

G. Blaschke

Die Biosynthese des Aporphin-Alkaloids Bulbocapnin aus Reticulin*)

I. Mitt.: Untersuchungen zur Biosynthese von Alkaloiden

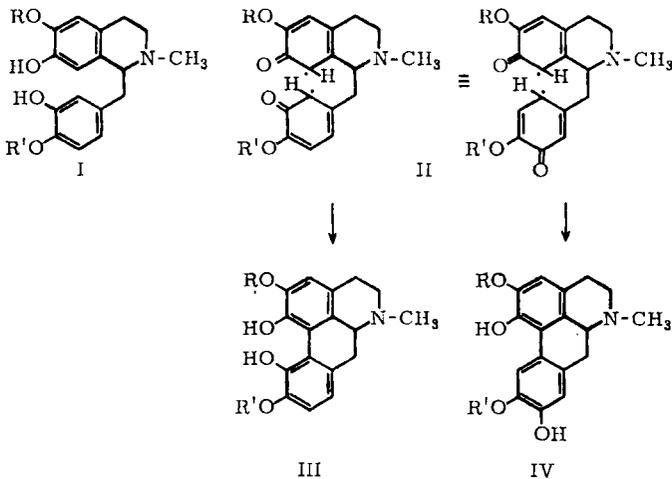
Aus dem Pharmazeutischen Institut der Universität Kiel

(Eingegangen am 16. Oktober 1967)

Die Biosynthese des Bulbocapnins (XIV) wurde durch Verfütterung eines radioaktiv markierten Benzyltetrahydroisochinolins untersucht. Reticulin(N-Methyl- ^{14}C) (X) wird im Lerchensporn (*Corydalis cava*) in Bulbocapnin umgewandelt, dessen Radioaktivität ebenfalls in der N-Methylgruppe lokalisiert ist. Der Einbau muß somit spezifisch erfolgt sein. Zwischenstufen dieser Biogenese werden diskutiert.

The biosynthesis of bulbocapnine was investigated by feeding experiments with a labelled benzyloquinoline. Reticuline-(N-methyl- ^{14}C) (X) is converted into bulbocapnine (XIV) in the larkspur (*Corydalis cava*) without displacement of the radioactivity. Therefore a specific transformation must have occurred. Intermediates of this biosynthesis are discussed.

Bereits im Jahre 1911 postulierte *Gadamer*¹⁾, daß die Biosynthese des Aporphin-Alkaloids Glauцин (IV, $\text{R}=\text{R}'=\text{CH}_3$, OCH_3 statt OH) aus einfachen Benzyliso-



*) Herrn Prof. Dr. O.-E. Schultz zum 60. Geburtstag in Dankbarkeit gewidmet.

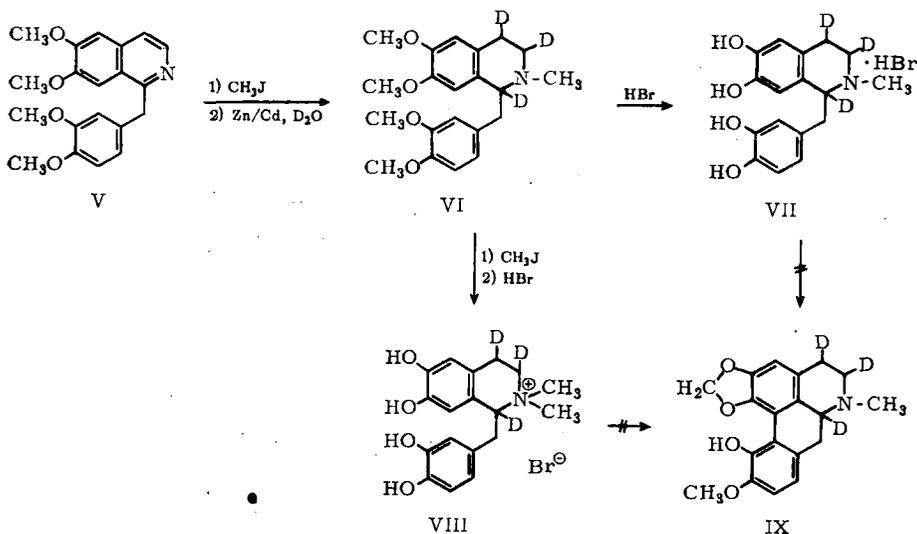
¹⁾ J. Gadamer, Arch. Pharmaz. 249, 498 (1911).

chinolinen, wie Laudanosolin (I, $R = R' = H$) erfolgt. Diese Hypothese wurde später verfeinert²⁻⁵).

