

22. Totalsynthese des neuen Leguminosen-Alkaloids Hystrin¹⁾

16. Mitteilung über Leguminosen-Alkaloide²⁾

von E. Steinegger und P. Weber

Pharmakognostische Abteilung des Pharmazeutischen Instituts der Universität Bern

(11. XI. 67)

Summary. A total synthesis of hystrine has been realised with good yield by the introduction of a double link into the piperidine nucleus of synthetic ammodendrine, followed by deacetylation, and purification with the aid of the nitroso derivative.

The identity of the synthetic product with authentic hystrine was established by its chromatographic behaviour, by UV-, IR- and mass spectra as well as by the properties of its nitroso derivative. Thus the proposed structure of hystrine as 3-(2,3,4,5-tetrahydropyrid-6-yl)-1,4,5,6-tetrahydropyridine (V) is proved.

Hystrin wurde 1967 aus *Genista hystrix* LGE als Hydrochlorid (farblose, optisch inaktive Kristalle vom Smp. 209°; im UV.-Spektrum ein Maximum bei λ 323 nm, $E_{1\text{cm}}^{1\%} = 1684$) isoliert [3]. Nach [2] ist Hystrin wahrscheinlich das 3-(Δ^1 -2-Tetrahydropyridyl)- Δ^2 -tetrahydropyridin (V). An weiteren Alkaloiden enthält die Pflanze einzig Ammodendrin (I), das sich – immer nach [2] – vom Hystrin durch das Fehlen einer Doppelbindung und die Gegenwart einer Acetylgruppe unterscheiden soll. Somit ist *Genista hystrix* der erste Vertreter seiner Gattung, in welchem keine Chinolizidin-Alkaloide nachgewiesen werden konnten.

Die vorliegende Arbeit berichtet über die Synthese des Hystrins aus Ammodendrin (I)³⁾. Die Einführung einer konjugierten Doppelbindung in 1–2-Stellung des Piperidinringes von I gelang durch Umwandlung von Ammodendrin in N-Chlorammodendrin (II), das wegen seiner Zersetzlichkeit nicht rein dargestellt wurde und noch etwas Ammodendrin enthielt, und Abspaltung von Chlorwasserstoff aus (II) mittels alkoholischer Kalilauge. Wie die chromatographische Untersuchung des Reaktionsgemisches zeigte, setzt sich das N-Chlorammodendrin sehr leicht um, doch wird das gebildete N-Acetylhystrin weiter zu Hystrin verseift, wenn KOH im Überschuss verwendet wird. Nur bei Beschränkung des KOH auf die zur HCl-Abspaltung nötige Menge tritt keine Entacetylierung ein. Ein Kontrollversuch ergab, dass Ammodendrin unter diesen Bedingungen nicht hydrolysiert wird.

Bei einem Versuch, das Hystrin aus natronalkalischer Lösung auszuschütteln, bestätigte sich dessen bereits bekannte Zersetzlichkeit [3]. Eine Reinigung über das Acetylderivat erwies sich ebenfalls als ungeeignet: Nach Acetylierung des Gemisches liessen sich wohl die nicht basischen organischen Verunreinigungen, hauptsächlich das Acetylammodendrin, sauer extrahieren, und das nach Zusatz von 2N NaOH mit Chloroform ausgeschüttelte Acetylhystrin wurde bereits durch 15minütiges Erwärmen mit 5-proz. HCl vollständig zu Hystrin hydrolysiert. Aber das erhaltene Produkt liess sich nicht kristallin erhalten.

¹⁾ Auszug aus einem Teil der Diss. WEBER [1].

²⁾ 15. Mitteilung: [2].

³⁾ Hergestellt aus 1,3-Dibrompropan über Piperidin und Iso-tripiperidein [1].

