

# ALKALOIDE AUS DER THAILÄNDISCHEN MENISPERMACEEN-DROGE KRUNG KHA MAO: 2. MITT.<sup>1</sup>: ISOLIERUNG UND STRUKTURAUFKLÄRUNG EINES NEUEN BERBAMINALKALOIDS

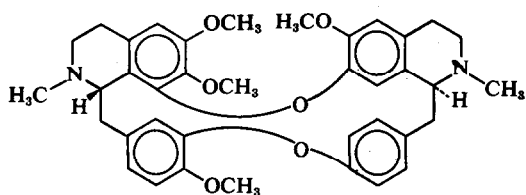
B. HOFFSTADT, D. MOECKE, P. PACHALY und F. ZYMALKOWSKI\*  
Pharmazeutisches Institut der Universität Bonn, 53 Bonn, Kreuzbergweg 26, BRD

(Received in Germany 24 August 1973; Received in UK for publication 20 September 1973)

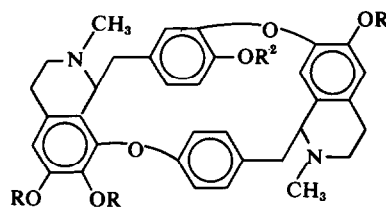
**Zusammenfassung**—Aus der Thai-Droge Krung Kha Mao (Menispermaceae) wird als neues, monoquartäres Berbaminalkaloid das Monomethyltetrandrinium-chlorid isoliert und seine Struktur durch Spektren und Partialsynthese aus Tetrandrin bewiesen.

**Abstract**—As a new Berbamine-alkaloid Monomethyltetrandriniumchlorid was isolated from the thai-drug Krung Kha Mao (Menispermaceae). The structure of this alkaloid is determined by its spectral data and the partial-synthesis from tetrandrine.

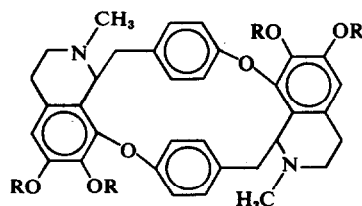
Die Stammpflanze der in der thailändischen Volksmedizin als Fieberdroge verwendeten Wurzel "Krung Kha Mao" soll nach Untersuchungen von Prasert Deechoi<sup>2</sup> die Menispermacee *Cissampelos pareira* sein. Uns selbst sind allerdings bei der Überprüfung dieser Droge Zweifel daran gekommen, als wir das Hauptalkaloid von Krung Kha Mao als Tetrandrin (1) identifizierten.<sup>1</sup> Dieses Alkaloid (1) mit seiner spiegelbildsymmetrischen Anordnung der beiden Benzylisochinolin-systeme unterscheidet sich zu auffällig von den rotations-symmetrischen Alkaloiden des Curin- (2) und Isochondodendrintyps (3), sowie von den quartären Basen Cissamin (= Cyclanolinchlorid) und den in ihrer Struktur noch unbekannt Basen Menismin und Pareirin, die vorwiegend indische Autoren<sup>3-14</sup> aus *Cissampelos pareira* isoliert haben, als dass es sich hier um Standort-bedingte Varianten handeln könnte. Dasselbe trifft für die ebenfalls spiegel-symmetrischen Basen Isotetrandrin, Limacin und Berbamin zu, die das Tetrandrin in Krung Kha Mao begleiten.<sup>15</sup> Lediglich das rotations-symmetrische Isochondodendrin kommt hier<sup>14</sup> wie da<sup>3,4,7</sup> vor. Ähnliche Differenzen kündigen sich nun auch bei den quartären Alkaloiden an. Diese liessen sich nach Abtrennung der tertiären Pflanzenbasen aus dem Primärextrakt als Jodide fällen und mit Hilfe eines Anionen-Austauschers in Chloride<sup>16</sup> verwandeln. Sowohl dünn-schicht-chromatographisch als auch elektrophoretisch wurde das Chlorid-Gemisch in fünf Bestandteile zerlegt, von denen einige offenbar nicht sehr stabil sind; jedenfalls enthielten Lösungen, die einige Wochen gestanden hatten mehr als doppelt so viele Bestandteile. Durch



