

LACTONALKALOIDE AUS AMARYLLIDACEEN

Werner Döpke

Sektion Chemie Humboldt Universität, Berlin, DDR

In dem folgenden Artikel wird eine kurze Übersicht über die zur Zeit bekannten Lacton- Lactol- Alkaloide aus der Familie der Amaryllidaceen gegeben. Es werden die wichtigsten Strukturableitungen von Basen, die nahe mit dem Clivonin verwandt sind abgehandelt. Schließlich werden die wichtigsten Fragmentierungen im Massenspektrometer sowie die mögliche Biosynthese diskutiert.

- 1) Einleitung, Stellung der Amaryllidaceen
- 2) Lacton- Alkaloide und ihre Stellung zu den Lycorin- Alkaloiden
- 3) Lacton- Lactol- Alkaloide
- 4) Dimere Alkaloide und Massenspektrometrie
- 5) Biosynthese

Die Amaryllidaceen sind eine Familie einkeimblättriger Pflanzen aus der Ordnung der Liliiflorae. Sie stehen nach der botanischen Systematik den Lilaceen sehr nahe, unterscheiden sich von diesen morphologisch aber dadurch, daß sie nicht einen oberständigen, sondern einen unterständigen Fruchtknoten besitzen. In den Handbüchern werden sie gewöhnlich in vier Unterfamilien gegliedert, von denen die der Amaryllidoideen oder Amaryllidaceen im engeren Sinne mit ungefähr 55 Gattungen die umfangreichste darstellt. Nur von dieser Unterfamilie soll die Rede sein, wenn von Amaryllidaceen die Rede ist, weil sie allein typische Alkaloidpflanzen umfaßt. Es sind bisher mehr als 150 verschiedene Arten und Varietäten mehr oder weniger eingehend geprüft worden, und von diesen haben sich nur zwei als praktisch alkaloidfrei erwiesen. Die drei übrigen Unterfamilien zu denen z. B. die Agavoides (Agaven-Gewächse) gehören, führen hingegen nach unseren Kenntnissen keine Alkaloide, und dem entspricht auch, daß sie von modernen Systematikern überhaupt nicht mehr zu den Amaryllidaceen gerechnet werden.

Die Amaryllidaceen sind mit wenigen Ausnahmen Zwiebelpflanzen. Sie haben ihr Hauptverbreitungsgebiet in den Steppen der Tropen und Subtropen, vorwiegend der südlichen Hemisphäre. Nur wenige Gattungen erreichen die kältere gemäßigte Zone, wie z. B. die Narzissen, die Schneeglöckchen, die Frühlingsknotenblume oder *Leucojum* und die Narcissenlilie oder *Pancratium*. Glücklicherweise werden aber mehrere tropische Gattungen und Arten in Mitteleuropa als Zierpflanzen kultiviert, so daß sie einigermaßen leicht zugänglich sind. Als die bekanntesten Vertreter seien hier *Amaryllis*, *Clivia*, *Crinum* oder Hakenlilie, *Hippeastrum* oder Ritterstern, *Haemanthus*, *Vallota* und *Nerine*, die früher wegen ihrer prächtigen Blüte sehr geschätzt wurden, genannt.

Die physiologische Wirkung einiger Amaryllidaceen war schon im Altertum bekannt. Dies gilt insbesondere für verschiedene *Narcissus*-Arten, deren Zwiebeln z. B. bis zur Einführung der *Ipecacuanha* zu den gebräuchlichsten Brechmitteln gehörten. Einige Arten von *Haemanthus*, *Buphane* und

Crinum sollen noch heute in Afrika von den Einwohnern für Heilzwecke und auch zur Bereitung von Pfeilgiften verwendet werden. Die Erforschung der wirksamen Prinzipien dieser Pflanzen hat jedoch verhältnismäßig spät eingesetzt und ist, offensichtlich bedingt durch anfängliche Mißerfolge, nur sehr zögernd fortgeführt worden. Zwar hat schon Gerrard 1877 nachgewiesen, daß der emetischwirkende Inhaltstoff von *Narcissus pseudonarcissus*, der gelben Narzisse, alkaloidischer Natur ist, aber erst im Jahre 1910 wurde aus dieser Pflanze erstmalig eine kristallisierte Base isoliert. Diese erwies sich als identisch mit Lycorin, das einige Jahre vorher von Morishima¹⁾ in der japanischen Amaryllidacee *Lycoris radiata* entdeckt worden war. In der Folgezeit hat sich gezeigt, daß Lycorin bei den Amaryllidaceen außerordentlich weit verbreitet vorkommt²⁾. Es sind bis heute nur wenige Pflanzen dieser Familie bekannt geworden, in denen dieses Alkaloid nicht nachzuweisen war. Man kann das Lycorin daher als das Leitalkaloid der Amaryllidaceen ansehen und es in dieser Hinsicht mit dem Protopin vergleichen, das bei den Papaveraceen ähnlich weit verbreitet ist.

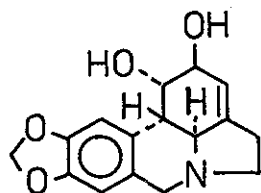
Lycorin blieb lange Zeit das einzige einwandfrei charakterisierte Amaryllidaceen-Alkaloid, bis Kondo³⁾ in Japan aus *Lycoris radiata* noch sechs weitere Basen isolieren konnte. Kondo und seine Mitarbeiter sind es auch, denen wir die Pionierarbeit bei der Konstitutionsaufklärung des Lycorins verdanken.

Die chemische Untersuchung anderer Amaryllidaceen als der *Lycoris radiata* beschränkte sich bis vor wenigen Jahren im wesentlichen auf die Isolierung von Lycorin, das im übrigen wegen seiner Kristallisationsfreudigkeit und geringen Löslichkeit sehr leicht zu gewinnen ist. So waren, als wir in unserem Arbeitskreis in Berlin und fast gleichzeitig auch Wildman in den USA mit der Bearbeitung dieses Gebietes begannen, einschließ lich der Lycoris-Basen nur ungefähr zehn als einheitlich anzusprechende Alkaloide aus Amaryllidaceen bekannt, und außer der *Lycoris radiata* war kaum eine Pflanze dieser Familie einigermaßen gründlich auf ihre Inhaltsstoffe geprüft worden.

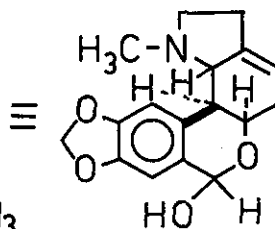
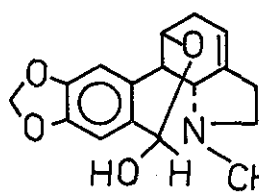
Es hat sich nun gezeigt, daß wir es bei den Amaryllidaceen

mit einer ungewöhnlich alkaloidreichen Pflanzenfamilie zu tun haben. In ungefähr 150 verschiedenen Arten und Varietäten, die in den letzten Jahren analysiert wurden, sind bis heute über einhundert Alkaloide aufgefunden worden, und es ist damit zu rechnen, daß sich diese Zahl noch erhöht, wenn die Untersuchungen auf weitere, schwerer zugängliche Arten ausgedehnt werden. Dabei haben sich zwei bemerkenswerte Befunde ergeben, nämlich 1) daß keines dieser Alkaloide an anderer Stelle im Pflanzenreich vorkommt oder jedenfalls bisher entdeckt worden ist, und 2) daß auch die Strukturtypen, denen diese Alkaloide nach unseren Kenntnissen angehören, bei Alkaloiden aus anderen Pflanzenfamilien anscheinend nicht auftreten. Es liegen auch keine Anzeichen dafür vor, daß die Alkaloide der Amaryllidaceen mit denen aus anderen Pflanzenfamilien irgendwie strukturverwandt sind, vor allem nicht mit den Alkaloiden aus der botanisch verwandten Familie der Liliaceen, bei denen manche Gattungen, wie *Veratrum* und *Fritillaria* Steroid-Basen bilden, während bei anderen, z. B. *Colchicum*, Colchicin und verwandte Verbindungen auftreten.

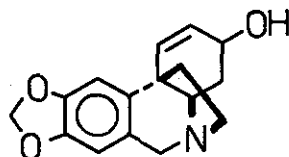
Nach ihren Strukturtypen lassen sich die bisher bekannten Alkaloide in sechs Gruppen einteilen, die nach den am besten bekannten Vertretern als



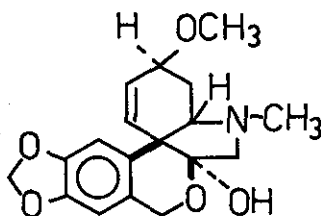
Lycorin-Gruppe



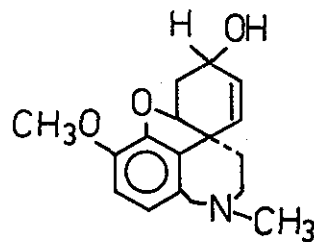
Lycoramine-Gruppe



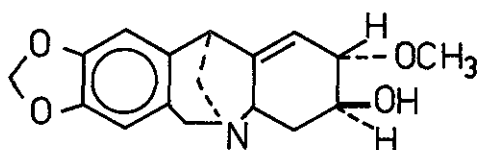
Crinidine-Gruppe



Tazettine-Gruppe



Galanthamine-Gruppe



Manthidin- Gruppe

bezeichnet werden.

Die Alkaloide der Lycorin- Gruppe besitzen ein partiell hydriertes 4.5- Äthano- phenanthridin- Gerüst, an dessen Carbocyclen sich jeweils eine oder zwei Sauerstofffunktionen befinden. Das Vorliegen dieses Ringsystems ist von Kondō bereits vor längerer Zeit erkannt worden.

In naher struktureller Verwandtschaft zu dieser Gruppe stehen nun aber die Lycorenin- Homolycorin- Alkaloide, die als Lactol- oder Cyclohalbacetal formuliert werden können. Diese Gruppe bietet sowohl in struktureller wie auch in biogenetischer Hinsicht eine Reihe von chemisch interessanten Aspekten, die im folgenden diskutiert werden sollen.

In der folgenden Tabelle sind alle bisher bekannten Lactol- Lactol- Alkaloide aus Amaryllidaceen aufgeführt.

