

146. Bildung, Kristallstruktur und absolute Konfiguration von (-)-N-(Chloromethyl)galanthaminium-chlorid

von Rudolf Matusch* und Mirko Kreh¹⁾

Institut für Pharmazeutische Chemie der Philipps-Universität Marburg, D-35032 Marburg

und Ulrich Müller

Fachbereich Biologie/Chemie der Universität GH Kassel, D-34109 Kassel

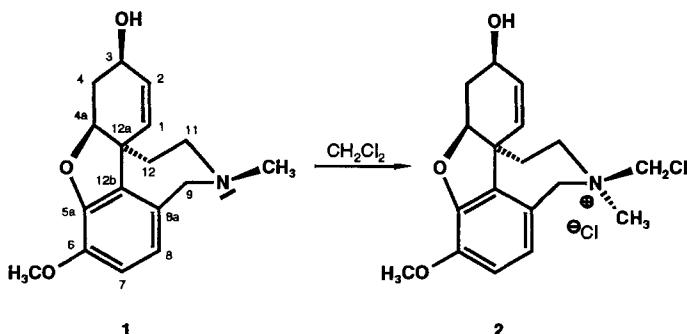
(10.V.94)

Formation, X-Ray Crystal Structure, and Absolute Configuration of (-)-N-(Chloromethyl)galanthaminium Chloride

The acetylcholinesterase inhibitor galanthamine (**1**), main alkaloid of several *Narcissus* species, readily forms a quaternary ammonium salt by reaction with the solvent CH_2Cl_2 . The structure and absolute configuration of (-)-N-(chloromethyl)galanthaminium chloride (**2**) were determined by X-ray diffraction ($R = 0.075$ for 2775 observed independent reflexions) and NMR spectroscopy. The tetragonal crystals (space group $P4_3$) contain two crystallographically independent cations which do not differ significantly from one another. The CH_2Cl group is attached to the quaternary N-atom in stereospecific (*R*)-configuration. In the crystal, the configurational position of the Me group at the N-atom of **2** differs from that of the crystalline free base **1**. Hydrogen bonding is observed from the OH group at C(3) of **2** to the Cl^- -anion or to the Cl-atom of an adjacent cation.

Einleitung. – Bei Untersuchungen des Alkaloid-Extraktes von *Narcissus pseudonarcissus* L. subspec. ‘Ice Follies’ (Amaryllidaceae) konnten wir aus einer chromatographisch erhaltenen Unterfraktion (s. *Exper. Teil*) eine Verbindung **2** isolieren, deren ^{13}C -NMR-Spektrum sich von anderen Alkaloid-Spektren durch Verbreiterung mehrerer Signale deutlich hervorhob. Ähnliche Signalverbreiterungen beobachtet man auch für das Hydrobromid des Galanthamins (**1**; *Schema*). Da das Auftreten eines zusätzlichen Methy-

Schema



¹⁾ Teil der geplanten Dissertation von M. K., Universität Marburg.

len-C-Signals bei 73,4 ppm nicht eindeutig geklärt werden konnte, obwohl die Grundstruktur des Galanthamins (**1**) nach dem Fragmentierungsmuster des EI-Massenspektrums von **2** anzunehmen war [1], haben wir eine Röntgen-Strukturanalyse durchgeführt.

Ergebnisse und Diskussion. – Durch langsames Eindiffundieren von Et₂O in eine MeOH-Lösung der Substanz **2** konnten wir einen geeigneten Kristall züchten. Die Kristallstrukturanalyse (Tab.) zeigte, dass (–)-N-(Chloromethyl)galanthaminium-chlorid (**2**), ein quartäres Ammonium-Salz, abgeleitet von **1**, vorlag.

