

# Über ein neues Lupinen-Alkaloid mit vierzehn Kohlenstoffatomen\*

Von

M. Wiewiorowski<sup>1</sup>, F. Galinovsky und M. D. Bratek<sup>1</sup>

Aus dem II. Chemischen Institut der Universität Wien

(Eingegangen am 24. Juni 1957)

Sowohl in *Lupinus angustifolus* wie in *Lupinus perennis* wurde aus der Lupaninfraktion ein neues, kristallisiertes Alkaloid (Angustifolin) gewonnen und rein dargestellt. Die Base hat die Formel  $C_{14}H_{22}ON_2$  und besitzt einen Schmp. von 80°. Sie ist optisch aktiv, der Sauerstoff liegt in Form einer Lactamgruppe mit ringtertiärem Stickstoff vor; das zweite Stickstoffatom ist nach dem IR-Spektrum ebenfalls tertiär, enthält aber keine Methylimidgruppe. Das Alkaloid besitzt eine Doppelbindung und läßt sich katalytisch zu einem Dihydroprodukt vom Schmp. 83° hydrieren. Bei der Perhydrierung mit  $PtO_2$  wird auch die Lactamgruppe reduziert und die sauerstofffreie Verbindung  $C_{14}H_{26}N_2$  (Schmp. des Pikrats: 207°) erhalten. Das Angustifolin leitet sich nach den bisherigen Ergebnissen von einem neuen, bisher unter den Lupinen-Alkaloiden noch nicht aufgefundenen Konstitutionstyp ab.

Die papierchromatographische Untersuchung der Alkaloide von *Lupinus angustifolius* und *Lupinus perennis* (*L. polyphyllus* L.) zeigte das Vorhandensein eines Alkaloids an, dessen  $R_f$ -Werte in verschiedenen Lösungsmittelsystemen mit keinem der schon bekannten Lupinen-Alkaloide übereinstimmten<sup>2, 3</sup>. Es gelang nun, dieses Alkaloid auch präparativ abzutrennen und rein und kristallisiert zu erhalten. Die Base,

\* Herrn Prof. Dr. F. Wessely zum 60. Geburtstag gewidmet.

<sup>1</sup> Derzeitige Adresse: Inst. f. Pflanzenzüchtung der Poln. Akad. d. Wissenschaften, Posen, Polen.

<sup>2</sup> M. Wiewiorowski und M. D. Bratek, Bull. acad. polon. sci. Kl. II, 4, 3 (1956).

<sup>3</sup> M. Wiewiorowski und M. D. Bratek, Acta Soc. Botan. Polon. 26, 129 (1957).

für die wir den Namen Angustifolin vorschlagen, konnte aus dem bei der Extraktion des Lupinensamens in üblicher Weise (siehe exper. Teil) erhaltenen Alkaloidgemisch durch zwei verschiedene Verfahren von Lupanin und Hydroxylupanin abgetrennt werden.

1. Das Rohalkaloidgemisch wurde durch Destillation bei 0,02 Torr in zwei Fraktionen zerlegt. Die bis 165° übergehende Fraktion enthält das Lupanin und Angustifolin, der bei höherer Temperatur übergehende Anteil hauptsächlich das Hydroxylupanin. Das Lupanin kann nun in methanol. Lösung als Perchlorat zum größten Teil abgetrennt werden, während das Angustifolin in der Mutterlauge bleibt, aus der es dann durch Extraktion der alkalischen Lösung mit Äther und durch Umlösen aus Petroläther kristallisiert gewonnen werden kann. Das in der Mutterlauge befindliche Basengemisch wird noch über Aluminiumoxyd chromatographiert, wodurch man weitere Mengen an kristallisiertem Angustifolin erhält.

2. Das Rohalkaloidgemisch wird mit Kalilauge versetzt und nach dem Verfahren von Graf<sup>4</sup> mit Kieselgur verrieben. Die so erhaltene Masse wird in ein Chromatographierrohr gebracht und zuerst mit Petroläther, dann mit Chloroform extrahiert. Im Petroläther befindet sich hauptsächlich das Lupanin, im Chloroform das Angustifolin und Hydroxylupanin, von welchem sich das erstere durch Hochvak.-Destillation abtrennen läßt. Durch Umlösen aus Petroläther kann es dann wie oben kristallisiert erhalten werden.