Danach sollen hydroxylierte Benzyltetrahydroisochinoline (I, R, R' wie H, CH_3 oder Phosphatester*) zu Diradikalen dehydriert werden, die unter Diphenylverknüpfung das Aporphingerüst ergeben. Je nach Konformation des Benzylteils im mesomeriestabilisierten Diradikal (II) könnten dabei durch ortho-Kupplung Alkaloide vom Bulbocapnin-Typ (III), nach para-Kupplung Verbindungen vom Glaucin-Typ (IV) entstehen.

In Anlehnung an diese Vorstellungen wurden bereits präparativ brauchbare Synthesen für Aporphine gefunden⁶⁻⁸).

In Vorversuchen sollten die Hypothesen zur Aporphin-Biosynthese durch Verfütterung deuteriummarkierter Laudanosolinderivate überprüft werden**). Papa-



*) Durch diese Substituenten R und R' werden die zur Phenoloxydation nicht benötigten Hydroxylgruppen blockiert.

***) Die Versuche mit deuterierten Verbindungen wurden am Institut für Organische Chemie der Universität Kiel durchgeführt. Herrn Prof. Dr. B. Franck möchte ich für die gewährte Unterstützung sehr herzlich danken.

2) R. Robinson, *The Structural Relations of Natural Products*, Clarendon Press, Oxford 1955.

3) D. H. R. Barton und T. Cohen, in: *Festschrift Arthur Stoll*, Birkhäuser, Basel 1957, S. 122.

4) K. Mothes und H. Schütte, *Angew. Chem.* 75, 265, 357 (1963).

5) E. Leete, in: P. Bernfeld, *Biogenesis of Natural Compounds*, Pergamon Press, New York 1963, S. 763.

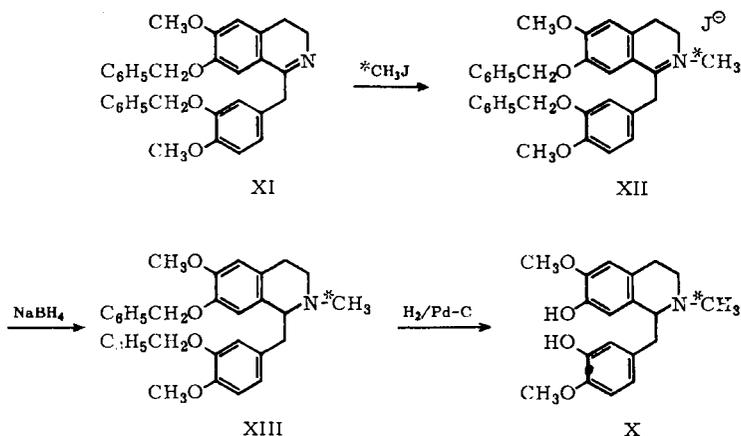
6) A. R. Battersby, T. H. Brown und J. H. Clements, *J. chem. Soc. (London)* 1965, 4550.

7) A. H. Jackson und J. A. Martin, *J. chem. Soc. (London)* 1966, 2222, 1966, 2081; M. Shamma und W. A. Slusarchyk, *Chem. Communic.* 1965, 528.

8) B. Franck, G. Blaschke und G. Schlingloff, *Angew. Chem.* 75, 957 (1963).

verin (V) konnte in Anlehnung an bekannte Syntheseverfahren⁹⁾ mit Zn/Cd-Amalgam in D_2O/CH_3COOD zum deuterierten Laudanosin (VI) reduziert werden, das nach Erhitzen mit HBr deuteriertes Laudanosolin (VII) und nach Quaternisierung sowie HBr-Behandlung deuteriertes Laudanosolin-methobromid (VIII) ergab*). Die wäßrige Lösung der markierten Verbindungen VII und VIII injizierte man in die Stengelteile blühender Lerchenspornpflanzen, die im Freiland wuchsen. Nach Verblühen wurde aus den Stengelteilen das Hauptalkaloid Bulbocapnin (IX) isoliert und durch Massenspektrometrie auf den Deuteriumgehalt untersucht.