Tabelle. Kristalldaten und Angaben zur Strukturbestimmung von N-(Chloromethyl)galanthaminium-chlorid (**2**)

Gitterparameter	$a = 944,7(2)$ pm, $c = 3982(1)$ pm
V	$3554(2) \cdot 10^{-30}$ m ³
Z	8
Dichte (berechnet)	1,39 g cm ⁻³
Kristallsystem, Raumgruppe	tetragonal, $P4_3$
Messgerät	Vierkreisdiffraktometer <i>Enraf-Norius CAD 4</i>
Strahlung	CuK _α , Graphit-Monochromator, $\lambda = 154,18$ pm
Messtemperatur	20°
Zahl der Reflexe zur Gitterkonstantenberechnung	14; $36^\circ < \theta < 44^\circ$
Messbereich	$2,5 < \theta < 60^\circ$ ($0,028 < \sin\theta/\lambda < 0,562$ Å ⁻¹)
Abtastung	ω -‘scan’; $d\omega = 1,4 + 0,24 \tan\theta^\circ$
Zahl der gemessenen Reflexe	6276
Symmetrieeinabhängige Reflexe	3298 (<i>Friedel-Paare</i> nicht gemittelt)
Zahl der Reflexe $I > 2\sigma(I)$	2775
Linearer Absorptionskoeffizient μ	3,41 mm ⁻¹
Strukturbestimmung	‘Direkte Methode’
Verfeinerung	Minimieren von $\Sigma w(F_o^2 - F_c^2)^2$, $w = l/[(\sigma(F_o^2))^2 + 0,01F_o^2]$
Restriktionen	H-Atome in modellmässig berechneten Positionen angenommen, isotrope H-Atom-Temperaturknoten auf 1,2mal den Wert des daran gebundenen C-Atoms gesetzt
<i>Flack</i> -Parameter [5]	0,07(3)
$R = \Sigma F_o - F_c / \Sigma F_o $	0,075 (2775 Reflexe)
$wR2 = [\Sigma w(F_o^2 - F_c^2)^2 / \Sigma wF_o^4]^{1/2}$	0,196 (3298 Reflexe)
Verwendete Rechenprogramme	SHELXS [6]; SHELXL [7]; ATOMS [8]; ORTEX [9]
Atomformfaktoren, f, f''	[10]

Das Salz **2** kristallisiert tetragonal in der relativ selten vorkommenden Raumgruppe $P4_3$. In der asymmetrischen Einheit sind zwei kristallographisch symmetrieeinabhängige Kationen vorhanden, die im folgenden Kationenspezies **A** und **B** genannt werden. Beide Spezies unterscheiden sich nur geringfügig voneinander, sie haben die gleiche Molekularstruktur und Absolutkonfiguration. In Fig. 1 ist die Kationenspezies **A** graphisch dargestellt.

Die Kationen sind in der Ebene ihrer grössten Ausdehnung in Schichten senkrecht zur *c*-Achse angeordnet, wobei sich Schichten der Kationenspezies **A** mit solchen der Spezies **B** abwechseln. Zwischen benachbarten Schichten sind zweizählige Pseudoschraubenachsen vorhanden; ihre relative Lage zu den 4_3 -Achsen erlaubt aber nicht, dass sie als kristallographische Achsen in Erscheinung treten, so dass die höhersymmetrische Raumgruppe $P4_32_12$ nicht realisiert werden kann (Fig. 2).

