

KONSTITUTION UND STEREOCHEMIE DES VERATRUM-ALKALOIDS VERALININ*

J. TOMKO und A. VASSOVÁ

Chemisches Institut der Slowakischen Akademie der Wissenschaften, Bratislava, ČSSR

und

G. ADAM und K. SCHREIBER

Institut für Kulturpflanzenforschung Gatersleben der Deutschen Akademie der Wissenschaften
zu Berlin, DDR

(Received in Germany 20 May 1968; accepted in the UK for publication 4 June 1968)

Abstract—The structural elucidation of veralinine, a minor alkaloid from *Veratrum album* subsp. *lobelianum* (Bernh.) Suessenguth has been described. From chemical and spectroscopic evidence this *Veratrum* base is regarded as (22S:25S)-22,26-epimino-17 β -methyl-18-nor-17-isocholesta-5,12-dien-3 β -ol (16-deoxy-veralkamine, I).

KÜRZLICH berichteten wir über die Strukturaufklärung der *Veratrum*-Nebenalkaloide Veralkamin¹ und Veramin,² die beide einem neuartigen Steroidalkaloid-Typ mit 17 β -Methyl-18-nor-17-iso-cholestan-Kohlenstoffgerüst angehören. In der vorliegenden Mitteilung beschreiben wir die Ermittlung von Konstitution und Stereochemie des Veralinins, eines weiteren Vertreters dieser Gruppe, der von uns bereits früher³ in sehr geringer Menge aus *Veratrum album* subsp. *lobelianum* (Bernh.) Suessenguth isoliert wurde. Auf Grund nachfolgender chemischer und physikalischer Befunde handelt es sich bei dieser *Veratrum*-Base um (22S:25S)-22,26-Epimino-17 β -methyl-18-nor-17-isocholesta-5,12-dien-3 β -ol (16-Desoxy-veralkamin, I).

Veralinin (Schmp. 124–126°, $[\alpha]_D^{26}$ –80.0° in Chf.) besitzt nach Elementaranalyse und Elektronenstoss-Massenspektrum die Bruttozusammensetzung C₂₇H₄₃NO. In diesem Massenspektrum treten neben dem Molekülionenpeak bei *m/e* 397 (M⁺) weitere Peaks bei *m/e* 125 (Spaltung zwischen C-17 und 20) und 98 (Spaltung zwischen C-20 und 22) auf. Die letztgenannte Fragmentierung ist nach unseren Befunden auch für Veralkamin^{1a,b} und zahlreiche weitere 22,26-Epimino-cholestane⁴ charakteristisch und deutet darauf hin, dass auch Veralinin diesem Strukturtyp angehört. Das NMR-Spektrum von I enthält ein 6-Protonen-Singulett bei δ 0.96 ppm (angulare Methylgruppen an C-10 und C-17) sowie 2 Multipletts zentriert bei δ 3.50 (H an C-3) und 5.30 ppm (Vinylprotonen an C-6 und C-12). Das IR-Spektrum (CCl₄) zeigt neben C=CH-Absorption bei 1679 und 3040 cm⁻¹ Hydroxylbanden im Bereich 3360 und 3628 cm⁻¹. Nach den Ergebnissen der Mikrohydrierung besitzt Veralinin 2 Doppelbindungen, die sich nach dem massenspektrographischen Fragmentierungsverhalten von I beide im Steroidringgerüst befinden müssen. Da Veralinin im UV transparent ist, kann keine C=C-Konjugation vorliegen. Das Alkaloid ist mit Digitonin fällbar,

* Alkaloide aus *Veratrum album* subsp. *lobelianum* (Bernh.) Suessenguth, XIX. Mitteil.—XVIII. Mitteil. Lit.^{2b}

was auf die Anwesenheit einer 3β -Hydroxy-Gruppe hinweist. Veralinin bildet mit salpetriger Säure ein N-Nitroso-Derivat II mit UV-Absorption bei 238 und 355 nm ($\log \epsilon$ 3.85 bzw. 2.0); durch Acetylierung mit Acetanhydrid-Pyridin bei Raumtemp. entsteht die N,O-Diacetyl-Verbindung III mit IR-Banden bei 1646 (tert. Amid) und 1739 cm^{-1} (O-Acetyl).

