

- [4] *R. Burgus, T. F. Dunn, D. Desiderio, D. N. Ward, W. Vale, R. Guillemin, A. M. Felix, D. Gillissen & R. O. Studer*, *Endocrinology* **86**, 573 (1970).
- [5] *D. Gillissen, A. M. Felix, W. Lergier & R. O. Studer*, *Helv.* **53**, 63 (1970).
- [6] *R. Burgus, T. F. Dunn, D. Desiderio, D. N. Ward, W. Vale & R. Guillemin*, *Nature* **226**, 321 (1970).
- [7] *R. M. G. Nair, J. F. Barrett, C. Y. Bowers & A. V. Schally*, *Biochemistry* **9**, 1103 (1970).
- [8] *K. Folkers, F. Enzmann, J. Bøler, C. Y. Bowers & A. V. Schally*, *Biochem. biophys. Res. Commun.* **37**, 123 (1969); *J. Bøler, F. Enzmann, K. Folkers, C. Y. Bowers & A. V. Schally*, *ibid.* **37**, 705 (1969).
- [9] *C. Y. Bowers, A. V. Schally, A. Weil, G. A. Reynolds & K. Folkers*, *International Thyroid Conference, Vienna (Austria)*, June 22–26 (1970).
- [10] *K. Folkers, J. K. Chang, B. L. Currie, C. Y. Bowers, A. Weil & A. V. Schally*, *Biochem. biophys. Res. Commun.* **39**, 110 (1970).
- [11] *C. Y. Bowers, A. Weil, J. K. Chang, H. Sievertsson, F. Enzmann & K. Folkers*, *Biochem. biophys. Res. Commun.* **40**, 683 (1970).
- [12] *K. Hofmann & H. Bohn*, *J. Amer. chem. Soc.* **88**, 5914 (1966).
- [13] *K. Hofmann & C. Y. Bowers*, *J. med. Chemistry* **13**, 1099 (1970).
- [14] *M. Motta, F. Piva, F. Fraschini & L. Martini*, *Hypophysiotropic hormones of the hypothalamus. Assays and Chemistry*, p. 44, Ed. *J. Meites*, Williams & Wilkins, Co., Baltimore (1970).
- [15] *E. Yamazaki, E. Sakiz & R. Guillemin*, *Experientia* **19**, 480 (1963).
- [16] *C. I. Bliss*, *Biometrics* **12**, 491 (1956).
- [17] *D. H. Spackman, W. H. Stein & S. Moore*, *Analyt. Chemistry* **30**, 1190 (1958).
- [18] *M. Bergmann, L. Zervas & W. F. Ross*, *J. biol. Chemistry* **111**, 245 (1935).
- [19] *D. Hamer & J. P. Greenstein*, *J. biol. Chemistry* **193**, 81 (1951).
- [20] *N. Izumiya, H. Okazaki, I. Matsumoto & H. Takigushi*, *J. Biochemistry (Tokyo)* **46**, 1347 (1959); *K. Vogler & P. Lanz*, *Helv.* **43**, 270 (1960).
- [21] *H. O. van Orden & E. L. Smith*, *J. biol. Chemistry* **208**, 751 (1954).

137. Notiz zur Konstitution des Laurepukins¹⁾

8. Mitteilung über natürliche und synthetische Isochinolin-Derivate²⁾

von **Ek. Weiss** und **Karl Bernauer**

Chemische Forschungsabteilung der *F. Hoffmann-La Roche & Co., AG*, Basel,

und **A. Girardet**

Ecole de Pharmacie, Université de Lausanne

(15. V. 71)

Summary. The alkaloid (–)-laurepukine is shown to possess one of the epimeric N-oxide structures **4** or **5**. Oxidation of (–)-pukateine (**3**) by hydrogen peroxide gives (–)-laurepukine and, as a second product, 6-*epi*-laurepukine.

