

Foresaconitin, das Hauptalkaloid der Wurzeln von *Aconitum forestii* Stapf

Chen Wei-shin und Eberhard Breitmaier*

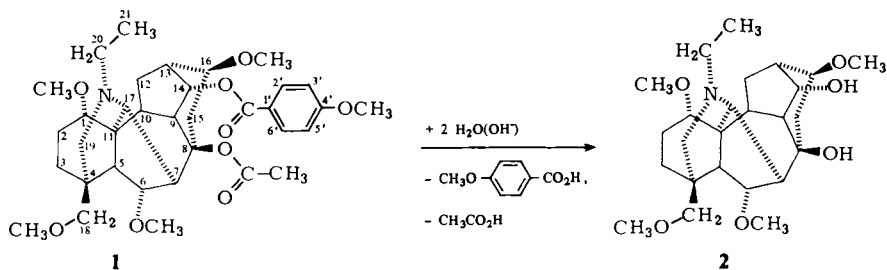
Institut für Organische Chemie und Biochemie der Universität Bonn,
Gerhard-Domagk-Str. 1, D-3500 Bonn 1

Eingegangen am 19. Juni 1980

Foresaconitin, the Main Alkaloid from the Roots of *Aconitum forestii* Stapf

Foresaconitin (**1**) was isolated as the main alkaloid (0.2%) from the roots of *Aconitum Forestii* Stapf and identified as the 8-*O*-acetyl-14-*O*-(4-methoxybenzoyl) derivative of 8 β ,14 α -dihydroxy-1 α ,6 α ,16 β -trimethoxy-4 β -(methoxymethyl)aconitan known as chasmanin (**2**).

Aconitum forestii Stapf var. *albo-villosum* (Chen et Liu) W. T. Wang ist eine im Li-Kiang-Gebiet der Provinz Yun-nan (China) heimische Ranunculaceen-Art. Ihre Wurzeln werden dort seit langem gegen rheumatische Schmerzen und Vergiftungen sowie zur Kräftigung von Zugochsen in der Landarbeit verwendet. Aus der trockenen Wurzeldroge lassen sich 0.42% Rohalkaloid isolieren. Dieses besteht zu 50% aus schwachen Basen, welche aus verdünnt salzsaurer Lösung mit Chloroform extrahierbar sind. Als Hauptalkaloid der schwachen Basen wurde eine kristallisierte Verbindung der Elementarzusammensetzung $C_{35}H_{29}NO_9$ mit der massenspektrometrisch bestimmten Molekülmasse 627 isoliert, die als Foresaconitin (**1**) bezeichnet wird.



Das IR-Spektrum von **1** weist auf Ester-Gruppen ($\nu_{C=O} \approx 1730, 1710$; $\nu_{C-O} \approx 1255 \text{ cm}^{-1}$) sowie auf einen *p*-disubstituierten Benzol-Ring ($\nu_{C=C} = 1608, 1580, 1511$; $\gamma_{CH} \approx 848 \text{ cm}^{-1}$) hin. Im UV-Spektrum sprechen zwei Maxima bei 202 ($\log \epsilon \approx 4.34$) und 258 nm (≈ 4.28) für einen 4-Methoxybenzoyl-Rest¹⁾. Dieser läßt sich auch NMR-spektroskopisch bestätigen. Im 1H -NMR-Spektrum findet man ein AA'BB'-System mit einem +M-Effekt der Methoxy-Gruppe ($\delta \approx 6.9$) und einem Anisotropie- und –M-Einfluß der Carbonyl-Funktion ($\delta \approx 8.0$) sowie einer *o*-Kopplung von $J \approx 8 \text{ Hz}$. Das ^{13}C -NMR-Spektrum zeigt außer einer Benzoyl-CO- (166.2 ppm) und einer Aryl-Methoxy-Gruppe (55.4 ppm) vier Signale (Tab. 1), deren Verschiebungen gut mit denen des 4-Methoxybenzoesäure-methylesters²⁾ übereinstimmen. Das ^{13}C -NMR-Spektrum zeigt ferner eine *O*-Acetyl-Gruppe (169.8 ppm für CO; 21.8 ppm, Quartett mit $J_{CH} = 128 \text{ Hz}$, für CH_3). Auch

massenspektrometrisch läßt sich die *O*-Acetyl-Gruppe ($m/e = 567$, $M - C_2H_4O_2^{3b}$) und der Methoxybenzoyl-Rest ($m/e = 135$ für $CH_3OC_6H_4CO^+$) bestätigen. Foresaconitin ist somit ein Acetat und 4-Methoxybenzoat. Als zusätzliche funktionelle Gruppen erkennt man fünf Methoxy-Gruppen (1H -NMR: $\delta \approx 3.18, 3.26, 3.28, 3.37$ und 3.87 , je 3 H, