

## Alkaloide aus *Vincetoxicum officinale* Moench.

(Gemeine Schwalbenwurz)

Von

M. Pailer und W. Streicher

Aus dem Organisch-chemischen Institut der Universität Wien

Mit 2 Abbildungen

(Eingegangen am 16. März 1965)

In *Vincetoxicum officinale* Moench. wurden erstmalig Alkaloide nachgewiesen. Die chromatographische Trennung ergab zwei Hauptbasen, von denen sich die eine als Tylophorin identifizieren ließ. Die Konstitution der zweiten neuen Base wurde weitgehend aufgeklärt.

For the first time, alkaloids have been detected in *Vincetoxicum officinale* Moench. Chromatographic separation yielded two major bases, one of which has been identified as tylophorine. The structure of the second, new base has been elucidated to a considerable extent.

Die Pflanzenfamilie der Asclepiadaceae wurde mehrfach auf Alkaloide hin untersucht. So wurde in *Cryptolepis triangularis*<sup>1</sup> und *Cryptolepis sanguinolenta*<sup>2</sup> Cryptolepin gefunden. In *Asclepias syriaca*<sup>3</sup> wurde Nicotin nachgewiesen. In *Tylophora asthmatica* fand man zwei Alkaloide, Tylophorin (II) und Tylophorin (III)<sup>4, 5</sup>. Die vollständige Strukturaufklärung dieser beiden Alkaloide gelang in den letzten Jahren *T. R. Govindachari*

<sup>1</sup> *Ed. Clinquant*, Bull. Acad. Roy. Med. Belg. [5] **9**, 627 (1929); Chem. Abstr. **24**, 1139 (1930).

<sup>2</sup> *E. Gellert*, *Raymond-Hamet* und *E. Schlittler*, Helv. chim. Acta **34**, 642 (1951).

<sup>3</sup> *L. Marion*, Canad. J. Res. **17 B**, 21 (1939); Chem. Abstr. **33**, 5128 (1939).

<sup>4</sup> *A. N. Ratnagiriswaran* und *K. Venkatachalam*, Indian J. Med. Res. **22**, 433 (1935); Chem. Zbl. **1935**/II, 2958.

<sup>5</sup> *R. N. Chopra*, *N. N. Ghosh*, *J. B. Bose* und *S. Ghosh*, Arch. Pharmaz. **275**, 236 (1937).

und Mitarb.<sup>6-10</sup>. Aus *Antitoxicum funebre* isolierten *T. F. Platonova*, *A. D. Kuzovkov* und *P. S. Massagetov*<sup>11</sup> ein Alkaloid Antofin,  $C_{23}H_{25}O_3N$ , Schmp. 213—215° C mit drei  $OCH_3$ -Gruppen, über dessen Konstitution nichts ausgesagt wurde, sowie zwei nicht näher identifizierte Basen.

*Vincetoxicum officinale* (Mönch., gemeine Schwalbenwurz), ebenfalls aus der Familie der *Asclepiadaceae*, ist eine ausdauernde Pflanze, die in ganz Mitteleuropa an sonnigen, trockenen Orten wächst. Sie hat mehrere dünne, 30—120 cm hohe Stengel. Im Gebüsch windet sie sich und wird dann bis zu 2 m lang. Schwalbenwurz war früher eine beliebte Arzneipflanze und wurde in Gärten gezogen. Der stark verzweigte Wurzelstock wurde besonders gegen Pest, Vergiftungen, Herzklopfen, Wassersucht, als schweißtreibendes Mittel etc. verwendet. Der Wurzelstock war später als *Rhizoma vincetoxici* oder *Radix hircundinariae* officinell und diente als harnförderndes, antiskrofulöses Mittel, als Emeticum, Antihydopicum, bei Pest, Schlangenbiß, hat aber gegenwärtig seine Bedeutung fast ganz verloren. Beim Volke ist der Absud bisweilen noch als abführendes, selbener brechenerrgendes Mittel bekannt.

Über die chemischen Inhaltstoffe der Wurzel, die als *Radix vincetoxici* im Handel erhältlich ist, wurden schon früh Untersuchungen angestellt. So konnte ein stark linksdrehendes Glycosid  $C_{50}H_{20}O_{20}$ , Vincetoxin<sup>12, 13, 14</sup>, gefunden werden sowie ätherische Öle, Harz, Schleim, Zucker, Äpfelsäure etc. Das Vorkommen eines Alkaloids in dieser Droge ist bisher nirgends beschrieben.