Die aus verschiedenen Samensorten von *L. angustifolius* und *L. perennis* erhaltenen Mengen an Angustifolin sind ziemlich wechselnd. Die Rohausbeute an dem neuen Alkaloid betrug im besten Fall 5% des Gesamtalkaloidgemisches.

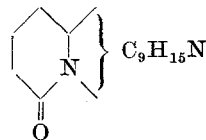
Durch nochmaliges Umlösen des Alkaloids aus Petroläther erhält man das Angustifolin rein von konst. Schmp. 79 bis 80°. Das Alkaloid ist in Wasser und den üblichen organischen Lösungsmitteln mit Ausnahme von Petroläther gut löslich. Aus der Analyse der reinen Base und ihrer Salze (Chlorhydrat und Pikrat) ergibt sich eindeutig die Molekularformel  $C_{14}H_{22}ON_2$ . Die Base besitzt also zwei Stickstoffatome wie die Lupinen-Alkaloide vom Sparteintyp, enthält aber interessanterweise ein Kohlenstoffatom weniger als diese. Das Alkaloid ist optisch aktiv, es zeigt in Chloroform und Alkohol eine schwache Linksdrehung. Es ist ungesättigt und entfärbt sofort schwefelsaure  $KMnO_4$ -Lösung, trotzdem ist es an der Luft beständiger als viele gesättigte Lupinen-Alkaloide, z. B. Spartein und Lupanin. Das Sauerstoffatom liegt, wie aus dem IR-Spektrum und den Eigenschaften der Base hervorgeht, in einer lactamartig gebundenen CO-Gruppe vor. Das Angustifolin ist dementsprechend

<sup>4</sup> E. Graf, Dtsch. Apoth.-Ztg. **91**, 797 (1952).

einsäurig und gibt ein Monochlorhydrat und ein Monopikrat. Bei der vorsichtigen katalytischen Hydrierung wird leicht die einer Doppelbindung entsprechende Menge Wasserstoff aufgenommen und man erhält das kristallisierte Dihydroprodukt vom Schmp. 82 bis 83°. Diese Base ist ebenfalls einsäurig, aber rechtsdrehend. Bei der katalytischen Hydrierung mit  $\text{PtO}_2$  nach *Adams* unter Bedingungen, wie sie schon früher erfolgreich zur Reduktion von Lactamen verwendet wurden<sup>5</sup>, wird auch die CO-Gruppe glatt zu  $\text{CH}_2$  reduziert und man erhält die sauerstofffreie Base  $\text{C}_{14}\text{H}_{26}\text{N}_2$ , die flüssig ist und ein Dipikrat vom Zersp. 207° und ein Chloroplatinat vom Zersp. 208 bis 210° gibt.

Über die Konstitution des Angustifolins kann noch wenig gesagt werden. Das IR-Spektrum zeigt die Anwesenheit der  $\text{CO}-\text{N}$ -Gruppe (1634 K) und der Doppelbindung (1624 K), eine NH-Bande ist nicht vorhanden. Eine Methylimidbestimmung verlief negativ. Das UV-Spektrum besitzt keine Absorptionsbande über 220  $\text{m}\mu$ , was für eine isolierte Lage der Doppelbindung spricht. Gemäß der Molekularformel des Alkaloids und seiner Hydrierungsprodukte ist anzunehmen, daß in ihnen ein tricyclisches Ringsystem vorliegt.