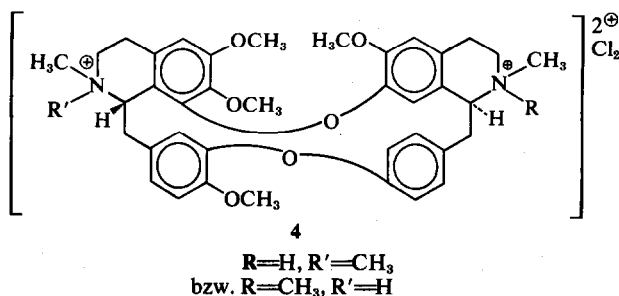
1



2



3



Säulenchromatographie über Aluminiumoxid gelang bisher die Isolierung eines der fünf quartären Alkaloide (4), das nach dem Umkristallisieren aus Chloroform-Petroläther bei 208° schmolz und eine spezifische Drehung von  $[\alpha]_D^{20} + 51.50$  zeigte (Methanol,  $c = 0.002$ ). Mit dem Dampfdruck-Osmometer wurde das Molekulargewicht 709 gefunden. IR- und NMR-Spektren zeigten nahe Verwandtschaft zu den tertiären Alkaloiden vom Berbamin-Typ.

Besonders aufschlussreich war das Massenspektrum: 2 Peaks bei  $m/e = 36$  und  $m/e = 50$  mit Isotopenpeaks bei  $m/e = 38$  und  $m/e = 52$  kennzeichneten die Spaltstrücke Chlorwasserstoff und Methylchlorid. Das restliche Spektrum war identisch mit dem des Tetrandrins.

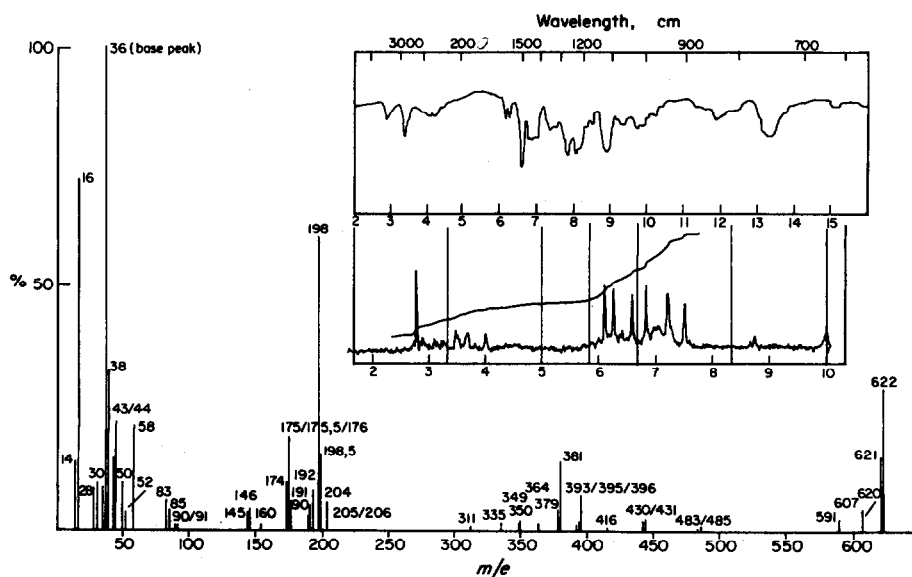
Dieser Befund sprach eindeutig für ein monoquartäres Methyltetrandrinium-chlorid. Er wurde abgesichert durch eine Partialsynthese aus Tetrandrin. Behandlung dieser ditertiären Base mit einem Unterschuss von Methyljodid führte zu einem chromatographisch auftrennbaren Gemisch von vier Substanzen, das neben Ausgangsstoff und

Tabelle 1. NMR-Signallagen ( $\tau$ ; interner Standard: TMS; CDCl<sub>3</sub>)

	Tetrandrin 1	Tetrandrin-HCl	4
Aromaten			
Protonen	2.65-4.0	2.8-3.83	2.7-4.1
4° O-Methyl-	6.10	6.07	6.10
6 O-Methyl-	6.27	6.18	6.26
6' O-Methyl-	6.65	6.53	6.59
7 O-Methyl-	6.82	6.78	6.82
N-Methyl	7.70	7.25	7.50
N' Methyl	7.41	6.98	7.22

diquartärem Tetrandrinium-jodid die beiden monoquartären Tetrandrinium-jodide enthielt. Eins davon war identisch mit dem Hydro-jodid unseres neu isolierten Alkaloids und wurde wie dieses durch Permethylierung in diquartäres Dimethyltetrandrinium-jodid überführt.