Im weiteren wurde versucht, Ammodendrin als Nitrosoderivat vom Acetylhystrin abzutrennen. Ein Nitrosierungsversuch mit NaNO_2 in salzsaurer Lösung misslang aber, in dem Sinn, als nicht – wie erhofft – Ammodendrin nitrosiert wurde, sondern Hystrin, das bei der natronalkalischen Ausschüttelung des Rückstandes der HCl-Abspaltung in Spuren aus Acetylhystrin entstanden war. Ein Kontrollversuch mit Ammodendrin ergab unter den gleichen Bedingungen tatsächlich keine Nitroverbindung. Es wurde deshalb bei der HCl-Abspaltung aus Chlorammodendrin mit überschüssigem KOH gearbeitet, um das gebildete Acetylhystrin direkt in Hystrin überzuführen. Aus dem Reaktionsprodukt konnte durch Behandlung mit salpetriger Säure N-Nitrosohystrin vom Smp. $92\text{--}94^\circ$ (III) in 76,5% Ausbeute (bezogen auf Ammodendrin) gewonnen werden. Es zeigte gleiches IR.-Spektrum (Fig. 1) wie ein aus 5 mg Naturprodukt hergestelltes, kristallines Nitrosoderivat (Fig. 2). Chromatographisches Verhalten und Smp. waren ebenfalls identisch, der Misch-Smp. war ohne Depression.

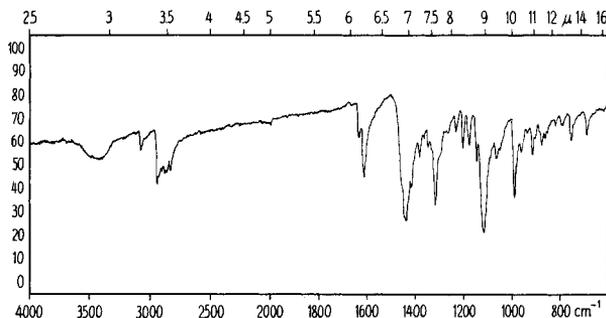
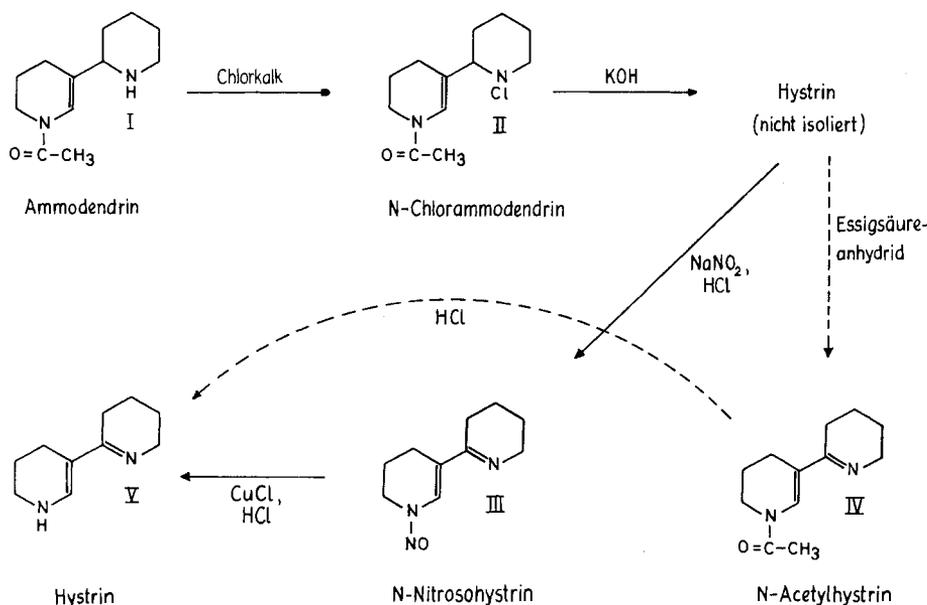


Fig. 1. IR.-Spektrum von synthetischem N-Nitrosohystrin (III)

