

ISOLIERUNG UND IDENTIFIZIERUNG DER ALKALOIDE AUS

Corydalis sempervirens (L.) PERS. (*C. glauca* PURSCH)* **V. PREININGER^a, J. VESELÝ^a, O. GAŠIĆ^b, V. ŠIMÁNEK^a and L. DOLEJŠ^c^a Chemisches Institut, Medizinische Fakultät, Palacký Universität, Olomouc^b Chemisches Institut, Fakultät für Agrikultur, Universität in Novi Sad, Jugoslawien^c Institut für organische Chemie und Biochemie,

Tschechoslowakische Akademie der Wissenschaften, 166 10 Prag 6

Eingegangen am 19. Februar 1974

Prof. F. Šantavý zum 60. Geburtstag gewidmet.

Aus der Pflanzenart *Corydalis sempervirens* (L.) PERS. (*Papaveraceae*: Gattung *Corydalis* MED.) wurde ein Alkaloidgemisch (0,46%), aus welchem die Alkaloide (–)-Adlumin, Bicuculin, Capnoidin, Protopin, Oxysanguinarin und Coptisin isoliert wurden, erhalten. Daneben wurden zwei neue Alkaloide vom Narcein-Typus gefunden, u.zw. Adlumidicein (I), Adlumicein (III) und das Enollakton des Adlumidiceins (IV), deren Struktur auf Grund der PMR-, Massen- und IR-Spektren ermittelt wurde. Der festgestellte Zucker war Maltose. Es wurden weder Rhoeadin noch Papaverrubin-Alkaloide nachgewiesen.

Corydalis sempervirens (L.) PERS. ist eine Pflanze der Gattung *Corydalis* MED., Unterfamilie *Fumarioideae*, die zu der Familie *Papaveraceae*¹ gereiht wird. Hutchinson² betrachtet zwar die Unterfamilie *Fumarioideae* als eine deutlich unterschiedliche Gruppe und ordnet sie als eine selbständige Familie *Fumariaceae* ein, aber die biochemischen Merkmale der Pflanzen der Familie *Papaveraceae* und *Fumariaceae*, wie dies Manske³, der sich am meisten mit der Erforschung der Alkaloide der Pflanzen der Gattung *Corydalis* befaßt hat, hervorhebt, deuten auf deren enge Beziehung zueinander.

Manske fand^{4,5} in *C. sempervirens* außer der Fumarsäure die Alkaloide (–)-Adlumin, Capnoidin, Bicuculin, Protopin, Cryptopin, Bicucin (Bicuculin mit offenem Laktanring) und das Alkaloid F 20 (C₁₈H₂₃NO₅, Smp. 221°C). Im Rahmen einer systematischen Erforschung der Alkaloide der Pflanzen der Gattung *Papaver*, wandten wir jetzt unsere Aufmerksamkeit auch der Gattung *Corydalis* zu und begannen *C. sempervirens* mit Hilfe moderner chromatographischer Methoden zu studieren. Außer Protopin, Oxysanguinarin und Coptisin isolierten wir vor allem

* LXV Mitteilung in der Reihe Isolierung und Chemie der Alkaloide einiger Papaverarten; LXIV. Mitteilung: Tetrahedron Letters 1974, 2171.

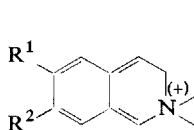
** Vorläufige Mitteilung siehe Phytochemistry 12, 2513 (1973).

die Alkaloide vom Phthalidisochinolin-Typus, u. zw. (–)-Adlumin, Bicuculin, Capnoidin. Wir fanden zwei neue Alkaloide vom Narcein-Typus, die wir Adlumidicein und Adlumicein benannten. In einer geringen Menge wurde auch ein Alkaloid, welchem wir die Struktur des Enollaktone des Adlumidiceins zuschrieben, isoliert. In keinem der Extrakte wurden Papaverrubin-Alkaloide, die für die Gattung *Papaver* charakteristisch sind, nachgewiesen⁶. Der darin befindliche Zucker war Maltose.

