

Sonderdruck aus

J U S T U S L I E B I G S A N N A L E N D E R C H E M I E

Liebigs Ann. Chem. 721, 154–162 (1969)

Alkaloide aus *Cynanchum vincetoxicum* (L.) Pers.

von Wolfgang Wiegrebe, Ludwig Faber, Hans Brockmann jr.,
Herbert Budzikiewicz und Uwe Krüger

Aus dem Institut für Pharmazeutische Technologie der Technischen Universität Braunschweig
und dem Institut für Molekulare Biologie, Biochemie und Biophysik, 3301 Stöckheim

Alkaloide aus *Cynanchum vincetoxicum* (L.) Pers.*)

von Wolfgang Wiegrefe, Ludwig Faber, Hans Brockmann jr.,
Herbert Budzikiewicz und Uwe Krüger

Aus dem Institut für Pharmazeutische Technologie der Technischen Universität Braunschweig
und dem Institut für Molekulare Biologie, Biochemie und Biophysik, 3301 Stöckheim

Eingegangen am 20. Mai 1968

Aus den oberirdischen Teilen von *Cynanchum vincetoxicum* (L.) Pers. (Asclepiadaceae) werden Tylophorin (1) und zwei weitere Alkaloide in kristalliner Form isoliert, für die die Strukturen 2,3,6-Trimethoxy- bzw. 6-Hydroxy-2,3-dimethoxy-9,11,12,13,13a,14-hexahydro-dibenzo[f,h]-pyrrolo[1,2-b]isoquinolin (2 und 10) bewiesen werden.

Alkaloids from Cynanchum vincetoxicum (L.) Pers.

From the aerial parts of *Cynanchum vincetoxicum* (L.) Pers. (Asclepiadaceae) tylophorine (1) is isolated; two further crystalline alkaloids possess the structural formulas 2,3,6-trimethoxy- and 6-hydroxy-2,3-dimethoxy-9,11,12,13,13a,14-hexahydro-dibenzo[f,h]pyrrolo[1,2-b]isoquinoline (2 and 10), respectively.

Cynanchum vincetoxicum (L.) Pers. (Asclepiadaceae) wurde früher als Heilpflanze gebraucht; es sind aber auch Vergiftungsfälle beschrieben, deren Symptome denen der Aconitin-Vergiftung ähneln¹⁾.

Die nichtbasischen Inhaltsstoffe vom Typ des Vincetoxins sind von Korte und Rippahn²⁾ untersucht worden.

Háznagy und Mitarbeiter³⁾ konnten aus getrockneten Wurzeln drei Alkaloide chromatographisch abtrennen, von denen eines kristallisierte (Schmp. 211–213°). Etwa gleichzeitig isolierten Pailer und Streicher⁴⁾ aus Radix vincetoxici zwei kristalline Alkaloide, von denen sie eines als Tylophorin (1) identifizierten, dessen Struktur von Govindachari und Mitarbeitern⁵⁾

* Herrn Prof. Dr. H. Brockmann zum 65. Geburtstag gewidmet.

1) O. Geßner, Die Gift- und Arzneipflanzen von Mitteleuropa, 2. Auflage, Universitätsverlag C. Winter, Heidelberg 1953.

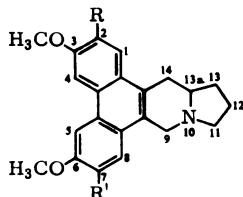
2) F. Korte und J. Rippahn, Liebigs Ann. Chem. 621, 58 (1959); siehe auch: R. Hegnauer, Chemotaxonomie der Pflanzen, Band 3, S. 199–223, Birkhäuser-Verlag, Basel 1964.

3) A. Háznagy, L. Tóth und K. Szendrei, Pharmazie 20, 649 (1965).

4) M. Pailer und W. Streicher, Mh. Chem. 96, 1094 (1965).

5) T.R. Govindachari, M. V. Lakshminarayana und S. Rajadurai, Tetrahedron [London] 14, 284 (1961).

durch Synthese gesichert ist. Für das zweite Alkaloid (Schmp. 208–210°) schlugen die Autoren aufgrund der Ähnlichkeit zum Tylophorin (**1**) in UV-Spektrum und massenspektroskopischem Fragmentierungsverhalten, des Abbaus zu *m*-Hemipinsäure und biogenetischer Überlegungen die Alternativformeln **2** bzw. **3** vor.



