

Arch. Pharm. (Weinheim) 310, 95–102 (1977)

Klaus Dahmen*, Peter Pachaly und Felix Zymalkowski

Alkaloide aus der thailändischen Menispermaceen-Droge Krung Kha Mao (*Cyclea barbata*), 5. Mitt.¹⁾

Isolierung und Strukturaufklärung weiterer Bisbenzylisochinolin-Alkaloide

Aus dem Pharmazeutischen Institut der Universität Bonn
(Eingegangen am 8. März 1976)

Aus Krung Kha Mao (*Cyclea barbata* Miers) wird als neues Alkaloid ein Tetrandrin-mono-N-2'-oxid (**1**) isoliert und seine Struktur durch Spektren und Partialsynthese aufgeklärt. Zwei weitere Nebenkaloide wurden als Isochondodendrin (**2**) und Chondocurin (**4**) identifiziert.

Alkaloids from the Thai Drug "Krung Kha Mao" (*Cyclea Barbata*, Menispermaceae), V: Isolation and Structural Elucidation of Further Bisbenzylisoquinoline Alkaloids.

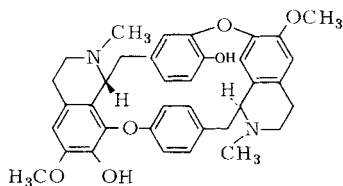
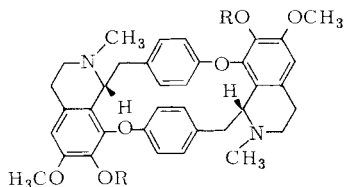
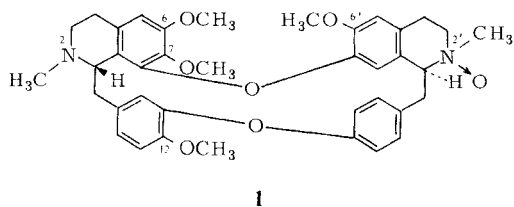
From "Krung Kha Mao" (*Cyclea barbata* Miers) tetrandrine N-2'-monoxide (**1**) was isolated as a new alkaloid. Its structure was elucidated by spectroscopy and partial synthesis. Two other alkaloids were identified as isochondodendrine (**2**) and chondocurine (**4**).

Unsere bisherigen Untersuchungen der Menispermaceen-Droge Krung Kha Mao (botanisch angeblich *Cissampelos pareira*) hatten eine Reihe asymmetrischer Bisbenzylisochinolin-Alkaloide vom Berbamin- bzw. Oxyacanthin-Typ ergeben¹⁾, wie sie in *Cissampelos pareira* bisher nie gefunden wurden. Wir postulierten aufgrund chemotaxonomischer Überlegungen, daß Krung Kha Mao in Wirklichkeit mit *Cyclea barbata* Miers identisch ist, was inzwischen durch Vergleich von Herbar-Exemplaren bestätigt wurde.

Die weitere Untersuchung der polareren Phenolbasen-Extraktfraktionen ergab ein bisher unbekanntes Berbamin-Alkaloid, das wir durch spektroskopische Methoden und Partialsynthese schließlich als Tetrandrin-mono-N-2'-oxid (**1**) identifizierten. Zwei weitere phenolische Alkaloide erwiesen sich als identisch mit authentischem Isochondodendrin (**2**) und Chondocurin (**4**).

* Teil der Diss. von Klaus Dahmen, Bonn 1975.

1 1.–4. Mitt.: C. Goepel, S. v. Kürten, T. Yupraphat, P. Pachaly und F. Zymalkowski, *Planta Med.* 22, 402 (1972); B. Hoffstadt, D. Moecke, P. Pachaly und F. Zymalkowski, *Tetrahedron* 30, 307 (1974); T. Yupraphat, P. Pachaly und F. Zymalkowski, *Planta Med.* 25, 315 (1974); C. Goepel, T. Yupraphat, P. Pachaly und F. Zymalkowski, *Planta Med.* 26, 94 (1974).



Die Extraktion der Alkaloide aus der Droge erfolgte nach dem von *Kupchan*²⁾ beschriebenen Verfahren. Aus dem hierbei erhaltenen Methanolextrakt B wurde zunächst das Hauptalkaloid Tetrandrin neben Isotetrandrin und Phenolalkaloiden mit einer OH-Gruppe wie Limacin, Fangchinolin und Isofangchinolin¹⁾ durch gründliche Extraktion mit Äther abgetrennt. Der unlösliche Rückstand mit den polareren Alkaloiden ergab bei anschließender säulenchromatographischer Trennung an Sephadex LH-20 mit Chloroform als Elutionsmittel u.a. **1** neben **2**, das über präparative Dickschichtchromatographie gereinigt wurde.