Nach Einbau der verführterten Verbindungen sollte neben dem Molekülpeak des natürlichen Bulbocapnins bei m/e 325 auch ein Peak deuterierten Bulbocapnins (IX) bei m/e 328 auftreten. Dieser Isotopenpeak ließ sich im Massenspektrum des isolierten Bulbocapnins nicht nachweisen. Somit waren die Laudanosolinderivate VII und VIII entweder nicht die natürlichen Vorstufen, oder die Empfindlichkeit des Meßverfahrens reichte zum Nachweis nicht aus**). Genauere Ergebnisse sollten Versuche mit radioaktiv markierten Verbindungen bringen, die eine wesentlich höhere Nachweisempfindlichkeit ermöglichen. Als Laudanosolinderivat wählte man jetzt Reticulin (X), das auch Biosynthesevorstufe der Morphin¹⁰⁾-, Bergerin¹¹⁾- und



*) Quartäre Benzyltetrahydroisochinoline könnten ebenfalls Biosynthesevorstufen von Aporphin-Alkaloiden sein⁸⁾.

***) Bei der massenspektrometrischen Analyse von Isotopengemischen entspricht das Intensitätsverhältnis der Molekülpeaks dem Mischungsverhältnis. Wenn deuteriummarkiertes Bulbocapnin tatsächlich entstanden war, so könnte es bei einer niedrigen Einbaureate der verführterten Verbindungen so stark verdünnt worden sein, daß es in der Mischung mit natürlichem Bulbocapnin nicht mehr nachzuweisen war. Die Nachweisgrenze lag in diesen Fall bei einem Gehalt von etwa 0,5% deuteriummarkierten Bulbocapnins.

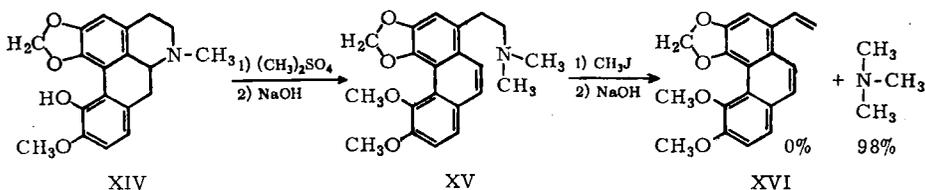
⁹⁾ B. Franck und G. Schlingloff, Liebigs Ann. Chem. 659, 123 (1962).

¹⁰⁾ R. O. Martin, M. E. Warren und H. Rapoport, J. Amer. chem. Soc. 86, 4726 (1964); D. H. R. Barton, G. W. Kirby, W. Steglich, G. M. Thomas, A. R. Battersby, T. A. Dobson und H. Ramuz, J. chem. Soc. (London) 1965, 2423.

¹¹⁾ D. H. R. Barton, R. H. Hesse und G. W. Kirby, J. chem. Soc. (London) 1965, 6379.

Protoberberin¹²⁾-Alkaloide ist. Die Synthese der markierten Verbindung¹⁰⁾ erfolgte aus dem 3,4-Dihydroisochinolin-Derivat XI, das nach Quaternisierung mit Methyljodid-¹⁴C zu XII und nachfolgender Reduktion O-Benzylreticulin(N-Methyl-¹⁴C) (XIII) ergab. Katalytische Abspaltung der O-Benzylgruppen führte schließlich zum Reticulin(N-Methyl-¹⁴C) (X).