- 1:** R = R' = OCH₃
2: R = OCH₃; R' = H
3: R = H; R' = OCH₃

Wir untersuchten die oberirdischen Pflanzenteile, die u.W. noch nicht bearbeitet sind.

Isolierung der Alkaloide

Die während der Blüte und in der Zeit bis zur Samenreife (Juli – August) in der Pfalz und im Vorharzgebiet gesammelten oberirdischen Pflanzenteile wurden als Frischdroge und in getrocknetem Zustand verarbeitet. In allen Fällen fanden wir einen Rohbasengehalt von 0.10–0.17%, bezogen auf das Trockengewicht. Nach der Samenreife (Ende September) im Vorharzgebiet gesammeltes Pflanzenmaterial enthielt wesentlich geringere Mengen basischer Verbindungen. Der Zustand der verarbeiteten Pflanzen (Frisch- oder Trockendroge) war ohne Einfluß auf Menge und Zusammensetzung des Rohbasengemisches; die Zusammensetzung ist jedoch standortabhängig. Während die Pflanzen aus der Pfalz Alkaloid A und C (S. 160) zu etwa gleichen Teilen enthalten, überwiegt in den Pflanzen des Vorharzgebietes Alkaloid A. Alkaloid B fanden wir nur in Pflanzen, die aus der Pfalz stammten.

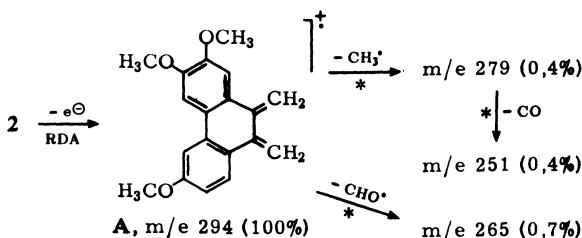
Das Pflanzenmaterial wurde mit heißem Methanol extrahiert; aus dem Extrakt ließ sich auf übliche Weise (vgl. S. 160) ein Rohbasengemisch gewinnen, aus dem durch Säulenchromatographie mit anschließender fraktionierter Kristallisation die Alkaloide A, B und C isoliert wurden.

Alkaloid A vom Schmp. 212–214°, $[\alpha]_D^{22} = -165 \pm 3^\circ$ (c = 1.92, in CHCl₃), ist mit den von *Háznagy* und Mitarbeitern³⁾ bzw. *Pailer* und *Streicher*⁴⁾ isolierten Basen (Schmp. 211–213° bzw. 208–210°) nach Schmp., Dünnschichtchromatogramm, UV- und Massenspektrum identisch⁶⁾, es ist jedoch *nicht* identisch (Schmp., Dünnschichtchromatogramm) mit Desoxytylophorin (3), dessen Struktur durch Synthese gesichert ist⁷⁾. Von den *Pailer*schen Vorschlägen⁴⁾ **2** und **3** ist daher die Struktur **2** (2,3,6-Trimethoxy-9,11,12,13,13a,14-hexahydro-dibenzo[*f,h*]pyrrolo[1,2-*b*]isoquinolin) für Alkaloid A wahrscheinlicher.

⁶⁾ Auf eine mögliche Identität mit Antofin — *T. F. Platonova, A. D. Kuzovkov* und *P. S. Massagetov*, [J. allg. Chem.] **28**, 3131 (1958) [C. A. **53**, 7506 d (1959)] — hat bereits *Pailer*⁴⁾ hingewiesen.

⁷⁾ *T. R. Govindachari, B. R. Pai, I. S. Ragade, S. Rajappa* und *N. Viswanathan*, Tetrahedron [London] **14**, 288 (1961).

Daß die Struktur 2 zutrifft, konnte wie folgt bewiesen werden: Das UV-Spektrum ist das eines Phenanthren-Derivats [λ_{max} (log ϵ) = 259 (4.71), 286 (4.46), 342 (2.99), 360 nm (2.61)]. Das Massenspektrum weist ein Molekül-Ion bei m/e = 363 (30%) auf; Bruchstückbildung im oberen Massenbereich ist kaum ausgeprägt ($M-1$, $M-15$, $M-17$ von geringer Intensität). Das Hauptfragment entsteht, wie bereits von Spitteler (vgl. Lit⁴⁾) beobachtet, durch den für Tetrahydroisochinoline typischen Retro-Diels-Alder-Zerfall (RDA⁸⁾) mit Ladungsstabilisierung am aromatischen Teil⁹⁾. Die RDA-Bruchstücke verlieren, wie bei Polymethoxyaromaten beobachtet¹⁰⁾, nacheinander CH_3^+ und CO .