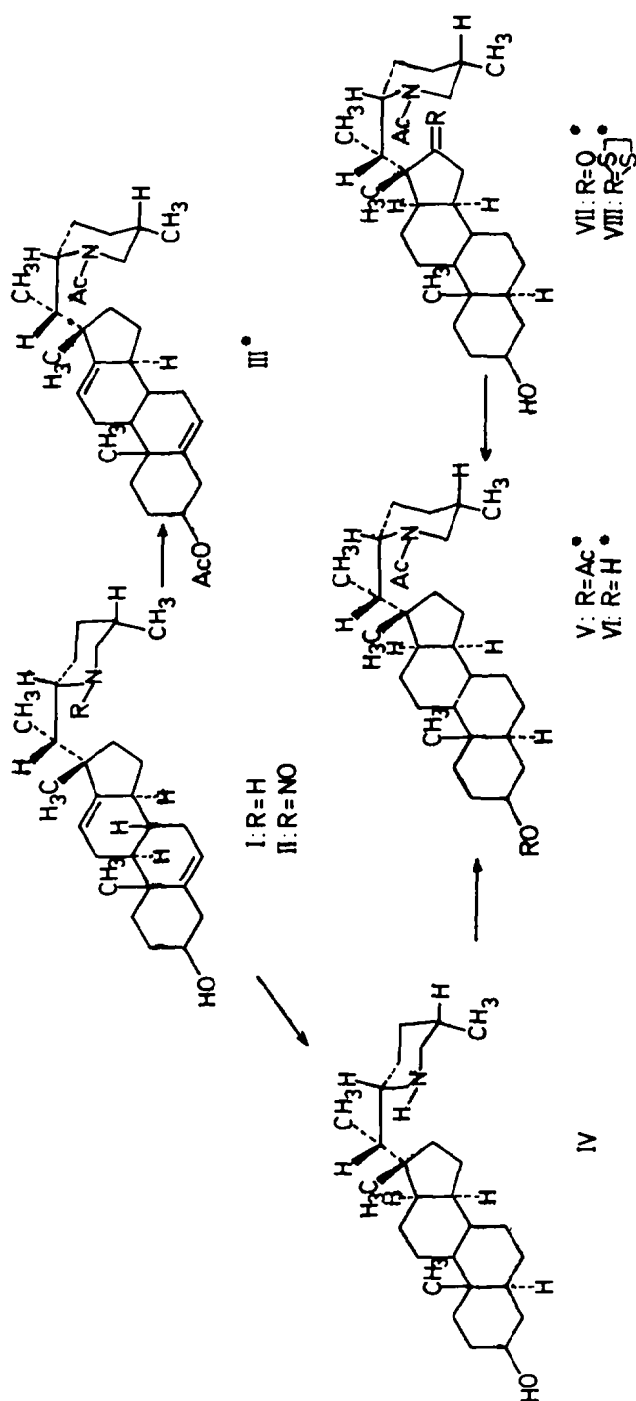
Aus der Bildung der N-substituierten Derivate II–III folgt, dass der Stickstoff in Veralinin als sekundäres Amin vorliegt. Katalytische Hydrierung von I mit PtO_2 in Eisessig führt unter Aufnahme von 2 Mol. Wasserstoff zum Tetrahydroderivat IV. Im NMR-Spektrum dieses Hydrierungsprodukts sind keine Vinylprotonen-Signale mehr erkennbar. Verbindung IV ergibt mit Acetanhydrid-Pyridin bei Raumtemp. das N,O-Diacetat V mit IR-Banden bei 1650 (N-Acetyl) und 1743 cm^{-1} (O-Acetyl), das bei Verseifung mit 2-proz. methanol. Kalilauge die N-Acetyl-Verbindung VI liefert.