Schließlich wurden noch unter vergleichbaren Bedingungen Angustifolin, die Dihydro- und die Dihydrodesoxyverbindung mit Chromsäure erschöpfend oxydiert und die erhaltenen Aminosäuren papierchromatographisch getrennt und bestimmt, eine Methode, die früher bei der Konstitutionsermittlung des Hydroxylupanins gute Dienste geleistet hatte<sup>6</sup>. Das vorläufig wichtigste Ergebnis dieser Versuche, über die später noch genauer berichtet werden soll, ist, daß bei der Oxydation der sauerstofffreien Verbindung  $\text{C}_{14}\text{H}_{26}\text{N}_2$   $\gamma$ -Aminobuttersäure entsteht, während beim Angustifolin und seinem Dihydroprodukt diese Aminosäure nicht auftritt. Das läßt darauf schließen, daß die  $\gamma$ -Aminobuttersäure aus dem Ring gebildet wird, der ursprünglich als Lactamring vorlag. Dieses Resultat erlaubt nach den bisherigen Erfahrungen bei der  $\text{CrO}_3$ -Oxydation der Lupinen-Alkaloide<sup>6</sup> die Aufstellung der nebenstehenden Teilformel für das Angustifolin.



Vor einiger Zeit haben *Rink* und *Schäfer*<sup>7</sup> bei der Untersuchung der Alkaloide von *L. perennis* gefunden, daß die Mutterlauge des d-Lupanins einen basischen Anteil enthält, der ungesättigt ist. Eine kristallisierte Base konnte nicht erhalten werden. Aus weiteren Versuchen mit dem Basengemisch aus der Mutterlauge des Lupanins wurde geschlossen, daß

<sup>5</sup> *F. Galinovsky* und *E. Stern*, Ber. dtsh. chem. Ges. **77**, 132 (1944).

<sup>6</sup> *F. Galinovsky*, *M. Pöhm* und *K. Riedl*, Mh. Chem. **81**, 77 (1950). — Siehe auch *P. Karrer* und *A. Widmer*, Helv. Chim. Acta **9**, 886 (1926).

<sup>7</sup> *M. Rink* und *H. Schäfer*, Arch. Pharmaz. **287**, 1 (1953).

es sich bei der ungesättigten Verbindung um ein Dehydro- $\alpha$ -isolupanin handelt. Nach der Abtrennung des Angustifolins aus der Lupaninfraktion von *L. perennis* haben wir das Basengemisch weiter untersucht und noch ein anderes ungesättigtes Alkaloid rein erhalten<sup>8</sup>, das auch kein Dehydro- $\alpha$ -isolupanin vorstellt. Über diese Untersuchung wird später noch berichtet werden.

## Experimenteller Teil

### Extraktion der Alkaloide

Der feingemahlene Samen von *L. angustifolius* wurde mit Methanol erschöpfend extrahiert, die stark gefärbte Lösung bis zur zähen Konsistenz auf dem Wasserbad eingengt und der Rückstand im Vak. völlig vom Lösungsmittel befreit. Er wurde dann mit der doppelten Menge heißen Wassers versetzt, einige Min. auf dem Wasserbad stehen gelassen und im Scheidetrichter mit Eisessig ( $\frac{1}{10}$  der Wassermenge) angesäuert, kräftig geschüttelt und einige Stdn. stehen gelassen. Nun wurde die wäßr. Schicht vom oben schwimmenden Fett sorgfältig abgetrennt und 2mal mit Petroläther ausgeschüttelt. Die fettfreie essigsäure Lösung wurde auf dem Wasserbad etwas eingengt, mit 20%iger Kalilauge stark alkalisch gemacht und mit Chloroform erschöpfend extrahiert. Die Chloroformlösung hinterließ nach dem Abdampfen des Lösungsmittels ein Alkaloidgemisch, aus dem das Angustifolin nach 2 verschiedenen Verfahren abgetrennt werden konnte.