Für das Alkaloid (–)-Laurepukin aus *Laurelia novae-zelandiae* ist die Struktur **1** eines 1,2-Dihydroxy-10,11-methylenedioxy-aporphins vorgeschlagen worden; als – weniger wahrscheinliche – Alternativformel wurde **2** zur Diskussion gestellt [2]. Aporphine mit Sauerstoff-Funktionen in den Stellungen 1, 2, 10 und 11 sind in beträchtlicher Anzahl bekannt. Alle zeigen positive $[\alpha]_D$ -Werte $> 130^\circ$; einzige Aus-

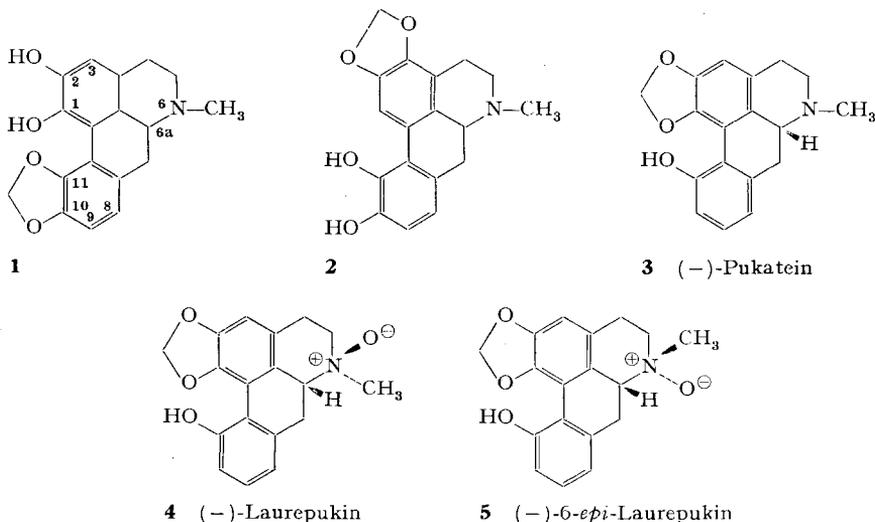
1) Über die vorliegende Arbeit hat *K. Bernauer* am «*Third Natural Products Symposium*» in Kingston, Jamaica, am 6. Januar 1970 berichtet.

2) 7. Mitteilung: [1].

nahme wäre das Laurepukin mit $[\alpha]_D = -222^\circ$ (CHCl_3). *Shamma & Hillman* haben auf diesen Sachverhalt hingewiesen und Zweifel an der vorgeschlagenen Struktur des Laurepukins geäußert [3].

Wir haben ein altes Original-Laurepukin-Präparat [2] erneut gereinigt und untersucht. Das Massenspektrum des Alkaloids ist praktisch identisch mit demjenigen des Pukateins (3). Als Ion höchster Masse beobachtet man $\text{C}_{18}\text{H}_{17}\text{NO}_3^{+3}$. Direkte Sauerstoffbestimmung beweist jedoch die Existenz von 4 Sauerstoffatomen; d. h. die früher für Laurepukin gefundene Summenformel $\text{C}_{18}\text{H}_{17}\text{NO}_4$ ist richtig. Da N-Oxide häufig starke (*M*-16)-Signale zeigen (gelegentlich ist das Molekel-Ion nicht nachweisbar) [4], deuten diese Befunde auf eine N-Oxid-Struktur des Laurepukins.

Die UV.-Spektren von Laurepukin und (–)-Pukatein (3) sind sehr ähnlich. Das gleiche gilt für die in Trifluoressigsäure aufgenommenen 100-MHz-NMR.-Spektren im Bereich von 6 bis 8 ppm (vgl. Tabelle). Beide Verbindungen zeigen bei etwa gleichen chemischen Verschiebungen das Signal eines «isolierten» aromatischen Protons (an C-3), die Signale eines aromatischen *ABC*-Systems (Protonen an C-8, C-9 und C-10), sowie die Signale zweier Methyldioxy-Protonen. Mit Diazomethan in Methanol liefert Laurepukin wie Pukatein [5] einen Monomethyläther.