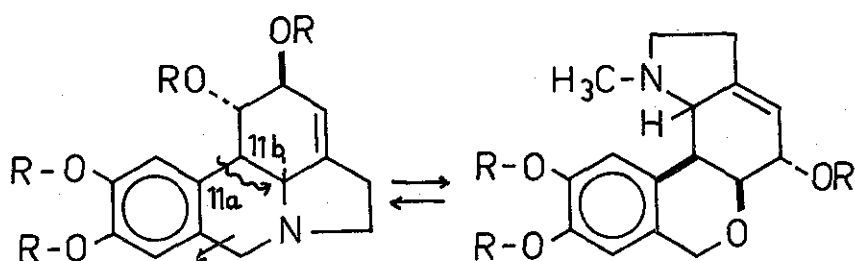
Alkaloid	F	$[\alpha]_D$	Salz	Vorkommen
Masonia $C_{17}H_{17}NO_4$	180	+140	Pikr. 253 Perchl. 281	Merine masonerum ⁴⁾
Hippeastrin $C_{17}H_{17}NO_5$	214	+160	Pikr. 256	Hippeastrum vittatum ⁵⁾
Norneronin $C_{17}H_{17}NO_6$	238	+90	HCl 224	Pancreatium longiflorum ⁶⁾
Odulin $C_{17}H_{19}NO_4$	168	+239	Pikr. 221	Narcissus odorus ⁷⁾
Desmethyl homolycorin $C_{17}H_{19}NO_4$	213	+96	Äthyläther 204	Lycoris radiata ⁸⁾
Clivonia $C_{17}H_{19}NO_5$	199	-41	Pikr. 250	Clivia miniata ⁹⁾

Radiatin $C_{17}H_{19}NO_5$	171	+237	Oxim 194	<i>Lycoris radiata</i> ¹⁰⁾
Clividin $C_{17}H_{19}NO_5$				<i>Clivia miniata</i> ¹¹⁾
Nivalin $C_{18}H_{19}NO_5$	131	+258		<i>Galanthus nivalis</i> ⁹⁾
Ungerin $C_{18}H_{19}NO_5$	135-6	+103	HCl 270	<i>Leucojum aestivum</i> ¹²⁾
Neronin $C_{18}H_{19}NO_6$	196-7	+162	Pikr.205	<i>Nerine kriegei</i> ⁹⁾
Candimin $C_{18}H_{19}NO_6$	219	+220	Pikr.220	<i>Hippeastrum candidum</i> ¹³⁾
Homolycorin $C_{18}H_{21}NO_4$	175	+85	Pikr.268	<i>Lycoris radiata</i> ¹⁴⁾
Penaroin $C_{18}H_{21}NO_4$	171	+110	Pikr.255	<i>Narcissus cyclami</i> ¹⁵⁾ neus
Krigenamin $C_{18}H_{21}NO_5$	210	+210	Jodm.235	<i>Nerine kriegei</i> ¹⁶⁾
Krigein $C_{18}H_{21}NO_6$	210	+234		<i>Nerine kriegei</i> ⁹⁾
Neruscin $C_{18}H_{23}NO_5$	118	+92	HJ247	<i>Nerine corusca</i> ¹⁷⁾
Lycorenin $C_{18}H_{23}NO_4$	199	+150	Jodm.260	<i>Lycoris radiata</i> ³⁾
Albonaculin $C_{19}H_{23}NO_4$	180	+71	Pikr.189	<i>Haemanthus albo</i> ⁹⁾ maculatus
Urminin $C_{19}H_{23}NO_5$	177	-40	-	<i>Urceolina miniata</i> ¹⁸⁾
Nerinin $C_{19}H_{25}NO_5$	209	+155	-	<i>Nerine sarniensis</i> ¹⁹⁾
Urceolin $C_{19}H_{25}NO_5$	189	+180	Pikr.188	<i>Urceolina miniata</i> ¹⁸⁾
Clivatin $C_{21}H_{25}NO_7$	166	+52	Pikrol.150	<i>Clivia miniata</i> ²⁰⁾

Clivimin	264	+32	Perchl.305	Clivia miniata ²¹⁾
$C_{43}H_{43}N_3O_{12}$				
Miniatin	206	+8	Pikr.180	Clivia miniata ²²⁾
$C_{45}H_{47}N_3O_{15}$				
Cliviasin	195-7	-	Perchl.273	Clivia miniata ²³⁾
$C_{17}H_{19}NO_5$				

2) Lycorenin- Homolycorin und die Beziehungen zu den 4.5- Äthano-
phenanthridin- Alkaloiden

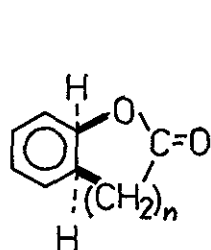
Die am besten untersuchten Alkaloide dieses Strukturtyps sind das Lycorenin und das Homolycorin, zwei in *Lycoris radiata* und in verschiedenen *Narcissus*- Arten aufgefundene Basen. Um die Strukturauflklärung des Lycorenins hat sich Kondo bereits vor längerer Zeit bemüht, aber es hat noch eine Reihe von Jahren gedauert, bis erkannt wurde, daß es sich um ein Lactol (Cyclohalbacetal) handelt, das zu seinem entsprechenden Lacton dem Homolycorin oxydiert werden konnte. Dieses Lacton wurde, wie der Name besagt, irrtümlicherweise für ein Homologes des Lycorins gehalten. Wie die nachfolgende Schreibweise zeigt, besteht eine sehr enge strukturelle und biogenetische Beziehung zwischen diesen beiden Strukturtypen. Wenn wir den Lacton- Alkaloiden ein 2- Benzo- pyrreno [3,4g] - Indol Gerüst zu Grunde legen, so kann eine hypothetische Spaltung der Bindung zwischen dem Stickstoff und dem C- 7, gefolgt durch eine anschließende Drehung des Hexyhydroindol-Kerns um 180° um die C- 11a- C- 11b Bindung, Ringschluß zwischen dem C-1 Sauerstoff und dem C- 7 und schließlich N- Methylierung zu den Alkaloiden vom Typ des 4.5- Äthano- phenanthridins führen:



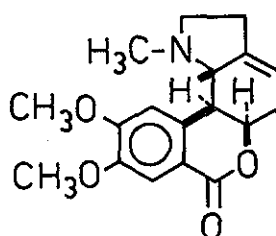
Der umgekehrte Weg würde eine N-Desmethylierung, sowie eine Spaltung der C-7-Sauerstoffbindung voraussetzen, schließlich eine Drehung um 180° um die C-11a-C-11b-Bindung und anschließenden Ringschluß zwischen C-7 und dem Stickstoff erfordern. Diese Transformationen spielen sicherlich bei der Biosynthese der Amaryllidaceen-Alkaloide eine wichtige Rolle und konnten bei in vitro-Synthesen auch bereits realisiert werden.

Sicherlich ist diese selektive Umwandlung in entscheidendem Maße abhängig von der jeweiligen Konfiguration an den Chiralitätszentren, sodaß der Bestimmung der absoluten Konfiguration eine besondere Bedeutung beikommt.

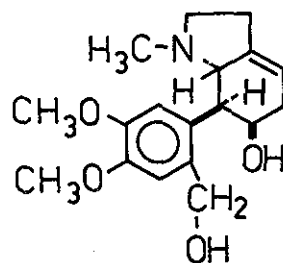
Die absolute Konfiguration der Alkaloide dieser Gruppe konnte durch die chemische Umwandlung in Basen vom Lycoria-Typ sowie der Anwendung der Mill'schen Regel und der Hudson-Klyne'schen Regel abgeleitet werden. Ist diese Regel, die von der Annahme ausgeht, daß Lactone der nachstehenden Form die stärker positiven Molekularrotationen aufweisen, als die entsprechenden Lactone mit geöffnetem Ring auch hier gültig, so sollte das Homolycorin und Tetrahydrohomolycorin wie nachstehend zu formulieren sein:



Lacton



Homolycorin



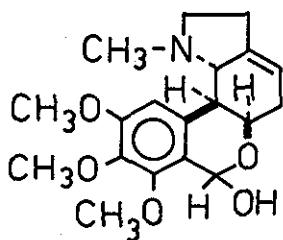
Tetrahydrohomolycorin

Diese Annahme konnte durch die Röntgen- Kristallstruktur- analyse des Dihydrolycorins bestätigt werden.

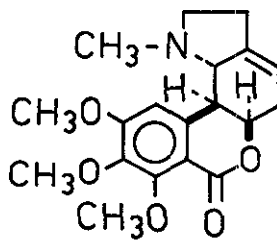
3) Lacton- Lactol- Alkaloide

Nerinin und Albomaculin

Dem Lycorenin/ Homolycorin entsprechende Lactol- Lacton- Paare liegen im Nerinin und Albomaculin vor, die auf Grund ihrer chemischen Abbaureaktionen als ar- Methoxyhomolycorin betrachtet wurden. Hierbei blieb aber unberücksichtigt, in welcher Position sich die isolierte Doppelbindung befinden sollte und ob die dritte aromatische Methoxygruppe sich am C-8 oder C-11 befindet. Analog wurde das Nerinin auf Grund seiner Oxydierbarkeit zum Albomaculin als ar- Methoxylyco- renin angesehen. Neuere chemische und vor allem spektrosko- pische Studien haben aber klare Beweise dafür erbracht, daß den Alkaloiden die folgenden Strukturen zu kommen:



Nerinin



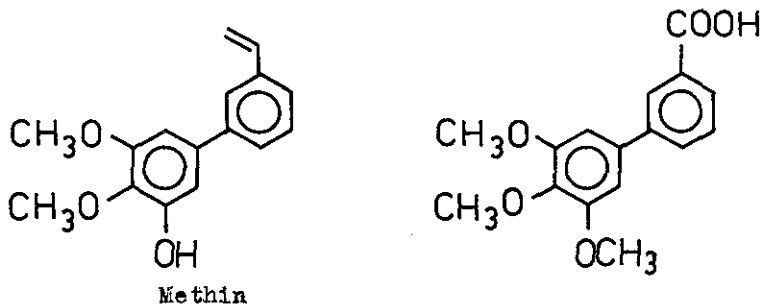
Albomaculin

Besonders interessant war die Beweisführung für die Position der dritten Methoxygruppe, da bei Vergleichsuntersuchungen innerhalb dieser Gruppe festgestellt werden konnte, daß Al- kaloide mit einer Methoxygruppe am C- 11 bei der Jodmethy- latbildung wesentlich langsamer reagieren, als Basen die an dem gleichen C- Atom nur ein Wasserstoff besitzen. In den Tetrahydroderivaten, die durch LiAlH_4 - Reduktion aus den

Lactonalkaloiden gewonnen werden können, war eine beschleunigte Jodmethylatbildung zu beobachten, was mit Sicherheit auf die weniger behinderte Rotation um die C-11a- C-11b Bindung zurückzuführen ist.

