

Studien über die Alkaloide der Papaveraceen. XXXIII.¹⁾ Die Alkaloide von *Corydalis incisa* (12) Die Struktur des Corynolamins

NARAO TAKAO und KINUKO IWASA

Pharmazeutische Hochschule für Frauen, Kobe²⁾

(Received June 14, 1979)

Die Struktur des Corynolamins (1), eines neuen Alkaloids des Hydrobenzo[*c*]-phenanthridin-Typs aus *Corydalis incisa*, wurde durch Korrelation zum strukturell bekannten Corynolin (6) als 6-Hydroxymethylcorynolin aufgeklärt. Dabei wurde auch die Stereochemie am Zentrum 6 erörtert.

Keywords—*Corydalis incisa*; Corynolamin; Hydrobenzo[*c*]phenanthridin; 6-Methylcorynolin; Relative Sterische Konfiguration

Früher haben wir über die Isolierung und Strukturaufklärung der folgenden nichtphenolischen tert. Basen aus *Corydalis incisa* PERS berichtet: Corynolin,³⁾ Corynoloxin,⁴⁾ (+)-14-Epicorynolin⁵⁾ und Corydamin.⁶⁾ Aus dem rohen Extrakt, woraus die obigen Alkaloide, soweit wie möglich, abgetrennt worden waren, isolierten wir diesmal mit Hilfe des Multipufferlösungsverfahrens⁷⁾ ein neues Alkaloid, Corynolamin (1). Die vorliegende Arbeit beschäftigt sich mit dessen Strukturaufklärung.

Das Alkaloid 1 stellt sich als optisch inaktive farblose Prismen vom Schmp. 198—199° dar, und nach dem Analysenwert und Massenspektrum (MS) (M^+ : *m/e* 397) wurde ihm die Summenformel $C_{22}H_{23}NO_6$ zugeteilt. Das Kernresonanz(NMR)-Spektrum der freien Base (1) zeigt das Singulett einer tert. Methylgruppe, einer N-Methylgruppe sowie zweierlei Methylenedioxygruppen jeweils bei δ 1.11, 2.31 und 6.00. Im Bereich der aromatischen Protonen zeigt es weiter ein AB-Quartett ($J=8.5$ Hz) bei δ 6.89 und 7.01 und die Singulette je eines Protons bei δ 6.68 und 6.79. Somit ist das Spektrum sehr ähnlich wie das des Corynolins (6). Die Base 1 weist im Ultraviolett(UV)-Spektrum eine weitgehend gleiche Absorptionskurve wie 6 auf. Aus obigen Befunden wurde gefolgert, dass dem Corynolamin (1) das Hydrobenzo[*c*]-phenanthridin-Skelett zukommen sollte. Das Infrarot (IR)-Spektrum des Corynolamins (1) zeigt zwei Banden bei 3540 bzw. 3300 cm^{-1} , die beide auf das Vorhandensein von alkoholischen Hydroxylgruppen hinweisen. Die Bande bei 3300 cm^{-1} ist dabei einer sekundären Hydroxylgruppe zuzuschreiben, die wie beim Corynolin (6), mit einem Elektronenpaar des Stickstoffs gekoppelt ist. Im Einklang damit erscheint im NMR-Spektrum von 1 ein Signal bei δ 4.18, das von einem Proton an dem die sekundäre Hydroxylgruppe tragenden C-Atom herrührt. Die Bande bei 3450 cm^{-1} , die im Spektrum des Corynolins (6) nicht vorliegt, wurde einer primären Hydroxylgruppe zugeordnet, da 1 im MS die höchste Spitze bei 366 (M^+-31) aufweist, die durch Abspaltung von $-CH_2OH$ aus dem Molekülion resultiert. Corynolamin (1) liefert das Diacetat (2) vom Schmp. 191—192°. Es zeigt im IR-Spektrum eine breite Carbonylbande bei 1730 cm^{-1} und im NMR-Spektrum Signale von zwei Acetylgruppen bei δ 1.74 und 2.11, sowie das Signal des Protons an dem die sek. Acetoxygruppe

1) XXXII. Mitteil.: C. Tani, N. Nagakura und C. Kuriyama, *Yakugaku Zasshi*, **98** 1658 (1978).

