

Alkaloide aus Rhamnaceen, 36^{*}):¹H-NMR-Spektroskopische Untersuchungen
an Nummularin-BA.H.SHAH, G.A.MIANA, V.B.PANDEY^{a)}, R.WAGNER^{b)}AND R.TSCHESCHE^{b)}Department of Chemistry, Gomal University,
D.I.Khan, Pakistan^{a)}Department of Medicinal Chemistry,
I.M.S., BHU, Varanasi., India.^{b)}Institut fuer Organische Chemie
und Biochemie der Universitaet;
Gerhard-domagk Str. 1,
D-5300 Bonn 1., West Germany.

(Received 28th October, 1983)

Summary: 90 MHz PMR spectrum of the 13-membered cyclopeptide alkaloid nummularin-B has been recorded (Fig. 1) and the signals assigned.

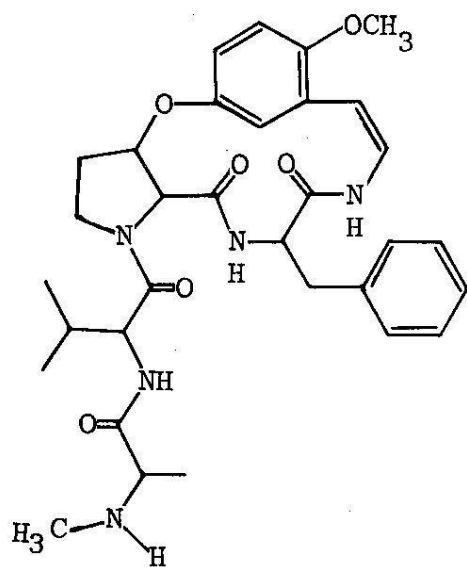
Bisher gibt es nur wenige detaillierte ¹H-NMR spektroskopische Studien über Cyclopeptidalkaloide. An einigen 14-gliedrigen cyclo-peptiden wurden in den letzten Jahren PMR-Studien durchgeführt und einige wichtige Informationen über die Stereochemie der Moleküle erhalten [2,3,4].

Da sich die 13-gliedrigen Cyclopeptidalkaloide in ihrer Stereochemie von den 14-gliedrigen Cyclopeptidalkaloiden unterscheiden, wurde das 13-gliedrige Alkaloid Nummularin-B (1) detailliert untersucht. Nummularin-B wurde aus *Zizyphus nummularia* [5] and *Z.sativa* [6] isoliert. Mit Hilfe von Doppelresonanzexperimenten und Vergleich mit den Spektren des Nummularin-B-Cycl. (2) [7] konnten verschiedene Signale im PMR-Spektrum genau zugeordnet werden. Es wurden Spectren in CDCl₃/TMS aufgenommen. Zur Aufnahme der ¹H-NMR Spektren diente Bruker-Spektroskop HX-90 (NMR).

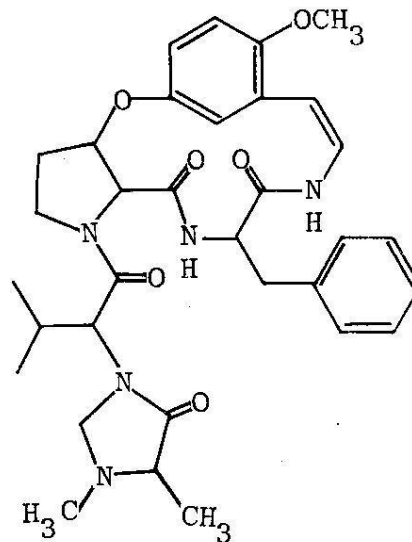
Die bei $\delta = 0.57$ und $\delta = 0.68$ ppm liegenden Dubletts mit einer Kopplungskonstante von jeweils 6.8 Hz werden durch die wegen der asymmetrischen Umgebung chemisch nicht-aquivalenten Methylgruppen des Valins verursacht.