Wir haben bei der  $CH_2Cl_2$ -Extraktion dieser mit Ammoniak befeuchteten Droge und Aufarbeitung auf Basen 0,18%/<sub>00</sub> vom Trockengewicht an basischen Anteilen erhalten. Von diesem Rohalkaloidgemisch konnten durch Chromatographie auf einer  $Al_2O_3$ -Säule zwei Hauptbestandteile angereichert werden, die wir im folgenden **A** und **B** nennen wollen. Sie wurden durch mehrmaliges Umkristallisieren und durch Sublimation im Hochvakuum weiter gereinigt. Die Fraktion **B** ergab ein Alkaloid mit dem

<sup>6</sup> *T. R. Govindachari*, *B. R. Pai* und *K. Nagarajan*, *J. Chem. Soc.* [London] **1954**, 2801.

<sup>7</sup> *T. R. Govindachari*, *M. V. Lakshmikantham*, *K. Nagarajan* und *B. R. Pai*, *Tetrahedron* [London] **4**, 311 (1958).

<sup>8</sup> *T. R. Govindachari*, *M. V. Lakshmikantham*, *B. R. Pai* und *S. Rajappa*, *Tetrahedron* [London] **9**, 53 (1960).

<sup>9</sup> *T. R. Govindachari*, *M. V. Lakshmikantham* und *S. Rajappa*, *Tetrahedron* [London] **14**, 284 (1961).

<sup>10</sup> *T. R. Govindachari*, *B. R. Pai*, *I. S. Ragade*, *S. Rajappa* und *N. Viswanathan*, *Tetrahedron* [London] **14**, 288 (1961).

<sup>11</sup> *T. F. Platonova*, *A. D. Kuzovkov* und *P. S. Massagetov*, *J. obschtsch. Chim.* **28**, 3131 (1958); *Chem. Abstr.* **53**, 7506 d (1959).

<sup>12</sup> *K. Kubler*, *Arch. Pharmaz.* **246**, 660 (1908).

<sup>13</sup> *F. Korte* und *J. Rippfahn*, *Ann. Chem.* **621**, 58 (1959).

<sup>14</sup> *F. Korte*, *Angew. Chem.* **66**, 562 (1954).

Schmp. 270—272° (u. Zers.), das durch Vergleich der Massenspektren und der IR-Spektren als Tylophorin\* identifiziert werden konnte, dessen Struktur die des 2,3,6,7-Tetramethoxy-9,11,12,13,13 a,-14-hexahydro-dibenzo[*f,h*]pyrrolo[1,2-*b*]isochinolins, C<sub>24</sub>H<sub>27</sub>O<sub>4</sub>N (II), ist.

Die Fraktion A ergab ein schwach gelbes Pulver, mit der Zusammensetzung C<sub>23</sub>H<sub>25</sub>O<sub>3</sub>N, das einen Schmp. von 208—210° C (u. Zers.) aufwies. Es färbt sich an der Luft bei längerem Stehen stärker gelb. Auch bei der Sublimation fällt es als gelbes, feinkristallines Pulver an. Vor allem in Lösung scheint es sich ziemlich rasch zu zersetzen, worauf eine starke gelbe bis braune Verfärbung hindeutet.

Dünnschichtchromatographisch erwies sich das Alkaloid nach Besprühen mit *Dragendorff*-Reagens als einheitlich. Es konnten jedoch in Dünnschichtchromatogrammen von Lösungen, die längere Zeit gestanden waren, unter der UV-Lampe immer mehrere stark fluoreszierende Verunreinigungen mit anderem *R<sub>f</sub>*-Wert festgestellt werden. Diese gaben mit *Dragendorff*-Reagens keine Färbung.

Die Base ist in Chloroform und Methylenchlorid leicht, in Alkohol, Aceton, Methyläthylketon schwer und in Äther nahezu unlöslich.

Das UV-Spektrum deutet auf ein Phenanthrenderivat hin. Das IR-Spektrum zeigte keine OH- oder NH-Gruppe. Die Methoxylbestimmung nach *Zeisel* ergab 3 Methoxylgruppen.