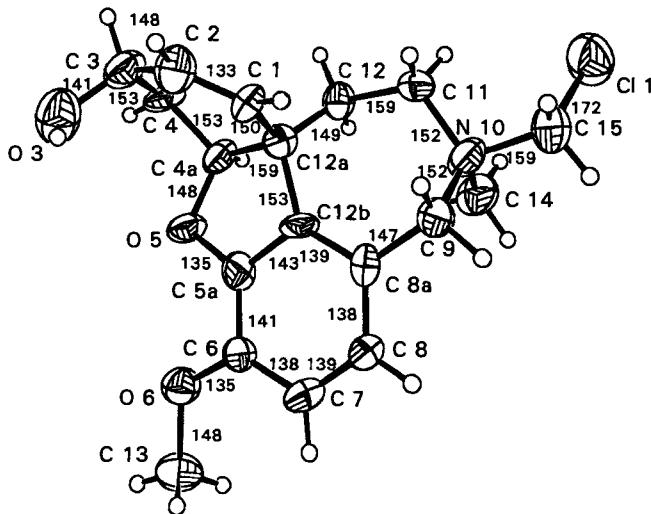


Fig. 1. Molekularstruktur eines Kations in kristallinem 2 (Spezies A von zwei gleichartigen, aber kristallographisch unabhängigen Kationen). Ellipsoide der thermischen Schwingung mit 40% Aufenthaltswahrscheinlichkeit (ausgenommen H-Atome). Zur Zuverlässigkeit der Lage des H-Atoms an O(3), s. Diskussion im Text. Bindungsabstände in pm (Standardabweichung 1 pm).

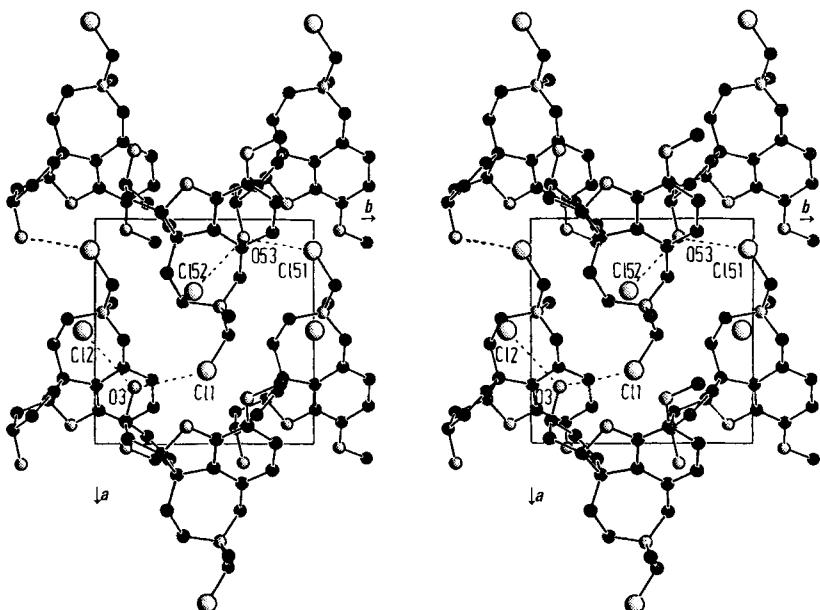


Fig. 2. Ausschnitt aus der Kristallstruktur von 2. Gezeigt sind vier in einer Schicht liegende Kationen der kristallographisch unabhängigen Spezies A sowie zwei Kationen der Spezies B aus der folgenden Schicht (ohne H-Atome). Gestrichelt: mögliche H-Brücken O–H···Cl (wahrscheinlich ist nur O–H···Cl(1) bzw. O–H···Cl(51) realisiert, s. Text; stereoskopische Ansicht längs *c*).

Das Atom O(3) der OH-Gruppe an C(3) hat einen Kontaktabstand von 308,5 pm zum Atom Cl(1) der Chloromethyl-Gruppe eines Nachbar-Kations. Das sind ca. 10 pm weniger als der *van-der-Waals*-Abstand (319 pm bei Berücksichtigung des Winkels C(15)–Cl(1)···O(3) [2]). Geringfügig grösser ist der Abstand O(3)···Cl(2) zum Chlorid-Anion (312,3 pm). Beide Kontakte kommen für eine H-Brücke O(3)–H···Cl–C bzw. O(3)–H···Cl[–] in Betracht (gestrichelt in Fig. 2). Wir können allerdings nicht sicher entscheiden, welche davon tatsächlich realisiert ist, obwohl wir die Lage des H-Atoms zwischen O(3) und Cl(1) als ‘riding atom’ verfeinern konnten. Für die Kontakte zur zweiten Kation-Spezies gilt das gleiche (Abstände O(53)···Cl(51) 303,0 pm, O(53)···Cl(52) 310,7 pm; die Numerierung der Atome von Kationen-Spezies **B** entspricht der von Spezies **A** plus 50).