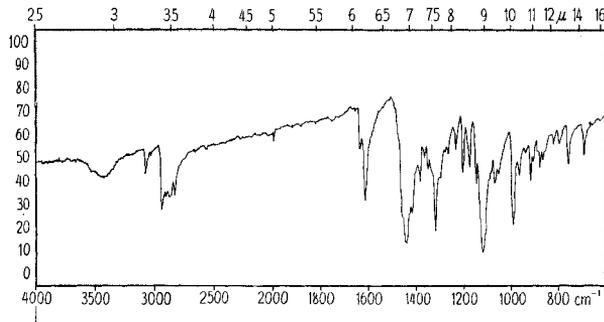


Fig. 2. IR.-Spektrum von *N*-Nitrosohystrin aus natürlichem Hystrin

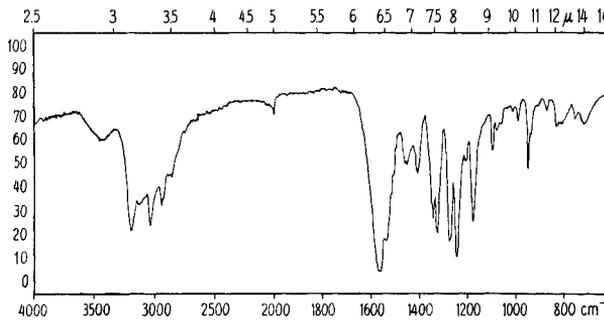


Fig. 3. IR.-Spektrum von synthetischem Hystrin-hydrochlorid (V-HCl)

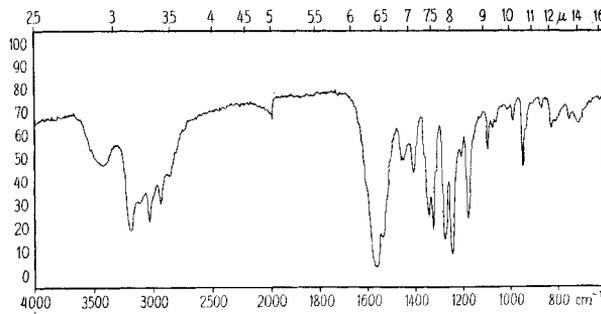


Fig. 4. IR.-Spektrum von natürlichem Hystrin-hydrochlorid

Die Überführung von *N*-Nitrosohystrin in Hystrin gelang nach der Methode von JONES und KENNER [4] durch Behandlung mit Salzsäure und Kupfer(I)-chlorid. Es bildeten sich allmählich grünliche Nadeln, die im Dünnschichtchromatogramm mit sämtlichen verwendeten Fliessmitteln den R_f -Wert des Hystrins zeigten. Wegen ihrer leichten Zersetzlichkeit wurden sie nicht isoliert, sondern man dampfte nach Entkupfern mit Schwefelwasserstoff das Filtrat im Vakuum ein. Neutralisation des zähflüssigen Rückstandes mit Ammoniak, Extraktion mit Methylchlorid und Eindampfen des Extraktes lieferte einen teilweise kristallinen Rückstand, aus dem mit Methanol/Aceton in 72,5% Ausbeute (bezogen auf Nitrosohystrin) eine Substanz erhalten wurde, die sich in allen untersuchten Eigenschaften (Smp., Misch-Smp., UV., IR.-

[Fig. 3 und 4] und Massenspektrum, chromatographisches Verhalten) als identisch mit dem Hydrochlorid des natürlichen Hystrins erwies. Da die Konstitution von Ammodendrin bereits durch Synthese gesichert ist (SCHÖPF und BRAUN [5], WEBER [1]), beweist die vorliegende Synthese des Hystrins dessen Struktur als V.

Die Arbeit wurde im Rahmen von Projekt Nr. 3149 des SCHWEIZ. NATIONALFONDS ZUR FÖRDERUNG DER WISSENSCHAFTLICHEN FORSCHUNG durchgeführt.