Das Multiplet des Methinprotons der Isopropylgruppe mit einer Kopplungskonstante von 6.8 Hz erscheint bei $\delta = 1.75$ ppm. Bei $\delta = 1.3$ ppm erkennt man das Dublett der Methylgruppe des N-Methyl-alanins mit einer Kopplungskonstante von $J = 6.8$ Hz. Das nachbarständige Methinproton, das zum Quartett aufspaltet (Kopplungskonstante 6.8 Hz), liegt bei $\delta = 3.08$ ppm. Die zwei scharfen Singulets bei $\delta = 2.4$ und 3.08 ppm, deren Integration jeweils drei Protonen entspricht, sind der N-Methylgruppe des N-Methyl-alanins bzw. der am aromatischen Ring gebundenen Methoxygruppe zuzuordnen. Im Multiplett zwischen 6.7 und 8.6 ppm, dessen Integration 13 Protonen ergibt, befinden sich die acht

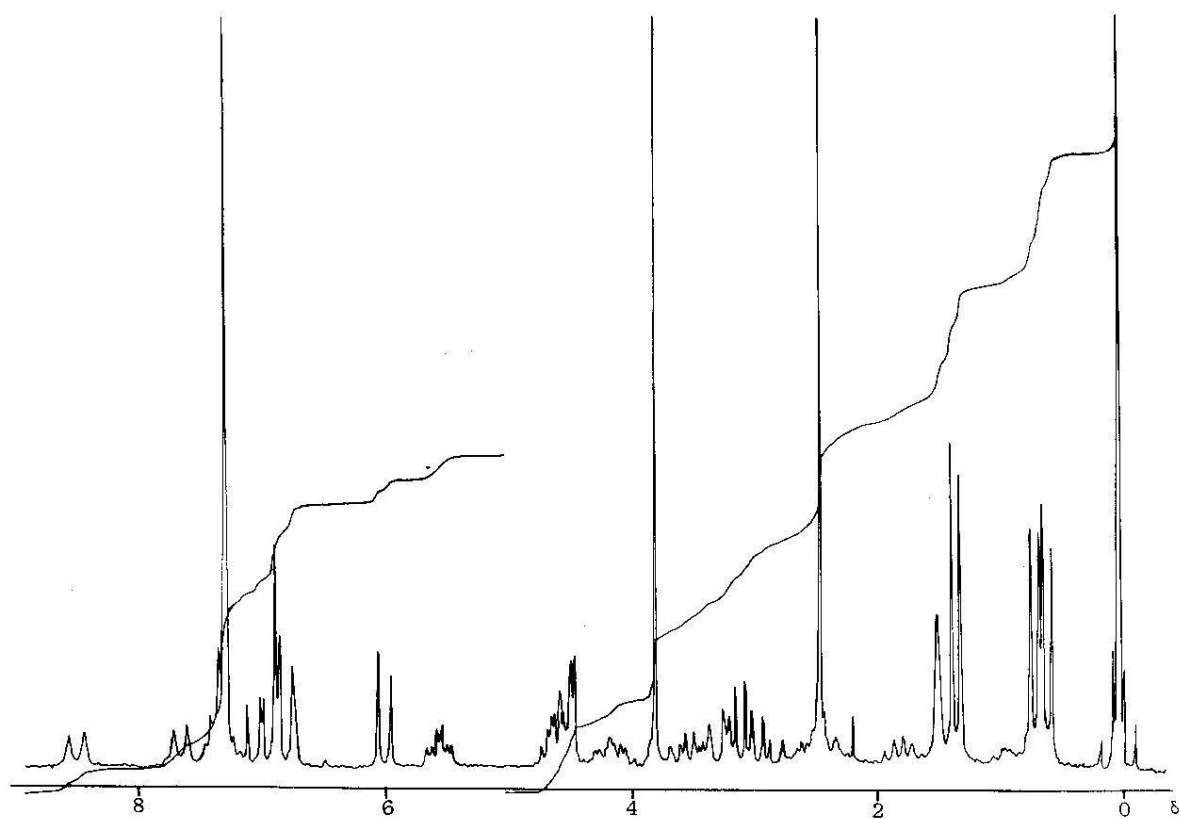
* für Mitteilung-35, Siehe Ref.1.



Nummularin-B (1)



Nummularin-B-Cycl. (2)

Abb.1: ¹H-NMR Spektrum von Nummularin-B

Phenyl-Protonen des Phenylalanins und Methoxystyrylamins, zwei olefinische Protonen des Styrylamins und drei Amidprotonen.

