

**Anwendung der Massenspektrometrie zur Strukturaufklärung
von Alkaloiden. 4. Mitt.¹:**
Zur Struktur des Rhazidins

Von

M. Spiteller-Friedmann, R. Kaschnitz und G. Spiteller

Organisch-Chemisches Institut der Universität Wien

und

A. Chatterjee, N. Adityachaudhury und G. Ganguli

Department of Chemistry, University College of Sciences, Calcutta 9, Indien

Mit 1 Abbildung

(Eingegangen am 10. Juni 1964)

Rhazidin kann durch LiAlH₄-Reduktion in Quebrachamin übergeführt werden. Für den basischen Bestandteil des Alkaloides ergibt sich daher Formel V. Umgekehrt ist die Verbindung V durch Oxydation von Quebrachamin mit Peressigsäure in guter Ausbeute zugänglich.

Chatterjee und Mitarbeiter² isolierten vor drei Jahren ein bis dahin unbekanntes Alkaloid aus *Rhazia stricta Decaisne* (Apocynaceae), das den Namen Rhazidin erhielt. Kurze Zeit später wurde die gleiche Verbindung in der Rinde von *Gonioma Kamassi** (Apocynaceae) aufgefunden³.

Die Ableitung der Bruttoformel des Rhazidins bereitete große Schwierigkeiten, da wiederholte Verbrennungsanalysen keine eindeutigen Resultate

* Für das Drogenmaterial danken wir Dr. R. A. Dyer, Department of Agricultural Technical Services, Pretoria (Südafrika) und Dr. C. K. Marst, Forest Research Institute, Pretoria.

¹ 3. Mitt.: G. Spiteller und M. Spitter-Friedmann, Mh. Chem. **94**, 779 1963.

² A. Chatterjee, C. R. Ghosal, N. Adityachaudhury und S. Ghosal, Chem. and Ind. **1961**, 1034.

³ G. Spiteller, Z. analyt. Chem. **197**, 1 (1963).

ergaben^{4, 5}. Das Massenspektrum des Rhazidins zeigte die bei der höchsten Masse gelegene Spitze bei der MZ 298. Auf Grund dieses Befundes und der Verbrennungsanalysen wurde daher für das Rhazidin die Summenformel C₁₉H₂₆N₂O abgeleitet^{3, 5}.

Das UV-Spektrum des Rhazidins erlaubte keine eindeutige Aussage über das Vorhandensein eines bestimmten chromophoren Systems. Eine sehr breite Bande im Bereich zwischen 3500 und 3000 cm⁻¹ im IR-Spektrum wies auf die Anwesenheit einer stark assoziierten OH- oder NH-Gruppe oder beider Gruppen hin⁴. Für die Anwesenheit einer OH-Gruppe sprach auch eine sehr intensive Spitze bei M—17 (MZ 281) im Massenspektrum des Rhazidins. Das Fehlen von Schlüsselbruchstücken erlaubte darüber hinaus keine weiteren Aussagen.

Um mit den geringen uns zur Verfügung stehenden Probenmengen einen möglichst weitgehenden Einblick in die Struktur des Rhazidins gewinnen zu können, griffen wir auf das Verfahren zurück, das sich bei der Strukturuntersuchung der Nebenalkaloide aus der Rinde von *Aspidosperma oblongum* A. DC. sehr bewährt hatte¹: Wir führten mit jeweils 2—3 mg des Alkaloids chemische Reaktionen aus und unterwarfen die Reaktionsprodukte ohne weitere Reinigung einer neuerlichen massenspektrometrischen Untersuchung. Die Reaktionsprodukte waren in jedem Fall genügend rein, um erkennen zu lassen, ob und in welcher Richtung eine bestimmte Reaktion verlaufen war. Es war uns damit möglich, innerhalb kürzester Zeit mit sehr wenig Material jene Informationen zu erhalten, die uns die Aufstellung einer Teilformel des Rhazidins erlauben.

Sehr wesentliche Hinweise erhielten wir bei dem Versuch, Rhazidin mit Schwefelsäure und Zink in methanolischer Lösung zu reduzieren, nachdem vorher katalytische Reduktionsversuche nicht den erhofften Erfolg gebracht hatten. Wir erhielten eine kristalline Verbindung vom Schmelzpunkt 183—185°, die wesentlich flüchtiger als das Rhazidin selbst war und sich von diesem in den Löslichkeiten stark unterschied, jedoch ein mit dem des Rhazidins identisches UV- und Massenspektrum (Abb. 1) zeigte. Dies brachte uns auf die Vermutung, daß die hohe Wasserlöslichkeit des Rhazidins möglicherweise durch die Anwesenheit einer Polyhydroxykomponente bedingt wird, die im Massenspektrometer so leicht eliminiert werden kann, daß nur das Spektrum des Basenteils erkennbar ist. Rhazidin wurde daher ohne Gegenwart eines Reduktionsmittels einer Hydrolyse mit verdünnter methanolischer Schwefelsäure unterworfen. Dabei entstand dieselbe kristalline Verbindung vom Schmp. 183—185° (Rhazidigenin). Die Analysenwerte dieser Verbindung stimmten auf die Summenformel C₁₉H₂₆N₂O.