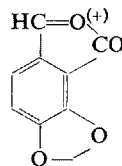
Die Struktur der Alkaloide Adlumidicein, Adlumicein und des Enollaktone des Adlumidiceins wurde auf Grund der PMR-, Massen- und IR-Spektren ermittelt⁷. Im PMR-Spektrum des Adlumidiceins (*I*) (in CD_3COOD) entspricht das Singulett bei δ 2,88 (6 H) der $\text{N}(\text{CH}_3)_2$ Gruppe, das Multipllett bei δ 2,8–3,5 (4 H) der $\text{Ar}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{N}$ Gruppierung, das breite Singulett bei δ 4,00 (2 H) der $\text{Ar}-\text{CH}_2-\text{CO}$ Gruppierung, die zwei Singulette bei δ 5,83 (2 H) und δ 6,03 (2 H) den zwei $\text{O}-\text{CH}_2-\text{O}$ Gruppen auf den Ringen A und D, die Singulette bei δ 6,57 (1 H), δ 6,70 (1 H) und die Dublette bei δ 6,88 (1 H) und δ 7,21 (1 H) den aromatischen Protonen am $\text{C}_{(5)}$, $\text{C}_{(8)}$, $\text{C}_{(5')}$ und $\text{C}_{(6')}$. Das IR-Spektrum zeigt eine Carbonylfrequenz der Carboxylgruppe bei 1691 cm^{-1} (Dimer) und Frequenzen aromatischer Doppelbindungen bei 1609 und 1585 cm^{-1} ; das Spektrum weist Analogie mit jenem des Narceins⁸ (*II*) auf. Das Massen-Spektrum des Adlumidiceins zeigt keinen Peak eines molekularen Ions. Der Peak von größter Masse 381,1211 entsteht aus einem ionisierten Molekül durch Wasserverlust und entspricht dem Enollaktone der Summenformel $\text{C}_{21}\text{H}_{19}\text{NO}_6$ (berechnet 381,1212). Im weiteren zeigt das Spektrum mit seinen Fragmenten von den Massen m/e 336 ($\text{C}_{19}\text{H}_{12}\text{O}_6$, $\text{M} - (\text{H}_2\text{O} + \text{NH}(\text{CH}_3)_2)$), 204 ($\text{C}_{12}\text{H}_{14}\text{NO}_2$, a : $\text{R}^1 + \text{R}^2 = \text{OCH}_2\text{O}$ Lit.⁹), 177 ($\text{C}_9\text{H}_5\text{O}_4$, b) und 58 ($\text{CH}_2 = \text{N}^{(+)}(\text{CH}_3)_2$) Analogie mit dem Massenspektrum des Narceins¹⁰ oder der Methine vom Stilben-Typus der Benzylisochinolinalkaloide⁹ auf.

Es ist uns nicht gelungen, Adlumicein (*III*) im reinen Zustand zu gewinnen sondern nur als Gemisch, welches sich auf Grund der PMR-Spektren als ein ungefähr equimolares Gemisch von Adlumidicein (*I*) und Adlumicein (*III*) erwies. Adlumicein (*III*) unterscheidet sich von Adlumidicein (*I*) nur durch die Substitution am Ring A; statt der Methylendioxydgruppe in den Stellungen $\text{C}_{(6)}$, $\text{C}_{(7)}$ befinden sich hier zwei Methoxygruppen. Im PMR-Spektrum (CD_3COOD) waren die chemischen Verschiebungen der Signale, welche den $\text{N}(\text{CH}_3)_2$, $\text{Ar}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{N}$, $\text{Ar}-\text{CH}_2-\text{CO}$, $\text{O}-\text{CH}_2-\text{O}$ Gruppen (Ring D) und den aromatischen Protonen am $\text{C}_{(5')}$ und $\text{C}_{(6')}$ gehören, identisch mit den Verschiebungen dieser Gruppen im Spektrum der Verbindung *I*; die Singulette bei δ 3,66 (3 H) und δ 3,75 (3 H) entsprachen zwei Methoxygruppen am Ring A und die Singulette bei δ 6,60 (1 H) und δ 6,77 (1 H) den aromatischen Protonen am $\text{C}_{(5)}$ und $\text{C}_{(8)}$. Im Massenspektrum waren außer den Peaks, welche der Verbindung *I* gehören, analoge Peake der Verbindung *III* zu sehen: m/e 397,1526 ($\text{C}_{22}\text{H}_{23}\text{NO}_6$, berechnet 397,1526, $\text{M} - 18$), 352 ($\text{M} - (\text{H}_2\text{O} + \text{NH}(\text{CH}_3)_2)$) und 220 ($\text{C}_{13}\text{H}_{18}\text{NO}_2$, a : $\text{R}^1 = \text{R}^2 = \text{OCH}_3$). Die Fragmente von der Masse 177 ($\text{C}_9\text{H}_5\text{O}_4$, b) und 58 ($\text{CH}_2 = \text{N}^{(+)}(\text{CH}_3)_2$) waren für beide Verbindungen