Damit bleibt lediglich die Frage offen, welches



IR (KBr), NMR(CDCl<sub>3</sub>) und MS von 4

der beiden N-Atome des Tetrandrins in dem von uns aus der Pflanze isolierten Alkaloid in quartärer Form vorliegt. Spekulationen darüber anzustellen hat keinen Sinn, da sich beide mono-Methylierungsprodukte des Tetrandrins chemisch nebeneinander in vergleich-baren Mengen bilden. Solange für eine Strukturauflklärung durch Abbau-Reaktionen nicht genügend Material zur Verfügung steht, könnte nur eine Röntgen-Analyse Sicherheit bringen.\*

Auf jeden Fall gehört auch das erste Alkaloid aus der Reihe der quartären Pflanzenbasen von Krung Kha Mao einem Typ an, der in Cissampelos-Arten bisher nicht gefunden worden ist, wohl aber in *Cyclea barbata*,<sup>18,19</sup> einer Menispermacee von so ähnlichem Habitus, dass eine sichere Unterscheidung von *Cissampelos pareira* nur mit Hilfe der Blüten getroffen werden kann, die leider nur selten zu beobachten sind. Ein aus Thailand eingeflogenes Exemplar von Krung Kha Mao ist im Lauf von zwei Jahren zu einem stattlichen Busch herangewachsen, ohne während dieser Zeit eine einzige Blüte getrieben zu haben. Wenn sich unser Verdacht bestätigt, dass Krung Kha Mao entgegen bisherigen Ausnahmen mit *Cyclea barbata* identisch ist, dann hätten wir hier einen Fall, wo die systematische Zuordnung einer Pflanze an Hand der Inhaltsstoffe schnell und eindeutig gelingt, während Jahre vergehen können, ehe sie auf Grund anatomischer Merkmale möglich ist.

#### EXPERIMENTELLER TEIL

Die Schmelzpunkte wurden mit dem Schmelzpunktmikroskop nach Opfer-Schaum gemessen und sind unkorrigiert. Die IR-Spektren wurden mit dem Beckman-Gerät IR 5a, das Massenspektren mit dem MS 9 Gerät von AEI und die NMR-Spektren mit dem Varian-Gerät A 60 A aufgenommen. Die optische Drehung wurde mit dem Perkin-Ellmer Polarimeter 141 gemessen. Die Molekulargewichtsbestimmung erfolgte im Dampfdruck-Osmometer von Dr. H. Knauer.

#### Extraktion der Droge

350 g mittelfein gepulverte Droge wurde 72 Stdn. mit  $2 \times 5$  l Petroläther (40–60°) und anschliessend innerhalb von 6 Tagen mit  $3 \times 5$  l Methanol extrahiert. Der Rückstand des Methanolextraktes (27 g) wurde in 1 proz. Salzsäure aufgenommen (ca. 5 g blieben ungelöst), das Filtrat mit einer Lösung von 50 g NaI in 33 ml Wasser bei 60° versetzt und 2 Tage stehen gelassen. Dabei fielen 17,6 g Rohjodide aus, die in 270 ml wässrigem Aceton (Aceton:Wasser = 2:1) gelöst wurden. Das Filtrat wurde über eine Säule (1,5 × 33 cm) mit Amberlite IRA 410

(Chloridform) gegeben und mit 130 ml des gleichen Aceton-Wasser-Gemischs nachgewaschen. Das Eluat ergab beim Eindampfen 12,6 g Rohchloride, die in 200 ml Wasser aufgenommen, mit Ammoniak auf pH 10 gestellt und filtriert wurden. Der hellbraune Niederschlag wurde mit 1-proz. Ammoniaklösung ausgewaschen, bis das durchlaufende Filtrat alkaloidfrei war. Das gesamte Filtrat wurde 14 Tage lang mit  $2 \times 1,25$  l Petroläther erschöpfend extrahiert, bis sich in der wässrigen Phase keine tertiären Alkaloide nachweisen liessen. Dann wurde mit 1-proz. Salzsäure auf pH 7 gestellt und i.Vak. auf 200 ml eingengt. Aus dieser Lösung wurden die quartären Alkaloide mit 10 g NaJ in 6 ml Wasser bei 60° erneut als Jodide gefällt (1,5 g) und, wie oben beschrieben, mit Amberlite IRA 410 in die Chloride umgewandelt. Dabei wurden 900 mg eines Gemisches A quartärer Alkaloid-chloride erhalten.