Die Signale der cis-ständigen Olefinprotonen der Styrylamin-Einheit findet man bei $\delta = 5.97$ und 6.97 ppm. Das dem Amidproton benachbarte Olefinproton tritt bei tieferem Feld in Resonanz und erscheint als Dublett eines Dubletts mit Kopplungskonstanten von $J_1 = 12$ Hz und $J_2 = 9$ Hz (cis-olefinische Kopplung). Das dem aromatischen Ring benachbarte Olefinproton erscheint als Dublett mit einer Aufspaltung von $J = 9$ Hz. Diese Zuordnung konnte nach Einstrehlen der Resonanzfrequenz des Amidprotons getroffen werden.

Die Signale der Amidprotonen erscheinen als stark verbreiterte Dubletts. Das Amidproton der Styrylamin-Gruppierung tritt bei sehr tiefem Feld, nämlich bei $\delta = 8.48$ ppm in Resonanz. Das Signal erscheint wegen der Kopplung mit dem Styrylproton als Dublett mit einer Kopplungskonstanten von 12 Hz. Wird die Resonanzfrequenz des Styrylamin-Protons bei $\delta = 6.97$ ppm eingestrahlt, so wird bei $\delta = 8.48$ ppm nur noch ein Singulett beobachtet. Aus dem Doppeldublett des Olefinprotons wird dahingegen ein Dublett mit einer Kopplungskonstanten von 9 Hz, wenn die Resonanz des benachbarten Amidprotons eingestrahlt wird. Die Ergebnisse dieser Doppelresonanzexperimente können als eindeutiger Beweis für die Zuordnung dieses Amidprotons gewertet werden. In gleicher Weise wurden die Signale der beiden anderen Amidprotonen zugeordnet. Das Amidproton des im Ring gebundenen Phenylalanins erscheint bei $\delta = 7.34$ ppm als Dublett, das von dem Signal der Phenylprotonen überlagert wird; bei $\delta = 7.63$ ppm findet man das breite Dublett ($J = 9$ Hz) des Amidprotons des in der Seitenkette gebundenen Valins. Bei

der Zuordnung des letzteren Protons was ausser den Einstrahlexperimenten der Vergleich mit dem Spektrum von Nummularin-B-Cycl ausschlaggebend. Im Spektrum dieser Verbindung, die in der Seitenkette kein Amidproton mehr enthält, fehlt das bei $\delta = 7.63$ ppm auftretende Signal.

Den Protonen des 3-Hydroxyprolins konnten einige Signale eindeutig zugeordnet werden. Das bei $\delta = 5.52$ ppm erscheinende Dublett eines Triplets mit Kopplungskonstanten von $J_1 = 7.4$ Hz und $J_2 = 4.4$ Hz, dessen Integration einem Proton entspricht, wird durch das an C-3 des 3-Hydroxyproline gebundene Proton hervorgerufen. Wird auf die Proton an C-4 des Hydroxyprolins eingestrahlt, wird das Sextett bei 5.52 ppm zu einem Dublett reduziert, dagegen erhält man ein Triplett bei Entkopplung des am C-2 gebundenen Protons.

Das einem Proton zuzuordnende Multiplett, das bei $\delta = 4.14$ ppm zentriert ist, wird durch eines der beiden Protonen an C-5 des 3-Hydroxyprolins verursacht, wie durch Entkopplungsversuche bewiesen wurde. Im Bereich zwischen $\delta = 2.2$ und 2.7 ppm erscheint ein von dem scharfen Singulett der N-Methylgruppe überlagertes Multiplett von zwei Protonen. Bei Einstrahlen der Resonanzfrequenz der an C-5 befindlichen Protonen treten Veränderungen auf, so dass dieses Signal den Protonen an C-4 des 3-Hydroxyprolins zugeordnet werden kann.

Die Integration des Multipletts im Bereich von $\delta = 3.3$ - 3.8 ppm ergibt ein Proton, bei dem es sich um das zweite an C-5 des 3-Hydroxyprolins gebundene Proton handelt.

Das Multiplett der Benzylprotonen des Phenylalanins bei $\delta = 2.7$ - 3.3 ppm wird überlagert vom Quartett des Methinprotons des N-Methylalanins.