Diese Eigenschaften wiesen auf eine mögliche Verwandtschaft mit dem Alkaloid Tylophorin (Formel II) hin. Ein Vergleich der UV-, IR- und der Massenspektren von Tylophorin und unserem Alkaloid A bestätigte diese Vermutung.

Die UV-Spektren von A und Tylophorin waren nahezu identisch (Abb. 1) und zeigten nur ganz kleine Abweichungen. Auch die IR-Spektren stimmten weitgehend überein, nur im Bereich der für den Substitutionstyp aromatischer Verbindungen charakteristischen Banden zwischen 1000 und 650 cm<sup>-1</sup> ergaben sich spezifische Unterschiede. Es treten sowohl bei Tylophorin als auch bei unserem Alkaloid A zwei scharfe, intensive Banden bei 845<sup>-1</sup> und 775 cm<sup>-1</sup> auf, die charakteristisch für eine 1,2,4,5-Substitution sind<sup>15</sup>. Weil diese beiden Banden auch in unserem Alkaloid A vorhanden sind, müssen 2 der 3 Methoxylgruppen in 2,3 bzw. 6,7-Stellung stehen. Bei A tritt nun zusätzlich eine scharfe Bande bei 810 cm<sup>-1</sup> auf, die der  $\gamma$ -CH-Schwingung von zwei benachbarten Wasserstoffatomen, also in unserem Falle einer 1,2,4-Substitution entspricht<sup>16, 15</sup>. Die dritte Methoxylgruppe sollte daher in 2- oder 3- bzw. 6- oder 7-Stellung sein, die drei Methoxylgruppen also in 2,3,6- oder 2,3,7- bzw. in 2,6,7- oder 3,6,7-Stellung.

\* Für die Überlassung einer Probe von Tylophorin danken wir Herrn Prof. T. R. Govindachari.

<sup>15</sup> R. E. Richards und H. W. Thompson, J. Chem. Soc. [London] 1947, 1260.

<sup>16</sup> H. Dannenberg, U. Schiedt und W. Steidle, Z. Naturforsch. 8 b, 269 (1953).

Eine weitere Identifizierung des Grundgerüsts gelang durch Vergleich der Massenspektren\* (Abb. 2 a). Das Massenspektrum von A zeigt

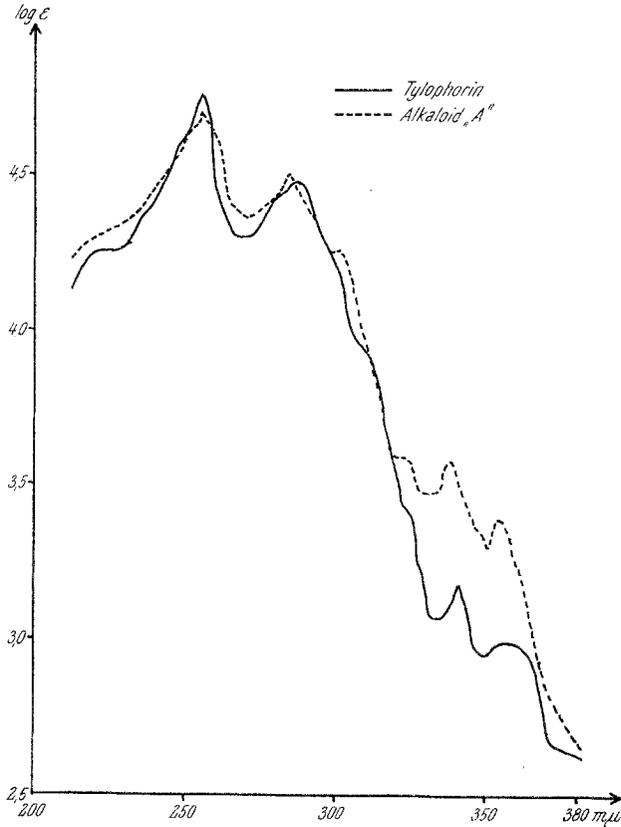
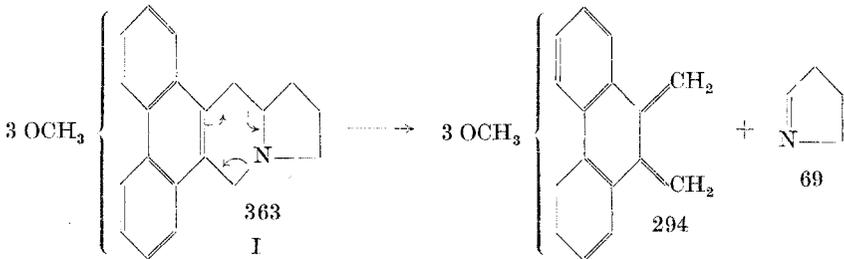