Der Fütterungsversuch wurde wiederum an Lerchensporn durchgeführt. Dazu tauchte man die Wurzeln blühender Pflanzen in eine Nährlösung¹³⁾, in der radioaktiv markiertes Reticulin (X) gelöst war, ließ die Mischung von den Wurzeln aufsaugen und füllte verbrauchte Nährlösung zweimal täglich nach. Zum Vergleich wurde die gleiche Menge radioaktiv markierten Reticulins in einem Parallelversuch in die Stengel injiziert. Nach 6 Tagen wurden die inzwischen verblühten Pflanzen zerkleinert und das radioaktive Bulbocapnin isoliert. Bei Wurzelfütterung hatten die Pflanzen 1,4% der als Reticulin verabreichten Aktivität zu Bulbocapnin umgewandelt, bei Injektion 1,5%*). Reticulin ist aber nur dann Vorstufe des Bulbocapnins, wenn der Einbau spezifisch erfolgt war und damit die Radioaktivität ausschließlich wieder in der N-Methylgruppe vorliegt. Die Übertragung könnte auch dadurch erfolgt sein, daß in den Pflanzen verfüttertes Reticulin abgebaut und die entstandenen Bruchstücke zur Synthese von Bulbocapnin mitverwendet wurden. Dann müßte aber die Radioaktivität auf mehrere C-Atome verteilt sein. Eine spezifische Umwandlung ließ sich durch Abbau beweisen: Das isolierte Bulbocapnin (XIV) wurde methyliert und zum Methin XV abgebaut, das erneut methyliert und



durch siedende Natronlauge gespalten wurde. Das aufgefangene Triäthylamin war radioaktiv und enthielt über 98% der Ausgangsaktivität, das stickstofffreie Abbauprodukt XVI war aktivitätsfrei. Somit ist der Einbau spezifisch erfolgt und Reticulin als Biosynthesestufe des Bulbocapnins nachgewiesen. In weiteren Versuchen wird jetzt der Mechanismus der Diphenylverknüpfung untersucht.

*) Bei Verwendung deuteriummarkierten Reticulins wäre der Einbau nicht nachweisbar. Im isolierten Bulbocapnin liegen wegen der Verdünnung durch bereits vorhandenes Alkaloid nur 0,05% aus gefüttertem Reticulin entstandenes markiertes Bulbocapnin vor.

¹²⁾ A. R. Battersby, R. J. Francis, M. Hirst, R. Southgate und J. Stanton, Chem. Commun. 1967, 602.

¹³⁾ F. R. Stermitz und H. Rapoport, J. Amer. chem. Soc. 83, 4045 (1961).

¹⁴⁾ J. Gadamer und F. Kuntze, Arch. Pharmaz. 249, 41 (1911).

Beschreibung der Versuche*

Die Schmp. sind im Büchi-Schmp.-Apparat bestimmt und korrigiert. Zur DC verwendete man Kieselgel G (*E. Merck*) auf Platten 10×20 cm und entwickelte unter Kammer-sättigung. Adsorbens zur Säulenchromatographie: Kieselgel H (*E. Merck*), das mit Wasser zu einem dicken Brei angerührt, 12 Std. bei 80° getrocknet und 48 Std. an der Luft desaktiviert wurde. Die Alkaloide färbte man mit Kaliumjodoplateat¹⁵⁾, phenolische Verbindungen zusätzlich mit Pauly-Reagens¹⁶⁾ an. Radioaktivitätsmessungen erfolgten mit dem Scintillationsspektrometer der Fa. *Packard* (Mod. 3375 Tricarb) in 15 ml Scintillationsmischung (5 g/l PPO und 0,3 g/l POPOP in Toluol)¹⁷⁾. Die Meßwerte sind nach dem Kanalratenverhältnis¹⁷⁾ sowie durch interne Standardisierung mit Toluol-¹⁴C bekannter Aktivität korrigiert. Massenspektren wurden mit dem Spektrometer der Fa. *Atlas*, Bremen, Mod. CH 4, gemessen.

Laudanosolin-methobromid-(1,3,4-D) (VII) und Laudanosolinmethobromid-(1,3,4-D) (VIII) wurden in Anlehnung an bekannte Verfahren⁹⁾ 16) aus Papaverin (V) hergestellt, wobei man zur Reduktion mit Zn-Cd-Amalgam an Stelle der Essigsäure/Wassermischung D_2O/CH_3COOD verwendete. Die erhaltenen deuterium-markierten Laudanosolinderivate stimmen nach Schmp. und Mischschmp. mit den unmarkierten Verbindungen genau überein, unterscheiden sich davon jedoch in der erwarteten Weise durch ihre Massen- und NMR-Spektren.