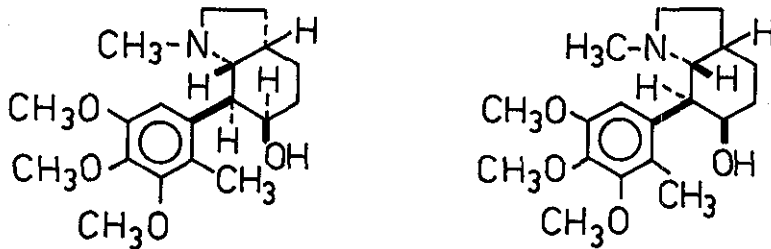
Da das Albomaculin und auch sein cyclischer Äther mit einer dem Homolycorin und Desoxylycorenin vergleichbaren Geschwindigkeit methylierbar war, wurde dem Alkaloid daher eine Struktur mit der Methoxygruppe am C- 8 zugeordnet.

Dieser interessante Befund wurde dann durch spektroskopische und chemische Untersuchungen weiter erhärtet. So liefert das Albomaculin- methoxyd unter bestimmten Bedingungen ein Methin, daß anschließend methylierbar ist:



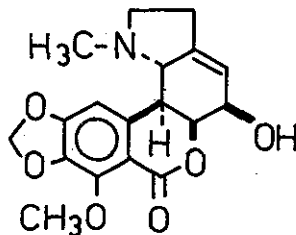
und durch Oxydation in eine Trimethoxybiphenyl- dicarbonsäure übergeführt werden kann.

Abbaureaktionen am Nerinin führten zu ähnlichen Ergebnissen, bestätigten damit die Struktur und ließen zugleich die Stereochemie ableiten. Die katalytische Hydrierung des Nerinins lieferte zwei Verbindungen, die als *L*- und *B*-Desoxydihydronerinin bezeichnet wurden. Die reduktive Entmethoxylierung mit Na/ Amylalkohol dieser Verbindungen lieferte *L*- und *B*-Desoxydihydrolycorenin, so daß mit Hilfe der Freudenberg'schen Verschiebungsregel auch die absolute Konfiguration an den C- Atomen C- 5a, C- 11b und C- 11c abgeleitet werden konnte.



Candimin

ist ein aus *Hippeastrum candidum* isolierbares Alkaloid, das in seinem IR- Spektrum eine Methylendioxygruppe, eine Methoxy- eine N- Methyl-, eine Hydroxy- und eine Lactonfunktion ausweist. Die Hydroxygruppe muß dabei allylständig angeordnet sein, da die Oxydation mit MnO₂ zu einem α,β - ungesättigten Keton führt.

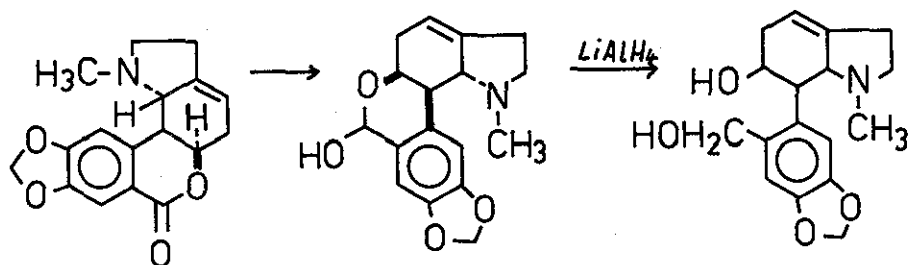


LiAlH₄ Einwirkung liefert ein vicinales Diol, so daß die Struktur eines Methoxyhippeastrins wahrscheinlich war. Bei der katalytischen Hydrierung erhält man zwei isomere Dihydroverbindungen. Dieses Ergebnis ist interpretierbar, wenn die Untersuchungen am Lycorin und Lycorenin zu Grunde gelegt werden. Hier erwies es sich, daß ein axialer Substituent an allylständigem C- Atom, also am C-5 die Annäherung des Wasserstoffs von der entgegengesetzten Seite des Moleküls ermöglicht, während beim Vorliegen von zwei Hydroxygruppen oder einer äquatorialen Hydroxygruppe an diesem allylständigen C- Atom die Annäherung des Wasserstoffs von beiden Seiten des Moleküls ermöglicht, und damit zwei Hydro-Derivate gebildet werden können. Damit ergibt sich für das

Candimin, daß die C-5 Hydroxygruppe äquatorial und cis-ständig zur Lacton-Gruppe am C-5a angeordnet ist.

Odulin und Masonin

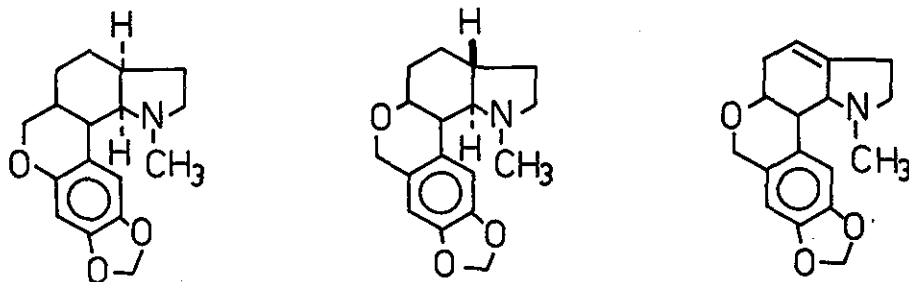
zwei Alkaloide aus *Nerine masonorum* und *Narcissus odorus* var. *rugulosus* zeigen in ihrem spektralen Verhalten die typischen Lacton- Lactolfunktionen. Odulin geht bei der Reduktion mit LiAlH_4 in Tetrahydromasonin über, das seinerseits beim Erwärmen mit Phosphorsäure das Desoxyodulin liefert. Die anschließende Hydrierung dieser Verbindung führt zu den beiden Desoxydihydroodulinen A und B, zwei Verbindungen, die sich in ihren IR- Spektren sehr ähnlich verhalten, wie die Dihydrodesoxylycorenine A- und B.



Masonin

Odulin

Tetrahydromasonin



Desoxydihydroodulin

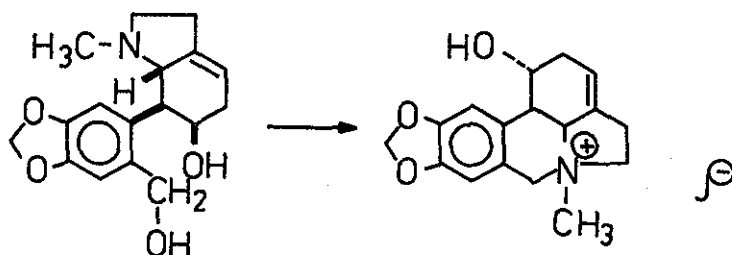
Desoxyodulin

Aus den NMR- Spektren war ferner auf eine cis- Verknüpfung der Ringe B/C zu schließen.

Für das durch Oxydation aus Odulin erhältliche Masonin muß sich daher die folgende Struktur ergeben, die sich ebenfalls durch das NMR- Spektrum der Base bestätigen läßt.

Der letzte Beweis für die voranstehend angegebene Konstitution und Konfiguration des Odulins und Masonins konnte schließlich durch die Korrelierung des Odulins mit dem Caranin- B- jodmethylat, einem Alkaloid, dessen Konfiguration bereits früher sichergestellt werden konnte, geschaffen werden.

Reduziert man Odulin mit LiAlH_4 , so erhält man Tetrahydromasonin, das seinerseits leicht mit p- Toluolsulfochlorid in das entsprechende Tosylat übergeführt wird.



Das über einen Ionenaustauscher Amberlit IRA- 400 (OH- Form) erhaltene Eluat wird anschließend mit HJ versetzt und man erhält das Caranin- B- jodmethylat.

4) Dimere Alkaloide und Massenspektrometrie

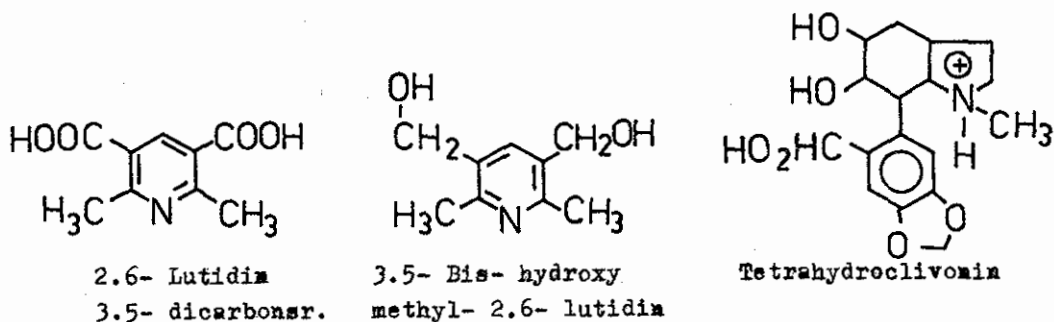
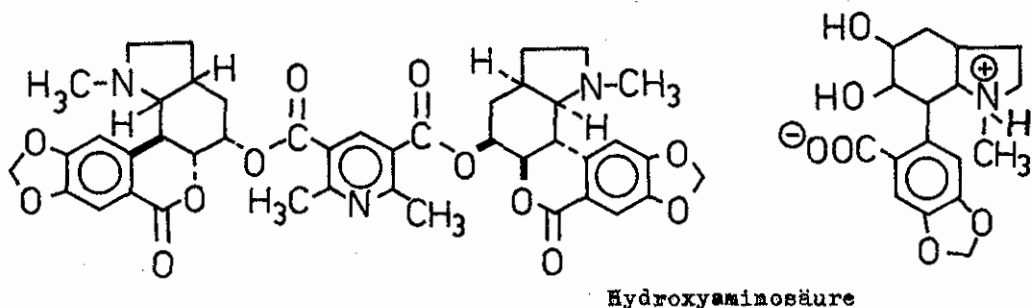
Clivonin und Clivimin

sind zwei Alkaloide aus *Clivia miniata* Regel, deren Struktur auf dem folgenden Wege abgeleitet werden konnten:

Unterwirft man Clivimin einer durchgreifenden Hydrolyse, so erhält man 2,6- Lutidin- 3,5- dicarbonsäure.