Experimentelles. – 1. *Allgemeines:* Die Smp. sind auf dem KOFLER-Block bestimmt und korrigiert. Dünnschichtchromatographie: Plattendimensionen 9×12 cm, aufgetragene Menge Kieselgel G nach STAHL (MERCCK) pro Platte 1 g in 3,5 g Wasser. Fließmittel (Vol. Teile) A: n-Butanol-Eisessig-Wasser-Äthylacetat 7:3:5:5; B: n-Butanol-Eisessig-Wasser-Pyridin 15:5:10:5; C: Cyclohexan-Diäthylamin 14:6. Sprühreagenzien: a) 0,2-proz. Ninhydrin in n-Butanol-2N Essigsäure 95:5; b) DRAGENDORFF-Reagens, sauer [6]. Vor der Behandlung mit Reagens a) wurden die Platten an der Luft, nach dem Besprühen während 10 min bei 110° getrocknet. Bei Verwendung von Reagens b) trocknete man die Platten nach Chromatographie mit Fließmittel A oder B bei Zimmertemperatur, bei Verwendung von C während 20 min bei 110° . Die IR.-Spektren wurden mit einem Infrarot-Spektrophotometer BECKMAN 10 in KBr aufgenommen.

2. *N-Chlorammodendrin:* 300 mg Ammodendrin-monohydrat (entsprechend 276 mg Base) wurden mit 3 ml Wasser versetzt, mit 5 Tropfen Eisessig neutralisiert, unter Umschwenken in Lösung gebracht und die Lösung in den Kühlschrank gestellt.

15 ml Chlorkalklösung⁴⁾ wurden 5 ml Äther beigemischt. Das ganze wurde mit Eis-Kochsalz auf -5° abgekühlt. Unter Rühren mit einem Magnetrührer liess man langsam die kaltgestellte Lösung von Ammodendrin-acetat zutropfen und spülte mit einer gekühlten Mischung von 1 ml Äther mit 4 ml Chlorkalklösung nach. Es bildete sich eine weisse Trübung. Nach 5 min Stehen in der Kälte schüttelte man die Mischung einmal mit 10 ml, dann viermal mit je 5 ml Äther aus, filtrierte die Auszüge über trockenes Natriumsulfat und dampfte sie im Vakuum auf ungefähr 3 ml ein. Das dabei auskristallisierte Produkt wurde zur weiteren Verarbeitung durch gelindes kurzes Erwärmen wieder in Lösung gebracht.

3. *Chlorwasserstoff-Abspaltung:* In einem Kölbchen mit Rückflusskühler und Tropftrichter tropfte man zu einer siedenden Lösung (Wasserbad) von 500 mg Kaliumhydroxid in 5 ml 95-proz. Alkohol langsam unter Rühren die ätherische Lösung von N-Chlorammodendrin, spülte zweimal mit je 1 ml Äther nach, kochte noch 10 min (unter Ausscheidung von KCl färbte sich die Lösung gelb-braun), säuerte dann den Kolbeninhalt durch Zutropfen von 1 ml Eisessig schwach an und dampfte im Wasserstrahlvakuum ab (Wasserbad von $40-50^\circ$).

4. *N-Acetylhystrin:* Zum hellbraunen Rückstand der vorherigen Stufe, der vorwiegend aus Hystrin- und Kaliumacetat bestand, gab man 100 mg Natriumacetat und 4 ml Essigsäureanhydrid (spontane Reaktion unter Wärmeentwicklung) und erhitze das Gemisch 1 Std. unter Rückfluss. Dann gab man über den Kühler 10 ml 95-proz. Alkohol zu, kochte kurz auf, liess erkalten und dampfte im Vakuum ab. Der hellbraune Rückstand wurde in Wasser aufgenommen. Die schwach saure Lösung wurde fünfmal mit je 10 ml Äther ausgeschüttelt (Auszüge verworfen), mit 2N Natronlauge alkalisch gestellt und fünfmal mit je 10 ml Chloroform extrahiert. Die über trockenes Natriumsulfat filtrierten Auszüge dampfte man im Vakuum ein: 210 mg (77% d. Th. bezogen auf Ammodendrin) rohes Acetylhystrin als hellbraunes Öl. Dünnschichtchromatographische Charakterisierung: Fließmittel A, Reagens b), Rf 0,32; Fließmittel B, Reagens b), Rf 0,65; Fließmittel C, Reagens b), Rf 0,60.