O,O-Dibenzylreticulin-(N-Methyl-¹⁴C) (XIII)

In einer geschlossenen Glasapparatur¹⁹⁾ destillierte man i. Vak. auf die eingefrorene Lösung von 1-(3-Benzoyloxy-4-methoxybenzyl)-6-methoxy-7-benzoyloxy-3,4-dihydroisochinolin (XI)²⁰⁾ (794 mg, 1,63 mMol) in Benzol (5 ml) radioaktives Methyljodid (0,5 mCi, etwa 3 mg). Anschließend erwärmte man die Mischung auf Raumtemperatur, durchmischte mit einem Magnetrührer und fügte inaktives Methyljodid (45,5 mg, 0,2 mMol) zu, wobei sich blaßgelbe Nadeln des Methojodids (XII) abschieden. Schließlich destillierte man auf die Suspension Chloroform (15 ml) sowie Methyljodid (2,28 g, 10 mMol), durchmischte und destillierte nach 48 Std. überschüssiges Methyljodid und Lösungsmittel i. Vak. ab. Der kristallisierte Rückstand des Methojodids (XII) vom Schmp. 195° (Lit.²⁰⁾: $196\text{--}198^\circ$) wurde zur Reduktion in abs. Methanol (10 ml) suspendiert und unter Kühlung mit Eis/Kochsalz portionsweise mit Natriumborhydrid (600 mg, 16 mMol) versetzt. Die klare Lösung ließ man 12 Std. bei Raumtemp. stehen, dampfte das Lösungsmittel i. Vak. ab und nahm den farblosen, halbfesten Rückstand in der Mischung von 20 ml 3 n NaOH und 20 ml Benzol auf. Die abgetrennte Benzolphase wurde mit Wasser gewaschen und nach Trocknen mit Natriumsulfat i. Vak. eingedampft. Es hinterblieb ein farbloser, ölgiger Abdampfrückstand (0,90 g) des O,O-Dibenzylreticulin(N-Methyl-¹⁴C) (XIII), den man durch Säulenchromatographie an Kieselgel H (200 g, Elutionsmittel Chloroform/Methanol 98 : 2) sowie durch Umkristallisation aus Methanol reinigte. Die farblosen Prismen schmolzen bei 89° (Lit.²¹⁾). Ausbeute 690 mg (84% d. Th., ber. auf Dihydrobase XI).

*) Für experimentelle Mitarbeit möchte ich Frau *B. Fortmann* sehr danken.

¹⁵⁾ *R. Munier*, Bull. Soc. Chim. France 19, 852 (1952).

¹⁶⁾ *M. R. Grimmett* und *E. L. Richards*, J. Chromatogr. 20, 171 (1965).

¹⁷⁾ *Packard Technical Bulletins*, Downers Grove, Ill., 1963.

¹⁸⁾ *W. Aue* und *H. Unger*, Ber. dtsh. chem. Ges. 70, 472 (1937).

¹⁹⁾ *A. Murray* und *D. L. Williams*, Organic Syntheses with Isotopes, Interscience Publishers, New York 1958.

²⁰⁾ *J. Kunimoto*, J. pharm. Soc. (Japan) 81, 1253 (1961).

²¹⁾ *M. K. McJain*, J. chem. Soc. (London) 1962, 2203.