Das im Veralinin (I) vorliegende 22,26-Epimino-17 β -methyl-18-nor-17-isocholestan-Grundgerüst und die Stereochemie der stickstoffhaltigen Seitenkette wurde durch partialsynthetische Verknüpfung mit Veralkamin wie folgt bewiesen: Das aus diesem Alkaloid von uns bereits dargestellte^{1a,b} 16-Keton VII wurde durch Umsetzung mit Äthandithiol-HCl in das Dithioketal VIII überführt, dessen Bildung im Gegensatz zu unseren Befunden bei normalen 22,26-Epimino-cholestanen⁵ erschwert ist. Nach Entschwefelung mit Raney-Nickel in absol. Äthanol wurde die gewünschte 16-Desoxo-Verbindung VI durch Kristallisation in 40-proz. Ausbeute von nicht umgesetztem Keton VII abgetrennt. Sie erwies sich nach Misch-Schmp., spez. Drehung und IR-Spektrum mit dem aus Veralinin (I) gewonnenen (22S:25S)-22,26-Acetyl-epimino-17 β -methyl-18-nor-17-iso-5 α .13 α -cholestan-3 β -ol (VI) als identisch.

Nach diesen Befunden blieb lediglich die Lage der Kerndoppelbindungen zu klären. Auf Grund der gut übereinstimmenden molaren Rotationsdifferenzen von $\Delta[M]_D + 373^\circ$,^{1b} $+ 344^\circ$ ^{2b} und 340° , die bei Hydrierung der Kerndoppelbindungen von Veralkamin,¹ Veramin² und Veralinin zu den entsprechenden Tetrahydroderivaten auftreten, nehmen wir für die Lage der Doppelbindungen in Veralinin die gleiche $\Delta^{5,12}$ -Position an, wie sie für die erstgenannten Alkaloide bewiesen wurde. Dies wird weiterhin durch Vergleich der NMR-Spektren von Veralinin und Veralkamin gestützt. In beiden Fällen liegt das Signal der angularen Methylgruppen C-17a und 19 bei δ 0.96 ppm, was auf eine Übereinstimmung von Stereochemie und Doppelbindungslage in der Umgebung dieser Methylgruppen hinweist.

EXPERIMENTELLER TEIL

Schmelzpunkte (Mikroheiztisch nach Boëtius) korrigiert. Spezifische Drehungen in Chf. IR-Spektren: Zeiss-Zweistrahl-Spektralphotometer UR 10, wenn nicht anders angegeben in CCl_4 . UV-Spektren: Perkin-Elmer-Spektralphotometer 137 UV in Äthanol. NMR-Spektren: Varian-Spektrometer A-60 in CDCl_3 unter Verwendung von Tetramethylsilan als interner Standard. Elektronenstoss-Massenspektren: MCH-1303-Spektrometer. Elektronenanlagerungs-Massenspektren: Molekül-Massenspektrograph des Forschungsinstituts Manfred von Ardenne, Dresden. Aufnahme bei den jeweils angegebenen Verdampfungstemperaturen (T_v). Säulenchromatographie: Al_2O_3 (Merck), standardisiert nach Brockmann, der Aktiv-Stufe IV. Dünnschichtchromatographie: Kieselgel G (Merck), aufsteigende Entwicklung mit Chloroform-Methanol 9:1 (Steighöhe 20 cm), wenn nicht anders vermerkt. Detektion mit Jodreagens (0.5 g Jod + 1 g $\text{KJ}/1\text{ H}_2\text{O}$)



* Nach neuen NMR-Untersuchungen an einfachen 2-alkylierten N-acetyl-piperiden⁶ und N-acylierten Veratramin-Derivaten⁷ soll zwischen dem äquatorialen 2-Substituenten und der N-Acyl-Gruppe sterische Hinderung auftreten, die zur Ausbildung der Sesselkonformation mit axialer 2-Alkyl-Gruppe führt. Auf Grund dieser Befunde nehmen wir auch für die N-acetylierten Veralinin-Derivate die in den Formeln dargestellte Piperidinkonformation mit axialer C(20)-C(22)-Bindung an; die Methylgruppe an C-25 nimmt dadurch äquatoriale Stellung ein.