Damit ist wahrscheinlich gemacht, dass Laurepukin ein N-Oxid des Pukateins (3) ist. Bewiesen wird dieser Sachverhalt dadurch, dass Pukatein bei Oxydation mit Wasserstoffperoxid in äthanolischer Lösung Laurepukin liefert. Als zweites Produkt entsteht hierbei eine isomere Verbindung, Smp. 176–178, $[\alpha]_D = -214^\circ$ ($c = 0,10$; $\text{CHCl}_3\text{-CH}_3\text{OH}$ 1:1). Diese unterscheidet sich nur im NMR.-Spektrum wesentlich von Laurepukin, und zwar hinsichtlich der chemischen Verschiebung ihrer N-Methylprotonen (vgl. Tabelle), weshalb es sich um 6-*epi*-Laurepukin handeln muss.

Durch eine Röntgen-Strukturanalyse des O-Methylaurepukins wird in einer nachstehenden Arbeit von *Oberhänsli* [6] gezeigt, dass dem Laurepukin Formel 4 und dem

³⁾ M^+ höchstens 1% und daher nicht mit Sicherheit auszumachen.

NMR.-Daten von Pukatein (3), Laurepukin (4), O-Methyl-laurepukin und 6-*epi*-Laurepukin (5)
(δ -Werte in ppm; aufgenommen in CF_3COOH bei 100 MHz)

Protonen an	Pukatein	Laurepukin	O-Methyl-laurepukin	6- <i>epi</i> -Laurepukin
O—CH ₂ —O	6,12 <i>d</i> ; $J \sim 1$ Hz 6,30 <i>d</i> ; $J \sim 1$ Hz	6,13 <i>d</i> ; $J \sim 1$ Hz 6,33 <i>d</i> ; $J \sim 1$ Hz	6,03 <i>d</i> ; $J \sim 1$ Hz 6,18 <i>d</i> ; $J \sim 1$ Hz	6,13 <i>d</i> ; $J \sim 1$ Hz 6,32 <i>d</i> ; $J \sim 1$ Hz
C-3	6,82 <i>s</i>	6,86 <i>s</i>	6,76 <i>s</i>	6,86 <i>s</i>
N—CH ₃	3,37 <i>d</i> ; $J \sim 5$ Hz	3,54 <i>s</i>	3,52 <i>s</i>	3,88 <i>s</i>
C-6a	4,30 <i>d, d, d</i> $J_{6a,7} \sim 13$ Hz $J_{6,6a} \sim 10$ Hz $J_{6a,7'} \sim 3$ Hz	4,92 <i>d, d</i> $J_{6a,7} \sim 14$ Hz $J_{6a,7'} \sim 3$ Hz	4,87 <i>d, d</i> $J_{6a,7} \sim 14$ Hz $J_{6a,7'} \sim 3$ Hz	4,78 <i>tr</i> $J_{6a,7} + J_{6a,7'} \sim 17$ Hz
C-8	7,08–7,47	7,10–7,48	7,10–7,53	7,11–7,49
C-9	<i>ABC</i> -Typ	$\sim AB_2$ -Typ	<i>ABC</i> -Typ	$\sim AB_2$ -Typ
C-10		$J \sim 8$ Hz		$J \sim 8$ Hz
O—CH ₃	–	–	4,08 <i>s</i>	–

6-*epi*-Laurepukin mithin Formel 5 zuzuordnen ist. Auf dieser Basis wird die Frage nach der Konfiguration an N-6 für weitere Aporphin-N-oxide anhand der Lage der N-Methyl-NMR.-Signale beantwortet werden können. Laurepukin ist allerdings nach unserer Kenntnis das erste Aporphin-Alkaloid, für welches eine N-Oxid-Struktur sichergestellt ist.

Wir danken Herrn Ch. Jenny für die Ausführung der Versuche, FrI. Dr. M. Grosjean und den Herren Drs. G. Englert, K. Noack und W. Vetter für Aufnahme und Interpretation der IR-, NMR-, ORD-, CD- und der Massen-Spektren, sowie dem Mikroanalytischen Laboratorium unserer Firma (Leitung Dr. A. Dirschel) für die Analysen.