2) Anschrift: *Motoyamakitamachi, Higashinada-ku, 658 Kobe, Japan*.

3) N. Takao, *Chem. Pharm. Bull.* (Tokyo), **11**, 1306 (1963).

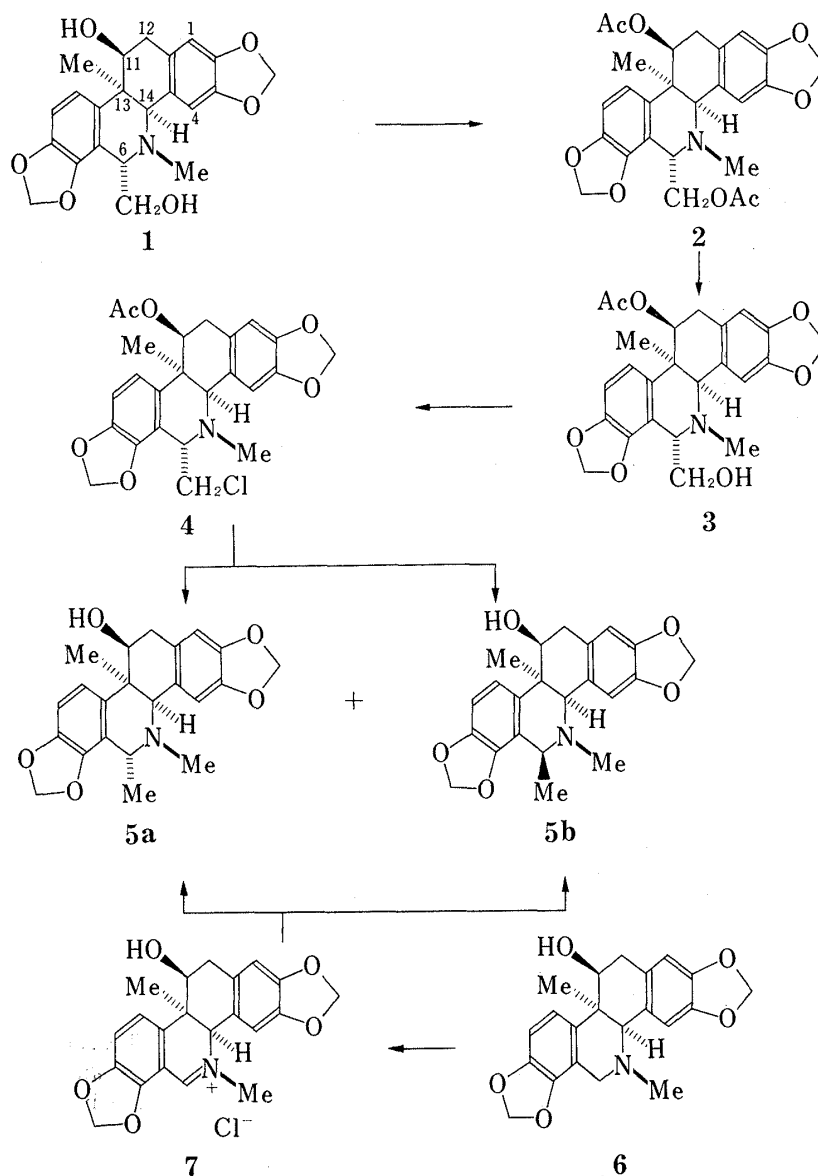
4) N. Takao, *Chem. Pharm. Bull.* (Tokyo), **19**, 247 (1971).

5) N. Takao, H.-W. Bersch und S. Takao, *Chem. Pharm. Bull.* (Tokyo), **21**, 1096 (1973).