### Isolierung des Angustifolins

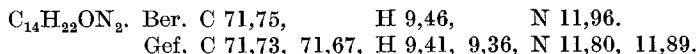
1. Das Rohalkaloidgemisch wurde durch Destillation im Kugelrohr bei 0,02 Torr in 2 Fraktionen zerlegt: Die 1. wurde bis 165° (Luftbadtemp.), die 2. von 165 bis 200° aufgefangen. Die 1. Fraktion wurde in der doppelten Menge Methanol gelöst, tropfenweise mit 70%iger Perchlorsäure bis zur neutralen Reaktion versetzt und das Lupaninperchlorat auskristallisieren gelassen. Die Mutterlauge wurde im Vak. auf das Ausgangsvolumen eingengt und etwas Äther zugesetzt, wodurch weitere Mengen von Lupaninperchlorat erhalten wurden. Die Mutterlauge dieser 2. Fällung wurde nun nach der Entfernung des Lösungsmittels im Vak. stark alkalisch gemacht und erschöpfend mit Äther extrahiert. Das Basengemisch wurde wieder im Vak. von 0,02 Torr destilliert und das bei 130 bis 160° übergehende Destillat in heißem Petroläther gelöst. Aus dieser Lösung, die nach der papierchromatographischen Untersuchung außer Angustifolin noch mindestens 2 andere Alkaloide enthält, kristallisiert (am besten nach Animpfen) schon der größte Teil des Angustifolins in Form prächtiger Prismen aus. Nach dem Abfiltrieren der Base wurde die in der Mutterlauge befindliche Substanz auf einer Aluminiumoxydsäule (stand. nach *Brockmann*) chromatographiert. (Die Säule enthielt das 25fache der Basenmenge an  $\text{Al}_2\text{O}_3$ , Durchmesser: Länge der Säule = 1:10). Zur Entwicklung und Elution wurden folgende Lösungsmittel verwendet: Petroläther, Petroläther-Äther 1:1, Äther, Chloroform und Methanol. Alle Eluate wurden konzentriert und papierchromatographisch untersucht. Das Lösungsmittel wurde dann gewechselt, wenn 1 Tropfen des Eluats keinen deutlichen Fleck mit *Dragendorff*-Reagens gab. Das Angustifolin befand sich hauptsächlich in den letzten zwei Fraktionen; nach Abdampfen des Chloroforms und Methanols konnten durch Umlösen des Rück-

<sup>8</sup> Versuche mit *P. Meindl*.

standes aus Petroläther weitere Mengen an kristallisierter Base erhalten werden.

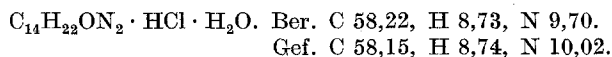
2. Das Rohalkaloidgemisch aus *L. angustifolius* wurde in einer Reibschale mit der gleichen Menge 10%iger wäbr. Kalilauge und der doppelten Menge Kieselgur sorgfältig verrieben. Es muß betont werden, daß das Mengenverhältnis zwischen Kieselgur, Kalilauge und Alkaloidgemisch von ausschlaggebender Bedeutung für die Trennung der Alkaloide ist. Die trocken erscheinende Masse wurde nun in ein passendes Chromatographierrohr gebracht und erschöpfend zuerst mit Petroläther und dann mit Chloroform eluiert. Das Angustifolin war mit dem Hydroxylupanin zum größten Teil in der Chloroformlösung zu finden. Durch Destillation bei 0,02 Torr im Kugelrohr wurden die beiden Alkaloide getrennt, wobei Angustifolin wieder in der tiefer, bis 165° übergehenden Fraktion vorlag. Es wurde dann wie oben in heißem Petroläther gelöst und auskristallisieren gelassen. In dem Petroläthereluat der Kieselgurmasse befand sich hauptsächlich das Lupanin, doch konnten aus der Mutterlauge seines Perchlorats, wie im 1. Verfahren beschrieben, noch geringe Mengen an kristallisiertem Angustifolin erhalten werden.

Nach nochmaligem Umlösen des Angustifolins aus Petroläther lag der Schmp. bei 79 bis 80° und veränderte sich nicht mehr bei weiterem Umlösen. Zur Analyse wurde die Verbindung 1 Std. bei 50 bis 60° im Hochvak. erhitzt.