Experimentelles. – Für Analysen oder Spektren wurden die Substanzen 5 Std. bei 70–80° im Hochvakuum über P_2O_5 getrocknet. Die Smp. wurden auf dem Kofler-Block bestimmt und sind korrigiert. Dünnschichtchromatogramme (DC.) auf Platten aus Kieselgel G oder GF (Merck); Laufstrecke 12–15 cm, teils mehrfache Entwicklung (2–3mal Front); Nachweis der Alkaloide mit Kaliumjodplatinat.

1. Laurepukin (4). 1,0 g rohes Laurepukinsulfat [2] wurde in 50 ml H_2O gelöst bzw. suspendiert, das Ganze mit konz. wässrigem Ammoniak unter Eiskühlung auf pH 8,5 gestellt und 6mal mit 50 ml Methylenchlorid, danach 4mal mit 50 ml Methylenchlorid-Äthanol(4:1) extrahiert. Die organischen Phasen wurden der Reihe nach 2mal mit 15 ml H_2O gewaschen, über Na_2SO_4 getrocknet und eingedampft, wobei die Methylenchloridextrakte 179 mg Basen lieferten; nach DC. ($\text{CH}_2\text{Cl}_2 + 15\%$ MeOH) Gemisch von 3 Substanzen. Die Methylenchlorid-Äthanol-Extrakte lieferten 546 mg Basen, die nach DC. einheitlich waren und wie der langsamste Fleck des Methylenchloridextrakts liefen. Kristallisation aus Methanol gab 380 mg Kristalle vom Smp. 220–222°. Umkristallisation aus Methanol gab feine, schwach beige Nadeln vom Smp. 220–222°. – DC.: im System Methylenchlorid-Methanol(4:1): einheitlich, Rf ca. 0,14; im System Methylenchlorid-Isopropylalkohol-Dichloressigsäure(95:5:0,5), 3mal Front: ca. 98% rein, enthält ca. 2% *epi*-Laurepukin (s. unten); Rf ca. 0,11. – $[\alpha]_D^{25} = -257 \pm 10^\circ$ ($c = 0,11$ Chloroform-Methanol-[1:1]); $[\alpha]_D^{25} = -262 \pm 10^\circ$ ($c = 0,10$ Äthanol). – Massenspektrum: 311 (0,4%) = M^+ ; 295 (88%) = $M - O$; 294 (100%) = $M - OH$; 293 (35%) = $M - \text{H}_2\text{O}$; 280 (15%) = $M - O - \text{CH}_3$; 278 (15%) = $M - O - OH$,

zum kleineren Teil auch $M - H_2O - CH_3$; 265 (33%) = $M - O - CH_2O$; 252 (43%) = $M - O - CH_2 = N - CH_3$; usw. – ORD.-Spektrum in Dioxan-Methanol-(1:1): Minimum (Min.) bei 242 nm, $[\Phi] = -165\,000$; Maximum (Max.) bei 306 nm, $[\Phi] = +31\,290$; Min. bei 328 nm, $[\Phi] = -13\,390$. – CD.-Spektrum in Chloroform-Methanol-(1:1): Min. bei 236 nm ($\Delta\epsilon = -68,7$); Max. 270 (+10,89); Min. 286 (+5,32); Max. 295 (+6,05); Min. 320 (-8,25).

$C_{18}H_{17}NO_4$	Ber. C 69,44	H 5,50	N 4,50	O 20,56%
(311,33)	Gef. „ 69,60	„ 5,48	„ 4,26	„ 20,71; 20,88%