Veralinin ((22S:25S)-22,26-Epimino-17 β -methyl-18-nor-17-iso-cholesta-5,12-dien-3 β -ol, 16-Desoxy-veralkamin, I)

Isoliert aus *Veratrum album* subsp. *lobelianum* (Bernh.) Suessenguth nach bereits früher³ beschriebener Methodik. Aus Hexan Nadeln vom Schmp. 124–126°, $[\alpha]_D^{20}$ –80.0° ($c = 0.248$), R_f 0.21. Zur Analyse wurde bei 110° getrocknet. (C₂₇H₄₃NO (397.7): Ber. C, 81.56; H, 10.90; Gef. C, 81.55; H, 10.77%). NMR-Spektrum: 6-Protonen-Singulett bei δ 0.96 (C-17a und 19-Methyl), sowie 2 Multipletts zentriert bei 3.50 (H an C-3) und 5.30 ppm (Vinylprotonen an C-6 und 12). Elektronenstoss-Massenspektrum (T_e 150°): m/e 397 (M^+), 125 (Fragmentierung zwischen C-17 und 20) und 98 (Fragmentierung zwischen C-20 und 22). IR-Spektrum: 1679 und 3040 (C=CH) sowie 3360 (breit) und 3628 cm⁻¹ (Hydroxyl).

((22S:25S)-22,26-Nitroso-epimino-17 β -methyl-18-nor-17-iso-cholesta-5,12-dien-3 β -ol (N-Nitroso-veralinin, I)

Veralinin (I; 10 mg) wurde in 1 ml Essigsäure gelöst und tropfenweise unter Kühlung mit überschüssiger gesätt. NaNO₂-Lösung versetzt. Verdünnen mit Wasser, Extraktion mit CHCl₃ und Einengen der über Na₂SO₄ getrockneten Lösung ergab 8 mg (75%) dünnsschichtchromatographisch einheitliches (R_f 0.58) II. Aus Hexan Kristalle vom Schmp. 120° (Zers.) und $[\alpha]_D^{20}$ –51.8° ($c = 0.472$). IR-Spektrum: 3320 (breit) und 3628 cm⁻¹ (Hydroxyl). UV-Spektrum: λ_{max} 238 nm ($\log \epsilon = 3.85$), 362 nm ($\log \epsilon = 2.00$).

((22S:25S)-3 β -Acetoxy-22,26-acetylepimino-17 β -methyl-18-nor-17-iso-5,12-cholestadien (N,O-Diacetylveralinin, III)

Veralinin (I; 20 mg) wurde mit je 1 ml Acetanhydrid und Pyridin 20 Stdn. bei Raumtemp. stehengelassen. Einengen zur Trockne i. Vak. ergab 24 mg Rückstand, der im Äther gelöst durch eine Al₂O₃-Säule filtriert wurde: 24 mg (95%) dünnsschichtchromatographisch einheitliches (R_f 0.67) III, aus Äther Kristalle vom Schmp. 159–161°, $[\alpha]_D^{21}$ –52.8° ($c = 0.561$). IR-Spektrum: 1646 (N-Acetyl) und 1733 cm⁻¹ (O-Acetyl).

((22S:25S)-22,26-Epimino-17 β -methyl-18-nor-17-iso-5 α ,13 α -cholestan-3 β -ol (Tetrahydroveralinin, IV)

