

1791. H. W. Voigtländer und W. Rosenberg

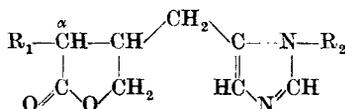
Über Isopilosin und Pilosin

Aus den Fabriklaboratorien der Fa. E. Merck AG, Darmstadt

(Eingegangen am 2. Dezember 1958)

Vor mehr als 70 Jahren wurde in unseren Laboratorien als Nebenalkaloid des Pilocarpins aus *Pilocarpus Jaborandi* Holm. das Pilocarpidin isoliert und seine Verwandtschaft zum Pilocarpin dadurch sichergestellt, daß Pilocarpidin durch Methylierung in Isopilocarpin überführt wurde¹⁾. Diese erstmalig durchgeführte Umwandlung eines Pilocarpusalkaloides in ein anderes fand nur deshalb keine allgemeine Anerkennung, weil mit der alkalischen Alkylierung auch zugleich eine Änderung der räumlichen Verhältnisse eingetreten war und — wie wir heute wissen — Isopilocarpin an Stelle des erwarteten Pilocarpins erhalten wurde. Später berichteten fast gleichzeitig und unabhängig *F. L. Pyman*²⁾ sowie *E. Léger* und *F. Roques*³⁾ über ein neues Alkaloid, das der erste Autor mit einer Ausbeute von 0,007% aus den Blättern von *Pilocarpus microphyllus* Stapf abtrennte und Pilosin*) nannte. Im Gegensatz zu Pilocarpin und Pilocarpidin trägt das „Pilosin“ am α -Kohlenstoffatom (C₂) des Butyrolaktonringes einen Oxybenzylrest. Der für die ganze Alkaloidgruppe charakteristische Imidazolrest ist der gleiche wie beim Pilocarpin.

Formel 1



Pilocarpin	R ₁ = C ₂ H ₅ R ₂ = CH ₃
Pilocarpidin	R ₁ = C ₂ H ₅ R ₂ = H
Pilosin	R ₁ = C ₆ H ₅ CHOH R ₂ = CH ₃

Die beiden zuerst aufgefundenen Alkaloide treten in der Natur paarweise auf, und man bezeichnet die stereoisomeren Verbindungen als Isopilocarpin und Isopilocarpidin. Sie unterscheiden sich durch eine räumlich verschiedene Anordnung der Substituenten an C 2 und C 3. Beim Studium der Literatur mußte es daher auffallen, daß vom „Pilosin“ die entsprechende Verbindung noch nicht beschrieben wurde, obwohl die Voraussetzung für eine cis-trans-Isomerie die gleichen sind. Uns ist nunmehr vor einiger Zeit die Isolierung der noch fehlenden isomeren Verbindung aus Pilocarpin-Mutterlaugen gelungen.

*) Da wir im folgenden eine Umbenennung vorschlagen, kennzeichnen wir das bisherige von *Pyman* entdeckte Pilosin mit „.....“.

¹⁾ *E. Merck*, Jahresberichte 1896, 11—17 und 1897, 5—16.

²⁾ *F. L. Pyman*, J. Chem. Soc. [London], 101, II, 2260 (1912).

³⁾ *E. Léger* und *F. Roques*, Compt. rend. 155, 1088 (1912) und Compt. rend. 156, 1687 (1913).

Wird die Alkalieinwirkung nicht mit 15%iger Lauge, sondern mit Normal-Natronlauge während einer Stunde in der Wärme oder durch mehrtägiges Stehen bei Zimmertemperatur durchgeführt, so wird die Verwandtschaft zum „Pilosin“ noch offensichtlicher, denn die Veränderung am Molekül findet ohne Kohlenstoffverlust statt. Die Benzaldehydabspaltung tritt zwar auch zum Teil ein, aber bei der Aufarbeitung erhält man vornehmlich eine Base, die in allen Eigenschaften mit dem *Pymanschen* „Pilosin“ übereinstimmt. Die Drehung wird mit $38,9^\circ \pm 2^\circ$ gefunden, der Schmelzpunkt liegt bei $182\text{--}182,5^\circ$ und ergibt keine Depression mit „Pilosin“.

Aus der Tatsache, daß das neue Alkaloid die gleichen Abbauprodukte wie das „Pilosin“ ergibt und durch Einwirkung von verdünntem Alkali oder durch Na-Aethylat in letzteres überführt werden kann, muß geschlossen werden, daß beide Substanzen im gleichen Verhältnis zueinander stehen wie Pilocarpin / Isopilocarpin und Pilocarpidin / Isopilocarpidin, und daß das neue Alkaloid die bisher unbekannte stereoisomere Form des „Pilosins“ ist.