#### Isolierung von Monomethyl-Tetrandriniumchlorid (4)

Das Alkaloidrohgemisch A wurde auf einer mit saurem Aluminiumoxid (Woelm) beschichteten Säule (1,5 × 28 cm) getrennt. Hierzu wurde A mit 4 g des Adsorbens gemischt, auf die Säulenpackung geschichtet und mit 400 ml Chloroform eluiert, wobei 17,2 mg gelbweisser Rückstand erhalten wurde, der nach Umkristallisation (Chloroform/Petroläther 9:1) 15,4 mg reines 4 in Form farbloser Blättchen ergab: Schmp. 208°, Molgew. (osmometrisch) 709 ( $c = 10,4$  mg in 5 ml Chloroform);  $[\alpha]_D^{20} + 51,5^\circ$  ( $c = 10$  mg in 5 ml Methanol)

Mit weiteren 300 ml Chloroform unter Zusatz von 4% Methanol liessen sich 38 mg einer zweiten Substanz (ZH<sub>2</sub>) eluieren, die vorläufig noch nicht näher untersucht wurden. Die bei höherer Methanol-konzentration in Chloroform erhaltenen Substanzgemische wurden bisher nicht weiter untersucht.

#### Methylierung von Tetrandrin 1

Nach Eindampfen einer Lösung von 1,0 g Tetrandrin in 20 ml äthanolischer 2n-Salzsäure i.Vak. bei 40° wurde 1,11 g Tetrandrindihydrochlorid erhalten, die, in 30 ml Methanol gelöst, mit 0,23 g Methyljodid versetzt und verschlossen über Nacht stehen gelassen wurden. Nach Verdampfen des Lösungsmittels i.Vak. wurde der Rückstand (1,25 g) auf 6,0 g saures Aluminiumoxid (Woelm) aufgezogen und über eine Säule (1,5 × 30 cm), gefüllt mit dem gleichen Adsorbens, chromatographiert. Mit 100 ml Chloroform wurde zunächst 270 mg Tetrandrin eluiert. Mit weiteren 400 ml Chloroform wurde ein Gemisch aus Tetrandrin und 4 erhalten, aus dem sich durch dreimaliges Umfällen aus Chloroform-Petroläther (40–60°) 38 mg Substanz 4 in reiner Form gewinnen liess. In den folgenden 600 ml Eluat, Jeweils 150 ml eines Chloroform-Methanol-Gemisches mit einem Methanolgehalt von 1,2,3 und 4%, befand sich Substanz B (isomeres Monomethylprodukt von 4) verunreinigt mit Dimethyl-tetrandrinium-jodid, das durch Chromatographie über eine Sephadex-LH 20-Säule (2,5 × 200 cm) mit Chloroform/Äthanol (99:1) abgetrennt wurde. Substanz B erschien dabei in den ersten Fraktionen und liess sich durch Fällung mit Petroläther (40–60) in reiner Form isolieren. Schmp. 190–191° (Zersetzung);  $[\alpha]_D^{20} + 82^\circ$  ( $c = 10,4$  mg in 5 ml Methanol); NMR ( $\tau$ ; interner Standard; TMS; CDCL<sub>2</sub>): 6,08 (4''-OCH<sub>3</sub>), 6,21 (6-OCH<sub>3</sub>), 6,61 (6'-OCH<sub>3</sub>), 6,80 (7-OCH<sub>3</sub>), 7,62 (N-CH<sub>3</sub>), 7,31 (N'-CH<sub>3</sub>).

\*Nachdem bekannt geworden ist, dass D-Tubocurarin nur ein quartäres Stickstoffatom besitzt<sup>17</sup> an Stelle der beiden, die angeblich für die biologische Wirkung dieses Alkaloids verantwortlich sein sollten, muss man vielleicht damit rechnen, dass ähnliche Irrtümer häufiger unterlaufen sind und monoquartäre Bisbenzyl-isochinolin-Alkaloide gar nicht so selten vorkommen, wie sie in der Literatur beschrieben werden.