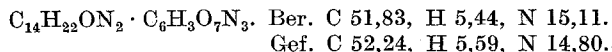


*Drehung:* In Chloroform:  $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = -1,66^\circ$  ( $\alpha_{\text{D}} = -0,16^\circ$ ,  $c = 9,64$ , 1-dm-Rohr); in Alkohol:  $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = -7,5^\circ$  ( $\alpha_{\text{D}} = -0,75$ ,  $c = 10,0$ , 1-dm-Rohr).

*Hydrochlorid:* Die äthanol. Lösung der Base wurde mit konz. Salzsäure vorsichtig bis zur sauren Reaktion versetzt (Methylorange), mit Äther bis zur Trübung verdünnt und auskristallisieren gelassen. Der Schmp. der in schönen Nadeln auskristallisierenden Verbindung lag nach weiterem Umlösen aus Aceton bei 134 bis 135° (u. Zers.). Zur Analyse wurde im Vak.-Exsikkator getrocknet.



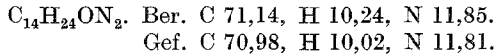
*Pikrat:* Es wurde in äther. Lösung mit überschüssiger äther. Pikrinsäurelösung gefällt und aus Alkohol umgelöst. Schmp. 186°.



#### Katalytische Hydrierung des Angustifolins

1. *Dihydroangustifolin:* 0,2 g Angustifolin wurden in 8 ml Eisessig mit Pt (aus 30 mg PtO<sub>2</sub> nach Adams) als Katalysator hydriert. In 1½ Stdn. wurden bei 22° und 750 Torr 22 ml H<sub>2</sub> aufgenommen (ber. für die Absättigung einer Doppelbindung: 21 ml H<sub>2</sub>). Nach Abfiltrieren des Katalysators wurde im Vak. eingeeengt, dann alkalisch gemacht und mit Äther extrahiert. Der Ätherrückstand wurde im Vak. von 0,02 Torr bei 130 bis 140° (Luftbad)

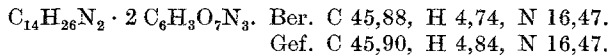
destilliert. Beim Umlösen aus Petroläther wurden schöne Nadeln vom Schmp. 82 bis 83° erhalten.



*Drehung:* In Äthanol:  $[\alpha]_D^{20} = + 36,84^\circ$  ( $\alpha_D = + 1,40$ ,  $c = 3,80$ , 1-dm-Rohr).

2. *Dihydrodesoxyangustifolin:* 0,2 g Angustifolin wurden in 8 ml 1 n HCl mit Pt aus 200 mg  $PtO_2$  hydriert. In 30 Stdn. wurden bei 22° und 750 Torr 68 ml  $H_2$  aufgenommen (ber. für einen Verbrauch von 3  $H_2$ : 63 ml). Die vom Katalysator abfiltrierte Lösung wurde alkalisch gemacht und mit Äther extrahiert. Der Ätherrückstand ging bei 0,02 Torr bei 80 bis 90° Luftbadtemp. als farblose, bewegliche Flüssigkeit über.

*Dipikrat:* In Äther dargestellt und aus Alkohol umgelöst. Schmp. 207° (u. Zers.).



*Chloroplatinat:* Die Base wurde in verd. HCl gelöst und tropfenweise mit 10%iger  $H_2PtCl_6$  im Überschuß versetzt. Kleine gelbe Nadeln, deren Zersp. nach dem Umlösen aus Alkohol bei 208 bis 210° lag.