Daß auch die räumliche Verschiedenheit an die Kohlenstoffe C 2 und C 3 geknüpft ist, wird durch die gleichen Abbauprodukte bewiesen: Beide Alkaloide geben bei der Wasserabspaltung das gleiche Anhydropilosin (Benzylyden-2-Pilosin) sowie bei alkalischer Einwirkung das Pilosinin selbst.

Die Benennung des neuen Alkaloids stößt insofern auf Schwierigkeiten, als *Pyman* seine Substanz als Pilosin bezeichnete, obwohl sie nach unseren jetzigen Kenntnissen in die Iso-Reihe der Pilocarpus-Alkaloide gehört und daher besser als Isopilosin bezeichnet werden sollte, damit der Name Pilosin richtigerweise für unsere Verbindung frei wird. Diese Einordnung erscheint uns auch deswegen sinnvoll, weil uns die Rückverwandlung von Isoverbindungen (Isopilocarpin, Isopilosin) in die ursprünglichen, optisch aktiveren Formen trotz vielfacher Versuche nicht gelungen ist. Auch halten wir die in der Literatur angeführten Versuche nicht für sehr überzeugend. Ein Vergleich der I.R.-Spektren (Abb. 1—4) unterstützt weiterhin die Einordnung der beiden Pilosine in die Pilocarpin- bzw. Isopilocarpinreihe**).

Die Frage, welche Konfiguration der Pilocarpinreihe und welche der Isopilocarpinreihe zukommt, ist durch die Arbeiten russischer Autoren beantwortet

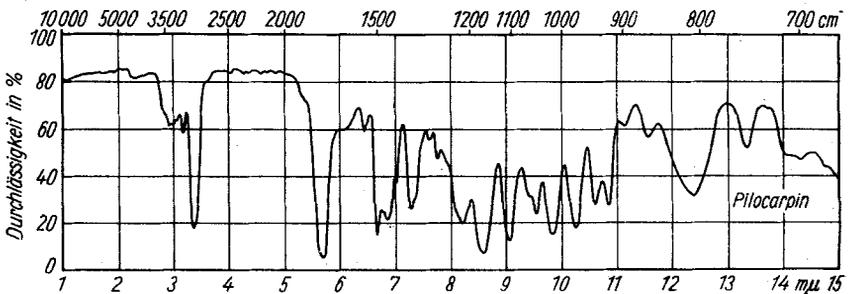


Abb. 1

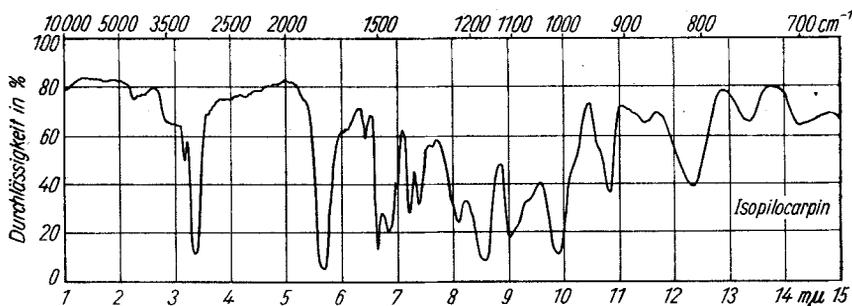


Abb. 2**

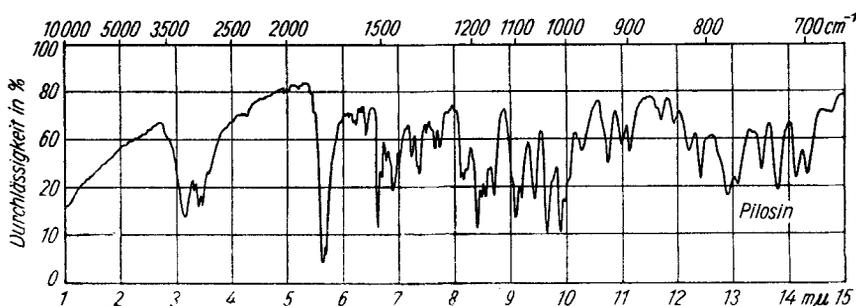


Abb. 3

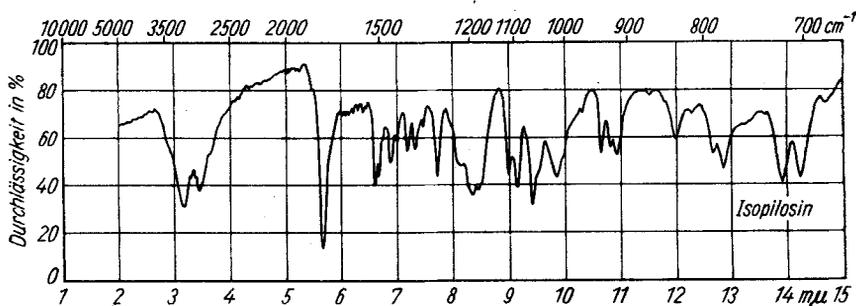


Abb. 4

worden⁴⁾. Danach liegt das Pilosin in der *cis*-Form vor und geht bei Alkali-
einwirkung in die stabilere Form des Isopilocarpins über. Demzufolge wäre unserem
Pilosin die *cis*- und dem Isopilosin die *trans*-Konfiguration zuzuordnen.