⁴ N. Adityachaudhury, G. Ganguli, A. Chatterjee und G. Spitteler, Indian J. Chem. **1**, 95 (1963).

⁵ N. Adityachaudhury, G. Ganguli, A. Chatterjee und G. Spitteler, Indian J. Chem. **1**, 363 (1963).

Das Rhazidigenin ist im Gegensatz zu Rhazidin⁵ mit Acetanhydrid in Gegenwart von Pyridin in der Kälte zu einem Monoacetat acylierbar, das nach seinem Massenspektrum das erwartete Molgewicht von 340 besitzt. (Die Acetylierungsversuche am Rhazidin selbst lieferten keine eindeutigen Ergebnisse.)

Um zu entscheiden, ob sich bei der Acetylierung des Rhazidigenins ein O- oder N-Acetat gebildet hatte, wurde eine Probe mit LiAlH₄ reduziert (eine massenspektrometrische Entscheidung zwischen O- und N-Acetaten)

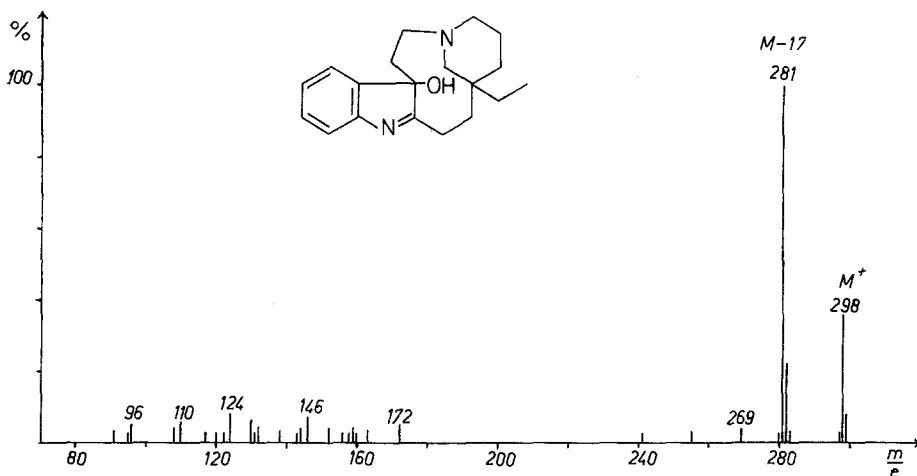
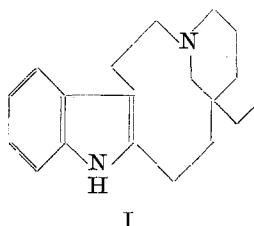


Abb. 1. Massenspektrum des Rhazidigenins

ist auf einfache Weise möglich, da O-Acetate zu den entsprechenden Alkoholen [Verminderung des Molgewichtes um 42 Masseneinheiten pro Acetylgruppe] und N-Acetylgruppen zu N-Äthylverbindungen [Verringerung des Molgewichtes um 14 ME] reduziert werden). Überraschenderweise entstand hierbei Quebrachamin (I), dessen Struktur bekannt ist⁶.

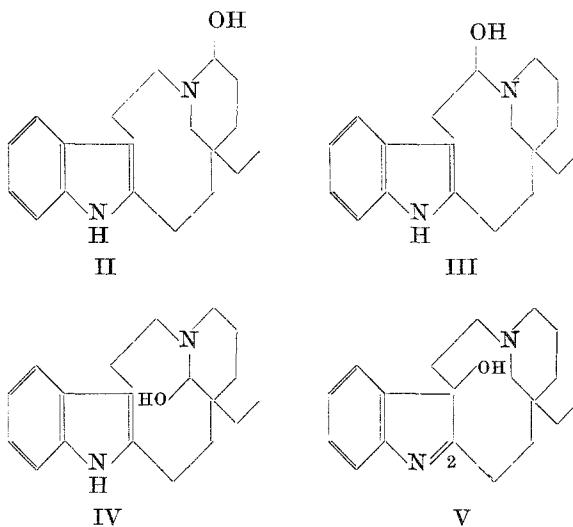


Eine LiAlH₄-Reduktion des Rhazidigenins und auch des Rhazidins selbst ergab in sehr guter Ausbeute (—)-Quebrachamin, das durch Misch-

⁶ K. Biemann und G. Spiteller, J. Amer. Chem. Soc. 84, 4578 (1962).

schmelzpunkt und Massenspektrum eindeutig identifiziert werden konnte. Die Verwandtschaft zwischen Quebrachamin und Rhazidin bzw. Rhazidigenin wird durch einige kleinere Bruchstückionen offenbar. Sie zeigen, daß in diesen Verbindungen gleiche Spaltungsreaktionen möglich sind: Die Spektren von Rhazidin und Rhazidigenin enthalten so wie das des Quebrachamins charakteristische Bruchstücke des Piperidinteiles (Fragmente bei den MZ 96, 110 und 124). Allerdings können diese Bruchstücke, da die ihnen entsprechenden Spitzen eine geringe Intensität haben, nur als Hinweis gewertet werden.