Im *NMR-Spektrum*, gemessen in Dimethylsulfoxid-d₆, treten im Bereich aromatischer Protonenresonanzen zwei Singulette bei $\delta = 8.09$ (2 H) und 7.36 (1 H), ein Dublett bei 7.82 (1 H, $J = 9$ Hz) und ein Doppeldublett bei 7.24 ppm (1 H, $J_o = 9$ Hz, $J_m = 2.4$ Hz) auf.

Die Lage des Zweiprotonensingulets ist für die Wasserstoffe an C-4 und C-5 charakteristisch, die kleine *meta*-Kopplung mit H-7 ist nur als Signalverbreiterung zu erkennen. Für die Zuordnung der Resonanzen siehe Tab. 1.

Die Lage der Signale und die Kopplungskonstanten beweisen eindeutig das Substitutionsmuster des Phenanthren-Systems, lassen aber keine Entscheidung zwischen Formel 2 und 3 zu. Um diese herbeizuführen, sollte ein magnetisch stark anisotroper Substituent am Stickstoff oder besser noch an C-9 eingeführt werden, dessen Einfluß auf H-8 (für 2 Dublett bei $\delta = 7.82$ ppm, für 3 Singulett bei $\delta = 7.36$ ppm) Auskunft über die Anordnung der Methoxyl-Gruppen geben sollte.

Das Alkaloid A-Methojodid (**6**), u. a. charakterisiert durch sein Massenspektrum mit Peaks für **2** (Abspaltung von CH_3J) und $m/e = 377$ (Verlust von HJ^{11}), besaß ein wenig aufschlußreiches NMR-Spektrum (vgl. Tab. 1). Deshalb wurde eine Cyan-Gruppe in Position 9 eingeführt.

⁸⁾ Vgl. *M. Ohashi, J. M. Wilson, H. Budzikiewicz, M. Shamma, W. A. Slusarchyk und C. Djerassi*, J. Amer. chem. Soc. **85**, 2807 (1963).

⁹⁾ *H. Budzikiewicz, J. I. Brauman und C. Djerassi, Tetrahedron [London] 21, 1855 (1965).*

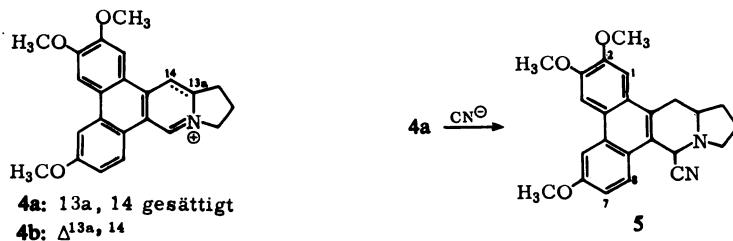
¹⁰) Siehe: *H. Budzikiewicz, C. Djerassi und D. H. Williams, Mass Spectrometry of Organic Compounds*, S. 237–247, Holden-Day, San Francisco 1967.

¹¹⁾ Lit.¹⁰⁾, S. 330–333.

Tabelle 1. NMR-Spektren der Verbindungen **2**, **5**, **6** und **10**, Tetramethylsilan als interner Standard; Angabe der chemischen Verschiebung in δ [ppm], relative Intensitäten und Form der Signale (s = Singulett, d = Dublett, dd = Doppeldublett) in Klammern

Protonen-Position	2 in DMSO-d ₆	5 in DMSO-d ₆	6 in DMSO-d ₆	2 in Pyridin-d ₅	10 in Pyridin-d ₅
C-1	7.36 (1s)	7.36 (1s)	7.36 (1s)	7.48 (1s)	7.47 (1s)
C-4	8.09 (1s)	8.09 (1s)	8.09 (1s)	8.29 (1s)	8.08 (1s)
C-5	8.09 (1d?)	8.10 (1d)	8.10 (1d)	8.29 (1d)	8.41 (1d)
C-7	7.24 (1dd)	7.30 (1dd)	7.27 (1dd)	7.37 (1dd)	7.50 (1dd)
C-8	7.82 (1d)	7.98 (1d)	7.78 (1d)	7.87 (1d)	7.88 (1d)
C-9	?	5.95 (1s)	5.21 (2, AB-Syst.)	?	?
OCH ₃	nicht gemessen	4.05 (3s) 4.02 (3s) 3.96 (3s)	4.06 (3s) 4.01 (3s) 3.99 (3s)	3.97 (3s) 3.94 (3s) 3.91 (3s)	3.92 (3s) 3.87 (3s) —
NCH ₃	—	—	2.94 (3s)	—	—