6) N. Takao und K. Iwasa, *Chem. Pharm. Bull.* (Tokyo), **21**, 1587 (1973).

7) Y. Watanabe und M. Uchiyama, *Yakugaku Zasshi*, **78**, 96 (1958).

tragenden C-Atom bei δ 4.76. **2** zeigt weiter im MS die Spitze des Molekülions (M^+ , m/e 481), die der Zusammensetzung des Diacetats $C_{26}H_{27}NO_8$ entspricht, und die höchste Spitze bei m/e 408, die durch Abspaltung von $-CH_2OCOCH_3$ aus dem Molekülion entsteht. Aus den obigen Befunden ergibt sich, dass Corynolamin (**1**) nebst der sek. Hydroxylgruppe noch eine primäre Hydroxylgruppe besitzt.

Schema⁸⁾

Das Diacetat (**2**) liefert durch partielle Hydrolyse mittels Alumina⁹⁾ ein Monoacetat (**3**), $C_{24}H_{25}NO_7$, vom Schmp. 248—252°, welches durch Hydrolyse des Acetats des prim. Alkohols entstanden ist. Das IR-Spektrum von **3** zeigt erwartungsgemäss eine Acetylcarbonylbande bei 1738 cm^{-1} und eine einzige OH-Bande bei 3550 cm^{-1} , die aus einer prim. Hydroxylgruppe herrührt. Die Hydroxylmethylgruppe muss am C-6 liegen, da im NMR-Spektrum von **1**, **2** und **3** das dem Corynolin (**6**) charakteristische, den Methylenprotonen am C-6 zuzuordnende Signal fehlt. Somit wurde gefolgert, dass Corynolamin wohl die Struktur **1** besitzen dürfte.

8) Da es sich bei Corynolamin (**1**) und Corynolin (**6**) um Racemat handelt, zeigen alle sterischen Strukturen im Schema nicht die absoluten Strukturen, sondern die relativen Konfiguration.

9) W.F. Johns und D.M. Ternia, *J. Org. Chem.*, 28, 2922 (1963).

Für die Beweisführung dieser Struktur (1) auf chemischem Weg haben wir weiter folgende Experimente vorgenommen: Durch Reaktion von Corynoxin-chlorid (7),⁴⁾ das sich aus Corynolin (6) leicht ableiten lässt, mit Methylmagnesiumjodid wurde die Methylgruppe an die Stellung 6 von 7 eingeführt. Das Reaktionsprodukt wurde durch Chromatographie an Alumina in die zwei Basen (5a) und (5b) abgetrennt. Die Base 5a stellt farblose Prismen, C₂₂H₂₃NO₃, vom Schmp. 241—242° dar; die andere Base 5b bildet ebenfalls farblose Prismen vom Schmp. 239—240°. Wie nachher erwähnt wird, handelt es sich bei den beiden Basen um die sterischen Isomeren des 6-Methylcorynolins. Für die Korrelation dieser Basen zu Corynolamin (1) wurde nun die Reduktion der Hydroxymethylgruppe in die Methylgruppe vorgenommen. So wurde das Corynolamin-monoacetat (3) durch Einwirkung von Pyridin und Thionylchlorid in Chlorid (4) übergeführt. Das Produkt (4) wurde der katalytischen Hydrierung über PtO₂ und der darauf folgenden Hydrolyse unterworfen. Das so erhaltene Produkt wurde durch Chromatographie an Alumina in die zwei Basen abgetrennt, die sich schliesslich jeweils mit den Basen 5a und 5b identifizieren liessen. Somit wurde eindeutig bewiesen, dass es sich bei Corynolamin (1) um ein 6-Hydroxymethylcorynolin handelt.