Eine ebenfalls entstehende Hydroxyaminosäure geht bei der Behandlung mit Mineralsäure leicht in das Alkaloid Clivonin über, das bei der Reduktion mit LiAlH_4 den Aminoalkohol

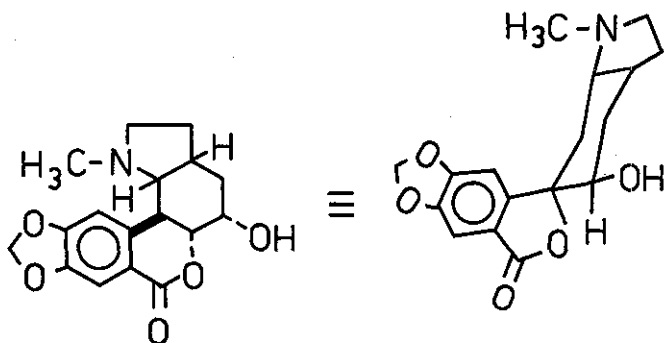
Tetrahydroclivonin liefert. Wird Clivonin mit LiAlH_4 reduziert, so entsteht neben der Hydroxyaminosäure das 3.5- Bis-hydroxymethyl- 2.6- lutidin:



Die eindeutige sterische Strukturableitung gelang durch das 100 MHz- KMR- Spektrum des Clivonins und O- Acetylclivonins. Die große Kopplungskonstante von $J = 12,5$ c/s für die Protonen am C- 5a und C- 11b kann nur mit einer trans- diaxialen Anordnung in Übereinstimmung gebracht werden. Damit muß eine trans- Verknüpfung der Ringe B/C vorliegen. Die Verknüpfungsart der Ringe G/D kann aus den Konstanten $J_{4d,4B} = 15,5$ c/s, $J_{4d,3a} = 3,5$ c/s und $J_{4B,3a} = 6,5$ c/s abgeleitet werden. Die Größe der Kopplung des Protons am C-3a ist nur mit einer äquatorialen Anordnung dieses Protons vereinbar. Damit muß

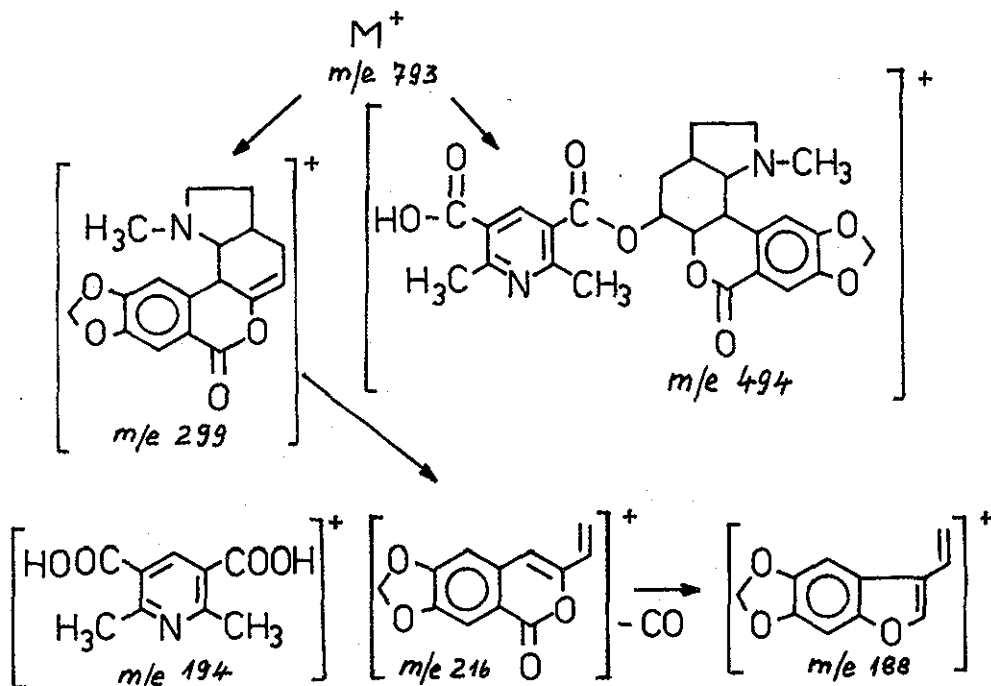
die Bindung C- 3a- G- 2 axial in Hinsicht auf den Ring C angeordnet sein, und so müssen die Ringe C/D cis verknüpft vorliegen.

Damit ergibt sich für das Clivonia die nachstehende Stereostruktur, die mit den ORD- und CD- Untersuchungen voll übereinstimmt. Hierbei wurde gefunden, dass alle Lacton-Alkaloide aus Amaryllidaceen mit einer cis Verknüpfung der Ringe B/C einen negativen Cotton-Effekt mit großer Amplitude bei 320 nm aufweisen. Im Gegensatz hierzu zeigen die ORD- Spektren des Clivonias nur einen schwachen negativen Cotton-Effekt im dem gleichen Bereich. Ähnliche Ergebnisse wurden bei den Circular dichroismen erhalten, denn Clivonia weist hierbei ein schwach negatives Maximum $[\Theta]_{300} - 407^\circ$ auf, während die CD Kurve des Δ - Dihydrohipeastrins einen wesentlich stärkeren Maximum $[\Theta]_{305} - 1221^\circ$ aufweist.



Im Hinblick auf diese erste Struktur mit einer trans- Verknüpfung der Ringe B/C bei den Amaryllidaceen- Alkaloiden ist natürlich auch das Fragmentierungsverhalten im Massenspektrometer von besonderem Interesse. Das hochaufgelöste Spektrum bestätigte zunächst die Bruttozusammensetzung zu $C_{43}H_{43}N_3O_{12}$. Die intensivsten Spitzen traten bei m/e 494, m/e 299, m/e 96 und m/e 83 auf. Eine Spaltung der C-5+0 Bindung mit Wasserstoff- transfer vom C-5a und Erhalt der Ladung am Hauptfragment, ist sicherlich verantwortlich für die Bildung des Ions m/e 494. Der gleiche Verlauf unter Erhalt der Ladung bei den anderen Fragmenten liefert einen

ausreichenden Hinweis für die Bildung des Ions m/e 299. Eine anschließende Retro-Diels-Alder Fragmentierung dieses Ions führt dann zur Bildung des Fragments m/e 216, das dann seinerseits unter Verlust von $C=O$ zur Bildung des Ions m/e 188 führt.



Die Spitzen bei m/e 96 und m/e 83 treten auch bei der Untersuchung des Clivonins auf und sind bekannt. Ein Fragment mit der Massenzahl m/e 194 ist für die Lutidindicarbonsäure verantwortlich.

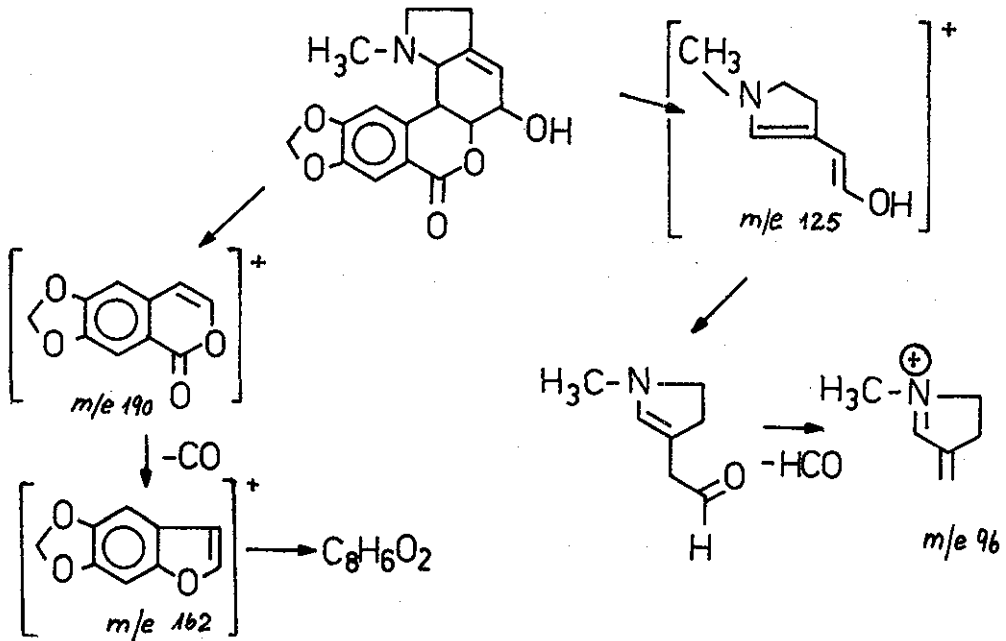
Massenspektrometrie der Lacton- Alkaloide

Bei der Interpretation von MS- Spektren der Lacton- Lactol- Alkaloide müssen wir mehrere Gruppen differenzieren:

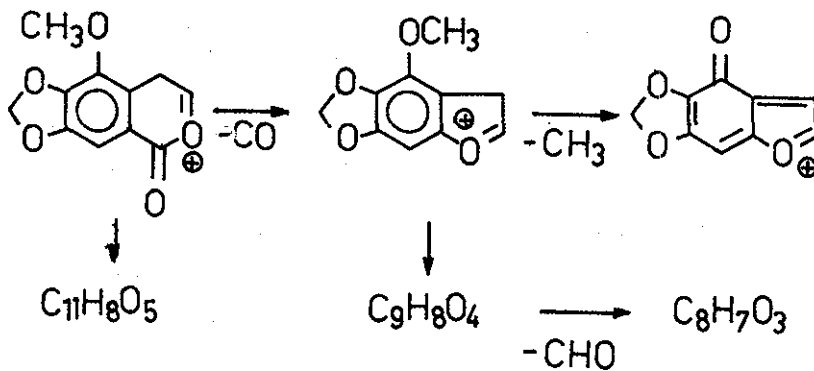
- 1) Alkaloide mit einer $\Delta^{3a,4}$ -Doppelbindung vom Typ des Hippastrins. Hier finden sich intensive Spitzen bei m/e 125 und 96. Solche N- haltigen Fragmente entsprechen dem Pyrrolidin- Kern und sind typisch. Andererseits zeigen die Spektren auch Fragmente bei m/e 190 und repräsentieren damit die

andere Hälfte des Moleküls (125 + 190 = 315).