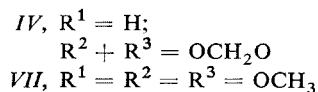
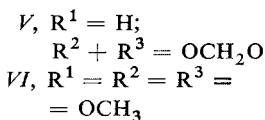
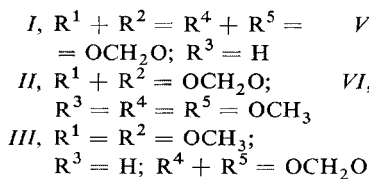
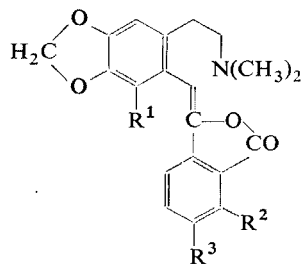
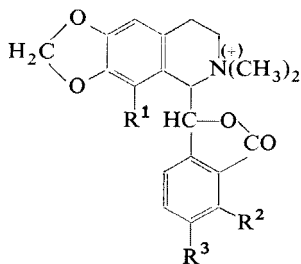
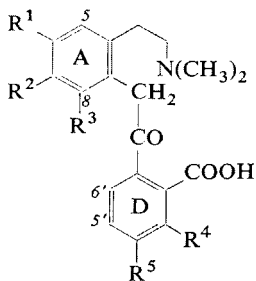
dieselben. Im UV-Spektrum der Verbindungen *I* und *III* entsprach die Stellung der langwelligsten Bande der Stellung dieser Bande bei der analog substituierten Benzol- oder Phthalsäure¹¹.



a



b



Außer den Alkaloiden Adlumidicein (*I*) und Adlumicein (*III*) fanden wir ein Alkaloid, dessen IR-Spektrum in KBr eine starke Bande bei 1785 cm^{-1} , die für die Carbonylfrequenz der fünfgliedrigen Lakton-Gruppierung¹² typisch ist, aufwies. Im PMR-Spektrum (CDCl_3) entspricht das Singulett bei δ 2,20 (6 H) der $\text{N}(\text{CH}_3)_2$ Gruppe und das Multipllett bei δ 2,6–3,0 (4 H) der $\text{Ar}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{N}$ Gruppierung. Die zwei Singulette bei δ 6,00 (2 H) und δ 6,20 (2 H) entsprechen den Methyleneoxydgruppen auf den Ringen A und D. Die Singulette bei δ 6,66 (1 H), δ 6,83 (2 H) und zwei Dublette bei δ 6,70 (1 H) und δ 6,93 (1 H) wurden vier aromatischen und einem olefinischen Proton zugeschrieben. Das Massenspektrum wies Analogie mit jenem des Adlumidiceins (*I*) auf. Auf Grund dieser Data wurde dem Alkaloid die Struktur des Enollaktone des Adlumidiceins (*IV*) zugeschrieben. Eine mit der Substanz *IV* identische Verbindung wurde durch Alkalisierung auf $\text{pH} \sim 12$ einer wäßrigen Lösung des Capnoidin-Methojodids (*V*) mit Natriumhydroxyd bereitet.

Von den Alkaloiden vom Narcein-Typus wurde in der Natur bisher nur Narcein¹³ gefunden. Es ist bekannt, daß Hofmanns Abbau des Narkotin-Methojodids (*VI*),

auf dem Wege über das Enollakton VII, Narcein liefert (Lit.¹⁴). Auf Grund des Auffindens des Enollaktone IV und der Ketosäuren I und III kann angenommen werden, daß in der Pflanze quartäre Phthalidisochinolin-Alkaloide vorhanden sind, die sehr leicht in die entsprechenden Enollaktone übergehen. Diese können dann in Ketosäuren vom Narcein-Typus übergehen.