Nun kommen wir auf die Stereochemie am Zentrum 6 von 5a, 5b und fernerhin die von 1 zu sprechen. Man beobachtet im NMR-Spektrum der Base 5a das Signal des Protons am C-6 bei δ 3.68, im Spektrum der Base 5b dagegen das entsprechende Signal bei δ 4.26. Nach der Literaturangabe¹⁰⁾ erscheint das Signal des axialen Protons am C-6 der Alkaloide dieses Typs, das sich zum einsamen Elektronenpaar des Stickstoffatoms in anticoplaner Stellung befindet, in höherem Feld als das des entsprechenden äquatorialen Protons. Daher ergibt sich aus den obigen NMR-Befunden, dass die Methylgruppe der Base 5a eine quasiaxiale, die der Base 5b dagegen eine quasiäquatoriale Stellung einnimmt. Die Erscheinung des Signals des Protons am C-6 von Corynolamin (1) bei δ 4.18 legt somit weiter die Vermutung nahe, dass die Hydroxymethylgruppe an der Position 6 von Corynolamin (1) eine quasiaxiale Stellung einnimmt. Diese Schlussfolgerungen erfahren Bestätigung auch durch die IR-Spektren der obigen Basen. Base 5a weist im IR-Spektrum (CHCl₃) eine deutliche Bohlmann-Bande bei 2780 cm⁻¹ auf, was auf eine quasiäquatoriale Stellung der Methylgruppe hinweist. Base 5b bzw. Corynolamin (1) zeigt dagegen eine ganz schwache Bande, was eine quasiaxiale Stellung des Substituenten am C-6 bedeutet.

Auf Grund der obigen Ergebnisse wurde die relative Konfiguration des Corynolamins (1) endgültig aufgeklärt.

Experimentelles¹¹⁾

Isolierung und Eigenschaften des Corynolamins (1)—Der aus 18.6 kg (Trockengewicht) des ganzen Krauts von *Corydalis incisa* bereitete MeOH-Auszug wurde in üblicher Weise aufgearbeitet. Die dabei erhaltene CHCl₃-Lösung des nichthenolischen tert. Basen-Gemisches, woraus die bekannten Basen, soweit wie möglich, abgetrennt wurden, wurde der Reihe nach mit den Pufferlösungen von pH 7.0, pH 3.4 sowie pH 2.2 und schliesslich mit verd. Salzsäure ausgeschüttelt. Der Rückstand aus der Lösung von pH 3.4 wurde an einer Silicagel-säule chromatographiert, wobei Benzol-Äther (1:1), MeOH und verd. HCl der Reihe nach als Elutionsmittel dienten. Der mit Benzol-Äther eluierte Anteil lieferte Corynolin und Corynoxin. Der mit MeOH eluierte Anteil lieferte ein Gemisch aus Protopin, Corycavin und Corynolamin (1). Schliesslich wurde Corydamin mit verd. HCl eluiert. Das obige Gemisch aus drei Basen wurde nochmals an einer Silicagelsäule mit MeOH chromatographiert, wobei Corynolamin, Corycavin und Protopin der Reihe nach eluiert wurden. Corynolamin (1) wurde aus CHCl₃-MeOH als farblose Prismen vom Schmp. 198—199°, $[\alpha]_D^{20}=0$, auskristallisiert. Die Ausbeute betrug 0.46 g. 1; C₂₂H₂₃NO₆ Ber. C 66.49 H 5.83 Gef. C 66.20 H 5.92; UV $\lambda_{\max}^{\text{MeOH}}$ (log ϵ): 288 (3.24), 237 (3.25); IR $\nu_{\max}^{\text{Nujol}}$ cm⁻¹: 3540 (—CH₂OH), 3330 (>CHOH); NMR (CDCl₃) δ : 1.11 (3H, s, C—CH₃), 2.31 (3H, s, N—CH₃), 6.0 (4H, m, 2 × —OCH₂O—); MS m/e 397 (M⁺), 366 (M⁺—CH₂OH, höchste Spitze)

10) C.K. Yu, D.B. Mac Lean, R.G.A. Radigo und R.H.F. Manske, *Can. J. Chem.*, **48**, 3675 (1970).