Dehydrierung von Alkaloid A mit Quecksilber(II)-acetat-Äthyldiamin-tetraessigsäure-Komplex in Essigsäure nach Knabe¹²⁾ lieferte ein Gemisch von Dehydrierungsprodukten. Der Verbrauch von 3.25 Äquivv. Reagenz zeigte, daß eine bzw. zwei Doppelbindungen eingeführt wurden. Das Immoniumsalz **4a** mit 3,4-Dihydro-isochinolinium-Partialstruktur konnte als Pseudocyanid **5** abgetrennt werden, das Immoniumsalz mit Isochinolinium-Struktur (**4b**) wurde als Perchlorat isoliert.



Das UV-Spektrum von **4a** weist gegenüber dem von **2** eine neue Bande bei 410 nm auf. Diese bathochrome Verschiebung ist für den Übergang eines *N*-alkylierten 1,2,3,4-Tetrahydro-isochinolins zu einem *N*-Alkyl-3,4-dihydro-isochinolinium-Salz charakteristisch¹³⁾. Das Massenspektrum von **5** ist durch die Einführung der Nitril-Funktion gegenüber dem von **2** vollkommen verändert: Das Molekül-Ion ($m/e = 388$) ist von sehr geringer Intensität (<0.1 %), und auch das RDA-Fragment ist ohne Bedeutung.

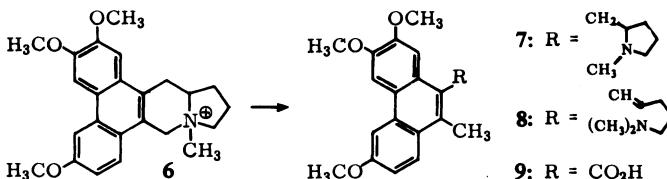
¹²⁾ Vgl. J. Knabe und H.-P. Herbort, Arch. Pharmaz. **300**, 774 (1967); dort weitere Literatur.

¹³⁾ Vgl. J. Knabe, Arch. Pharmaz. **292**, 422 (1959).

Wichtige Bruchstücke entstehen durch Verlust von HCN ($m/e = 361, 55\%$), gefolgt von H⁺, wahrscheinlich zu **4b** ($m/e = 360, 100\%$). Ein IR-spektroskopischer Nachweis der Nitrit-Gruppe in **5** mißlang, da sich die Substanz in KBr unter Gelbfärbung wahrscheinlich zu **4b** zersetzte. Mit Säure wird **5** erwartungsgemäß unter HCN-Abspaltung in **4a** rückgeführt, das sich mit Zink/Säure zu Alkaloid A reduzieren läßt. Die Tatsache, daß das Reduktionsprodukt die gleiche Drehung wie das natürliche Alkaloid A zeigt, schließt eine Dehydrierung zu einem 10.13a-Dehydro-Produkt aus.

Das NMR-Spektrum von **5** beweist eindeutig die Struktur **2** für Alkaloid A, denn wie aus Tabelle 1 hervorgeht, sind nur die Dubletts bei $\delta = 7.98$ und 7.30 ppm (H-8 und H-7) stärker nach niedrigem Feld verschoben als im Spektrum von Alkaloid A, während alle anderen aromatischen Protonen, besonders das Singulett bei $\delta = 7.36$ ppm (H-1), die gleiche chemische Verschiebung aufweisen wie die im Alkaloid A (in **3** sollte ein Einprotonensingulett, hier H-8, am stärksten und die zwei Dubletts, hier H-1 und H-2, am wenigstens entschirmt sein).

Der ursprünglich eingeschlagene Weg zur Sicherung von Struktur **2** für Alkaloid A, nämlich die Überführung des Methojodids **6** durch Emde- und Hofmann-Abbau zu **7** bzw. **8** sowie nachfolgende Ozonspaltung zu 2.3.6-Trimethoxy-9-methyl-phenanthren-10-carbonsäure (**9**) scheiterte bereits beim Emde-Abbau; neben **7** entstand nämlich auch dessen 9,10-Dihydro-Derivat als dünnenschichtchromatographisch nicht trennbares Mischkristallisat (NMR- und Massenspektrum), das sich auch durch nachfolgende Dehydrierung (Pd in Tetralin) in kein einheitliches Produkt überführen ließ.