Obwohl **1** im IR, NMR und MS sehr große Ähnlichkeit zum Hauptalkaloid Tetrandrin zeigt, unterscheidet es sich dünnstschichtchromatographisch wesentlich hiervon. Der niedrige R_f-Wert (0,19) und eine rötliche Eisen(III)-Reaktion wiesen zunächst auf eine phenolische Substanz hin. Dagegen sprach aber, daß sich mit Diazomethan kein Methylierungsprodukt aus **1** erhalten ließ. Im NMR-Spektrum von **1** (Abb. 1) fällt auf, daß im Gegensatz zu Tetrandrin nur noch das N-2-Methylsignal bei $\delta = 2,31$ zu erkennen ist und ferner ein neues, verbreitertes Signal bei $\delta = 3,55$ auftaucht.

Das unveränderte 6'-O-Methylsignal von **1** bei $\delta = 3,36$ und die spezifische Drehung von $[\alpha]_D^{23} = +198^\circ$ deuten zusätzlich darauf hin, daß in **1** ein Berbaminalkaloid mit S,S-Konfiguration am C-1 bzw. C-1' wie im Tetrandrin vorliegt. Das gegenüber Tetrandrin zusätzliche Signal bei $\delta = 3,55$ kann nicht durch eine fünfte O-CH₃-Gruppe verursacht werden, weil dann die Fragmentierung im Massenspektrum von **1** sich wesentlich von der des Tetrandrins unterscheiden müßte. Tatsächlich ist aber der

2 S.M. Kupchan, A.C. Patel und E. Fujita, J. Pharm. Sci. 54, 580 (1965).

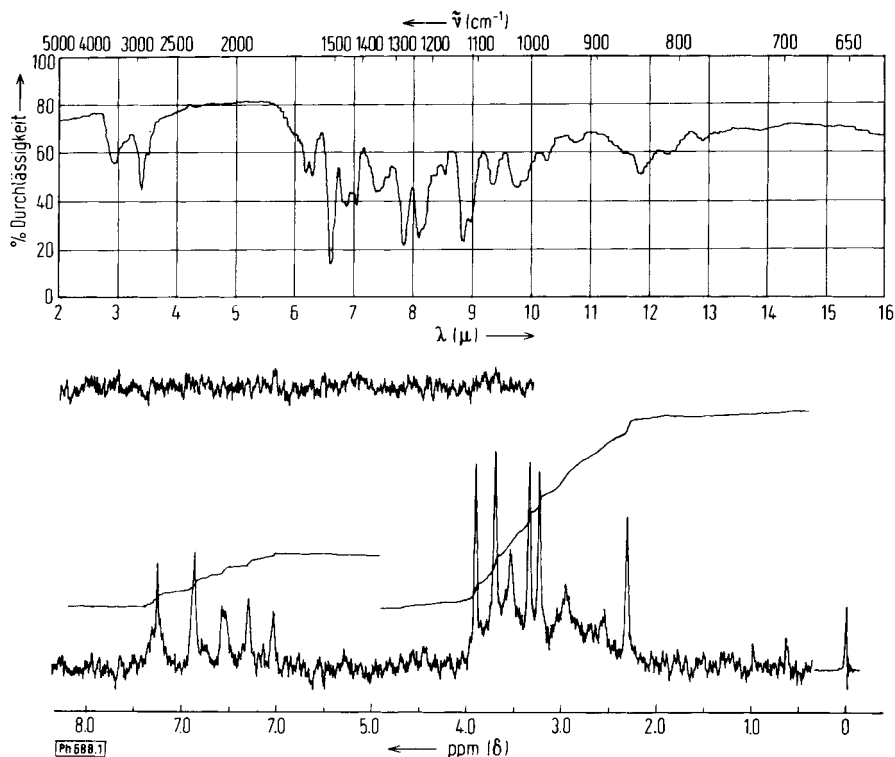


Abb. 1: IR und NMR von **1**

einzigste Unterschied im Massenspektrum von **1** zu dem des Tetrandrins ein um 16 Masseneinheiten höherer Molekülpeak (m/e 638), das übrige Fragmentierungsmuster ist identisch mit dem von Tetrandrin. Diese Tatsache wurde durch Hochauflösung der wichtigsten Bruchstücke im Massenspektrum von **1** bestätigt.