11) Alle Schmelzpunkte sind nicht korrigiert. Die NMR-Spektren wurden auf einem NEVA-NV-21 Spektrometer in CDCl₃-Lösung mit Tetramethylsilan als internem Standard aufgenommen. Die Massenspektren wurden mit Massenspektrometer, Jeolco JMS-OISG-2 aufgenommen.

Acetylierung des Corynolamins (1) zu Corynolamin-Diacetat (2)—100 mg Corynolamin (1) wurden in einem Gemisch von 0.5 ml Ac₂O und 0.5 ml Pyridin gelöst, über Nacht stehengelassen und danach in Eiswasser gegeben. Die ausgeschiedene Masse (2) lieferte durch Umkristallisation aus einem Gemisch von MeOH und Aceton 75 mg farblose Nadeln vom Schmp. 191—192°. 2; C₂₆H₂₇NO₈ Ber. C 64.84 H 5.65 Gef. C 65.29 H 5.85; IR $\gamma_{\max}^{\text{Nujol}}$ cm⁻¹: 1730 (C=O); NMR (CDCl₃) δ : 2.11 (3H, s, -OCH₂OCOCH₃), 1.74 (3H, s, >CHOCOCH₃); MS *m/e*: 481 (M⁺), 408 (M⁺- -CH₂OCOCH₃)

Partielle Hydrolyse des Corynolamin-Diacetats (2) in Corynolamin-Monoacetat (3)—0.33 g Corynolamin-Diacetat (2) wurden in ca. 60 ml Benzol gelöst, unter Zusatz von 30 g Al₂O₃ bei Raumtemperatur 76 Stunden lang geschüttelt und danach mit 100 ml MeOH versetzt. Das Reaktionsgemisch wurde mit einem Gemisch von CHCl₃ und MeOH (1:1) extrahiert und im Vak. abgedampft. Der dabei zurückgebliebene Rückstand lieferte durch Umkristallisation aus CHCl₃ und MeOH 0.19 g farblose Prismen vom Schmp. 248—249°. 3; C₂₄H₂₅NO₇ Ber. C 65.59 H 5.73 Gef. C 65.28 H 5.73; IR $\gamma_{\max}^{\text{Nujol}}$ cm⁻¹: 3550 (-CH₂OH), 1730 (C=O); NMR (CDCl₃) δ 1.72 (3H, s, >CHOCOCH₃)

Herstellung der beiden 6-Methylcorynolin-isomeren (5a) und (5b) durch Grignard-Reaktion des Corynoxin-chlorids (7)—1 g Corynoxin-chlorid (7), das 6 Stunden lang im Vak. bei 80° getrocknet worden war, wurde zu der aus 0.36 g Magnesium und 2.2 ml Methyljodid bereiteten Grignardreagenzlösung hinzugegeben. Das Reaktionsgemisch wurde eine Stunde lang unter Rückfluß und kräftiger Umrührung erhitzt, und der Reihe nach mit einer kleinen Menge Wasser sowie verd. HCl versetzt. Der dabei abgeschiedene kristalline Niederschlag wurde in MeOH gelöst, mit NH₄OH alkalisch gemacht und mit Äther ausgeschüttelt. Die Äther-Phase wurde mit NaCl-Wasser mehrmals gewaschen, über K₂CO₃ getrocknet und abgedampft, wobei ein kristalliner Rückstand (0.39 g) zurückblieb. Dieser wurde dann an einer Al₂O₃-Säule mit Benzol chromatographiert. Dabei wurde zuerst die Base 5a und danach Base 5b eluiert. Durch Umkristallisation der Base 5a aus CHCl₃ und MeOH erhielt man 0.15 g farblose Prismen vom Schmp. 241—242°.

Base 5a; C₂₂H₂₃NO₅ Ber. C 69.27 H 6.08 N 3.67 Gef. C 69.13 H 6.15 N 3.53 NMR (CDCl₃) δ : 4.26 (1H, q(J=6.5), C(6)-H), 1.40 (3H, d(J=6.5), C(6)-CH₃) Durch Umkristallisation der Base 5b aus CHCl₃ und MeOH erhielt man weiter 0.24 g farblose Prismen vom Schmp. 239—240°.