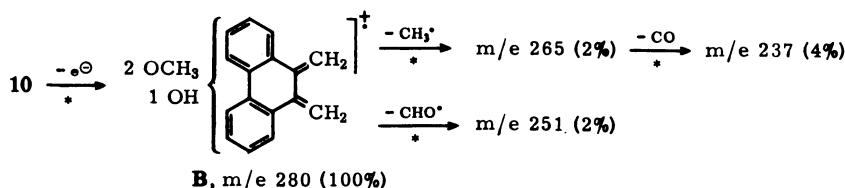


Alkaloid B ist nach Schmp. (275° , Zers.; Lit.⁴⁾ $270 - 272^\circ$, Zers.) sowie UV-⁴⁾ und Massenspektrum⁴⁾ mit Tylophorin (**1**) identisch. Für das isomere Tylocrebrin (Methoxyl-Gruppen in 2-, 3-, 5- und 6-Stellung) wird ein Schmp. von $218 - 220^\circ$ angegeben¹⁴⁾.

Alkaloid C vom Schmp. $226 - 228^\circ$, $[\alpha]_D^{25} = -125 \pm 6^\circ$ ($c = 1.05$ in Pyridin), zeigt ebenfalls das UV-Spektrum eines Phenanthren-Derivats [$\lambda_{\text{max}} (\log \epsilon) = 260$ (4.74), 287 (4.47), 344 (3.05), 362 nm (2.75)]. Das Massenspektrum ($m/e = 349, 23\%$; nach Austausch mit D₂O in der Ionenquelle $m/e = 350$) weist darauf hin, daß im Unterschied zu Alkaloid A (**2**) im RDA-Fragment **B** ($m/e = 280$, nach D₂O-Austausch

¹⁴⁾ E. Gellert, T. R. Govindachari, M. V. Lakshminarayana, I. S. Ragade, R. Rudzats und N. Viswanathan, J. chem. Soc. [London] 1962, 1008.

281, der weitere Zerfall erfolgt analog A) zwei Methoxyl- und eine Hydroxyl-Gruppe enthalten sind. Da Alkaloid C mit Sulfanilsäurediazoniumchlorid zu einem roten Azofarbstoff umgesetzt werden kann, ist die Hydroxyl-Gruppe phenolisch.



Alkaloid C kann durch Methylierung mit Diazomethan in Alkaloid A (**2**) übergeführt werden. Die Sauerstoff-Funktionen nehmen also in beiden Basen die gleichen Positionen ein. Die Stellung der OH-Gruppe lässt sich NMR-spektroskopisch nachweisen.

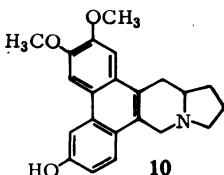
Da Alkaloid C in DMSO-d₆ nicht genügend löslich war, wurde das NMR-Spektrum dieser Verbindung und zum Vergleich auch das von Alkaloid A (**2**) in Pyridin-d₅ aufgenommen. Die von den Lösungsmittel-Absorptionen teilweise verdeckten Signale aromatischer Protonen konnten durch Zugabe von 40–65 Vol.-% Benzol-d₆ zur Meßlösung sichtbar gemacht werden, da durch Assoziat-Bildung die Absorptionen des Pyridins dann bei anderen Frequenzen auftreten¹⁵⁾.

Im NMR-Spektrum des Alkaloids C treten fünf Aromaten-Signale mit der relativen Intensität von jeweils 1 auf. Neben zwei Singulets bei δ = 7.47 und 8.08 ppm finden sich zwei Doublets (δ = 7.88 ppm, J = 9 Hz; δ = 8.41 ppm, J = 2.4 Hz) sowie ein Doppeldublett bei δ = 7.50 ppm. Die an diesem Doppeldublett auftretenden Kopplungskonstanten von 9.0 bzw. 2.4 Hz zeigen eine *ortho*-Kopplung zum Proton bei 7.88 und eine *meta*-Kopplung zum Proton bei 8.41 ppm an. Diese Kopplungen wurden durch Doppelresonanz-Messungen bestätigt.

Der große Unterschied in den Verschiebungen von H-4 und H-5 im NMR-Spektrum von Alkaloid C lässt erwarten, daß die phenolische Hydroxyl-Gruppe an C-6 gebunden ist, zumal die Lage des Signals H-1 bei **2** und Alkaloid C exakt gleich ist. Dafür spricht auch, daß die Signale für H-5 und H-7 bei **2** gegenüber Alkaloid C um 0.12 bzw. 0.13 ppm nach höheren Feldstärken verschoben sind, wie es für die *ortho*-Stellungen bei der Methylierung einer phenolischen Hydroxyl-Gruppe zu erwarten ist.