Reticulin-(N-Methyl-¹⁴C) (X)

Die Suspension von 195 mg O,O-Dibenzylreticulिन(N-Methyl-¹⁴C) (XIII) in abs. Methanol (10 ml) wurde mit vorhydrierter Pd-Aktivkohle (129 mg, 5% Pd) hydriert, wobei die Entbenzylierung nach 6 Min. unter Verbrauch der ber. Menge Wasserstoff (19,2 ml) beendet war. Man filtrierte unter einer Stickstoffatmosphäre, wusch den Katalysator mit abs. Methanol (300 ml) nach, vereinigte die Filtrate und dampfte i. Vak. zur Trockne ein. Der goldgelb gefärbte, ölige Rückstand enthielt nach dem DC (Chloroform/Methanol 9:1) neben Reticulin (Rf 0,29) Verunreinigungen bei Rf 0,1 und 0,80, die man durch Säulenchromatographie (Chloroform/Methanol 9:1) abtrennte. Ausbeute: 118 mg (90% d. Th.). Um das harzartige Reticulin zu den Fütterungsversuchen nicht stets neu dosieren zu müssen, stellte man eine Lösung bekannter Konzentration her, die man gleichmäßig auf Glasampullen verteilte. Die Ampullen wurden nach Gefriertrocknung unter Stickstoff abgeschmolzen.

Fütterungsversuche

Laudanosolin-methobromid-(1,3,4-D) (VIII)

Die Suspension von 2,0 g des quartären Bromids (VIII) in Wasser (40 ml) wurde auf 60° bis zur klaren Lösung erwärmt und noch warm in Portionen von je 0,1 bis 0,3 ml in die Stengel blühender Lerchenspornpflanzen (*Corydalis cava*) injiziert*). Nach 6 Tagen sammelte man die oberirdischen Pflanzenteile (2,4 kg Stengel und Blätter), aus denen die Rohalkaloide²²⁾ extrahiert wurden. Präparative DC auf Kieselgel-H-Platten lieferte chromatographisch einheitliches Bulbocapnin vom Schmp. und Mischschmp. 200° (Lit.²³⁾: 202°, das nach Massenspektrum mit natürlichem Bulbocapnin identisch war. Ein Isotopenpeak deuterierten Bulbocapnins bei m/e 228 ließ sich nicht nachweisen. Ebenso hatte man einige Knollen der gefütterten Pflanzen extrahiert. Das Massenspektrum des isolierten Bulbocapnins war wiederum mit dem Spektrum der natürlichen Verbindung identisch. Der Molekülpeak deuterierten Bulbocapnins bei m/e 228 war nicht nachzuweisen.

Laudanosolin-hydrobromid-(1,3,4-D) (VII)

Eine Lösung von 0,65 g Hydrobromid (VII) in Wasser (10 ml) injizierte man, wie im voranstehenden Versuch beschrieben, in Stengel von Lerchenspornpflanzen. Das aus den oberirdischen Teilen (550 g) sowie aus einigen Knollen isolierte Bulbocapnin ergab Massenspektren, die mit dem Spektrum natürlichen Bulbocapnins völlig identisch waren.

Reticulin-(N-Methyl-¹⁴C) (X)

Kurz vor der Blüte stehende, kräftige Lerchenspornpflanzen (*C. cava*) wurden einem natürlichen Standort in humosem Waldboden bei Lütjenburg/Ostholstein entnommen. Die anhaftende Erde spülte man vorsichtig mit Wasser ab, stellte die Knollen in ein enges Becherglas und füllte mit Nährlösung²⁴⁾ bis zum Sproßansatz auf 8,75 Mikrocurie (7,95 mg) Reticulin(N-Methyl-¹⁴C) (X), gelöst in der eben nötigen Menge 0,1 m H₃PO₄ (etwa 60λ), wurde an insgesamt 6 Pflanzen durch Wurzelfütterung¹³⁾ (Versuchsreihe A), weitere 8,75 Mikrocurie an 3 Pflanzen durch Injektion in die Stengel verabreicht (Versuchsreihe B). Die verbrauchte Nährlösung füllte man wiederholt nach und brach die Versuche nach 6 Tagen ab.

*) Die Fütterungsversuche mit deuterierten Verbindungen wurden im Freiland des Botanischen Gartens der Universität Kiel durchgeführt. Dem Inspektor des Gartens, Herrn K. Hesselbarth, möchte ich für die Unterstützung herzlich danken.

²²⁾ O. Haars, Arch. Pharmaz. 243, 165 (1905).

²³⁾ J. Gadamer, Arch. Pharmaz. 249, 224 (1911).

²⁴⁾ D. R. Hoagland und T. C. Broyer, Plant Physiol. 11, 471 (1936).