Base 5b; C₂₂H₂₃NO₅ Ber. C 69.27 H 6.08 N 3.67 Gef. C 69.60 H 6.19 N 3.51 NMR (CDCl₃) δ : 3.68 (1H, q(J=6.2), C(6)-H), 1.58 (3H, d(J=6.2), C(6)-CH₃) Die Mischprobe der Base 5a mit der Base 5b resultierte in einer starken Depression.

Überführung des Corynolamin-Monoacetats (3) in die beiden 6-Methylcorynolin-isomeren (5a und 5b)—

i) Herstellung des Chlorderivates (4) durch Chlorierung von Corynolamin-Monoacetat (3): 0.21 g Corynolamin-Monoacetat (3) wurden in 10 ml absol. Benzol gelöst und mit Pyridin und Thionylchlorid versetzt. Das Reaktionsgemisch wurde unter Rückfluß bis zum Verschwinden des Ausgangsmaterials (Kontrolle durch DC) erhitzt (3.5 Stunden). Nach dem Erkalten wurde das Gemisch mit Benzol versetzt, mit 5%iger NaHCO₃-Lösung geschüttelt und die Benzol-Phase abgetrennt. Die wäßrige Schicht wurde weiter mehrmals mit Benzol geschüttelt. Die vereinigten Benzol-Phasen wurden über K₂CO₃ getrocknet und abgedampft, wobei ein kristalliner Rückstand vom Schmp. 120—130° verblieb. Das schwer zu reinigende Produkt, das eine positive Beilstein-Reaktion zeigte, wurde ohne weiteres der nächsten Reaktion unterworfen.

ii) Herstellung der beiden 6-Methylcorynolinisomeren (5a und 5b) durch katalytische Hydrierung des Chlorderivates (4): 0.14 g Chlorderivat (4) wurden in 8 ml Essigsäureanhydrid gelöst und in einem Skittelschüttelapparat mit PtO₂ unter 3 Atm. Druck bei Raumtemp. 33 Stunden lang geschüttelt. Nachdem der Druck bei weiterem Schütteln konstant blieb (5 Stunden), wurde das Reaktionsgemisch in Eiswasser gegeben, mit NH₄OH alkalisch gemacht und mit Äther und CHCl₃ ausgeschüttelt. Die vereinigte organische Phase wurde über K₂CO₃ getrocknet und abgedampft, wobei ein öliges Rückstand verblieb. Dieser wurde in Benzol gelöst und an einer Silicagel-Säule chromatographiert. Dabei wurde zuerst Ausgangsmaterial (4) eluiert und dann das Gemisch der Reduktionsprodukte. Da das Gemisch nicht kristallin erhalten werden konnte, wurde es in 4 ml MeOH gelöst und zusammen mit 0.2 g KOH unter Rückfluß 2 Stunden lang erhitzt. Nach dem Erkalten wurde das Reaktionsgemisch in der üblichen Weise aufgearbeitet. Das so erhaltene Hydrolysat wurde in Benzol gelöst und an einer Al₂O₃-Säule chromatographiert. Dabei wurde der Reihe nach die Base 5a, ein Gemisch der Base 5a und 5b und schliesslich die Base 5b eluiert. Durch Umkristallisation der Base 5a aus CHCl₃ und MeOH wurden 29 mg farblose Prismen vom Schmp. 235° erhalten. Diese wurden durch Mischprobe und Vergleich der IR-Spektren mit der anderweitig hergestellten Base 5a identifiziert. Durch Umkristallisation der Base 5b aus Äther wurden schliesslich 3.5 mg farblose Prismen vom Schmp. 230° erhalten. Diese wurden durch Mischprobe und Vergleich der IR-Spektren mit der anderweitig hergestellten Base 5b identifiziert.