Die Darstellung in Fig. 1 entspricht der Absolutkonfiguration des (–)-*N*-(Chloromethyl)galanthaminium-chlorids (**2**; (*R*)-Konfiguration des quartären N-Atoms). Diese konnte aufgrund der anomalen Dispersion des Cl bestimmt werden. Der Vergleich der Struktur von **2** mit der durch Röntgen-Beugung bestimmten Struktur des Galanthamins (**1**) [3] zeigt, dass der Angriff des CH₂Cl₂ zu einem (*R*)-konfigurierten quartären N-Atom führt, bei dem die Position der *N*-Me-Gruppe im Vergleich zur Konfiguration in der kristallinen Base umgekehrt ist.

Um zu klären, wie es zur Bildung von **2** kommen konnte, das kein genuines Amaryllidaceen-Alkaloid sein konnte, lösten wir reines Galanthamin (**1**) in CH₂Cl₂ und liessen es 24 h lang bei 35° im Dunkeln stehen. Dabei schied sich **2** mit einer Ausbeute von 26% in kristalliner Form ab. Die *N*-Chloromethylierung von **1** findet also durch direkte Reaktion mit CH₂Cl₂ statt. Unter gleichen Bedingungen erhielten wir bei Verwendung von CHCl₃ an Stelle von CH₂Cl₂ kein Reaktionsprodukt, eine Erkenntnis, die bei Untersuchungen an Amaryllidaceen-Alkaloiden berücksichtigt werden sollte.

Alkylierungen mit Di- und Trichloromethan wurden früher schon an Strychnin und Brucin nachgewiesen [4]. Bei beiden ist das N-Atom jedoch in einem starren Ringgerüst fixiert, was eine erhöhte Basizität zur Folge hat. Bei Galanthamin (**1**) befindet sich das N-Atom in einem konformativ leicht beweglichen Siebenringssystem. Daher wäre ein Angriff des CH₂Cl₂ von beiden Seiten zu erwarten. Das ¹H-NMR-Spektrum des Reaktionsansatzes in CD₃OD oder D₂O zeigt allerdings, ebenso wie die Röntgen-Strukturanalyse, dass nur eine Konfiguration am N-Atom realisiert ist, der Angriff von CH₂Cl₂ erfolgt also diastereoselektiv. Überraschenderweise nimmt der neu eintretende (Chloromethyl)-Substituent die Position der Me-Gruppe der kristallinen Base ein. Offensichtlich sind stereoelektronische Effekte entscheidend.

Experimenteller Teil

Allgemeines. Verwendete Lösungsmittel: *Lichrosolv*® oder *Prepsolv*® Qualität (Merck). H₂O: Reinstwasseranlage *Seralpur PRO 90C* (Seral). Schmelzpunkte: Schmelzpunkt mikroskop *HM-LUX* (Leitz); unkorrigiert. [α]_D (Natrium dampf Flamme): Polarimeter *DP 370* (Jasco). UV (λ_{max} (log ε) in nm): *UV-2101-PC*-Spektrometer (Shimadzu). IR (in cm^{–1}): *Nicolet 510 P*. NMR-Spektren: *Jeol-GX-400* und *Jeol-FX-90*-Spektrometer; δ in ppm rel. zu SiMe₄ (= 0 ppm); J in Hz; digitale Auflösung ¹H-NMR, 0,3 Hz. Massenspektren (*m/z* (%)): *VG 7070H* (Vacuum Generators); 70 eV.