5. *Verseifung von Acetylhystrin:* Die 210 mg rohes Acetylhystrin wurden mit 5 ml 5-proz. Salzsäure 15 min gekocht. Nach Eindampfen der Lösung im Vakuum wurde der hellbraune Rückstand in 2 ml Methanol aufgenommen und mittels präparativer Schichtchromatographie⁵⁾ gereinigt. Die Platte wurde im Trockenschrank bei 110° bis zur neutralen Reaktion getrocknet, die Hystrinzone ausgekratzt, im Mörser fein verrieben und mit einem Gemisch von 95 Vol.-T. absolutem Aceton und 5 Vol.-T. absolutem Methanol extrahiert. Die Auszüge dampfte man im Vakuum ab und trocken-

⁴⁾ 25 g Chlorkalk wurden mit 75 ml Wasser unter gelegentlichem Umschütteln zwei Tage im Dunkeln bei Raumtemperatur aufbewahrt. Vor der Verwendung wurde die Lösung filtriert.

⁵⁾ Platte $19,5 \times 35$ cm, Kieselgel PF₂₅₄ MERCCK 32,5 g in 84 g Wasser. Fließmittel: n-Butanol-25-proz. Salzsäure-Wasser-Äthylacetat 3:2:7:3 Vol.-T.

nete den teilweise kristallinen, hellbraunen Rückstand über Blaugel bis zur Gewichtskonstanz: 151 mg (74% bezogen auf rohes Acetylhystrin) rohes Hystrin. Dünnschichtchromatographische Charakterisierung: Fließmittel A, Reagens b), Rf 0,51; Fließmittel B, Reagens b), Rf 0,57; Fließmittel C, Reagens b), Rf 0,00.

6. *Nitrosohystrin*: Zur Darstellung dieser Substanz wurde nach der Chlorwasserstoff-Abspaltung gemäß 3. mit 5 ml 2N Salzsäure (an Stelle von Eisessig) angesäuert und im Vakuum abgedampft. Der Rückstand wurde in 3 ml 2N HCl gelöst. Zu dieser mit Eis-Kochsalz auf -5° abgekühlten Lösung wurde unter Magnet-Rührung langsam eine gekühlte Lösung von 200 mg Natriumnitrit in 1 ml Wasser getropft. Die Lösung, die sich gelb färbte, liess man unter Kühlung noch 15 min stehen, schüttelte sie dann fünfmal mit je 10 ml Äther aus (Auszüge verworfen), stellte sie mit 2N Natronlauge alkalisch und extrahierte sie mit insgesamt 50 ml Äther. Die ätherischen Extrakte wurden über trockenes Natriumsulfat filtriert und auf etwa 3 ml eingedampft. Über Nacht liess man im Kühlschrank auskristallisieren; die gelblichen Prismen wurden mit kaltem Petroläther gewaschen und die Mutterlauge mit der Waschflüssigkeit zusammen noch einmal aufgearbeitet. Die Kristalle wurden unter Lichtschutz im Vakuum bis zur Gewichtskonstanz getrocknet. Ausbeute 195 mg (76,5% bezogen auf Ammodendrin) vom Smp. $92-94^{\circ}$. Dünnschichtchromatographische Charakterisierung: Fließmittel A, Reagens b), Rf 0,48; Fließmittel B, Reagens b), Rf 0,78; Fließmittel C, Reagens b), Rf 0,61.