2. *O-Methylaurepukin*. 100 mg Laurepukin wurden in 50 ml Methanol gelöst und mit einem grossen Überschuss an ätherischem Diazomethan zunächst bei 0°, dann bei 22° methyliert. Die langsame Reaktion wurde durch DC. verfolgt. Nach 24 Std. war die Methylierung praktisch beendet. Nach Eindampfen i. V. erhielt man 113 mg Substanz, die an 10 g Aluminiumoxid (Akt. III) mit Methylchlorid und Methylchlorid-Methanol chromatographiert wurde (Fraktionen à 10 ml). Die Fr. 10–12, eluiert mit Methylchlorid + 2 bis 4% Methanol, lieferten 64,4 mg nach DC. reines Methylierungsprodukt. Fr. 13 enthielt 31,2 mg eines Gemisches von Laurepukin und *O*-Methylaurepukin. Aus den 64,4 mg Substanz erhielt man nach Kristallisation und Umkristallisation aus Methanol-Äther 21,1 mg farblose Stäbchen vom Doppel-Smp. 146–149°/169–175°, sowie 7,8 mg vom Smp. 144–149°/168–183°. DC.: mit Methylchlorid-Methanol-(8:2) einheitlich, $R_f \sim 0,19$; mit Methylchlorid-Isopropylalkohol-Dichloressigsäure-(95:5:0,5) einheitlich, $R_f \sim 0,16$. $[\alpha]_D^{25} = -258^\circ \pm 5^\circ$ ($c = 0,19$ Äthanol).

3. *Laurepukin (4) und 6-epi-Laurepukin (5) aus Pukatein (3)*. 200 mg krist. reines Pukatein wurden in 40 ml Äthanol + 12 ml 30-proz. wässr. Wasserstoffperoxidlösung 3 Tage bei 22° gehalten. Das Fortschreiten der Oxydation wurde durch DC. (Methylchlorid-Methanol-(85:15)) verfolgt. Es erschien nur ein einziger neuer Fleck, mit dem R_f des Laurepukins. Zur Aufarbeitung verdünnte man mit 40 ml Wasser, destillierte das Äthanol i. V. ab, brachte die wässr. Lösung mit 3N Ammoniak auf pH 8,5 und extrahierte sie 5mal mit Methylchlorid und 5mal mit Methylchlorid-Äthanol-(4:1). Die Extrakte wurden 2mal mit wenig Wasser gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und i. V. eingedampft: 130 mg Methylchloridextrakt (nach DC. Oxydationsprodukt + wenig Pukatein) und 68,7 mg Methylchlorid-Äthanol-Extrakt (nach DC. nur Oxydationsprodukt). Kristallisation aus Methylchlorid-Methanol lieferte aus beiden Extrakten total 165 mg Kristallisate. DC.-Kontrolle mit dem unter 1 erwähnten dichloressigsäure-haltigen System ergab, dass Zweikomponentengemische wechselnder Zusammensetzung vorlagen. Die schneller wandernde Verbindung zeigte das R_f des Laurepukins. Fraktionierte Kristallisation aus Methylchlorid-Methanol lieferte schliesslich 33,7 mg reines Laurepukin und 46,8 mg der reinen langsamer laufenden Verbindung, *6-epi-Laurepukin*.

Laurepukin: Nadeln, Smp. 215–218°; $[\alpha]_D^{25} = -254^\circ \pm 10^\circ$ ($c = 0,10$; Chloroform-Methanol-(1:1)); nach Misch-Smp., DC., UV., IR., MS. und NMR. identisch mit authentischem Laurepukin.

6-epi-Laurepukin: Plättchen, Smp. 176–178° (mit Kristall-Methanol Smp. 160–162°). R_f mit Dichloressigsäuregemisch ca. 0,07. $[\alpha]_D^{25} = -214^\circ \pm 10^\circ$ ($c = 0,10$; Chloroform-Methanol-(1:1)). – Die UV., ORD.- und CD.-Spektren sind denjenigen des Laurepukins sehr ähnlich. Das Massenspektrum ist qualitativ gleich wie dasjenige von Laurepukin, jedoch sind die Intensitäten verschieden: 311 (6%); 295 (74%); 294 (78%); 252 (100%).

LITERATURVERZEICHNIS

- [1] F. Schneider & K. Bernauer, *Helv.* 53, 938 (1970).
- [2] A. Girardet, *Helv.* 14, 504 (1931).
- [3] M. Shamma & M. J. Hillman, *Experientia* 25, 544 (1969).
- [4] N. Bild & M. Hesse, *Helv.* 50, 1885 (1967).
- [5] G. Barger & A. Girardet, *Helv.* 14, 481 (1931).
- [6] W. E. Oberhäusli, *Helv.* 54, 1389 (1971).