Zusammenfassend kann gesagt werden, daß aus den Pflanzen *C. sempervirens*, die in der ČSSR gesammelt wurden, dieselben Hauptalkaloide ((-)-Adlumin, Capnoidin, Bicuculin und Protopin) isoliert wurden wie jene, die vor 35 Jahren von Manske^{4,5} aus denselben jedoch in Kanada gesammelten Pflanzen erhalten wurden. Manske fand überdies noch Kryptopin, Bicucin und das Alkaloid F 20 während wir noch die Alkaloide Oxysanguinarin, Coptisin, Adlumidicein, Adlumicein und das Enollakton des Adlumidiceins isolierten.

EXPERIMENTELLER TEIL

Die Schmelzpunkte wurden auf dem Kofler Block bestimmt und sind nicht korrigiert. Fehlergrenze bis zu 200°C etwa $\pm 2^\circ$. Für die Messungen wurden die Substanzen 1 Stunde lang bei 100°C/1 Torr getrocknet. Die optische Rotation wurde auf einem Polarimeter (Hilger), die ultravioletten Spektren wurden auf einem Unicam Gerät SP. 700 in 95% Äthanol, die IR-Spektren auf einem Infracan Gerät H-900 (Hilger) in Chloroform oder in KBr Tabletten und die PMR Spektren auf einem Varian T-60 Gerät in Deuteriochloroform oder in Deuterioessigsäure gemessen. Die chemischen Verschiebungen wurden in δ (p.p.m.) Einheiten zu Tetramethylsilan ($\delta = 0,00$) als interner Standarte angegeben. Die Massenspektren wurden auf einem AEI-MS 902 Gerät hergestellt. Über präparative Säulenchromatographie an Al_2O_3 siehe frühere Arbeiten^{15,16}. Die Dünnschichtchromatographie wurde auf einer Kieselgelschicht G (Merck) bei Verwendung der Systeme S_1 (Cyclohexan-Diäthylamin (90 : 10)), S_2 (Xylen-2-Butanon-Methanol-Diäthylamin (46 : 45 : 7 : 2)) und S_3 (Methanol-Diäthylamin (80 : 20)) durchgeführt. Die Alkaloide wurden mit Dragendorff-Reagens oder im UV-Licht (Protoberberin-Alkaloide) detektiert; die Detektion der Papaverrubine erfolgte mit Salzsäure und durch Erwärmen; die Papaverrubine erschienen als rote Flecke. Die chromatographische Trennung der Zucker erfolgte auf Papier Whatman Nr. 4 mit der aufsteigenden Methode im System n-Butanol-Essigsäure-Wasser (40 : 10 : 10); die Zucker wurden mit saurem Anilinphthalat detektiert.

Das Pflanzenmaterial wurde in Olomouc im Jahre 1970 aus Samen, die vom Hortus botanicus Universitatis Uppsala (Schweden), Botanische Tuinen, Utrecht (Holland) und vom Botanischen Garten, Essen (BRD), erhalten wurden, gezüchtet.

Isolierung

Die getrocknete gemahlene Droge (oberirdischer Teil) (1,16 kg) wurde allmählich mit insgesamt 25 l Methanol extrahiert, der Extrakt im Vakuum bei 36°C auf ein Volumen von 200 ml eingedickt, mit gleichem Teil 5% Essigsäure verdünnt und die ausgefallenen Ballastsubstanzen in Petroläther ausgeschüttelt. Der saure wäßrige Rückstand wurde mit Äther extrahiert, mit Natriumcarbonat auf pH ~ 8 alkalisch gemacht und mit Äther der Anteil A ausgeschüttelt. Der wäßrige Rückstand wurde mit Natronlauge auf pH ~ 12 alkalisiert und vorerst mit Äther der Anteil B und dann mit Chloroform der Anteil C ausgeschüttelt. Papierchromatographisch wurde im neutralen, wäßrigen Rückstand nach Extraktion der Alkaloide Maltose nachgewiesen.