Insgesamt deuten diese Befunde bei **1** auf das Vorliegen eines Tetrandrin-mono-N-2'-oxids hin. Im Massenspektrum zeigen N-Oxide als typisches Fragment ein starkes (M-16)-Signal. Im NMR-Spektrum erfolgt durch N-Oxidation eine Verschiebung von N-Methyl-Signalen nach tieferem Feld, wie kürzlich am Laurepukin, einem N-oxidierten Aporphinalkaloid, gezeigt werden konnte³⁾.

Zur Absicherung unserer Zuordnung stellten wir aus reinem Tetrandrin durch Oxidation mit Wasserstoffperoxid Tetrandrin-N-oxide her. Erwartungsgemäß bildet sich hierbei ein Gemisch aus je vier epimeren Mono- und je vier Di-N-oxiden, da sich durch N-Oxidation jeweils ein zusätzliches Asymmetriezentrum bildet.

3 K. Bernauer, E.K. Weiss und A. Giradet, *Helv. Chim. Acta* 54, 1342 (1971).

Aus dem schwer trennbaren Reaktionsgemisch ließen sich durch präparative Schichtchromatographie lediglich die Mono-N-oxide **1a**, **b** isolieren.

Hydrierung von **1a**, **b** mit Palladium/Kohle (5 %) liefert wieder Tetrandrin, was bestätigt, daß die Oxidation mit H_2O_2 tatsächlich zu N-Oxiden und keinen anderen Oxidationsprodukten geführt hat. Die NMR-Signale von **1** stimmen in Lage und Intensität mit einer Signalgruppe des Mono-N-Oxidsgemisches **1a**, **b** vollständig überein, so daß auch dieses synthetische Gemisch die Strukturzuordnung für **1** als Tetrandrin-mono-N-2'-oxid sichert. Allerdings läßt sich nicht sagen, welches der beiden möglichen N-2'-Mono-oxide in **1** vorliegt.

Erwartungsgemäß ist aber das Massenspektrum vom Gemisch **1a**, **b** wiederum vollständig identisch mit dem MS von **1**, da sich hier ja die epimeren Mono-N-oxide des Tetrandrins nicht unterscheiden sollten.

IR-Spektrum und dc-Verhalten von **1** und **1a**, **b** sind ebenfalls identisch.

Eine genauere Strukturzuordnung von **1** ist zur Zeit einerseits wegen Substanzmangels, andererseits wegen der noch nicht gelungenen Auftrennung des synthetischen Tetrandrin-N-Oxidgemisches unmöglich.

Die berechtigte Frage, ob nicht in **1** lediglich ein Artefakt vorliegt, entstanden aus Tetrandrin durch Extraktion mit peroxidhaltigem Äther, glauben wir aus zwei Gründen verneinen zu können:

Erstens läßt sich **1** auch aus Petrolätherextrakten isolieren, die niemals mit Äther in Berührung gekommen sind. Zweitens spricht die Einheitlichkeit von **1** für ein Naturprodukt — bei Artefaktbildung aus Tetrandrin sollte, genau wie beim Syntheseprodukt — ein N-Oxid-Isomerengemisch entstehen. Als Naturprodukt ist unseres Wissens **1** das erste Beispiel für ein Alkaloid mit Bisbenzylisochinolin-N-oxid-Struktur.

Anders als bei **1** wurde zur Isolierung der beiden phenolischen Nebenalkaloide **2** und **4** die nach Kupchan²⁾ erhaltene Alkaloidfraktion B in verd. Salzsäure gelöst, bei pH 7–7,5 für **2** bzw. pH 10 für **4** mit Chloroform extrahiert und dieser Extrakt an DOWEX 1 x 8 (OH^- -Form) und dc weiter aufgetrennt. Schmelzpunkt (296°), spezifische Drehung ($[\alpha]_{\text{D}}^{23} = +115^\circ$, (0,1 N HCl) von **2** sprechen für das symmetrische Bisbenzylisochinolin-Alkaloid Isochondodendrin (Lit.⁴⁾: Schmelzpunkt 296° , $[\alpha]_{\text{D}}^{22} = +120^\circ$). Die Fragmentierung im MS von **2** deckt sich vollständig mit den Angaben von Milne und Plimmer⁵⁾ für Isochondodendrin, ebenso sind dc-Verhalten, IR- und NMR-Spektrum identisch mit Meßergebnissen, die wir mit authentischem Isochondodendrin erhielten. Erwartungsgemäß zeigt auch der aus **2** mit Diazomethan erhaltene Dimethyläther völlige Übereinstimmung mit den Literatur-Angaben für Cycleanin (**3**)⁶⁾. Überraschend war lediglich die Abweichung im NMR-Spektrum von