Abb. 1

eine Molekulargewichtsspitze bei 363 Masseeinheiten und ein intensives Bruchstück bei  $363 - 69 = 294$ . Das Auftreten dieses Bruchstückes bei 294 ME läßt sich durch folgenden Mechanismus interpretieren:



\* Für die Aufnahme und Interpretation der Spektren danken wir Herrn Doz. Dr. G. Spittler, Göttingen.

Um diese Interpretation zu erhärten, haben wir das Massenspektrum von Tylophorin aufgenommen und dort, verschoben um 30 ME, da ja Tylophorin 4 Methoxygruppen besitzt, genau den gleichen Spaltungsmechanismus feststellen können: Tylophorin zeigt eine Molekulargewichtsspitze bei 393 ME und ein intensives Bruchstück bei  $393 - 69 = 324$  (Abb. 2b).

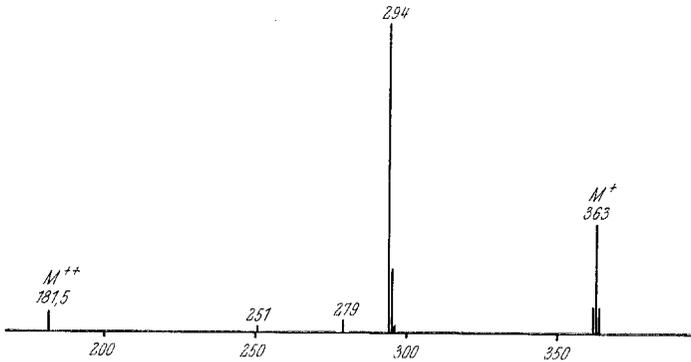


Abb. 2 a

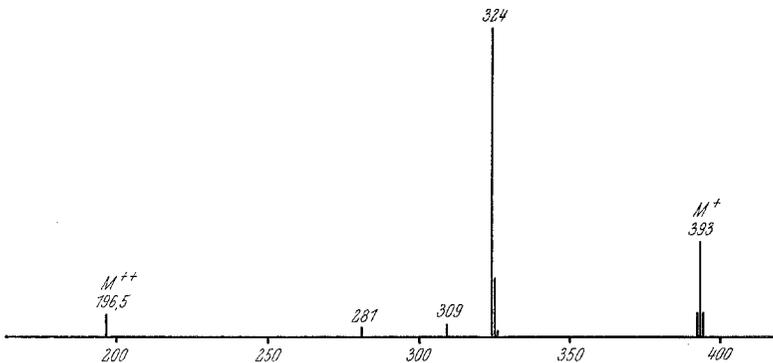


Abb. 2 b

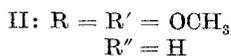
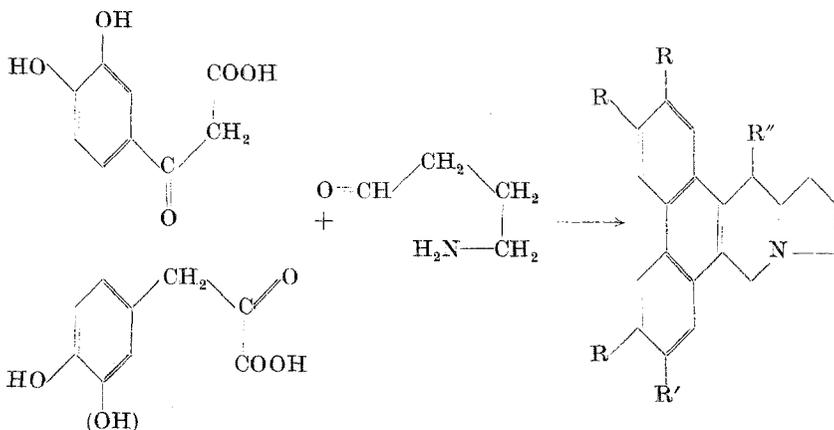
Es ist für unser Alkaloid **A** also die Struktur eines Trimethoxy-derivats des 9, 11, 12, 13, 13 a, 14-Hexahydro-dibenzo[*f, h*]pyrrolo[1, 2-*b*]isochinolins anzunehmen.