Veralinin (I; 87 mg) wurde in 10 ml Eisessig mit 20 mg PtO₂ bei Raumtemp. hydriert. Die berechnete Menge Wasserstoff (13.7 ml) wurde innerhalb 3 Stdn. aufgenommen. Verdünnen mit Wasser, Alkalisieren mit verd. Ammoniak und mehrfache Extraktion mit CHCl₃ ergab nach Einengen i. Vak. 81 mg amorphes Produkt. Es wurde in 2 ml Benzol gelöst an 3 g Al₂O₃ chromatographiert. Elution mit Benzol ergab 60 mg (68%) dünnsschichtchromatographisch einheitliches Produkt (R_f 0.23). Aus Aceton-Hexan Nadeln vom Doppelschmp. 80–84° und 110–111°, $[\alpha]_D^{22} + 5.2^\circ$ ($c = 0.591$). Elektronenstoss-Massenspektrum (T_e 150°): m/e 400 und 402* sowie 98 und 125 (Fragmentierung zwischen C-20 und 22 bzw. C-17 und 20). Elektronenanlagerungs-Massenspektrum (T_e 180°): m/e 401 (M^-).† IR-Spektrum: 3380 (breit) und 3628 cm⁻¹ (Hydroxyl). NMR-Spektrum: Zwei 3-Protonen-Singulets bei δ 0.69 und 0.84 (C-19 und 17a-Methyl) sowie ein Multiplett zentriert bei 3.74 ppm (H an C-3).

((22S:25S)-22,26-Acetylepimino-3 β -acetoxy-17 β -methyl-18-nor-17-iso-5 α ,13 α -cholestan (N,O-Diacetyltetrahydroveralinin V)

Tetrahydroveralinin (IV; 18 mg) wurde in 0.5 ml Pyridin gelöst und nach Zugabe von 0.4 ml Acetanhydrid 16 Stdn. bei Raumtemp. stehengelassen. Einengen i. Vak. und Verdünnen mit Wasser ergab 19.6 mg (90%) dünnsschichtchromatographisch einheitliches Produkt (R_f 0.62), das aus den üblichen Lösungsmitteln nicht kristallisierte, $[\alpha]_D^{20} + 14.2^\circ$ ($c = 1.418$). Elektronenanlagerungs-Massenspektrum (T_e 170°): m/e 484 (M^-). IR-Spektrum: 1650 (N-Acetyl) und 1743 cm⁻¹ (O-Acetyl).

((22S:25S)-22,26-Acetylepimino-17 β -methyl-18-nor-17-iso-5 α ,13 α -cholestan-3 β -ol (N-Acetyl-tetrahydroveralinin, VI).

(a) Aus Verbindung V (9.2 mg) wurde mit 2 ml 2-proz. methanol. Kalilauge 2 Stdn. unter Rückfluss erhitzt. Einengen i. Vak., Extraktion der mit Wasser verdünnten Lösung mit Methylenchlorid. Waschen mit Wasser, Trocknen über Na₂SO₄ und Eindampfen zur Trockne ergab 8 mg (95%) dünnsschichtchromatographisch einheitliches (R_f 0.50) VI vom Schmp. 231–240°; nach 2maliger Kristallisation aus Chloroform-Hexan

*† Der zu erwartende Molekülionenpeak bei m/e 401 tritt im Elektronenstoss-Massenspektrum von IV nicht auf. Ein ähnlich ungewöhnliches Spektrum zeigt das Alkaloid Veratramin, das anstelle des Molekülions Peaks bei M-1, M-2 und M + 1 aufweist; vgl. Lit.⁸ Auch im Elektronenanlagerungs-Massenspektrum verhält sich IV anomal und reagiert nicht nach dem M-1- sondern nach einem M⁻-Mechanismus.

Nadelbüschel vom Schmp. 242–243°, $[\alpha]_D^{21} + 24.8^\circ$ ($c = 0.510$). Elektronenanlagerungs-Massenspektrum (T_r , 200°): m/e 442 (M^- ·1). IR Spektrum (Nujol): 1618 (N-Acetyl) und 3458 cm^{-1} (Hydroxyl).