Den endgültigen Beweis dafür, daß die phenolische Hydroxyl-Gruppe an C-6 steht, brachte ein partieller Deuterium-Austausch. In *ortho*-Stellung zur Hydroxyl-Gruppe trat – allerdings nur an C-5 und nicht an C-7 – Deuterierung ein. Dieses Verhalten erklären wir mit der unterschiedlichen Nucleophilie dieser C-Atome. Im NMR-Spektrum des deuterierten Produktes war das Dublett bei 8.41 ppm fast verschwunden und das Doppeldublett bei 7.50 ppm wegen der fehlenden *meta*-Kopplung zu einem Dublett umgewandelt. Alkaloid C hat demnach die Struktur **10**.

¹⁵⁾ H. H. Perkampus und U. Krüger, Z. physik. Chem. [Frankfurt/M] **55**, 202 (1967).



Wir danken den Herren Prof. Dr. phil. Dr. med. h. c. *H. H. Inhoffen* und Prof. Dr. phil. *W. Awe* für die großzügige Unterstützung dieser Arbeit. Die Herren Dr. *A. Háznagy* (Szeged), Prof. Dr. *M. Pailer* (Wien) und Dr. *N. Viswanathan* (Bombay) haben uns Vergleichssubstanzen überlassen, für die wir ebenfalls verbindlich danken. Dem Land Niedersachsen sind wir für die Förderung dieser Arbeit durch Forschungsmittel sehr zu Dank verpflichtet.

Beschreibung der Versuche

Die *Schmelzpunkte* wurden mit einem Kofler-Heizmikroskop bestimmt und sind unkorrigiert. — Die *UV-Spektren* sind in Methanol mit einem Zeiss-Spektralphotometer PMQ II, die *NMR-Spektren* mit einem Varian-Kernresonanzspektrometer HA-100 und die *Massenspektren* mit einem doppelfokussierenden Gerät MS 9 der Fa. AEI, Manchester, aufgenommen worden. — Die *optischen Drehungen* wurden mit einem Zeiss-Kreispolarimeter (optische Ablesung) gemessen. — Zur *Säulenchromatographie* diente Kieselgel (Merck, 0.05–0.2 mm), zur *Dünnschichtchromatographie* (DC) Kieselgel GF₂₅₄ (Merck). Das Elutionsmittel bestand, wenn nicht anders angegeben, aus Methanol/Aceton/Benzol (5 : 30 : 65).

Extraktion der Alkaloide

a) *Aus Frischpflanzen.* — 23.5 kg grob zerkleinerte Pflanzen aus dem Vorharzgebiet wurden in 30 l Methanol im Turrax-Gerät zu einem dünnen Brei verarbeitet, der nach 24 Stdn. abgepreßt wurde. Der Preßrückstand wurde 24 Stdn. mit Methanol im Soxhlet-Apparat extrahiert, der erhaltene Extrakt mit dem Preßsaft vereinigt, i. Vak. vom Methanol befreit, mit verd. Salzsäure auf pH 2–3 eingestellt und nach 12 Stdn. bei 4° filtriert. Um nichtbasische Stoffe zu entfernen, schüttelte man das Filtrat 2 mal mit einem Viertel seines Vol. Äther aus; anschließend stellte man mit währ. Ammoniak den pH-Wert auf 9 und extrahierte 5 mal mit einem Drittel seines Vol. Äther. Nach Trocknen der Ätherphase über Na₂SO₄ wurde eingedampft. Ausbeute 10.52 g (0.043% des Frischgewichts = 0.17% des Trockengewichts) teilweise kristallines Rohbasengemisch.

b) *Aus Trockenpflanzen.* — 4 kg gemahlene Trockenpflanzen aus der Pfalz wurden mit Methanol 24 Stdn. im Soxhlet-Apparat extrahiert. Aus dem Extrakt, der in der gleichen Weise wie der der Frischpflanze aufgearbeitet wurde, konnten 5.2 g (0.13% des Trockengewichts) Rohbasen gewonnen werden.