***) Das Spektrum des Isopilocarpins wurde von natürlichem Isopilocarpin aufgenommen.
Die Drehung betrug $[\alpha]_D^{20} + 41^\circ$.

⁴⁾ Ss. I. Sawjalow, C, 1952, 6376.

Die auf die Droge berechnete Ausbeute beträgt zwischen 0,06 und 0,1%. Bei der Aufarbeitung einer größeren Anzahl Muster von *Pilocarpus microphyllus* Stapf haben wir festgestellt, daß in den meisten Fällen entweder nur Pilosin oder nur Isopilosin vorhanden ist. Lediglich in 2 von insgesamt 13 Mustern konnten wir auf Grund der Drehung auf das gleichzeitige Vorkommen beider Isomere schließen. Die Möglichkeit einer Umlagerung bei der Aufarbeitung in den Fällen, in denen wir nur Isopilosin erhielten, halten wir für sehr unwahrscheinlich, da aus der gleichen Droge auch Pilocarpin ohne eine Umlagerung gewonnen wurde. Die Ausbeuten an Isopilosin in diesen Fällen waren etwa gleich groß wie unsere Ausbeuten an Pilosin (0,06—0,09%), sie lagen aber wesentlich über den *Pymanschen* Ergebnissen.

Hinsichtlich seiner pharmakologischen Wirkung können wir die *Pymanschen* Angaben bestätigen. Das von ihm gefundene Alkaloid besitzt nur eine schwache Pilocarpinwirkung. Es hat sogar noch eine geringere speichelsekretionssteigernde Wirkung als sein Isomeres und müßte daher auch pharmakologisch der Reihe der Isoalkaloide zugeordnet werden, denn das Isopilocarpin ist im gleichen Test nur etwa $\frac{1}{10}$ so wirksam wie das Pilocarpin.

Herrn Dr. *Hampel* danken wir für die Aufnahme und Deutung der IR-Spektren. Die pharmakologischen Untersuchungen wurden in den Laboratorien der Fa. *E. Merck AG* (Leitung: Priv.-Doz. Dr. *Hotovy*) durchgeführt.

Experimenteller Teil

Isolierung des Pilosins

Die aus der schwach salpetersauren Mutterlauge des Pilocarpinnitrates durch Alkalisieren und Ausschütteln gewonnene ölige Alkaloidbase aus 50 kg Blättern von *Pilocarpus microphyllus* wird in der 2—3fachen Menge absoluten Alkohol gelöst und mehrere Tage zur Kristallisation an einen kühlen Ort gestellt. Es wird abgesaugt, mit etwas kaltem Alkohol nachgewaschen und getrocknet. Die Ausbeute an Rohbase, berechnet auf die Droge, beträgt zwischen 0,06 und 0,1%.

Die Umkristallisation erfolgt unter Zusatz von Kohle aus der 15fachen Menge Alkohol. Pilosin kristallisiert in kleinen, sternchenförmig zusammengelagerten Nadeln. Schmelzpunkt der mehrmals umkristallisierten Base 179° , Mischschmelzpunkt mit Isopilosin $176—178^\circ$. Drehung $[\alpha]_D^{20} + 83,9^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 1$ in Alkohol).

UV-Spektrum in Alkohol: λ_{\max} 210 ($\log \epsilon = 4,10$), λ_{\min} 245 ($\log \epsilon = 2,16$).

$C_{16}H_{18}O_3N_2$ (286,32)	Ber.: C 67,1%	H 6,4%	N 9,8%
	Gef.: C 67,2%	H 6,5%	N 9,7%

Äquivalentgewicht: 286 (bestimmt durch Perchlorsäuretitration in Eisessig). Salze dieser Base sind schwer kristallisierbar.

Isopilosin läßt sich ohne wiederholte fraktionierte Fällung, wie *Pyman* sie durchgeführt hat, auf dieselbe Weise kristallisieren wie Pilosin. Es ist leichter löslich als Pilosin und läßt sich aus der 4fachen Menge 90%igem Alkohol in Form derber Nadeln umkristallisieren. Schmelzpunkt $182—182,5^\circ$, Drehung $[\alpha]_D^{20} + 37,6^\circ \pm 1^\circ$ ($c = 1$ in Alkohol).

Mit dieser Substanz haben wir die im folgenden wiedergegebenen Umsetzungen zum Vergleich ebenfalls durchgeführt.