7. *Hystrin-hydrochlorid aus Nitrosohystrin*: 195 mg Nitrosohystrin wurden mit einer Lösung von 875 mg Kupfer(I)-chlorid in einer Mischung von 0,5 ml Wasser und 4,5 ml 37-proz. HCl 30 min im Dunkeln stehengelassen. Dann erhitze man auf dem Wasserbad zum Sieden (Rückfluss), bis sich kein Stickoxid mehr entwickelte (5–10 min). Die nun dunkelgrüne Lösung wurde mit 50 ml heissem Wasser verdünnt und so lange mit Schwefelwasserstoff behandelt, bis das Kupfer quantitativ gefällt war. Dann filtrierte man vom ausgeschiedenen Kupfersulfid ab, spülte gründlich mit Wasser nach und dampfte die Lösung im Vakuum ein (Wasserbad von 50°). Der gelbe, zähflüssige, stark saure Rückstand wurde in wenig Methanol aufgenommen und tropfenweise mit verdünntem wässrigem Ammoniak neutralisiert. Dann wurde im Vakuum abgedampft und der Rückstand mit siedendem Methylenchlorid mehrmals extrahiert. Die über Watte filtrierten Auszüge wurden im Vakuum abgedampft; den gelben Rückstand versetzte man mit 3 ml absolutem Aceton und dampfte zur Trockne ein. Diese Operation wurde 2–3mal wiederholt, bis sich leicht gelblich gefärbte, zu Rosetten angeordnete Kristalle abschieden, die im Vakuum bis zur Gewichtskonstanz getrocknet wurden: 148 mg (72,5%) rohes Hystrinhydrochlorid vom Smp. $205-207^{\circ}$ (leichtes Sintern ab 200°). Die Substanz war chromatographisch rein und zeigte die gleichen Rf-Werte wie das Produkt der Acetylhystrin-Spaltung (s. 5.).

Das Rohprodukt wurde in wenigen Tropfen absolutem Methanol aufgenommen und die Lösung tropfenweise mit absolutem Aceton bis zur beginnenden Trübung versetzt. War bei einem Zusatz von 2 ml Aceton noch keine Trübung eingetreten, engte man im Vakuum etwa auf die Hälfte ein und versetzte erneut mit Aceton. Diese Operation wurde so lange fortgesetzt, bis sich mit weniger als 2 ml Aceton eine Trübung einstellte. Nach kurzer Zeit bildeten sich dann praktisch farblose, rosettenförmige, hygroskopische Kristalle, die mit Äther gewaschen und im Vakuum getrocknet wurden: 130 mg (87,5%) reines Hystrin-hydrochlorid vom Smp. $208-209^{\circ}$ (Lit. [3] 209°), Misch-Smp. mit Hydrochlorid von authentischem Hystrin ebenso. UV.-Spektrum (in Wasser): λ max. 323 nm, $E_{1\text{cm}}^{1\%} = 1762$ (Lit. [3]: 1684).

Aus der Mutterlauge konnten keine Kristalle mehr gewonnen werden.

Für die Aufnahme des Massenspektrums des Syntheseproduktes auf einem CH4-Instrument (ATLAS-Bremen bei 70 eV [SEV] und mit Direkteinlass) danken wir Herrn PD Dr. M. Hesse, Organ.-Chem. Institut der Universität Zürich, bestens.

LITERATURVERZEICHNIS

- [1] P. WEBER, Totalsynthese des neuen Leguminosen-Alkaloids Hystrin, Diss. Univ. Bern, im Druck.
- [2] E. STEINEGGER, CH. MOSER & P. WEBER, *Phytochemistry* 7 (1968), im Druck.
- [3] E. STEINEGGER & CH. MOSER, *Pharmaceut. Acta Helv.* 42, 177 (1967).
- [4] E. C. S. JONES & J. KENNER, *J. chem. Soc.* 1932, 713.
- [5] C. SCHÖPF & F. BRAUN, *Naturwiss.* 12, 377 (1949).
- [6] A. BETTSCHART & H. FLÜCK, *Pharmaceut. Acta Helv.* 31, 260 (1956).