4 J.D. Dutcher, J. Am. Chem. Soc. 68, 419 (1946).

5 C.W.A. Milne und J.R. Plimmer, J. Chem. Soc. C, 1966, 1966.

6 A.K. Bhatnagar, S. Bhattacharji und S.P. Popli, Ind. Res. 21 B, 428 (1967).

2 mit dem von *Bick* und Mitarb.⁷⁾ publizierten Werten. *Bick* gibt für Isochondodendrin zwei getrennte Signale für die beiden N-Methylgruppen und für das eine Signal der beiden O-Methylgruppen eine von unseren Werten abweichende Verschiebung an (vergl. Tab. 1).

Legt man für das Isochondodendrin-Molekül C_2 -Symmetrie zugrunde, sollte man auch bei gleicher Absolutkonfiguration (R) am C-1 und C-1' die gleiche Konformation der beiden Tetrahydroisochinolin-Ringsysteme erwarten, so daß sich für alle aliphatischen und aromatischen Protonen Isochronie ergibt. Diese Symmetrieverhältnisse lassen im NMR-Spektrum des Isochondodendrins (**2**) nur jeweils ein Signal für die N-Methyl- und O-Methylgruppen zu, für das Methylierungsprodukt Cycleanin (**3**) ein N-Methyl- und zwei O-Methylsignale, wie es auch für **3** von *Bhatnagar*⁶⁾ und von *Kametani*⁸⁾ beschrieben wurde. *Bicks* NMR-Spektrum sollte also überprüft werden.

Von Verbindung **4** erhielten wir lediglich genügend Substanz für MS-, NMR- und IR-Spektren. Fragmentierungsmuster im MS von **4**, je zwei Signale für O-Methyl- und N-Methylgruppen im NMR deuteten hier – anders als bei **2** – auf ein relativ asymmetrisches Kopf-Schwanz-verknüpftes Bisbenzylisochinolin-Alkaloid vom Curintyp hin. Vergleich der Spektren mit denen von authentischer Vergleichssubstanz ergab Chondocurin als Zuordnung von **4** in Übereinstimmung mit den von *Bick*⁷⁾ bzw. *Everret*⁹⁾ beschriebenen NMR-Daten.

Die spezifische Drehung von **4** ließ sich wegen der geringen Substanzmenge nicht exakt ermitteln, doch stimmt der positive Drehsinn auch mit den Literaturangaben für Chondocurin überein.

Wir danken der Deutschen Forschungsgemeinschaft und dem Fonds der Chemischen Industrie für Sachbeihilfen, Herrn Dr. G. Eckhardt (Chemisches Institut der Universität Bonn) für die Aufnahme der Massenspektren, Prof. S.M. Kupchan (Minnesota), Prof. M. Tomita (Tokyo) und Prof. I.R.C. Bick (Tasmania University Australien) für die freundliche Hilfe durch Übersendung von Vergleichssubstanzen, dem Direktor des Royal Botanic Garden, Kew, London, Mr. L.L. Forman, für die botanische Bestimmung des Herbarexemplars von Krung Kha Mao sowie Dr. M. Keller (Chemisches Institut der Ruhr-Universität Bochum) für fruchtbare Diskussion der Molekülstruktur von Isochondodendrin.

Experimenteller Teil

Schmp. (unkorr.): Schmelzpunktmikroskop nach Opfer-Schaum; *IR*: Beckman IR 5a, NMR: Varian A 60 A, *MS*: AEI MS 9, *spezifische Drehung*: Perkin-Elmer Polarimeter 141. *DC*: Kieselgel PF₂₅₄ Merck (selbstgegossene Platten) Chloroform/Methanol 8 : 2, Schichtdicke für präparative DC: ca. 2 mm, *Gelchromatographie*: Sephadex LH 20, Elutionsmittel: Chloroform (1proz. Äthanol), Detektor: LKB Uvicord I (254 nm).