Die Dünnschichtchromatographie des sauren Ätherextrakts ergab nur einen Dragendorff-positiven Fleck vom hR_F 13 (S_1). Nach Zugabe von Methanol kristallisierten direkt 20 mg eines Salzes (Acetat) des Alkaloids vom Smp. 206–208°C, hR_F 13 (S_1), 67 (S_2), das nach Überführung in eine Base einen Smp. 194–196°C (Äther) aufwies. Das Alkaloid wurde mit der IR-Spektroskopie als Bicuculin identifiziert.

Nach Auflösen des Anteiles *A* in 100 ml 5% Essigsäure wurde die Lösung filtriert, mit Ammoniak alkalisch gemacht und in Äther ausgeschüttelt; Ausbeute 5,3 g (0,46%) eines Alkaloidgemisches, aus welchem direkt Protopin (0,44 g) vom Smp. 205–207°C (Äthylacetat), hR_F 38 (S_1), 43 (S_2) kristallisierte. Die Mutterlaugen nach isoliertem Protopin wurden säulenchromatographisch an Al_2O_3 chromatographiert (90 g Al_2O_3 , 300 ml Lösungsmittel). Mit Äther-Petroläther (1 : 1) wurde (-)-Adlumin (0,28 g), Smp. 178–180°C (Äthylacetat) eluiert, $[\alpha]_D^{25} -42^\circ \pm 4^\circ$ (c 0,38 in Chloroform), hR_F 8 (S_1), 73 (S_2). Nur mit Äther wurde Bicuculin (0,05 g), Smp. 194–196°C (Äthylacetat), hR_F 13 (S_1), 67 (S_2) erhalten. Mit Äther-Chloroform (90 : 10) wurde Protopin eluiert (0,15 g), Smp. 205–207°C (Aceton, Äther). Mit einem Äther-Chloroform Gemisch (50 : 50) wurde Oxyanguinarin (Spuren) vom Smp. 360–362°C (Methanol) ausgewaschen, mit Chloroform-Methanol (98 : 2) das Enollakton des Adlumidiceins (*IV*) (0,01 g), Smp. 200–203°C (Methanol), mit Chloroform-Methanol (96 : 4–92 : 8) Adlumicein (*III*), bzw. ein kristallines Gemisch mit Adlumidicein (*I*) (0,02 g), Smp. 222–228°C (Methanol), hR_F 0 (S_1), 3 (S_2). Schließlich mit Chloroform-Methanol (84 : 16) ging Adlumidicein (*I*) (0,05 g) vom Smp. 244–246°C (Methanol) mit.

Der Anteil *B* wurde auf übliche Weise¹⁵⁻¹⁷ aufgearbeitet. Es wurden 0,01 g Coptisiniumchlorid vom hR_F 71 (S_3) gewonnen, dessen Identität IR-spektroskopisch bestätigt wurde.

Nach Zusatz von Methanol zum Anteil *C* (0,86 g) kristallisierten direkt 0,4 g Alkaloid vom Smp. 235–237°C, $[\alpha]_D^{25} -115^\circ \pm 3^\circ$ (c 0,96 in Chloroform), hR_F 13 (S_1), 83 (S_2), dessen UV- und IR-Spektren mit jenem des Phthalidisochinolin-Alkaloids Capnoidin identisch sind. Die Mutterlaugen wurden nach Abdestillieren von Methanol säulenchromatographisch an Al_2O_3 (25 g Al_2O_3 , 10 ml Lösungsmittel) getrennt. Nur mit Chloroform wurden in Spuren das bereits oben erwähnte Enollakton des Adlumidiceins (*IV*) und Adlumin eluiert.

Neu isolierte Alkaloide

Adlumidicein (I), Smp. 244–246°C (Methanol), $[\alpha]_D^{25} \pm 0^\circ$ (c 0,35 in Methanol), hR_F 0 (S_1), 3 (S_2). Farbreaktion mit konz. Schwefelsäure braun, das in violett übergeht. λ_{max} nm (log ϵ) 232 sh (4,14), 294 (3,87), 306 sh (3,75); λ_{max} (äthanolisches HCl) nm (log ϵ) 222 sh (4,21), 295 (3,73), 316 (3,74); λ_{max} (äthanolisches NaOH) nm (log ϵ) 230 (4,08), 289 (3,82), 307 sh (3,72).