Isolierung des radioaktiv markierten Bulbocapnins

Die verblühten Pflanzen jeder Versuchsreihe homogenisierte man getrennt im Mixerät mit jeweils 200 ml abs. Methanol, extrahierte die Suspensionen 6 Std. im Soxhlet-Extraktor mit Methanol und dampfte die Extrakte zur Trockne ein. Die dunkelgrün gefärbten, sirupartigen Rückstände trennten sich im DC*) in 12 jodplateat-positive Zonen auf. Zur Radioaktivitätsprüfung des aufgetrennten Alkaloidgemisches wurde die Dünnschichtplatte mit dem Scanner (Fa. Labor Prof. *Berthold*, angeschlossen ein Kienzle-Digitaldrucker) ausgemessen. Es war die gesamte Laufstrecke, besonders aber 3 Rf-Bereiche radioaktiv. Auf der Dünnschichtplatte des Gemisches aus Versuchsreihe B zählte man 2100 Ipm im Rf-Bereich 0,00 bis 0,15 (vermutlich nicht umgesetztes Reticulin), zwischen Rf 0,35 und 0,55 750 Ipm (vermutlich Bulbocapnin) und vom Rf-Wert 0,85 bis zur Lösungsmittelfront 250 Ipm (Rf-Bereiche des Tetrahydropalmatins und Corydalins). Die dazwischenliegenden Bereiche hatten nur eine Gesamtaktivität von insgesamt 400 Ipm. Die präparative Abtrennung des Bulbocapnins erfolgte, getrennt für jede Versuchsreihe, durch Säulenchromatographie an Kieselgel H (100 g) mit dem Elutionsmittel Chloroform/Methanol (98:2).

Reinigung des radioaktiven Bulbocapnins

Von den aufgefangenen Fraktionen jeder Versuchsreihe wurden jeweils diejenigen Anteile vereinigt, welche chromatographisch einheitliches Bulbocapnin enthielten, und i. Vak. zur Trockne eingedampft. Die hellbraun gefärbten, halbfesten Rückstände löste man jeweils in Benzol (300 ml) und schüttelte das Bulbocapnin mit m H_3PO_4 (3×150 ml) aus. Man neutralisierte die sauren Auszüge mit gesätt. wäbr. Natriumcarbonatlösg., extrahierte mit Chloroform, trocknete den Chloroformauszug über Natriumsulfat und dampfte i. Vak. bis zur Trockne ein, wobei die zurückbleibenden Öle kristallisierten. Diese Rückstände kristallisierte man jeweils zweimal aus Methanol um und erhielt aus der Versuchsreihe A (Wurzelfütterung) 208,2 mg Bulbocapnin mit der spezifischen Aktivität von 936 Ipm/mg**), aus Versuchsreihe B (Injektion in den Sproß) 78,7 mg (2140 Ipm/mg**). Der Schmp. beider Präparate betrug 200° (Lit.²³): 202° . Bei der Säulenchromatographie waren leicht verunreinigte (dc) Fraktionen erhalten worden. Diese wurden, wiederum getrennt für jede Versuchsreihe, aufgearbeitet und ergaben 85 bzw. 56 mg (Reihe A bzw. B) Bulbocapnin vom Schmp. $185-195^\circ$, das verworfen wurde.

Abbauversuche

3,4-Dimethoxy-5,6-dioxymethylen-8-vinylphenanthren (XVI) und Trimethylamin aus Bulbocapnin

Die Suspension von 159 mg Bulbocapnin der spezifischen Aktivität von 175200 Ipm/mMol***) in Wasser (1 ml) wurde nach *Gadamer*¹⁴) zum Bulbocapninmethyläther (XV) (farbloses Öl, 159 mg) abgebaut, mit Methyljodid in Methanol zum kristallisierten Methojodid (XV, $N(CH_3)_3 J^-$ statt $N(CH_3)_2$) vom Schmp. 283° (Zers.) umgesetzt und im Stickstoffstrom mit konz. Natronlauge unter Rückfluß gekocht. Das entweichende Gasgemisch durchperlte zur Trocknung kalte konz. Natronlauge und zur Absorption des Trimethylamins 0,1 n HCl (5 ml). Nach Beendigung der Reaktion extrahierte man den Kolbeninhalt mit Äther, den man zur Entfernung basischer Bestandteile mit m H_3PO_4 (3×10 ml) sowie Wasser (10 ml) wusch, mit Natriumsulfat trocknete und i. Vak. zur Trockne eindampfte.