(b) Aus Verbindung VII über das Dithioketal VIII: Ketone VII^{1b} (100 mg) wurde in 9 ml Äthandithiol heiss gelöst. Nach Abkühlung leitete man 8 Stdn. lang trockenen Chlorwasserstoff durch die Lösung. Es hinterblieb ein zähes Öl, das in Methylenchlorid aufgenommen wurde. 3maliges Ausschütteln der organ. Phase mit 5-proz. Kalilauge, Neutralwaschen mit Wasser, Trocknung über Na_2SO_4 und Einengen i. Vak. ergab eine teilweise kristalline Substanz. Das Produkt enthielt laut IR-Spektrum neben dem Dithioketal VIII noch beträchtliche Mengen Ausgangsketon VII (IR-Bande bei 1737 cm^{-1}). Es wurde ohne weitere Reinigung in 50 ml absol. Äthanol gelöst und mit frischbereitetem Raney-Nickel (aus 5 g Legierung) 4 Stdn. und nach Zugabe der gleichen Menge Raney-Nickel weitere 5 Stdn. unter Rückfluss erhitzt. Filtration und Einengen i. Vak. ergab 90 mg kristallinen Rückstand vom Schmp. 220–234°, der laut Dünnschichtchromatogramm (Al_2O_3 (VEB Chemiewerk Greiz-Dörlau), standardisiert nach Brockmann, mit 10% Gipszusatz bei aufsteigender Entwicklung mit Äther) ein Gemisch aus Desoxoverbindung VI (R_f 0.20) und nichtumgesetztem 16-Keton VII (R_f 0.08) darstellte. Kristallisation aus Aceton–Wasser und anschliessendes 2maliges Umlösen aus Chloroform–Hexan lieferte 39 mg (40%) Nadelbüschel vom Schmp. 242–243° und $[\alpha]_D^{21} + 25.0^\circ$ ($c = 0.510$), die sich nach Misch-Schmp., Dünnschichtchromatogramm und IR-Spektrum mit dem nach Methode (a) erhaltenen Produkt als identisch erwiesen. Durch 3 maliges Umlösen der bei der Aceton–Wasser-Kristallisation erhaltenen Mutterlaugenrückstände aus Chloroform–Hexan wurden 34 mg (34%) reines Ausgangsketon VII vom Schmp. 272–275° zurückerwonnen.

Danksagungen—Wir danken den Herren Prof. Dr. C. Djerassi, Stanford, für die NMR-Spektren, Dr. R. Tümmler, Dresden, für die Elektronenanlagerungs-Massenspektren, Dr. L. Dolejš und Dr. V. Hanuš, Prag, für die Elektronenstoss-Massenspektren sowie Fräulein U. Hof, Gatersleben, für fleissige technische Mitarbeit.

LITERATUR

- ^{1 a} J. Tomko, A. Vassová, G. Adam, K. Schreiber und E. Höhne, *Tetrahedron Letters* 3907 (1967);
- ^b J. Tomko, A. Vassová, G. Adam und K. Schreiber, *Tetrahedron* **24**, 4865 (1968).
- ^c E. Höhne, G. Adam, K. Schreiber und J. Tomko, *Ibid.* **24**, 4875 (1968).
- ^{2 a} G. Adam, K. Schreiber, J. Tomko, Z. Votický und A. Vassová, *Tetrahedron Letters* 2815 (1968).
- ^b J. Tomko, Z. Votický, A. Vassová, G. Adam und K. Schreiber, *Coll. Czech. Chem. Commun.* im Druck.
- ³ J. Tomko und A. Vassová, *Chem. Zvesti* **18**, 266 (1964).
- ⁴ M. v. Ardenne, R. Tümmler, G. Adam und K. Schreiber, Veröffentlichung in Vorbereitung.
- ⁵ G. Adam und K. Schreiber, unveröffentlicht.
- ⁶ H. Paulsen und K. Todt, *Angew. Chem.* **78**, 943 (1966); *Angew. Chem. (Internat. Edit.)* **5**, 899 (1966); *Chem. Ber.* **100**, 3385 (1967).
- ⁷ J. N. Scott, L. J. Durham, H. A. P. DeJongh, U. Burckhardt und W. S. Johnson, *Tetrahedron Letters* 2381 (1967).
- ⁸ H. Budzikiewicz, *Tetrahedron* **20**, 2267 (1964).