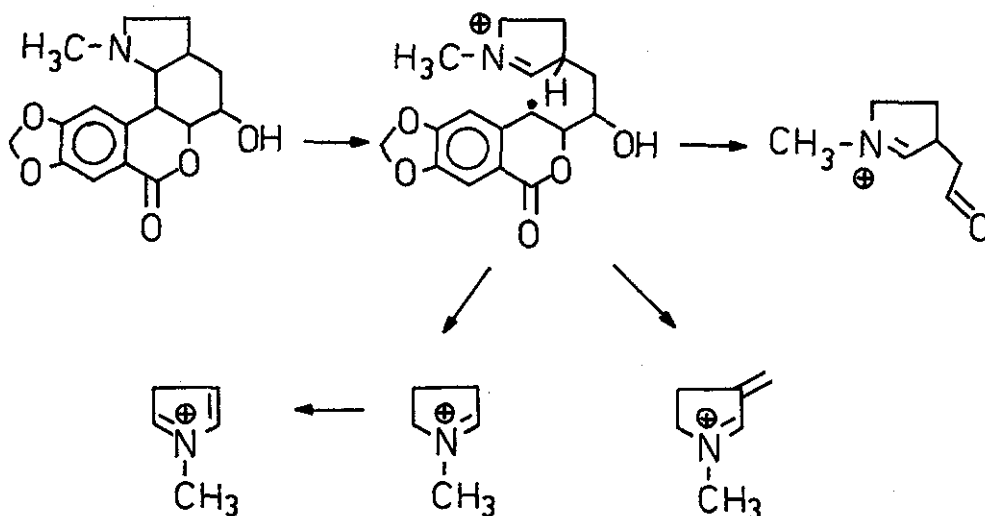
Die Entstehung ist durch eine retro-Diels-Alder Fragmentierung zu erklären, wie es im folgenden Schema abgebildet ist.



Alkaloide mit einer Methoxygruppe zeigen in ihrem Fragmentierungsverhalten einige zusätzliche Spitzen, die von Bedeutung sein können:



Bleiben noch die Basen mit keiner Doppelbindung, die das folgende typische Fragmentierungsverhalten aufweisen:



Von allen Alkaloiden weist nur das Clivoxin eine andere Ringverknüpfung E/C auf. Das Massenspektrum ist aber von den übrigen nicht unterscheidbar, auch nicht vom dem des isomeren Dihydrohippeastrins, so daß die unterschiedliche Stereochemie sich nicht auf die Fragmentierungsreaktionen auszuwirken scheint.

Miniatin

Nach Kenntnis der wichtigsten Fragmentierungsreaktionen untersuchten wir die Struktur des Miniatins, ein Alkaloid aus *Clivia miniata* Regel, das als schwerlösliche, schwach rechts drehende Base $C_{43}H_{45}N_3O_{12}$ isolierbar war. Das IR-Spektrum wies gewisse Gemeinsamkeiten mit dem des Clivins auf, und so lieferte die Verseifung mit äthanolischer KOH und anschließende Relactonisierung der entstandenen Hydroxyaminosäure das Alkaloid Clivenin. Die Verseifung des Miniatins mit wäßriger $Ba(OH)_2$ -Lösung führte zu Clivoinhydroxyssäure und 2,6-Lätidindicarbonsäure. In Übereinstim-

mung mit der Annahme, daß die Clivoninhydroxysäure selbst als Strukturelement des Alkaloids vorliegt, konnte bei der einstündigen Erwärmung mit 1N HCl das Alkaloid Clivimin isoliert werden. Zur Abklärung der Frage, ob ein oder zwei Einheiten Clivoninhydroxysäure am Aufbau des Miniatins beteiligt sind, wurde das Alkaloid mit LiAlH_4 reduziert, wobei Clivoninhydroxysäure und Tetrahydroclivonin das nur aus Clivonin entstanden sein konnte, identifiziert.

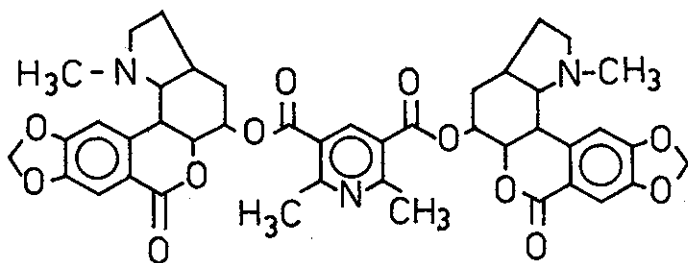
Das Massenspektrum, das keinen Molekularpeak aufweist, zeigte jedoch unter veränderten Aufnahmebedingungen ein dem Clivimin entsprechenden Molekularpeak von m/e 793, so daß in der Ionenquelle sowohl eine Wasserabspaltung als auch eine Re-lactonisierung stattgefunden haben muß.

Das MS beweist damit zwar die Anwesenheit von der Clivoninhydroxysäure, gibt aber keinen sicheren Anhaltspunkt darüber, ob im Miniatin ein oder zwei Einheiten Clivoninhydroxysäure vorliegen.

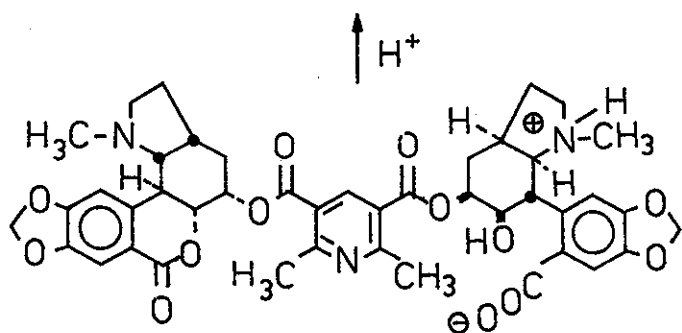
Eine Entscheidung darüber wurde durch die Äquivalentgewichtsbestimmung mit Tetramethylammoniumhydroxyd, zu einem Molekulargewicht von 811 führte, getroffen.

Mit diesem Ergebnis war eindeutig bewiesen, daß das Miniatin als Cliviminmonohydroxysäure zu formulieren ist. Die in der folgenden Abbildung angegebene Stereochemie beruht auf vergleichenden NMR- und CD- Untersuchungen mit dem Clivimin und den übrigen Lacton- Lactol- Alkaloiden dieser Reihe.

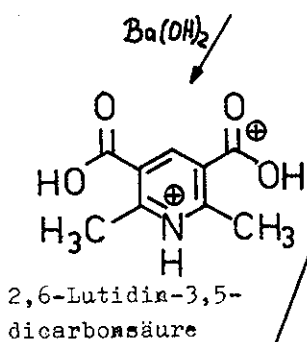
Die strukturelle Vielfalt von *Clivia miniata* und die ausgesprochene selektive Synthese in dem Pflanzenmaterial ergab sich bei der Untersuchung des Clividin.



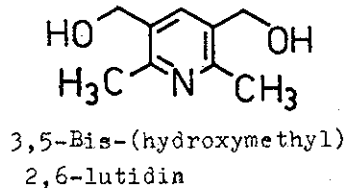
Clivimin



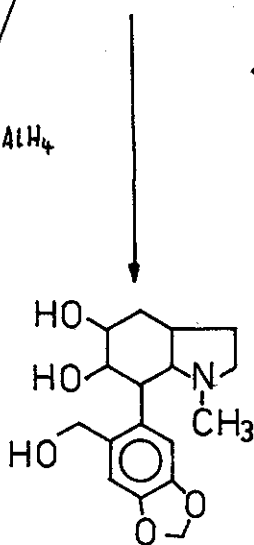
Miniatin



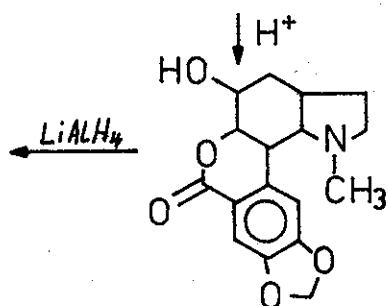
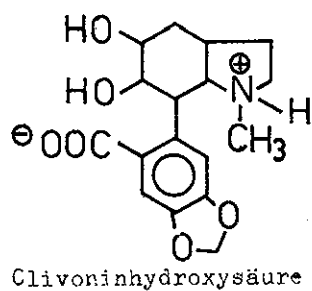
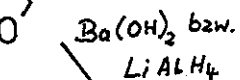
2,6-Lutidin-3,5-dicarbonsäure