Röntgen-Strukturanalyse. S. Tabelle. Da die Reflexe einerseits relativ breit waren, andererseits wegen der grossen Gitterkonstante *c* sehr dicht beieinanderlagen, hatten wir bei der Messung Schwierigkeiten, alle Reflexe sauber auseinanderzuhalten. Reflexe, deren Intensität offensichtlich durch Nachbar-Reflexe verfälscht waren,

wurden aus dem Datensatz entfernt; trotzdem ist der *R*-Wert über dem üblichen Standard geblieben. Als Kriterium für die richtige Zuordnung diente der *Flack*-Parameter [5], der innerhalb der Fehlergrenzen gleich Null ist. Weitere Angaben zur Kristallstrukturanalyse sowie die Atomkoordinaten sind beim *Cambridge Crystallographic Data Centre* hinterlegt.

Herstellung von 2. Eine Lsg. von 90 mg Galanthamin (1) in 5 ml CH₂Cl₂ wurde unter Lichtausschluss bei 35° stehengelassen. Innerhalb 24 h schieden sich 30 mg (26%) **2** feinkristallin ab. HPLC (*LiChrospher® 60 RP-select B* (5 µm) *Merck*, 250 × 4 mm; MeCN/Ionenpaar-Reagenz 1:3 (Ionenpaar-Reagenz: 200 ml H₂O, 400 ml MeCN, 2,0 g Natriumdodecylsulfat, 290 ml 0,05M H₃PO₄), 1 ml/min): ausser nicht umgesetztem **1** und **2** keine weiteren Produkte.

Extraktion der Alkaloide. Zwiebeln von *Narcissus pseudonarcissus* L. *subsp. pseudonarcissus* 'Ice Follies' aus einer Kultur bei Sint Maarten (Niederlande) wurden ohne vorherige Trocknung zerkleinert und mehrfach mit MeOH kalt mazeriert. Nach Abdampfen bei 40° wurden 750 g des erhaltenen MeOH-Extraktes mit 1500 ml H₂O vermischt und mit 1% HCl-Lsg. auf einen pH-Wert von 1,5 gebracht. Die Lsg. wurde 5mal mit je 400 ml Hexan ausgeschüttelt, dann 5mal mit je 400 ml CH₂Cl₂. Mit einem Hydrogencarbonat-Puffer wurde die wässr. Phase auf pH 9,2 eingestellt und 5mal mit je 300 ml CH₂Cl₂ ausgeschüttelt. Eindampfen der 5 letzten vereinigten CH₂Cl₂-Extrakte ergab 30,08 g (0,26% bzgl. Feuchtgewichtes der Zwiebel; 0,69% bzgl. getrockneter Droge) Alkaloide. In einem Schritt wurden 30,00 g davon mittels einer selbstgefüllten Säule getrennt (380 × 180 mm, *TSK HW 40S-Gel*, H₂O/MeOH 7:3, 30 ml/min; 530–650 min: linearer Gradient auf 100% MeOH bis 750 min). Aus *Fraktion 6* (Retentionszeit 370–405 min) schied sich nach 3 Tagen Stehen in MeOH ein weisser, feinkristalliner Niederschlag von **2** ab (135 mg, 26%).

(–)-Galanthamin (1) wurde aus dem in MeOH löslichen Teil von *Fraktion 6* isoliert. Daten: in Übereinstimmung mit [3].