Auf Grund der Reduktionsversuche kamen für das Rhazidigenin nur die Carbinolaminstrukturen II, III und IV, sowie die Indoleninstruktur V in Frage:



Eine eindeutige Entscheidung hierüber brachte die LiAlD₄-Reduktion des Rhazidigenins. Von Carbinolaminen der Strukturen II—IV wäre zu erwarten gewesen, daß sie mit LiAlD₄ ein zu 100% monodeuteriertes Quebrachamin liefern sollten. Von einer Verbindung der Struktur V hingegen war anzunehmen, daß sie bei dieser Reduktion ein undeuteriertes Quebrachamin bilden sollte, weil das am C-2 angreifende Deuteridion anschließend im Zuge der Bildung des Indolsystems wieder eliminiert werden sollte. Eine analoge Reaktion wurde von Witkop beschrieben⁷.

Das Massenspektrum des LiAlD₄-Reduktionsproduktes des Rhazidigenins zeigte das dem nichtdeuterierten Quebrachamin entsprechende Molgewicht von 282, so daß demnach die Strukturformeln II—IV ausgeschlossen werden können. Das Massenspektrum erbrachte somit den

⁷ B. Witkop und J. B. Patrick, Experientia [Basel] 6, 183 (1950).

Nachweis, daß dem Rhazidigenin die Struktur V zukommt. Die Strukturformel V erklärt auch das Auftreten der stark assoziierten OH-Bande im IR-Spektrum.

Die Verbindung V wurde bereits früher bei Versuchen zur Strukturaufklärung des Quebrachamins durch dessen Oxydation mit Persäuren erhalten⁸. Allerdings war damals ihre Struktur noch unbekannt. Die Identität des Rhazidigenins mit der *Witkopschen* Verbindung ergab sich durch Mischschmelzpunktsbestimmung und massenspektrometrischen Vergleich nach Wiederholung der von *Witkop* beschriebenen Versuche. Den Literaturbeispielen^{7, 9} ist zu entnehmen, daß Indole von Oxydationsmitteln vorzugsweise in β -Stellung angegriffen werden, so daß leicht β -Hydroxyindolenine gebildet werden können.

Durch die wechselseitige Überführbarkeit des Rhazidigenins in Quebrachamin und umgekehrt erfährt die abgeleitete Strukturformel V eine zusätzliche Stütze.

Die Hydroxylgruppe in Verbindung V läßt sich außerordentlich leicht veräthern. So entsteht z. B. als Nebenprodukt bei der Behandlung von Rhazidin mit methanolischer Schwefelsäure eine in langen Nadeln kristallisierende Verbindung, die nach ihrem Massenspektrum O-Methyl-rhazidigenin ist: Die Molgewichtsspitze der Verbindung liegt bei MZ 312, eine Spur bei MZ 297 (M—15) entspricht der Abspaltung von CH_3 aus der Äthergruppierung. Die Basis-Spitze des Spektrums liegt bei MZ 281; ihr kann ein Fragment zugeordnet werden, das durch Abspaltung von OCH_3 (31 ME) aus dem Molekülion entsteht. Eine diesen Übergang kennzeichnende metastabile Spur liegt bei MZ 253,5 (ber. 253,1).

Nach den Ergebnissen der bisherigen Untersuchungen ist im Rhazidin selbst entweder das Wasserstoffatom der Hydroxylgruppe durch eine Komponente, die vermutlich mehrere OH-Gruppen enthält, ersetzt oder aber an der N=C Doppelbindung des Rhazidigenins ist noch eine O-haltige Komponente angelagert, die thermisch oder hydrolytisch abspaltbar ist. Untersuchungen über die Konstitution dieser Verbindung sind im Gange.

Experimenteller Teil

Sämtliche Versuche wurden zunächst in Mengen von 1—3 mg als Vorversuche in kleinen Kugelrohren ausgeführt. Die rohen Reaktionsprodukte wurden auf Basen aufgearbeitet und anschließend einer massenspektrometrischen Untersuchung zugeführt. Nicht kristallisierende Substanzen wurden durch Verreiben der Probe mit einem Milligramm spektralreiner

⁸ B. Witkop, J. Amer. Chem. Soc. **79**, 3193 (1957).