*) Fließmittel: Chloroform/Methanol 97:3. Die Rf-Werte in diesem System lagen für Corydalin bei 0,96, Tetrahydropalmatin 0,85, Bulbocapnin 0,50 und für Reticulin bei 0,07.

**) Dieser Wert blieb auch nach wiederholter Umkristallisation konstant.

***) Die reinen Bulbocapninproben aus Versuchsreihe A und B hatte man vereinigt und mit inaktivem Bulbocapnin verdünnt.

Den hellgelben, halbfesten Rückstand kristallisierte man aus Benzol/Petroläther (1:1) um und erhielt 13 mg hellgelbe Kristalle des stickstofffreien Abbauprodukts (XVI) vom Schmp. 99° (Lit.¹⁴): Schmp. 101°, das nicht radioaktiv war (weniger als 2 Ipm/mg). Die Verbindung zersetzte sich beim Aufbewahren teilweise zu einem dunkelbraunen Öl. Das absorbierte Trimethylamin (0,38 mMol, bestimmt durch Rücktitration mit n 0,1 n HCl) wurde mit konz. Natronlauge freigesetzt und durch einen Stickstoffstrom in die gekühlte (— 80°) 5proz. Lösung von Methyljodid in Methanol (10 ml) geleitet, wobei farbloses Tetramethylammoniumjodid ausfiel²⁵). Man kristallisierte aus abs. Methanol um, worin das Salz sehr schwer löslich ist, und bestimmte die Radioaktivität als Suspension mit Cab-O-Sil¹⁷): Die spezifische Aktivität betrug 171 000 Ipm/mMol (98%, bezogen auf eingesetztes Bulbocapnin).

²⁵) H. Roth, in: *Pregl-Roth, Quantitative Organische Mikroanalyse*, Springer Verlag, Wien 1958, S. 245.

Anschrift: Dr. G. Blaschke, 23 Kiel, Gutenbergstraße 76.

[Ph 504]

G. Blaschke

Reticulin als Biogenesevorstufe des Corydalins*)

II. Mitt.: Untersuchungen zur Biosynthese von Alkaloiden¹)

Aus dem Pharmazeutischen Institut der Universität Kiel

(Eingegangen am 16. Oktober 1967)

Corydalin (I) ist wie zahlreiche andere Protoberberin-Alkaloide am C-13 durch eine Methylgruppe substituiert. Die Einführung der Methylgruppe soll nach einer Hypothese von *Manske* vor dem Ringschluß zum Benzyltetrahydroisochinolin-Gerüst erfolgen. Radioaktiv markiertes Reticulin (IV) wird im Gegensatz dazu von Lerchensporn spezifisch zu Corydalin (I) umgewandelt. Somit entstehen die an C-13 methylierten ebenso wie die nicht C-methylierten Protoberberin-Alkaloide aus Reticulin.

According to the theory of *Manske*, the precursors of corydaline-type alkaloids are already C-methylated, before ring closure to the benzylisoquinoline skeleton takes place. In contrast to this theory, we found that labelled reticuline (IV) is converted specifically into corydaline (I). Protoberberine-type alkaloids, which are methylated at C-13, are therefore derived like the non-methylated compounds from the same benzyltetrahydroisochinoline precursor.

Protoberberin-Alkaloide sind in der Natur weit verbreitet²). Sie können je nach Substitution am C-13 in zwei Gruppen eingeteilt werden. Corydalin (I) aus dem

*) Herrn Prof. Dr. O.-E. Schultz zum 60. Geburtstag in Dankbarkeit gewidmet.

¹) I. Mitt.: *Arch. Pharmaz.* 301, 432 (1968).

²) H.-G. Boit, *Ergebnisse der Alkaloidchemie bis 1960*, Akademie-Verlag, Berlin 1961, S. 330, 347.