Isolierung der Basen: Durch Kristallisation aus Methanol konnten aus den Rohbasen kristalline Produkte erhalten werden. Das aus der Frischdroge gewonnene Kristallisat (1.33 g) bestand, wie DC ergab, hauptsächlich aus *Alkaloid A*, das nur durch geringe Mengen der *Alkalioide B* und *C* verunreinigt war. 600 mg dieser Substanz wurden an 90 g *Kieselgel* (Säule von 2 cm Ø) chromatographiert. Sobald im Eluat Substanzen auftraten, die im langwelligen

UV-Licht fluoreszierten, wurden 20-ccm-Fraktionen aufgefangen. Die Fraktionen 3—9 lieferten nach Eindampfen und Kristallisation aus Äthanol 120 mg reines *Alkaloid A*^{3,4)} (2) vom Schmp. 212—214°. — *UV-Spektrum*: $\lambda_{\max} (\log \epsilon) = 360 (2.61), 342 (2.99), 286 (4.46), 259$ nm (4.71). — $[\alpha]_D^{25} = -165 \pm 3^\circ$ ($c = 1.9$, Chloroform). Aus den Fraktionen 10—30 wurden weitere 315 mg 2 (Schmp. 212—214°) gewonnen.



Die Identität von 2 mit den Präparaten von *Háznagy* und Mitarbeitern³⁾ sowie *Pailer* und *Streicher*⁴⁾ wurde durch Misch-Schmp., gleiche R_f -Werte im DC sowie deckungsgleiche UV- und Massenspektren bewiesen. Desoxytylophorinin (3)⁷⁾, Schmp. 248° (Lit.⁷⁾ 252—254°), war von 2 auch im R_f -Wert (DC) verschieden.

Das kristalline Produkt (1.07 g) aus der Trockendroge enthielt gemäß DC neben dem *Hauptalkaloid A* einen beträchtlichen Anteil von *Alkaloid C* sowie eine kleinere Menge von *Alkaloid B*. Dieses Basengemisch wurde entsprechend (s. o.) an 220 g *Kieselgel* (Säule von 2.5 cm Ø) chromatographiert. Aus den Fraktionen (je 18 ccm) 19—40 erhielt man nach Eindampfen und Kristallisation aus Äthanol 470 mg *Alkaloid A* (2). Die Fraktionen 50—64 enthielten 5 mg Gemisch der Alkaloide A, B und C, während aus den Fraktionen 65—127 44 mg leicht verunreinigtes *Alkaloid C* (10) erhalten wurden.

Alkaloid B (1). — Das Gemisch der Fraktionen 50—64 wurde nochmals an 30 g *Kieselgel* (Säule von 0.9 cm Ø) chromatographiert. Eindampfen der mittleren Fraktionen und Kristallisation aus Äthanol lieferte 1 mg 1 vom Schmp. 275°. — *UV-Spektrum*: $\lambda_{\max} (\log \epsilon) = 357$ (3.40), 340 (3.52), 288 (4.47), 258 nm (4.77).



Rechromatographie der Inhaltsstoffe von Fraktion 65—127 (44 mg) an *Kieselgel* ergab nach Kristallisation aus Äthanol reines *Alkaloid C* (10) vom Schmp. 226—228°. — $[\alpha]_D^{25} = -125 \pm 6^\circ$ ($c = 1.05$, Pyridin). — *UV-Spektrum*: $\lambda_{\max} (\log \epsilon) = 362 (2.75), 344 (3.05), 287 (4.47), 260$ nm (4.74).



Die nicht kristallisierbaren Anteile der Rohbasen sowie alle bisher angefallenen Mutterlaugen wurden vereinigt. Daraus konnten neben Spuren Dragendorff-positiver Substanzen durch Säulenchromatographie an *Kieselgel* noch 580 mg 2 und 125 mg 10 erhalten werden.

Alkaloid A-Methojodid (6). — 100 mg 2 in 3 ccm Chloroform wurden mit 3 ccm *Methyljodid* versetzt; nach 24 Stdn. wurde der ausgefallene weiße Niederschlag abfiltriert. Farblose Nadeln vom Schmp. 206° (Zers.; aus absol. Äthanol).



Ende-Abbau: 90 mg 6 in 5 ccm Wasser und 5 ccm Äthanol wurden mit AgCl (aus 0.5 g AgNO₃, frisch gefällt) 2 Stdn. auf 100° erhitzt. Nach Abfiltrieren des ungelösten Silberhalogenids engte man die klare Lösung auf 5 ccm ein und versetzte sie bei 90° innerhalb 5 Stdn. portionsweise mit 5 g *Natriumm amalgam* (5 proz.). Nach Beendigung der Reaktion wurde die abgekühlte Lösung mit Äther extrahiert, der Ätherextrakt über Na₂SO₄ getrocknet und eingedampft. Der Rückstand kristallisierte aus Äthanol (15 mg), Schmp. 157°, war aber gemäß Massenspektrum ein *Gemisch aus 7* und dessen *9,10-Dihydro-Derivat*, das durch die hier verwendeten chromatographischen Systeme nicht getrennt werden konnte.