3,5-Bis-(hydroxymethyl)
2,6-lutidin



Tetrahydroclivonin



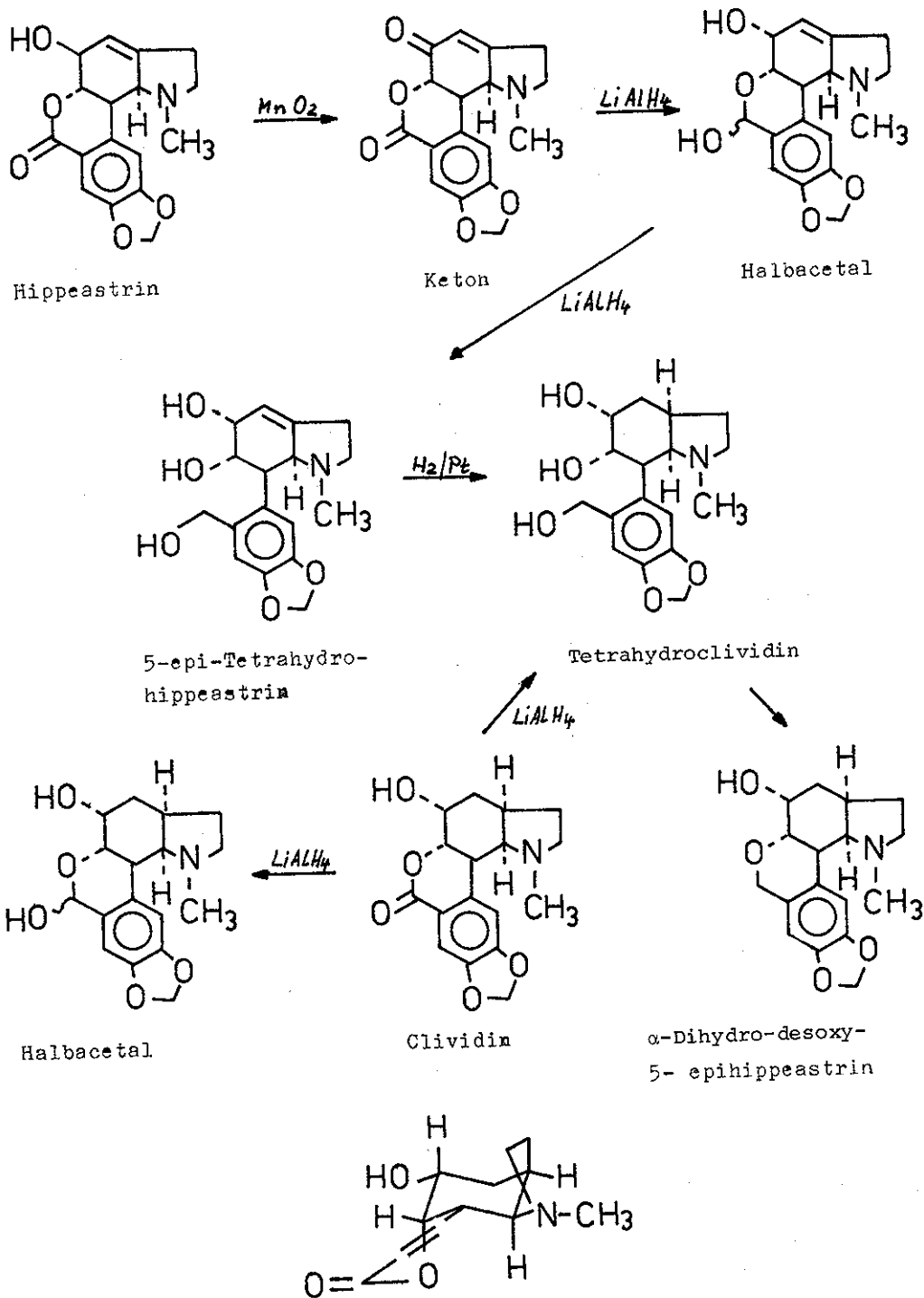
Clivonin

Clividin

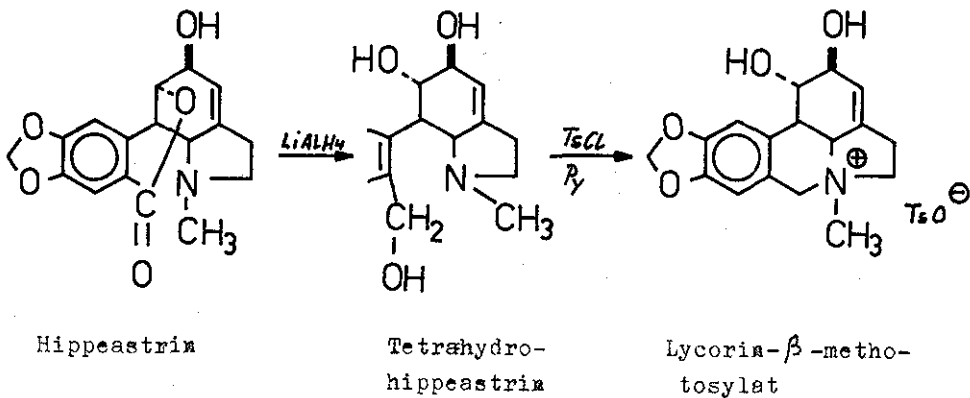
das in seinem IR und Massenspektrum auf eine weitgehende Strukturidentität mit dem Dihydrohippeastrin hinwies. Da bei den vergleichenden CD- Untersuchungen ein zum Clivonin enantiomerer Kurvenverlauf festgestellt wurde, sollte im Clividin eine cis- Verknüpfung des Lactonringes mit dem Cyclohexanring vorliegen, so daß bei einer möglichen Epimerie am C-5 die Hydroxygruppe eine äquatoriale Lage einnehmen und sich somit in cis- Stellung zur potentiellen Hydroxygruppe befinden müßte.

Die einfachste Möglichkeit der Korrelation des Clividins mit dem Dihydrohippeastrin wäre die Oxydation zu einem aus beiden Basen identischen Keton. Da diese Oxydation aber nicht realisierbar war, wurde zur Abklärung der möglichen Epimerie das Clividin mit LiAlH_4 unter milden Bedingungen zum Halbacetal reduziert und mit Perjodsäure in 30 Min. zu 96% oxydiert, während das trans diaxiale Glykol des entsprechenden Dihydrohippeastrins erst zu 16% oxydiert war. Zur Korrelierung des Clividins mit dem Hippeastrin wurde Hippeastrin dann mit MnO_2 zum entsprechenden Keton oxydiert, das bei der anschließenden Reduktion mit LiAlH_4 in ein Halbacetal und das 5- epi- Tetrahydrohippeastrin überging. Die anschließende Hydrierung führte zu 5 epi- Δ - Tetrahydroclividin, das zu dem auch aus Clividin durch drastische Reduktion und Cyklisierung erhältlichen Δ - Dihydro- desoxy- 5- epi- hippeastrin cyclisiert werden konnte.

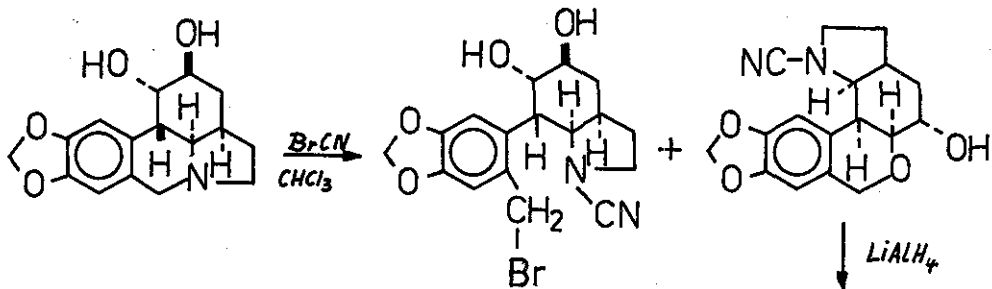
Da die Stereochemie an den C- Atomen 5,5c, 11b und 11c damit und durch die spektroskopischen Vergleichsverfahren in Analogie zu den Alkaloiden der Homolyecorin- Reihe abgeklärt werden konnte, war nunmehr lediglich die Konfiguration am C-3a zu untersuchen.

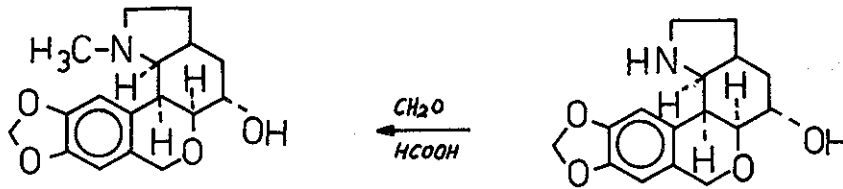


Die durch die chemischen Reaktionen nicht eindeutig abzuleitende Konfiguration am C-3a konnte wiederum durch spektroskopische Verfahren bestimmt werden und die durch das 100 MHz-NMR-Spektrum gesicherte Zuordnung der Stereochemie ergab für das Clividin die Stereostruktur eines 5-epi- α -Dihydrohippeastrins, die zugleich durch die Korrelation mit dem in seiner Konfiguration bekannten Hippeastrin die absolute Konfiguration wiedergibt. Diese Aussage wird ermöglicht durch die Umwandlung des Hippeastrins in das Lycorin- β -jodmethylat einerseits:



sowie durch die Überführung des Dihydrolycorins, - für das durch eine Röntgenkristallstrukturanalyse die absolute Konfiguration sichergestellt werden konnte - in das Desoxydihydrohippeastrin:

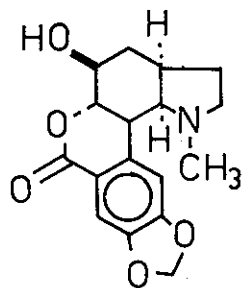




Ein weiteres Alkaloid das in diesem Zusammenhang mit erwähnt werden soll, ist das durch wiederholte Chromatographie der Restbasen von *Clivia miniata* Regel erhältliche Cliviasin. Das IR- Spektrum der Verbindung ist mit dem des \mathcal{L} - Dihydrohippeastrins identisch, so daß im Zusammenhang mit den physikalischen Daten die Identität von Cliviasin und \mathcal{L} - Dihydrohippeastrin wahrscheinlich erschien.

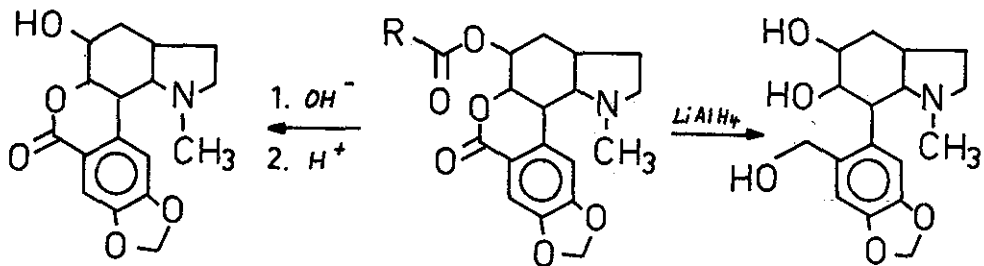
Der Misch- Schmp. beider Verbindungen zeigte keine nennenswerte Depression. Cliviasin ließ sich weiterhin mit LiAlH_4 zu einer Tetrahydroverbindung reduzieren, die ebenso wie die entsprechende Verbindung des \mathcal{L} - Dihydrohippeastrins Kristallaceton bindet und beim Erhitzen mit 2N HCl eine mit \mathcal{L} - Dihydrohippeastrinhydrochlorid identische Verbindung ergab.

Unter Berücksichtigung dieser Ergebnisse ist dem Cliviasin damit die Struktur und Stereochemie eines \mathcal{L} - Dihydrohippeastrins zuzuordnen.

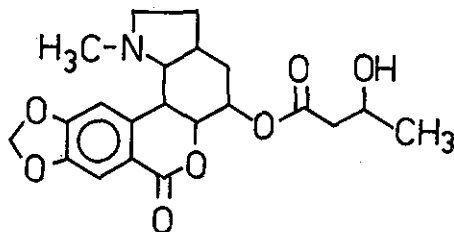


Nach Clivonin (*L*-Dihydro-5 α -ephippeastrin) und Clividin (*L*-Dihydro-5-ephippeastrin) konnte mit dem Cliviasin eine dritte stereochemische Variante des Dihydrohippeastrins aus *Clivia miniata* isoliert werden.