Enollakton des Adlumidiceins (IV) Smp. 200–203°C (Äther), hR_F 14 (S_1), 33 (S_2). Farbreaktion mit konz. Schwefelsäure orange, das in braun-orange übergeht. λ_{max} nm (log ϵ) 224 (4,45), 238 sh (4,39), 306 (4,14), 388 (4,26).

Capnoidin-Methojodid (V). Capnoidin (60 mg) wurde unter Rückfluß in einem Acetonitril-Methyljodid (1 : 1) Gemisch 12 Stunden lang erhitzt. Nach Abdestillieren des Lösungsmittels wurde die Verbindung *V* vom Smp. 200–202°C (Methanol) in quantitativer Ausbeute erhalten. λ_{max} nm (log ϵ) 222 sh (4,42), 237 sh (3,93), 295 (3,68), 326 (3,68); IR (KBr) 1765 cm^{-1} (füngliedrige Laktongruppierung).

Enollakton des Capnoidins. Das Methojodid *V* (33 mg) wurde in 4 ml Wasser gelöst, mit 20% NaOH auf pH ~ 12 alkalisch gemacht und mit Äther (Ausbeute 8,5 mg) extrahiert. Es wurde eine Substanz vom Smp. 200–203°C (Äther), die auf Grund des IR- und des PMR-Spektrums mit dem Enollakton des Adlumidiceins (*IV*) identisch ist, erhalten.

Die Autoren danken Prof. Dr. F. Šantavý, Direktor des Chemischen Institutes, Medizinische Fakultät, Palacký Universität, für konstruktive Diskussion, Fräulein S. Hegerová für die Messung der UV- und IR-Spektren und Dr. B. Šula, Staatliches Museum, Olomouc, für die Identifizierung der Pflanzen.

LITERATUR

1. Melchior H. im Buche: *Syllabus der Pflanzenfamilien* (A. Engler, Ed.), 12. Auflage, Teil II, S. 179. Borntraeger, Berlin 1964.
2. Hutchinson J.: *Kew Bulletin* 97—115 (1921); zit. nach Lit.³.
3. Manske R. H. F.: *Ann. Rev. Biochem.* 13, 533 (1944).
4. Manske R. H. F.: *Can. J. Res.* 8, 407 (1933); *Chem. Zentr.* II, 551 (1933).
5. Manske R. H. F.: *Can. J. Res. B* 16, 81 (1938); *Chem. Zentr.* II, 324 (1938).
6. Šantavý F. im Buche: *The Alkaloids* (R. H. F. Manske, Red.), Bd. 12, S. 333. Academic Press, New York 1970.
7. Preininger V., Šimánek V., Dolejš L., Gašič O., Šantavý F.: *Phytochemistry* 12, 2513 (1973).
8. Holubek J., Štrouf O.: *Spectral Data and Physical Constants of Alkaloids*, Teil II/370. Czechoslovak Academy of Sciences, Prague 1966.
9. Dolejš L., Slavík J.: *Org. Mass Spectrometry* 7, 775 (1973).
10. Dolejš L., Preininger V.: Unveröffentlichte Ergebnisse.
11. Šantavý F., Hruban L., Šimánek V., Walterová D.: diese Zeitschrift 35, 2418 (1970).
12. Bellamy L. J.: *Advances in Infrared Group Frequencies*, S. 166. Methuen, London 1968.
13. Pelletier P. J.: *Ann. Chim. Phys.* 50, 240, 262 (1832).
14. Freund M., Frankforter G. B.: *Ann. Chem.* 277, 20 (1893).
15. Preininger V., Šantavý F.: *Pharmazie* 25, 356 (1970).
16. Preininger V., Tošnarová V., Šantavý F.: *Planta Med.* 20, 70 (1971).
17. Slavík J., Slavíková L.: diese Zeitschrift 26, 1839 (1961).

Übersetzt von I. Bartošová.