Dehydrierung von 2¹³⁾. — Zu einer Lösung von 175 mg Quecksilber(II)-acetat und 225 mg Äthylendiamin-tetraessigsäure in 3 ccm 1.5 proz. Essigsäure gab man eine Lösung von 100 mg 2 in 3 ccm 1.5 proz. Essigsäure und 2 Tropfen 1 n HCl. Dann wurde unter Stickstoff 2 Stdn. auf 100° erhitzt, mit 5 Tropfen 2 n HCl versetzt und mit Schwefelwasserstoff gesättigt. Nach Erkalten wurde ausgefallene Äthylendiamin-tetraessigsäure und Quecksilbersulfid abfiltriert, mit Na₂CO₃ schwach alkalisiert und evtl. noch vorhandenes tertiäres Ausgangsmaterial ausgeäthert. Beim Versetzen der alkalischen wäßr. Lösung mit einer konz. Kaliumcyanid-Lösung flockte 5 aus und wurde mit Äther extrahiert. Einengen der Ätherlösung lieferte 5 als amorphen, weißen Niederschlag (6 mg), Schmp. 176°.



Anschließend wurde die intensiv gelbe wäßr. Phase mit Salzsäure angesäuert, zur Vertreibung von Blausäure kurz aufgekocht und 4b mit 3 ccm gesätt. Quecksilber(II)-chlorid-Lösung gefällt. Den Niederschlag suspendierte man nach Abfiltrieren in Methanol und sättigte nach Zugabe von 10 Tropfen konz. Salzsäure mit Schwefelwasserstoff. Nach Abfiltrieren von Quecksilbersulfid wurde das gelbe Filtrat heiß in eine heiße methanol. Natriumperchlorat-Lösung gegossen, wobei 4b als Perchlorat¹⁶⁾ ausfiel; nach Umkristallisieren aus Methanol 28 mg, ab 300° Verkohlung.

Reduktion von 5 zu (-)-Alkaloid A (2). — 3.5 mg 5 wurden in 2 ccm eines Säuregemisches aus 18 ccm 5 proz. Schwefelsäure, 9 ccm Eisessig und 1.5 ccm Ameisensäure gelöst und mit Zinkstaub gekocht. Nach 5 Stdn. war das Gemisch farblos; es wurde filtriert, ammoniakalisiert und ausgeäthert. Der nach Trocknen der Ätherlösung über Na₂SO₄ und Eindampfen erhaltene Rückstand gab in Chloroform eine eindeutige Linksdrehung. Verdampfen des Chloroforms und Kristallisieren aus Äthanol lieferte 2 vom Schmp. 208–210°.

Methylierung von Alkaloid C (10) zu 2. — Zu 15 mg 10 in 15 ccm Methanol wurden 20 ccm einer äther. Diazomethan-Lösung (aus 2 g Nitrosomethylharnstoff) gegeben. Nach 20 Stdn. wurde eingedampft, in Methanol aufgenommen und an Kieselgel (0.8×5 cm) chromatographiert. Das Eluat der Hauptzone lieferte nach Eindampfen und Kristallisieren aus Äthanol 2 vom Schmp. 211–213°. Identifizierung durch Mischprobe, DC, NMR- und Massenspektrum.

Alkaloid C-5-d¹⁷⁾. — 35 mg 10, 5 mg Triäthylamin, 0.525 ccm Dimethylformamid und 0.175 ccm Deuteriumoxid wurden im Stickstoff-gefüllten Bombenrohr 46 Stdn. auf 110° erhitzt. Aus dem honigfarbenen Gemisch schieden sich beim Erkalten Kristalle ab, die abfiltriert, mit wenig Deuteriumoxid gewaschen und aus Äthanol umkristallisiert wurden. Ausbeute 6.7 mg vom Schmp. 224–226° (NMR-Messung, S. 159).

16) Zu dieser Verbindung s. W. Wiegrefe und L. Faber, in Vorbereitung.

17) D. J. Bennet und G. W. Kirby, J. chem. Soc. [London] C 1968, 445.