Die Verknüpfung des Phenanthrenringes mit dem Indolizinsystem in einer anderen als 9,10-Stellung ist zwar nicht vollständig auszuschließen, doch ist auf Grund der weitgehenden Übereinstimmung der Spektren mit Tylophorin, aber auch aus den unten angeführten biogenetischen Überlegungen, die vorgeschlagene Formel als ziemlich gesichert anzunehmen.

Um die Stellung der 3 Methoxygruppen am Phenanthrenring genauer festlegen zu können, versuchten wir, durch oxydativen Abbau zu ein-

facheren Produkten zu gelangen. Wir haben, da wir aus Materialmangel nur ganz kleine Mengen für diesen Abbau verwendeten, nur *eine* Abbauverbindung isolieren können, die wir als *m*-Hemipinsäure charakterisierten. Der Dimethylester wurde gaschromatographisch mit einer authentischen Probe identisch befunden. Damit ist also das aus der Interpretation der IR-Spektren gewonnene Ergebnis zum Teil bestätigt, daß nämlich 2 Methoxygruppen die 3,4- bzw. 6,7-Stellung einnehmen.

Weitere Hinweise auf die Stellung der 3 Methoxygruppen ergaben sich auch aus biogenetischen Überlegungen<sup>17</sup>. Es kann angenommen werden, daß diese Gruppe von Alkaloiden in der Pflanze durch Verknüpfung zweier Moleküle Dihydroxyphenylalanin bzw. aus einem Dihydroxyphenylalanin und einem Tyrosin mit Ornithin, oder diesen äquivalenten Verbindungen, wie der entsprechenden Benzoylessigsäure, Phenylbrenztraubensäure,  $\gamma$ -Aminobutyraldehyd, entstehen.



Die beiden wahrscheinlichsten Möglichkeiten für die Stellung der Methoxygruppen sind also 2,3,6 oder 3,6,7, die zu unterscheiden durch oxydativen Abbau nicht möglich ist.

Unser Alkaloid **A** ist daher wahrscheinlich ein 3,6,7- oder 2,3,6-Tri-methoxy-9,11,12,13,13 a,14-hexahydro-dibenzo[*f,h*]pyrrolo[1,2-*b*]isoquinolin, möglicherweise identisch mit dem von *T. F. Platonova* et al.<sup>11</sup> isolierten Alkaloid Antofin.

<sup>17</sup> *H. G. Boit*, *Ergebn. d. Alkaloidchem. bis 1960*, S. 405. Akademie-Verlag, Berlin 1964.

### Experimenteller Teil

Die Schmelzpunkte wurden am Heizmikroskop nach *Kofler* bestimmt. Destillationen und Sublimationen wurden im Kugelrohr ausgeführt, es wird daher die Temp. des Luftbades angegeben.

Die UV-Absorptionsspektren wurden mit einem Bausch & Lomb-Spektrophotometer, Modell 505, die IR-Spektren auf einem Perkin-Elmer-Spektrographen, Modell 237, aufgenommen.

#### Isolierung der Basen

25 kg Radix vincetoxici wurden mit 7*n*-NH<sub>3</sub> gerade durchfeuchtet und dann mit CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> kontinuierlich extrahiert. Es entstand eine braune Lösung, die filtriert und etwas eingengt wurde. Dann wurde mit 5proz. H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> in mehreren Portionen ausgeschüttelt. Es entstand eine sehr stabile Emulsion, die nur durch Zentrifugieren oder sehr langes Stehenlassen zerstört werden konnte. Die gesammelten sauren Auszüge wurden mehrmals mit CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> gewaschen und dann mit NH<sub>3</sub> alkalisch gemacht, wobei eine Trübung auftrat. Die alkal. Lösung wurde dann mit CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> in mehreren Portionen ausgeschüttelt. Die braune, nunmehr die basischen Stoffe enthaltende Lösung wurde mit NaCl getrocknet und im Vak. zur Trockene eingedampft. Es blieben 4,52 g einer braunen, amorphen, teilweise harzigen Masse zurück.