Dass es sich eindeutig um die Benzylprotonen handelt, zeigt sich bei Einstrahlexperimenten auf das α -ständige Methinproton des Phenylalanins.

Zwischen $\delta=4.4$ und 4.8 ppm liegt ein Multiplett, dessen Integration 3 Protonen entspricht. Wie durch Entkopplungsexperimente bewiesen werden konnte, handelt es sich bei diesen Protonen um das α -ständige Methinproton des in der Seitenkette befindlichen Valins, um das an C-2 gebundene Proton des 3-Hydroxyprolins und um das α -ständige Methinproton des im Ring gebundenen Phenylalanins. Wird die Resonanzfrequenz dieses Multipletts eingestrahlt, treten an verschiedenen Stellen des Spektrum Veränderungen auf. Die bei $\delta=7.44$ ppm und $\delta=7.63$ ppm befindlichen breiten Dubletts der Amidprotonen werden jeweils zu Singulett, das bei $\delta=5.52$ ppm erscheinende Sextett des Hydroxyproline-Protons H-3 verändert sich zum Triplet, da es jetzt nur noch mit den beiden geminalen Protonen an C-4 koppelt; im Signal des Methinprotons der Isopropylgruppe bei $\delta=1.75$ ppm treten Veränderungen auf, ebenso wie im Multiplett der benzyliken Protonen bei $\delta=2.7-3.3$ ppm.

Aus dem ^1H -NMR-Spektrum des Nummularin-B können einige interessante Rückschlüsse auf die Stereochemie des Molekuls gezogen werden: Die Tatsache, daß das Signal des Styrylamin-Protons relative stark zu tieferem Feld ($\delta=8.48$ ppm) verschoben ist, dieses Proton also stärker entschirmt ist als die restlichen Amidprotonen, ist erklärbar durch Mesomereffekte in der Styrylamin-Gruppierung. Bei Enamiden wurde der gleiche Effekt beobachtet [8]. Konjugation ist aber nur möglich bei planarer Anordnung dieses Molekülteils. Da sich bei 13-gliedrigen Cyclopeptidalkaloiden ebenso wie bei 15-gliedrigen

Peptidalkaloiden der aromatische Ring mit dem Enamide-Rest in Konjugation befindet, ist auch ersichtlich aus den UV-Spektren dieser Verbindungen, die Absorptionsmaxima bei 268 und 273 nm aufweisen. Dagegen zeigen die UV-Spektren 14-gliedriger Cyclopeptidalkaloide - trotz des am aromatischen Ring gebundenen Enamide-Restes - keine charakteristische Absorption.

Aus der Röntgenstrukturanalyse des 14-gliedrigen Cyclopeptidalkaloids Mauritin-A war der gespannte Charakter des 14-gliedrigen Ringes ersichtlich; als Folge dieser Ringspannung ist eine Überlappung der Styryl-Doppelbindung mit den π -Elektronen des aromatischen Ringes nicht möglich [9].

References

1. A.H.Shah, V.B.Pandey, G.Eckhardt und R.Tschesche., *Erster Gesamtkongress der Pharmazeutischen Wissenschaften, München, West Germany, S.155 (17-20 April, 1983)*.
2. E.Haslinger, *Tetrahedron*, **34**, 685 (1978)
3. E.Haslinger, *Monatsh.Chem.*, **109**, 523 (1978)
4. C.J.Chang, E.W.Hagaman, E.Wenkert, M.G.Sierra, V.M.Merkuzi und E.A.Ruveda, *Phytochemistry*, **13**, 1273 (1974)
5. R.Tschesche, G.A.Miana und G.Eckhardt, *Chem.Ber.*, **107**, 3180 (1974)
6. R.Tschesche, A.H.Shah und G.Eckhardt, *Phytochemistry*, **18**, 702 (1979)
7. A.H.Shah, *Dissertation Univ.Bonn*, (1982)
8. U.Redeker, *Diplomarbeit Univ.Bonn*. (1981)
9. A.Kirfel, G.Will, R.Tschesche und H.Wilhelm, *Z.Naturforsch.*, **31b**, 279 (1976)