Eine letzte interessante strukturelle Besonderheit besitzt Clivatin, das wiederum ein IR-Spektrum aufwies, das mit dem des Clivonins weitgehend identisch war. Die hydrolytische Spaltung mit äthanolischer Kalilauge lieferte nach der Relactonisierung das Alkaloid Clivonin, während durch reduktive Spaltung mit Lithiumalanat Tetrahydroclivonin erhalten wurde:



Das Moleküllion des Clivatins bei m/e 403 befindet sich in guter Übereinstimmung mit der durch Elementaranalyse erhaltenen Summenformel. Da Clivonin ein Molekulargewicht von 317 besitzt, ergibt sich für den Acylrest ein Molekulargewicht von 87, der Summenformel $C_4H_7O_2$ entsprechend. Auf Grund des typischen Fragmentierungsverhaltens und des NMR-Spektrums, konnte dem Alkaloid dann die Struktur eines β -Hydroxybuttersäureesters des Clivonins zuerkannt werden:



5) Biosynthese der Amaryllidaceen- Alkaloide

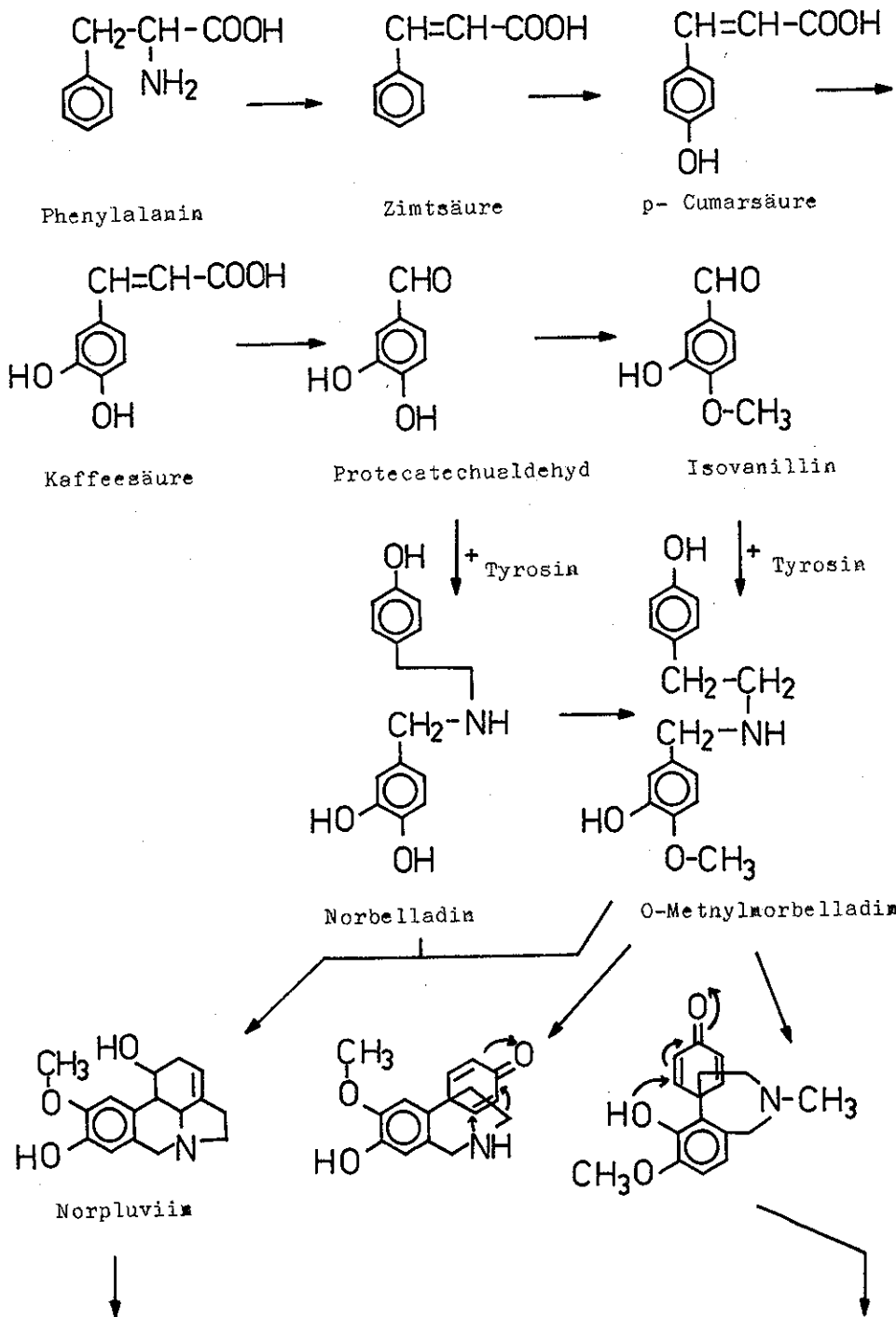
Als Ausgangsverbindung für die Biosynthese kann wohl das Phenylalanin angesehen werden, das einer Desaminierungsreaktion unterliegt und dabei in die Zimtsäure übergeht. Die anschließende Hydroxylierung führt dann zur p- Cumarsäure bzw. zur Kaffeesäure, die dann zum Protocatechualdehyd oxydiert oder aber zum Isovanillin: methyliert werden kann. Die Reaktion mit Tyrosin liefert dann schließlich das Norbelladin oder aber das o- Methylnorbelladin.

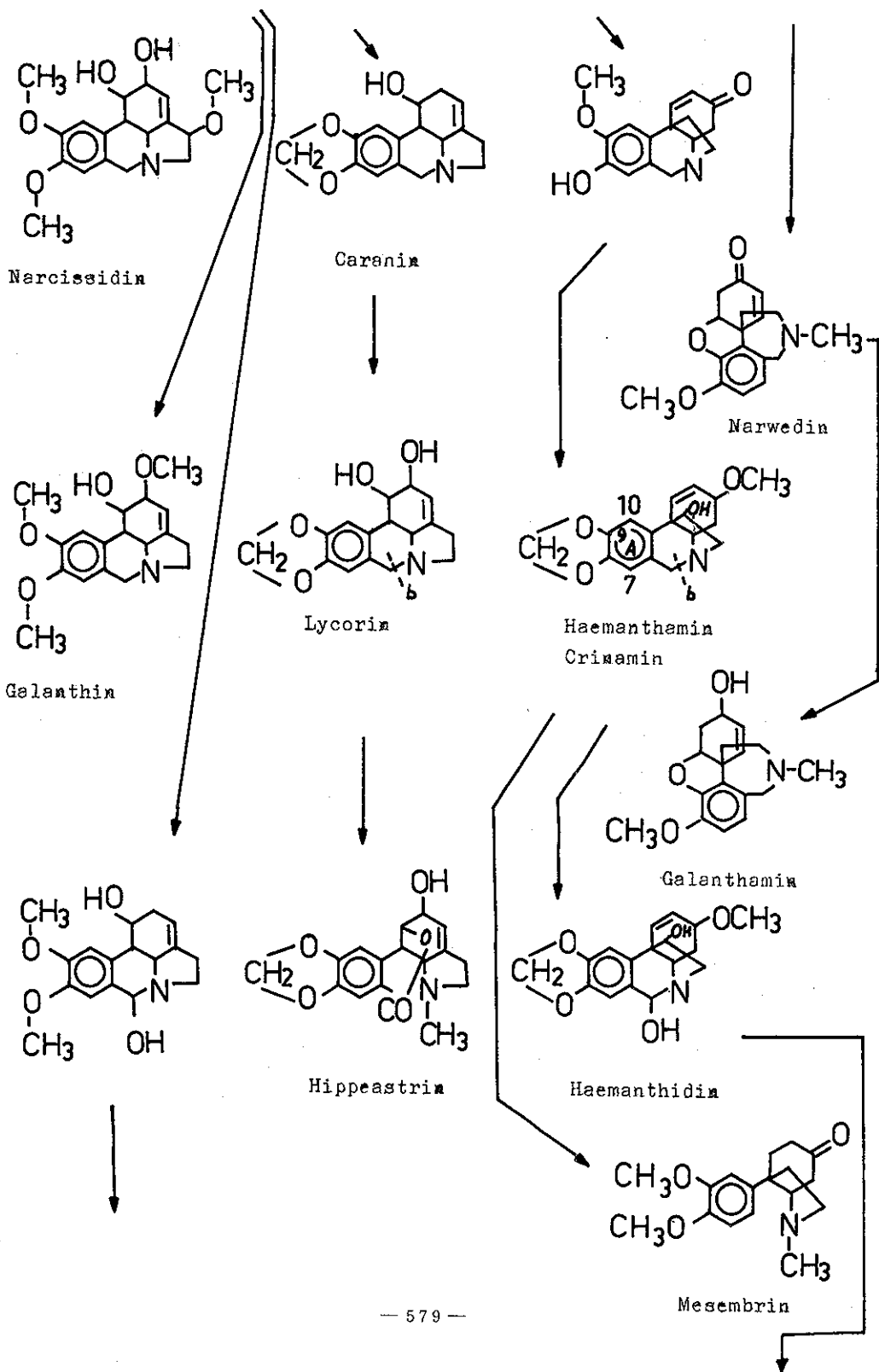
Schlüsselprodukt für die Biosynthese der Amaryllidaceen- Alkaloide scheint das Norbelladin zu sein, das durch verschiedene oxydative Kupplung in den Galanthamintyp (p- o'- Kupplung), den Lycorintyp (o- p'- Kupplung) und den Haemanthamintyp (p- p- Kupplung) übergehen kann. Die genannten Alkaloidtypen können dann weiteren Umwandlungen unterliegen. So könnte aus dem Lycorintyp, z.B. dem Pluviin, durch Hydroxylierung, Ringspaltung, Methylierung und Ausbildung eines Lactolringes der Lycorenintyp entstehen. Analog gelangt man vom Haemanthamin über das Δ - Carbinolamin Haemanthidin zum Tazettin. Die genannten Reaktionsfolgen konnten für den Lycorin-, Galanthamin- und Haemanthamin- Typ mittels radioaktiv markierter Vorstufen bewiesen werden²⁴⁾. So ist Norbelladin spezifisch in die Lycorinalkaloide Lycorin, Norpluviin und Galanthin, in den Galanthamin- Typ, in die Haemanthamin- Alkaloide Haemanthamin und Crinamin sowie in Belladin eingebaut worden²⁵⁻²⁹⁾. O- Methyl- Norbelladin- [$^{14}\text{C}_3$] wird ohne Entmethylierung in Norpluviin inkorporiert²⁹⁾. Monohydroxylierte Vorstufen im Ring D, wie z.B. Norpluviin, scheinen die ersten Alkaloide mit Lycorinstruktur zu sein. Die zweite Hydroxyl- Gruppe im Lycorin und im Galanthin wird später eingebaut, denn das im Phenyläthylaminteil o- dihydroxylierte Norbelladinderivat wird nicht in Galanthin eingebaut²⁹⁾. Tatsächlich kann markiertes Norpluviin in Galanthin, Narcisidin und Lycorin, aber Lycorin nicht in Norpluviin übergehen²⁸⁾. Experimente mit Caranin- [2B-T]³⁰⁾ und Tyrosin- [Δ - ^{14}C , 3,5-T]³¹⁾ zeigen, daß die Hydroxylierung stereospezifisch verläuft. Der während der Norpluviinbildung an C-2