⁹ J. B. Patrick und B. Witkop, I. c. **72**, 633 (1950); B. Witkop, I. c. **72**, 1428, 2311 (1950); B. Witkop und J. B. Patrick, I. c. **73**, 2189 (1951); M. Goutarel, M.-M. Janot, F. Mathys und V. Prelog, Helv. chim. Acta **39**, 742 (1956).

Kohle in eine Form gebracht, die ein einfaches Einbringen in den Tiegel des Probenschiffchens erlaubte¹⁰. (Kohlepulver hat als Trägersubstanz gegenüber SiO_2 oder Al_2O_3 ¹¹ den Vorteil, daß die Gefahr einer katalytischen Zersetzung empfindlicherer Verbindungen [Alkohole] am Trägermaterial wesentlich geringer ist.)

Hydrolyse von Rhazidin: 10 mg Rhazidin wurden in 3 ml 10proz. methanol. H_2SO_4 gelöst und die erhaltene Lösung 3 Stdn. am Wasserbad erhitzt. Anschließend wurde die Hauptmenge des Methanols abgedampft und der Rückstand auf Basen aufgearbeitet. Ausb. an rohem Rhazidigenin: 6 mg. Ein analysenreines Produkt konnte durch mehrmalige Sublimation bei ca. 150° im Hochvak. erhalten werden: Schmp. 183—185°.

UV-Spektrum (in Methanol): λ_{max} : 235 und 292 μm , $\log \epsilon = 3,99$ und 3,40; λ_{min} : 259 μm , $\log \epsilon = 2,43$.

IR-Spektrum (in KBr): Breite Bande zwischen 3500 und 3100 cm^{-1} (OH assoziiert), Banden bei 2905, 2780, 1567, 1455 und 1028 cm^{-1} , weiters bei 764 und 758 cm^{-1} (1,2-disubstituierter Benzolring)



Bei länger dauernden Hydrolyseversuchen fiel als Nebenprodukt O-Methylrhazidigenin an, das bei der Sublimation im liegenden Rohr durch seine niedrigere Sublimationstemperatur abgetrennt werden konnte.

Acetylierung des Rhazidigenins: 3 mg Rhazidigenin wurden mit 2 ml frisch destill. Ac_2O und mit einigen Tropfen Pyridin 24 Stdn. auf 50° erwärmt. Dann wurde die Hauptmenge des überschüssigen Acetanhydrids und Pyridins im Vak. entfernt, der ölige Rückstand mit 10proz. NaOH alkalisirt und mehrmals mit Äther extrahiert. Die äther. Lösung wurde über NaSO_4 getrocknet. Nach dem Wegdampfen des Lösungsmittels wurde ein Tropfen helles Öl erhalten, das ohne weitere Reinigung im Massenspektrometer untersucht wurde. Der nicht zur Aufnahme des Spektrums benötigte Substanzrest wurde in der für das Rhazidigenin beschriebenen Weise mit LiAlH_4 reduziert; das zunächst nach der Aufarbeitung erhältliche Rohprodukt wurde zur Reinigung bei 120°/0,001 Torr destilliert. Das Massenspektrum des kristallisierenden Destillates erwies sich ident mit jenem des Quebrachamins.

LiAlH_4 -Reduktion des Rhazidigenins: 6 mg der Verbindung wurden in absol. THF gelöst und mit einem Überschuß LiAlH_4 4 Stdn. im zugeschmolzenen Kugelrohr am Wasserbad erwärmt. Die übliche Aufarbeitung lieferte 5,6 mg rohes Produkt, das beim Anreiben mit Äther kristallisierte und durch Sublimation im Hochvak. bei ca. 130° gereinigt wurde: Schmp. 144—146°. Der Mischschmelzpunkt mit (—)-Quebrachamin zeigte keine Depression.

In gleicher Weise wurde die Reduktion des Rhazidins selbst und die Behandlung des Rhazidigenins mit LiAlD_4 ausgeführt.

Die Massenspektren wurden mit einem Atlas-CH-4-Gerät (Elektronenenergie 70 eV) in der früher beschriebenen Weise¹⁰ durch direkte Einführung der Proben in die Ionenquelle aufgenommen. Das Gerät wurde vom Österreichischen Forschungsrat dem mineralogischen, organisch-chemischen und physikalisch-chemischen Institut der Universität Wien zur Verfügung gestellt, wofür wir auch an dieser Stelle bestens danken.

¹⁰ G. Spitteler und M. Spitteler-Friedmann, Mh. Chem. **94**, 742 (1963).

¹¹ K. Heyns und H. F. Grützmacher, Angew. Chem. **74**, 387 (1962); Ann. Chem. **667**, 194 (1963).