#### Chromatographische Trennung der Alkaloide

In eine Säule aus einem Dialysierschlauch von 3 cm  $\varnothing$  und 60 cm Höhe wurden 400 g Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> nach *Brockmann* und 4 g Fluoreszenzindikator ZS-Super (Riedel-de Haën AG.) in CHCl<sub>3</sub> eingeschlämmt. 4,5 g des Rohbasengemisches wurden in möglichst wenig CHCl<sub>3</sub> gelöst und auf die Säule aufgebracht. Dann wurde mit CHCl<sub>3</sub> + 0,5% CH<sub>3</sub>OH eluiert, wobei das Wandern der Bande im UV-Licht verfolgt werden konnte, und zwar bei 245 m $\mu$  als fluoreszenzlöschende und bei 350 m $\mu$  als dunkelblau fluoreszierende Bande. Nachdem 800 ml durchgelaufen waren, ehe die erste breite Bande das Säulenende erreicht hatte, wurde in 200-ml-Fractionen aufgefangen, die nach dem Abdestillieren des Lösungsmittels folgende Gewichtsverteilung hatten.

I/1	66,0 mg	gelbes Öl		
I/2	500,0 mg	leicht gelber kristalliner Rückstand		
I/3	287,5 mg	„ „ „ „		
I/4	168,0 mg	„ „ „ „		
I/5	308,4 mg	„ „ „ „		
I/6	116,8 mg	„ „ „ „		
I/7	100,4 mg	„ „ „ „		
I/8	44,5 mg	gelb-braunes Öl		

Bei Zugabe steigender Mengen Methanol zum Chloroform konnten insgesamt noch 786 mg tief dunkelbraun gefärbte Harze isoliert werden, die nicht näher untersucht wurden. Der Rest blieb als nicht mehr eluierbare braune Zone am Säulenkopf zurück. Aus der gefundenen Gewichtsverteilung läßt sich auf das Vorliegen von zwei verschieden rasch laufenden Fractionen **A** und **B** schließen. Fraction **A** reicht von I/1 bis etwa I/4, Fraction **B** von etwa I/5 bis I/7, jedoch dürften die mittleren Fractionen noch ein Gemisch von **A** und **B** enthalten.

Die Fractionen I/2 bis I/4 hatten Schmelzpunkte zwischen 200—210° C, die Fractionen I/5 bis I/7 zwischen 220 und 270° C.

Um ein möglichst reines Produkt zu erhalten, wurde nun nur Fraktion I/2 weiter gereinigt (Alkaloid A). Sie wurde in wenig  $\text{CHCl}_3$  heiß gelöst und die Lösung am Wasserbade eingeeengt, bis die ersten Krusten auftraten. Dann wurden noch einige Tropfen  $\text{CHCl}_3$  zugegeben, bis gerade alles gelöst war. Beim Abkühlen schied sich ein feinkristalliner Niederschlag ab, der abgesaugt wurde. Dieser Vorgang wurde 2mal wiederholt und dann die Substanz in kleinen Portionen sublimiert (0,001 mm, 200—220° C). Das erhaltene Pulver hatte einen Schmp. von 208—210° C;

$\lambda_{\text{max}}$	354 m $\mu$	341 m $\mu$	284 m $\mu$	256 m $\mu$
$\log \epsilon$	3,00	3,18	4,51	4,70

$\text{C}_{23}\text{H}_{25}\text{O}_3\text{N}$ . Ber. C 76,03, H 6,89, N 3,86,  $\text{OCH}_3$  25,62.  
Gef. C 75,93, H 7,09, N 4,19,  $\text{OCH}_3$  25,45.

Zur weiteren Reinigung wurden die Fraktionen I/3 bis I/7 vereinigt und nochmals auf einer  $\text{Al}_2\text{O}_3$ -Säule, wie oben beschrieben, chromatographiert. Es wurde in 50-ml-Fractionen aufgefangen, wobei eine ähnliche Gewichtsverteilung wie bei Chromatographie I auftrat, die beiden Substanzen A und B aber noch immer nicht völlig getrennt waren.