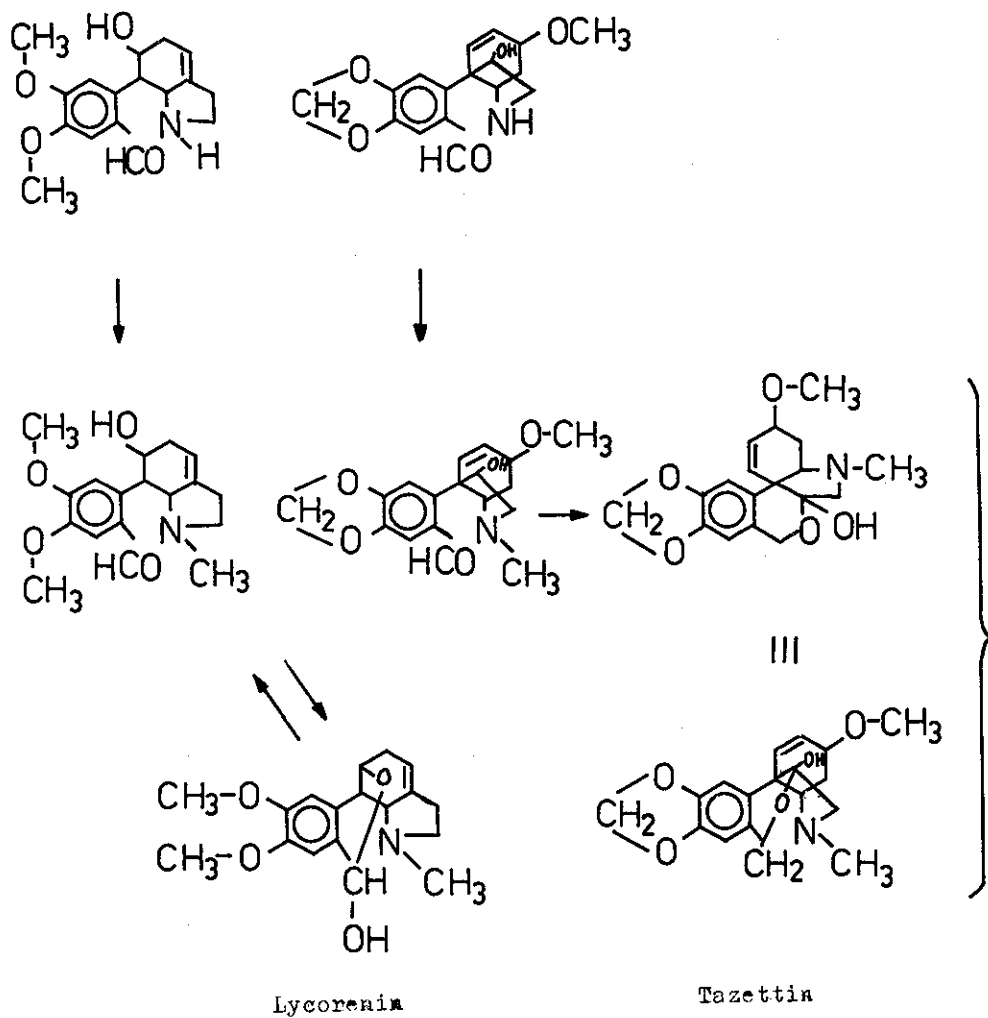
eingeführte Wasserstoff wird bei der Hydroxylierung entfernt. Im Gegensatz zu den Steroiden verläuft die Hydroxylierung mit einer konfigurativen Inversion. Als Intermediärprodukt wird ein 3,3a- β -Epoxyd postuliert, das nach enzymkatalysierter Ringöffnung und Allylumlagerung des resultierenden Alkohols Lycorin ergeben soll.

Tyrosin- $[2-^{14}\text{C}]$ wird spezifisch in Lycorin^{28,31,32}, Galanthamin²⁵) und Haemanthamin²⁷) inkorporiert. Tyramin erwies sich als gute Vorstufe von Lycorin und Norpluviin^{26,33}). Mit Tyrosin- $[3-^{14}\text{C}]$ konnte gezeigt werden, daß Tyrosin nur in den Phenäthylaminanteil der verschiedenen Strukturen inkorporiert wird^{26,33,34,35}). Als Vorstufe des Benzylteiles der genannten Alkaloide hat sich Phenylalanin erwiesen, wie mit Phenylalanin- $[3-^{14}\text{C}]$ bewiesen werden konnte^{26,33,35}). Phenylalanin wird aber nicht über Tyrosin in den Phenäthylaminanteil inkorporiert³⁶). Der Einbau von Phenylalanin erfolgt mit Hilfe der Phenylalanindeaminase-Reaktion über Zimtsäure³⁷), anschließende Hydroxylierung zu p-Hydroxyzimtsäure und 3,4-Dihydroxyzimtsäure und Spaltung zu einem C₆-C₁-Körper wie z.B. Protocatechualdehyd^{26,33,36,37,38,39,40}). Die Methylendioxygruppe des Lycorins und die O-Methylgruppe des Norpluviins entstammen dem Methdomin^{24,26}).

Tazettin bildet sich aus Haemanthamin über Haemanthidin⁴⁰). Norbelladin hat sich als Vorstufe von Homolycorin erwiesen, während O,N-Dimethylnorbelladin nicht eingebaut wird²⁴). Radioaktiv markiertes Lycorin konnte in Hippeastrin umgewandelt werden³⁹). Mesembria könnte sich vom Haemanthamintyp ableiten. Entsprechend der Amaryllidaceen-Alkaloidbiosynthese wird Phenylalanin ausschließlich in den aromatischen Ring und Tyrosin in die Tyraminhälfte inkorporiert⁴¹). Die Methylgruppen entstammen dem Methionin. Auch verschiedene Norbelladine haben sich als Vorstufen erwiesen.







Literaturverzeichnis

- 1) H.Morishima Ar.Pth.40,221(1897)
- 2) W.Döpke Ergebnisse der Alkaloidchemie Akademie Verlag Berlin
667(1976)
- 3) H.Kondo,Z.Tomimura u.Y.Ishiwata J.pharm.Soc.Japan 52,51
(1932)
- 4) H.G.Boit u.W.Döpke Naturwiss.45,85(1958)
- 5) H.G.Boit Chem.Ber. 89,1129(1956)
- 6) Ch.A.Abdiazimov u.S.Y.Yunusov Dokl.Akad.Nauk Uz.SSR 153,1315
(1963)
- 7) H.G.Boit,W.Stender u.A.Beitner Chem.Ber.90,725(1957)
- 8) S.Uyeo u.N.Yanaihara J.Chem.Soc. 172(1959)
- 9) C.K.Briggs,P.F.Highet,R.J.Highet u.W.C.Wildman J.Am.Chem.Soc.
78,2899(1956)
- 10) L.S.Smirnova, Ch.A.Abdiazimov u.S.Y.Yunusov Dokl.Akad.
Nauk Uz.SSR 154,171(1964)
- 11) W.Döpke u.M.Bienert Tetrah.Letters 3215(1970)
- 12) S.Uyeo u.Y.Yamamoto J.Pharm.Soc.Japan 78,2899(1956)
- 13) H.G.Boit u.H.Ehmke Chem.Ber. 88,1590(1955)
- 14) H.Kondo u.S.Tomimura J.Pharm.Soc.Japan 49,76(1929)
- 15) H.G.Boit u.W.Stender Naturwiss.45,262(1958)
- 16) P.F.C.Garbutt,P.W.Jeffs u.F.L.Warren J.Chem.Soc(London)
5010(1962)
- 17) H.G.Boit u.H.Ehmke Chem.Ber.90,369(1957)
- 18) H.G.Boit u.W.Döpke Chem.Ber. 90,1827(1957)
- 19) H.G.Boit Chem.Ber. 87,1704(1954)
- 20) B.Mehlis Dissert. Humboldt Univ. Berlin 1962
- 21) W.Döpke,M.Bienert,A.L.Burlingame,H.K.Schnoes,P.W.Jeffs u.
D.S.Farrier Tetrah.Letters 451(1976)
- 22) W.Döpke u.M.Bienert Tetrah.Letters 745(1970)
- 23) W.Döpke u.M.Bienert Pharmaz.25,700 (1970)
- 24) H.R.Schütte in Mothes u.Schütte" Biosynthese der Alkaloide"
VEB Deutscher Verlag der Wissenschaften Berlin 1969
- 25) D.H.R.Barton,W.Kirby,W.Taylor u.C.Thomas J.Chem.Soc(London)
4545(1963)
- 26) A.R.Battersby,W.Binks,D.Dreuer,H.M.Fales u.W.C.Wildman
Proc.Chem.Soc.(London) 234(1961)
- 27) A.R.Battersby,H.M.Fales u.W.C.Wildman J.Am.Chem.Soc.
83,4098(1961)

- 28) W.C.Wildman, H.M.Fales, R.J.Hight, W.Breuer u. A.R.Battersby
Proc.Chem.Soc.(London) 180 (1962)
- 29) W.Kirby u.K.Tiwari J.Chem.Soc.(London) 676(1966)
- 30) W.C.Wildman u.R.Heimer J.Am.Chem.Soc. 89,5265(1967)
- 31) W.Bruce u.W.Kirby Chem.Comm. 207(1968)
- 32) A.R.Battersby, W.Binks u.W.C.Wildman Proc. Chem.Soc.(London)
410(1960)
- 33) R.M.Suhadolnik, W.Fischer u.R.Zulalian J.Am.Chem.Soc.
84,4348(1962)
- 34) W.C.Wildman, H.M.Fales u.A.R.Battersby J.Am.Chem.Soc.
84,681(1962)
- 35) P.W.Jeffs Proc.Chem.Soc.(London) 80,1962)
- 36) R.M.Suhadolnik, W.Fischer u.R.Zulalian Proc.Chem.Soc.(London)
132,(1963)
- 37) R.M.Suhadolnik u.R.Zulalian Biochem.biophys.Res.Commun.
11,208(1963)
- 38) R.Zulalian u.R.M.Suhadolnik Proc.Chem.Soc.(London)
422 (1964)
- 39) R.M.Suhadolnik Abh.Dtsch.Akad.Wiss Berlin Kl.Chem.Geol
Nr.3,369(1966)
- 40) H.M.Fales u.W.C.Wildman J.Am.Chem.Soc. 86,294(1964)
- 41) P.W.Jeffs, M.Archie u.S.W.Farrier J.Am.Chem.Soc. 89,2509(1967)

Received, 18th January, 1977