; N, 6.75;  $OCH_3$ , 13.54%). Titration des in Acetonitril gelösten V mit 0.1N Perchlorsäure in Dioxan ergab ein Äquivalentgewicht von 414.6 (2 Umschlagspunkte). IR-Banden (in KBr) bei  $1600$  und  $1508\text{ cm}^{-1}$  (Aromaten). UV-Spektrum:  $\lambda_{max} = 221\text{ m}\mu$  ( $\log \epsilon = 4.67$ ),  $254\text{ m}\mu$  ( $\log \epsilon = 4.64$ ),  $275\text{ m}\mu$  ( $\log \epsilon = 4.46$ ),  $321\text{ m}\mu$  (Schulter,  $\log \epsilon = 3.33$ ),  $337\text{ m}\mu$  ( $\log \epsilon = 3.47$ ) und  $353\text{ m}\mu$  ( $\log \epsilon = 3.51$ ).  $R_F$ -Wert auf Dünnschicht (Chloroform-2% Methanol) 0.85.

*Syphilobin F (IIIa).* 1.9 g der Rohbasen-Fraktion (D bis H) wurden an Kieselgel mit Chloroform-5% Methanol chromatographiert; das Volumen der aufgefangenen Fraktionen betrug je 40 ml. Aus den Fraktionen 14 bis 17 erhielt man nach dem Abdampfen des Lösungsmittels im Vakuum einen hellbraunen Schaum (880 mg), der mit Aceton ein gefärbtes Kristallinat lieferte. Dreimaliges Umkristallisieren aus Benzol ergab 210 mg Syphilobin F (IIIa) in farblosen Nadeln vom Schmp.  $222-223^\circ$ ;  $[\alpha]_D^{20} = -1.64^\circ$  ( $c = 1.217$ ; Pyridin). ( $C_{28}H_{36}N_2O_3$  (438.5); Ber. C, 76.69; H, 5.98; N, 6.39; 2  $OCH_3$ , 14.15; 1 aktives H, 0.23. Gef. C, 76.74; H, 5.95; N, 6.49;  $OCH_3$ , 13.28; aktives H, 0.25%). Die Bestimmung des Äquivalentgewichts durch Titration (wie oben) ergab 427.4. IR-Banden (in Chloroform) bei  $3610$  und  $3480$  (OH-Banden) sowie (in KBr) bei  $1605$  und  $1580\text{ cm}^{-1}$  (Aromaten). UV-Spektrum:  $\lambda_{max} = 274\text{ m}\mu$  ( $\log \epsilon = 4.14$ ) und  $280\text{ m}\mu$  ( $\log \epsilon = 4.14$ ).  $R_F$ -Wert (Chloroform/5% Methanol) 0.40.

Da die Reproduzierbarkeit der Isolierung von III a durch Chromatographie an Kieselgel nicht zufriedenstellend war, wurde eine zweite Trennmethode angewendet. 50 g Rohbasengemisch löste man in 2 l Chloroform und schüttelte mit Pufferlösungen von  $p_H$  6 bis  $p_H$  1 aus. Durch Ausfällen mit NaOH lieferten die Pufferphasen  $p_H$  6 bis 4 dunkelgelbe Basengemische (2.3 g),  $p_H$  3 bis 2 angereichertes III (12.1 g, gelbbraun) und  $p_H$  1 weitere Basengemische (5.0 g, braun); in der Chloroformphase (13.0 g) verblieben neben wenig Gesamtbasengemisch tief dunkelbraun gefärbte Verunreinigungen. Weil es nicht gelang, III a aus dem erhaltenen Konzentrat zu kristallisieren, wurde dieses nochmals der Pufferextraktion unterworfen. Es wurden 6.3 g Material erhalten, das aus Aceton 1.6 g gefärbte Kristalle, nach weiterem Umkristallisieren 1.2 g, lieferte.