7 I.R. C. Bick, J. Harley Mason, N. Sheppard und M.J. Vernengo, J. Chem. Soc. 1961, 1898.

8 T. Kametani, The Chemistry of the Isoquinoline Alkaloids, Elsevier Publishing Co., Amsterdam – London – New York 1969.

9 A.J. Everet, J.A. Lowe und S. Wilkinson, Chem. Commun. 1970, 1020.

Tab. 1: $^1\text{H-NMR}$ -Signallagen (CDCl_3 , TMS, δ (ppm) (rel. Intensität))

	Tetrandrin	Tetr. N-2'-oxid	1a, b	2	3	4	Isochondodendrin η
12-O-CH ₃	3,90 (3)	3,92 (3)	3,93 3,92	(6)			
6-O-CH ₃	3,73 (3)	3,71 (3)	3,77 (3) 3,72 (3)	3,71 (6)	3,83 (6)	3,82 (3)	3,87
6'-O-CH ₃	3,35 (3)	3,35 (3)	3,36 (3)	3,71 3,83	3,83	3,87 (3)	3,87
7-O-CH ₃	3,18 (3)	3,25 (3)	3,28 (~4,8) 3,19 (3)		3,42 (6)		
7'-O-CH ₃					3,42		
2'-N-CH ₃	2,59 (3)	3,54 (~3)	3,53 (3) 2,67 (3)	2,13 (6)	2,53 (6)	2,50 (3)	2,53
2-N-CH ₃	2,30 (3)	2,31 (3)	3,51 (3) 2,32 (3)	2,13	2,53	2,25 (3)	2,27

1. Extraktion der Droge

Aus der grob gepulverten Wurzeldroge (1 kg) wurden nach dem Entfetten mit Petroläther 33 g Rohalkaloidgemisch aus dem Methanolextrakt **B**²⁾ gewonnen.

2. Isolierung von 1

Fraktion B gab nach sechsmaliger erschöpfender Extraktion mit Äther 26 % ätherunlöslichen Rückstand (**Bu**). 2,4 g **Bu** wurden in Teilen von jeweils 500 mg über Sephadex LH 20 (2,5 x 144 cm) chromatographiert. Bei einem Elutionsvolumen von 500–550 ml fielen insgesamt 140 140 mg **1** an.

Tetrandrin-mono-N-oxid (1)

Schmp. 185–190° (Aceton/Petroläther), $[\alpha]_D^{25} = +198^\circ$ (c 0,9/CHCl₃), NMR: s. Tab..

MS: 70 eV, m/e (% rel. Intensität): 638 (15) (M⁺), 622 (67), 607 (22), 591 (12), 431 (7,5), 430 (6), 396 (16), 395 (55), 382 (8), 381 (30), 379 (11), 206 (6), 204 (7), 198,5 (22), 198 (100), 197,5 (3), 175,5 (10), 175 (25), 146 (10), 145 (8), 91 (4), 90 (4).

3. Oxidation von Tetrandrin

300 mg Tetrandrin wurden in 60 ml Äthanol gelöst, mit 10 ml H₂O₂ (30 %) versetzt und 48 h stehen gelassen. Das Fortschreiten der Oxidation wurde durch DC verfolgt. Anschließend wurde das Gemisch auf das Sechsfache seines Vol. mit Wasser verdünnt, mit wäsr. NH₄OH alkalisiert und mit CHCl₃ ausgeschüttelt. Der CHCl₃-Auszug wurde mit Wasser gewaschen und i. Vak. eingedampft. Im DC des Reaktionsprodukts ließen sich 3 neue Flecke erkennen (Rf-Wert 0,25; 0,2; 0,05). Durch anschließende präparative DC mit dreimaligem Entwickeln konnte die Hauptzone (Rf-Wert 0,2) eluiert werden (80 mg). Schmp.: 185–186° (Methanol/Petroläther). NMR: s. Tab. MS: 70 eV, m/e (% rel. Intensität): 638 (20) (M⁺), 622 (65), 607 (25), 591 (10), 431 (9), 430 (6), 396 (20), 395 (60), 382 (10), 381 (26), 379 (10), 206 (8), 204 (8), 198,5 (24), 198 (100), 197,5 (3), 175,5 (9), 175 (32), 146 (10), 145 (9), 91 (5), 90 (5).

4. Hydrierung von Tetrandrin-mono-N-oxid

30 mg (0,047 mmol) **1a**, **b** wurden in 2 ml Äthanol gelöst und mit 150 mg vorhydriertem 5 % Pd/C Katalysator (suspendiert in Äthanol) hydriert. Nach 6 h Hydrierzeit waren 1,1 ml (0,049 mmol) H₂ verbraucht. Das abzentrifugierte Reaktionsgemisch wurde mit Wasser verdünnt, alkalisiert, mit CHCl₃ ausgeschüttelt und dc untersucht. Das Reaktionsgemisch war fast vollständig zu Tetrandrin umgesetzt.