Anhydropilosin

2 g Pilosin werden in 8 cm³ einer Mischung aus gleichen Teilen Essigsäure und Essigsäureanhydrid 30 Minuten rückfließend erhitzt. Nach dem Abkühlen wird mit Wasser

verdünnt und mit Ammoniak schwach alkalisiert, wobei sich das Anhydropilosin ölig abscheidet. Die überstehende wäßrige Phase wird anschließend noch 3mal mit je 10 cm³ Chloroform aufgeschüttelt, das Chloroform mit Wasser gewaschen, getrocknet und abdestilliert. Die Basen werden vereinigt und in 15 cm³ Essigester warm gelöst. Am nächsten Tag haben sich Plättchen abgeschieden, die abgesaugt werden. Ausbeute 950 mg, aus der Mutterlauge weitere 250 mg. Nach zweimaliger Umkristallisation aus Essigester unter Zusatz von Kohle schmilzt die Substanz bei 131–132°.

$[\alpha]_D^{20} + 62,3^\circ (\pm 2^\circ)$ ($c = 2$ in Alkohol).

C ₁₆ H ₁₆ O ₂ N ₂ (268,32)	Ber.: C 71,6%	H 6,0%	N 10,4%
	Gef.: C 71,7%	H 6,3%	N 10,3%

Der Mischschmelzpunkt mit Anhydropilosin aus Isopilosin zeigt keine Depression.

Anhydropilosinnitrat

2 g Base werden in 15 cm³ absolutem Alkohol gelöst und unter Kühlung mit alkoholischer Salpetersäure schwach angesäuert. Nach einigem Stehen wird abgesaugt und aus absolutem Alkohol unter Zusatz von Kohle umkristallisiert. Breite, schwertförmige Nadeln. Ausbeute 1,8. Schmp. 152°. Die spez. Drehung in Wasser beträgt $[\alpha]_D^{20} - 17,4^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 4$ in Wasser).

C ₁₆ H ₁₆ O ₂ N ₂ · HNO ₃ (331,32)	Ber.: C 58,0%	H 5,2%	N 12,7%
	Gef.: C 58,0%	H 5,2%	N 12,5%

Mischschmelzpunkt mit dem entsprechenden Nitrat aus Isopilosin ergibt keine Depression.

Pilosinnitrat

5 g Pilosin werden in 200 g 20% wässriger Kalilauge gelöst. Beim Erwärmen zum Sieden tritt sofort deutlicher Geruch nach Benzaldehyd auf. Der Aldehyd wird während 8 Stunden unter Ersatz des Wassers abdestilliert. Auf Zusatz von Phenylhydrazin fällt aus dem Destillat Benzaldehydphenylhydrazon aus, das nach der Umkristallisation aus Petroläther mit authentischem Hydrazon keine Erniedrigung des Schmelzpunktes zeigt (F 155–156,5°).

Die alkalische Lösung wird nach dem Erkalten mit Schwefelsäure angesäuert, zur Relaktonisierung 5 Minuten zum Sieden erhitzt und nach dem Abkühlen mit Ammoniak alkalisiert. Eventuell nicht umgesetztes Pilosin kristallisiert aus und wird abgesaugt. Das Filtrat wird mehrmals mit Chloroform ausgeschüttelt, die wäßrige Phase nochmals mit Schwefelsäure angesäuert und einige Minuten zum Sieden erhitzt. Nach dem Zusatz von Ammoniak läßt sich durch Ausschütteln mit Chloroform eine weitere Menge Pilosinbase erhalten. Die Chloroformauszüge werden vereinigt, getrocknet und abdestilliert. Wir erhielten 3,9 g Base, die in 20 cm³ absolutem Alkohol gelöst und mit alkoholischer Salpetersäure in das Nitrat überführt wurden. Ausbeute 2,25 g, die nach zweimaliger Umkristallisation aus 90%igem Alkohol bei 165,5–166° schmelzen. $[\alpha]_D^{20} + 6,14^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 2$ in Wasser).

C ₉ H ₁₂ O ₂ N ₂ · HNO ₃ (243,23)	Ber.: C 44,6%	H 5,4%	N 17,2%
	Gef.: C 44,8%	H 5,7%	N 17,1%

Pilosinibase

Die aus dem Nitrat mit Ammoniak freigemachte Base wird mit Chloroform ausgeschüttelt, das Chloroform getrocknet und abdestilliert. Der Rückstand kristallisiert aus wasserfreiem Essigester in derben Nadeln. Schmp. 78–79°, $[\alpha]_D^{20} + 14,35^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 4$ in Wasser).

C ₉ H ₁₂ O ₂ N ₂ (180,21)	Ber.: C 60,2%	H 6,7%	N 15,5%
	Gef.: C 59,7%	H 6,7%	N 15,6%