*O*-Acetyl-Syphilobin F (III c). 26 mg III a wurden in 0.8 ml Pyridin mit 1 ml Acetanhydrid versetzt. Nach 24-stündigem Stehen bei Zimmertemperatur entfernte man Pyridin und überschüssiges Acetanhydrid in einem Vakuumexsiccator über konz. Schwefelsäure und Ätzkali, nahm den Rückstand in Chloroform auf und schüttete die Lösung zweimal mit 10-proz. NaHCO<sub>3</sub>-Lösung aus, trocknete über Natriumsulfat und dampfte das Chloroform im Vakuum ab. Aus Aceton kristallisierten 16 mg III c in Form farbloser Blättchen vom Schmp. 124–125°. (C<sub>20</sub>H<sub>28</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub> (480.5): Ber. C, 74.98; H, 5.87; N, 5.83. Gef. C, 74.28; H, 5.76; N, 5.94%). C=O-Bande im IR (Chloroform) bei 1765 cm<sup>-1</sup>. R<sub>F</sub>-Wert auf Dünnschicht (Chloroform/5% Methanol) 0.74.

*O*-Methyl-Syphilobin F (III b). 66 mg III a wurden in 150 ml Benzol gelöst und mit überschüssiger ätherischer Diazomethan-Lösung versetzt. Nach einwöchigem Stehenlassen bei Zimmertemperatur war nur noch eine geringe Menge III a vorhanden. Das Reaktionsprodukt wurde mit Hilfe der präparativen Dünnschicht gereinigt; aus Aceton kristallisierten 29 mg farblose Blättchen vom Schmp. 179–180°. (C<sub>29</sub>H<sub>28</sub>N<sub>2</sub>O<sub>3</sub> (452.5): Ber. C, 76.97; H, 6.24; N, 6.19. Gef. C, 77.01; H, 6.26; N, 6.24%).

*Methojodid* von III a. 40 mg III a wurden in 90 ml Benzol gelöst und 7 ml frisch destilliertes Methyljodid zugegeben. Nach dreitägigem Stehenlassen trat Abscheidung eines feinkristallinen, schwach gelben Niederschlags auf. Die überstehende benzolische Lösung wurde abpipettiert, der Rückstand in 2 ml Äthanol aufgenommen und bis zum Auftreten einer schwachen Trübung mit Äther versetzt. Nach zwei Tagen hatten sich in Drusen angeordnete farblose Nadeln vom Schmp. 244–246° abgeschieden. (C<sub>29</sub>H<sub>29</sub>N<sub>2</sub>O<sub>3</sub>J (580.4): Ber. C, 60.00; H, 5.06; J, 21.90. Gef. C, 59.72; H, 5.15; J, 23.19%).

*Dehydrierung* von III a. 46 mg III a wurden in 25 ml Dekalin gelöst und mit 480 mg Palladiumkohle (5-proz.) 44 Std. auf 200–210° erhitzt. Die über eine Glasfritte abgetrennte Palladiumkohle wurde gründlich mit Benzol gewaschen (50 ml), die Filtrate vereinigt und erschöpfend mit 5-proz. Salzsäure ausgezogen. Die alkalisierten Säureauszüge schüttelte man dann fünfmal mit je 200 ml Chloroform aus; nach Abdestillieren des Chloroforms im Vakuum blieben 42 mg amorphes, schwach gelbes Material zurück. Es wurde durch präparative Dünnschicht durch zweimalige Entwicklung mit Chloroform-2% Methanol aufgetrennt. Es resultierten 24 mg Isomerisierungsprodukt und 4 mg eines Gemisches aus diesem, dem Dehydrierungsprodukt IV und wenig Ausgangsmaterial. Durch fraktionierte Verdampfung im Massenspektrometer konnte daraus das Massenspektrum von IV gewonnen werden.

Das Isomerisierungsprodukt wurde den gleichen Reaktionsbedingungen unterworfen und ergab dabei laut Dünnschicht-Chromatogramm dasselbe Reaktionsgemisch wie oben.