5. Isolierung von 2

60 g **B** wurden in 2 N HCl gelöst und mit CHCl₃ bei pH 7–7,5 ausgeschüttelt. Der Rückstand der Chloroformphase (36 g) wurde in Methanol gelöst, über eine DOWEX-1x8-(OH⁻-Form)-Säule (25 cm x 2,5 cm) gegeben und bis zur Farblosigkeit des Eluats mit Methanol gewaschen. Anschließend wurde mit Methanol + 5 % Eisessig eluiert, das saure Eluat alkalisiert und mit Chloroform ausgeschüttelt. Aus dem Rückstand dieser CHCl₃-Phase wurde schließlich **2** durch präparative DC mit einem Rf-Wert von 0,15 gewonnen. Zur weiteren Reinigung wurden aus dem Rohprodukt 100 mg kristallines Hydrochlorid hergestellt und daraus die freie Base **2** aus Methanol kristallin erhalten. Schmp. 296° (Zers. 250°); Lit.⁴⁾ 305°, ⁸⁾ 312°. $[\alpha]_D^{25} = +115^\circ$ (c 0,2/0,1 N HCl) Lit.⁴⁾ + 120°. NMR: s. Tab.

MS: 70 eV, m/e (% rel. Intensität): 595 (5) (M⁺), 594 (25), 593 (5), 299 (22), 298 (100), 297 (60), 296 (10), 281 (7), 251,5 (2), 191 (50), 190 (52), 162 (45), 148 (25), 132 (20), 121 (10), 108 (8), 107 (5), 91 (12).

6. Methylierung von 2

50 mg **2** wurden 2x mit 15 ml ätherischer Diazomethanlösung 48 h behandelt. Das Methylierungsprodukt wurde sc über Kieselgel mit Chloroform/Methanol (95 : 5) gereinigt. Schmp. 271–273°; Lit.⁸⁾ 272–273°. $[\alpha]_D^{23} = -12^\circ$ (c 0,3/CHCl₃) Lit.⁸⁾ -15° . NMR: s. Tab..

7. Isolierung von 4

Der Methanolextrakt B (60 g) wurde in 2N HCl gelöst und mit Chloroform bei pH 10 ausgeschüttelt und analog 5. weiter aufgetrennt. Bei einem Rf-Wert von 0,35 konnten 15 mg **4** gewonnen werden. Schmp. 242–245°; Lit.⁸⁾ 232–234°. $[\alpha]_D^{23} = +129^\circ$; Lit.⁸⁾ $+173^\circ$. NMR: s. Tab.. MS: 70 eV, m/e (% rel. Intensität): 595 (6) (M⁺), 594 (15), 593 (5), 299 (25), 298 (100), 297 (27), 296 (25), 191 (25), 190 (25), 176 (10), 162 (22), 148 (11), 132 (10), 107 (5), 91 (5).

Anschrift: Prof. Dr. P. Pachaly, Kreuzbergweg 26, D-53 Bonn 1.

[Ph 688]

Arch. Pharm. (Weinheim) 310, 102–109 (1977)

Eberhard Reimann und Dirk Voss¹⁾

Bicyclische α -Aminosäuren, 3. Mitt.²⁾

Zur Synthese von 2-(1-Tetralyl)- und 2-[5-(5,6,7,8-Tetrahydro)-chinolyl]-glycin

Aus dem Pharmazeutischen Institut der Universität Bonn
(Eingegangen am 15. März 1976)

Der Halogenierungsversuch von **2** führt nicht zur erwarteten Tetralylbromessigsäure **4**, sondern zum cyclischen Keton **3**. Die α -Ketoester **5** lassen sich durch thermische Decarboxylierung zu den substituierten Malonestern **6** abbauen. **6a** bzw. **7a** reagieren mit Isopropylnitrit zur Oximinocarbonsäure **8a**, aus der durch katalytische Hydrierung bei Raumtemperatur die Titelverbindung **9a**, bei 80° die perhydrierte Aminosäure **10a** gewonnen werden. Die entsprechende Reaktionsfolge **6b** bzw. **7b** $\rightarrow$ **8b** $\rightarrow$ **9b** zur Darstellung des Tetrahydrochinolylglycins **9b** gelingt dagegen nicht.

1 Teil der Dissertation von D. Voss, Bonn 1974.

2 2. Mitt.: E. Reimann und D. Voss, Arch. Pharm. (Weinheim), 310, 2 (1977).