II/1	20 mg	II/8	94 mg
II/2	133 mg	II/9	83 mg
II/3	108 mg	II/10	59 mg
II/4	86 mg	II/11	21 mg
II/5	84 mg	II/12	11 mg
II/6	77 mg	II/13	3 mg
II/7	99 mg		

Alle Fraktionen fielen als gelb gefärbter Rückstand an. Die Fraktionen II/9 und II/10 wurden wieder vereinigt und nochmals über  $\text{Al}_2\text{O}_3$  chromatographiert, wobei sich diesmal eine gleichmäßige Gewichtsverteilung einstellte. Nach Umkristallisieren aus  $\text{CHCl}_3/\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$  und anschließender Sublimation (0,001 mm, 200—220° C) wurde ein gelbes Pulver erhalten, das ein Molgewicht 393 und ein mit Tylophorin übereinstimmendes IR-Spektrum aufwies (Schmp. 270—272°).

#### Oxydation des Alkaloids A mit alkal. $\text{H}_2\text{O}_2$

23,1 mg des Alkaloids A wurden in 40 ml Tetrahydrofuran gelöst, 2 ml 10proz. KOH zugegeben und unter Rühren und Erhitzen am Wasserbad insgesamt 10 ml 30proz.  $\text{H}_2\text{O}_2$  in 1 ml-Portionen zugetropft. Es wurden im Verlauf der Reaktion mehrmals Proben der Lösung entnommen und auf einer Kieselgel-G-Dünnschichtplatte mit  $\text{CHCl}_3/\text{CH}_3\text{OH}$  (8:2) laufen gelassen. Beim Besprühen mit *Dragendorff*-Reagens konnte das Verschwinden des Alkaloids A ( $R_f$ -Wert 0,6) mit zunehmender  $\text{H}_2\text{O}_2$ -Zugabe verfolgt werden. Statt dessen folgte in steigender Menge eine neue basische Verbindung mit dem  $R_f$ -Wert 0,2, die mit *Dragendorff*-Reagens ebenfalls angefärbt wurde.

Nach Beendigung der Reaktion wurde das überschüssige  $\text{H}_2\text{O}_2$  durch Zugabe von pulverigem Pd zerstört, die Lösung filtriert und im Vak. zur Trockene eingedampft. Nach Aufnehmen des Rückstandes mit wenig Wasser wurde die alkal. Lösung mit Äther und  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  mehrmals ausgeschüttelt, um alle basischen und neutralen Anteile zu entfernen. Dann wurde mit HCl angesäuert, mit Äther 2mal ausgeschüttelt und anschließend noch 12 Stdn. mit

Äther extrahiert. Die vereinigten Ätherextrakte wurden mit NaCl getrocknet und das Lösungsmittel vertrieben. Ausb. 8 mg.

#### Methylierung der Abbausäuren

Das Abbausäuregemisch (8 mg), erhalten durch Oxydation des Alkaloids A, wurde in Äther gelöst, mit einem großen Überschuß von äther. Diazomethanlösung versetzt und über Nacht stehen gelassen. Das überschüssige  $\text{CH}_2\text{N}_2$  wurde am Wasserbad abdestilliert, die Ätherlösung mehrmals mit  $\text{NaHCO}_3$ -Lösung ausgeschüttelt und dann mit NaCl getrocknet. Die Lösung wurde in ein Kugelrohr gebracht und nach Abdestillieren des Äthers der Abdampfrückstand destilliert. Es ging bei 0,001 mm zwischen 100 und 120° C ein Öl über, das teilweise erstarrte.

Im Gaschromatogramm dieses Estergemisches (1-m-Säule, 10% Apiezon M auf Celite, 200° C) konnten mindestens 5 Komponenten nachgewiesen werden. Eine davon hatte eine Bande an der gleichen Stelle wie der Dimethylester von m-Hemipinsäure, der wie oben beschrieben aus synthet. m-Hemipinsäure hergestellt worden war. Zugabe von synthet. m-Hemipinsäuredimethylester zum Abbauestergemisch und erneute Aufnahme eines Gaschromatogrammes ergab nur *eine* Spitze, an der für m-Hemipinsäuredimethylester charakteristische Stelle, so daß eine der Abbausäuren als m-Hemipinsäure identifiziert wurde.

Die Analysen wurden von Herrn Dr. Zak, Wien, ausgeführt.