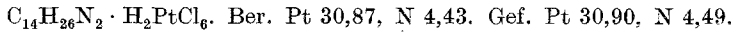
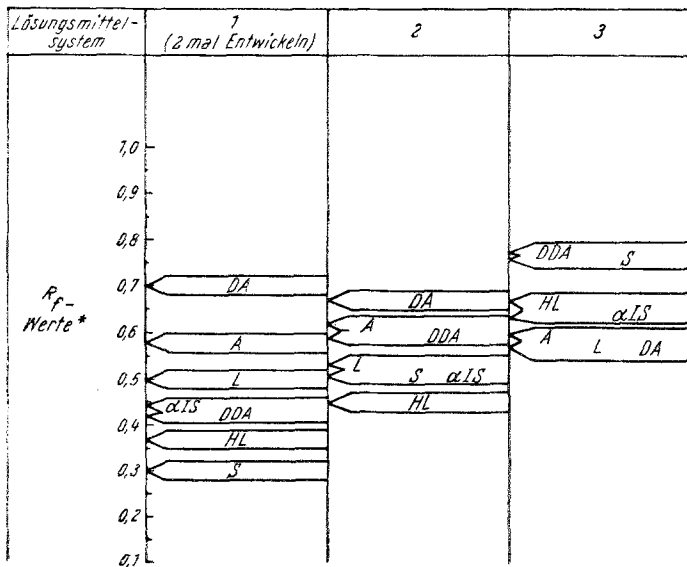


Tabelle 1



A: Angustifolin; DA: Dihydroangustifolin; DDA: Dihydrodesoxyangustifolin; L: Lupanin; HL: Hydroxylupanin; S: Spartein; alpha IS: alpha-Isospartein

\* Es wurde Schleicher & Schüll-Papier 2043 b verwendet.

## Zur papierchromatographischen Untersuchung des Angustifolins, seiner Derivate und anderer Lupinen-Alkaloide

Zur papierchromatographischen Abtrennung des Angustifolins von den anderen Lupinen-Alkaloiden wurde besonders die Ringtechnik nach *Rutter*<sup>9</sup>, modifiziert nach *Saifer* und *Oreskes*<sup>10</sup>, verwendet. Es wurde mit Rundfiltern von 11 cm Durchmesser gearbeitet, das Lösungsmittel wurde über eine aus dem Filter parallel zur Faserrichtung ausgeschnittene Zunge befördert und die zu untersuchende Lösung mit einer kalibrierten Platinöse (Vol. zirka 1  $\mu$ l) auf den Startpunkt gebracht, wobei auf ein Chromatogramm höchstens sieben verschiedene Lösungen aufgetragen wurden<sup>3</sup>. Nach dem Entwickeln des Chromatogramms wurden die Alkaloide durch Eintauchen des Filters in ein nach *Munier* und *Macheboeuf*<sup>11</sup> modifiziertes *Dragendorff*-Reagens sichtbar gemacht oder mit dem Phosphormolybdän-Reagens nach *List*<sup>12</sup> angefärbt. Nach *M. Wiewiorowski* und *M. D. Bratek*<sup>13</sup> wurden drei Lösungsmittelsysteme verwendet, die sich bei der Trennung der interessierenden Lupinen-Alkaloide gut ergänzten. 1. Wassergesättigtes n-Butanol; 2. n-Butanol, konz. Salzsäure und Wasser (50 : 7,5 : 13,5); 3. gesättigte Ammonsulfatlösung und Äthanol (25 : 0,3). Aus der Tabelle 1 sind die Trenneigenschaften dieser Lösungsmittelsysteme in bezug auf das Angustifolin und seine Hydrierungsprodukte sowie auf vier weitere Lupinen-Alkaloide zu ersehen. Die Identifizierung der einzelnen Basen erfolgte aber meist nicht mittels der  $R_f$ -Werte, sondern durch direkten Vergleich, was bei der angewandten Technik besonders vorteilhaft ist.

Wir danken Herrn Univ.-Doz. *G. Kainz* bestens für die Durchführung der Mikroanalysen und Herrn Ing. Dr. *J. Derkosch* für die Aufnahme der IR- und UV-Spektren.

<sup>9</sup> *L. Rutter*, *Nature* **161**, 435 (1948).

<sup>10</sup> *A. Saifer* und *I. Oreskes*, *Analyt. Chemistry* **25**, 1539 (1953).

<sup>11</sup> *R. Munier* und *M. Machéboeuf*, *Bull. soc. chim. biol.* **31**, 1144 (1949); **32**, 192 (1950); **33**, 846 (1951).

<sup>12</sup> *P. H. List*, *Naturwiss.* **41**, 454 (1954).

<sup>13</sup> Im Druck.