(–)-N-(Chloromethyl)galanthaminium-chlorid ((4aS,3R,12aS,N¹⁰R); **2**). Farblose Kristalle aus MeOH. Schmp.: Zers. ab 200°. [α]_D²⁰ = -85,2 (c = 0,24 MeOH). UV (MeOH): 214,6 (5,54), 237,6 (4,85), 292,1 (4,47). IR (KBr): 3347 (br.), 2996, 2920, 1624, 1515, 1454, 1439, 1390, 1291, 1213, 1176, 1138, 1077, 1010, 965, 881, 855, 814, 802, 763, 666. ¹H-NMR (400 MHz, CD₃OD): 6,90 (m, H–C(7), H–C(8)); 6,20 (br. d, ³J(1,2) = 9,9, H–C(1)); 6,07 (dd, ³J(1,2) = 10,0, ³J(2,3) = 4,6, H–C(2)); 5,58 (s, CH₂Cl); 5,11 (d, ²J = 13,9, H–C(9)); 4,73 (m, H–C(4a)); 4,58 (d, ²J = 13,9, H–C(9)); 4,21 (m, ³J(2,3) = 4,3, H–C(3)); 4,14 (br. m, ²J = 11,9, H–C(11)); 3,86 (s, MeO); 3,83 (br. m, H–C(11)); 3,00 (s, MeN); 2,49 (dm, ²J = 15,8, ³J < 1, H–C(4)); 2,40 (br. m, ²J = 11,8, H–C(12)); 2,21–2,15 (m, ²J = 15,8, ³J = 5,06, 3,48, H–C(4), H–C(12)). ¹³C-NMR (100 MHz, CD₂OD): 148,6 (s, C(6)); 148,3 (s, C(5a)); 134,3 (s, C(12b)); 130,9 (br. s, C(8a)); 126,5 (br. d, C(2)); 125,8 (d, C(1)); 117,8 (br. d, C(8)); 114,3 (d, C(7)); 88,8 (d, C(4a)); 73,4 (br. d, CH₂Cl); 65,6 (br. t, C(9)); 62,0 (d, C(3)); 61,2 (t, C(11)); 56,8 (q, MeO); 47,8 (s, C(12a)); 43,7 (br. q, MeN); 33,1 (br. t, C(12)); 31,6 (t, C(4)). EI-MS (300°): 50, 52 (100 CH₃³⁵Cl⁺, 31); 36, 38 (78 H³⁵Cl⁺, 25); 58 (61), 269 (60), 165 (37), 44 (34), 211 (34), 52 (31), 226 (27), 42 (27), 193 (26), 287 (18). Galanthamin⁺ als Fragmentation von **2**; *M*_r 372. Anal. ber. für C₁₈H₂₃NO₃Cl₂ (*Analytische Laboratorien Gummersbach*): C 58,08, H 6,18, Cl 19,06, N 3,76, O 12,91; gef.: C 58,41, H 6,30, Cl 17,66, N 3,53, O 15,68.

LITERATURVERZEICHNIS

- [1] M. Hesse, H. O. Bernhard, 'Progress in Mass Spectrometry', Ed. H. Budzikiewicz, Verlag Chemie, Weinheim, 1985, Vol. 3, S. 164.
- [2] S. C. Nyburg, C. H. Faerman, *Acta Crystallogr., Sect. B* **1985**, *41*, 274.
- [3] P. Carroll, G. T. Furst, S. Y. Han, M. Joullié, *Bull. Soc. Chim. Fr.* **1990**, *127*, 769.
- [4] J. D. Phillipson, N. G. Bisset, *Phytochemistry* **1972**, *11*, 2547.
- [5] H. D. Flack, *Acta Crystallogr., Sect. A* **1983**, *39*, 876.
- [6] G. M. Sheldrick, *J. Appl. Crystallogr.* **1994**, im Druck.
- [7] G. M. Sheldrick, *Acta Crystallogr., Sect. A* **1990**, *46*, 467.
- [8] E. Dowty, 'ATOMS 2.0', Programm zur graphischen Darstellung von Atomstrukturen, Kingsport, Tennessee, 1991.
- [9] P. McArdle *J. Appl. Crystallogr.* **1993**, *26*, 752.
- [10] 'International Tables for Crystallography', Bd. C, Tab. 4.2.6.8 und 6.1.1.4, Kluwer, Dordrecht, 1992.