**Methylierung von 4**

15 mg 4 wurden in der zur vollständigen Lösung notwendigen Menge Wasser aufgenommen und mit der doppelten Menge einer gesättigten Natriumjodid-Lösung als Jodid gefällt. Die abfiltrierte Substanz (Schmp. 218° unter Zersetzung) wurde in 5 ml Methanol gelöst und mit 200 mg Methyljodid umgesetzt. Das Methylierungsprodukt liess sich mit Äther ausfällen und aus Äthanol umkristallisieren. Es wurden 10.6 mg farblose Nadeln mit Schmp. 267.5° und  $[\alpha]_D^{25} + 234^\circ$  (c = 10 mg in 5 ml Methanol) erhalten. Mischschmelzpunkt mit Dimethyl-tetrandiniumdijodid: 267.5°.

Wir danken der Deutschen Forschungsgemeinschaft und den Fonds der Chemischen Industrie für die Förderung der Arbeit durch Sachbeihilfen; Herrn Dr. G. Eckhardt, Org. Chem. Inst. der Universität Bonn für die Aufnahme des Massenspektrums, Frau Dr. Tankä Yupraphat und Frau Dr. Ch. Goepel (Pharmazeutisches Institut der Universität Bonn) für ihre freundliche Hilfe und Überlassung von Vergleichssubstanzen.

**LITERATUR**

- <sup>1</sup>I. Mitt.: C. Goepel, S.v. Kürten, T. Yupraphat, P. Pachaly und F. Zymalkowski, *Planta Medica* **22**, 4, 402 (1972)
- <sup>2</sup>O. Ketusinh u. P. Deechoi, Diss. P. Deechoi, Bangkok 1968
- <sup>3</sup>S. Bhattacharji, V. N. Sharma, M. L. Dhar, *J. Sci. Ind. Research* **15**, B, 363 (1956)
- <sup>4</sup>R. M. Srivastava, M. P. Khare, *Chem. Ber.* **97**, 2730 (1964)
- <sup>5</sup>S. M. Kupchan, A. C. Patel, E. Fujita, *J. pharm. Sci.* **54**, 580 (1965)
- <sup>6</sup>S. M. Kupchan, S. Kubota, E. Fujita, S. Kobayashi, J. H. Block und S. A. Telang, *J. Am. Chem. Soc.* **88**, 4212 (1966)
- <sup>7</sup>J. R. Boissier, G. Combes, *Lloydia* **28**, 3, 191 (1965)
- <sup>8</sup>L. J. Haynes, E. J. Herbert, J. R. Plimmer, *J. Chem. Soc.* 615 (1966)
- <sup>9</sup>A. K. Bhatnagar, S. Bhattacharji, A. C. Roy, S. P. Popli und M. L. Dhar, *J. Org. Chemistry* **32**, 819 (1967)
- <sup>10</sup>A. K. Bhatnagar, S. P. Popli, *Indian. J. Chem.* **102** (1967)
- <sup>11</sup>S. Bhattacharji, A. C. Roy, M. L. Dhar, *J. Sci. Ind. Res.* **21** B, 428 (1967)
- <sup>12</sup>A. K. Bhatnagar, S. P. Popli, *Experientia* **23**, 242 (1967)
- <sup>13</sup>A. K. Bhatnagar, S. Bhattacharji, S. P. Popli, *Indian. J. Chem.* **125** (1969)
- <sup>14</sup>F. Anwer, S. P. Popli, R. N. Srivastava, M. P. Khare, *Experientia* **24**, 999 (1964)
- <sup>15</sup>P. Pachaly, T. Yupraphat und F. Zymalkowski in Vorbereitung
- <sup>16</sup>Maung Tin Wa, J. L. Beal, R. W. Doskotsch, *Lloydia* **30**, 245 (1967)
- <sup>17</sup>A. J. Everett, L. A. Lowe u. S. Wilkinson, *Chem. Communications* 1020 (1970)
- <sup>18</sup>R. Paris, S. K. Sasorith, *Annales pharm. franc.* **25**, 627 (1967)
- <sup>19</sup>M. Tomita, M. Kozuka u. M. Satomi, *Yakugaku Zasshi* **87**, 1012 (1967)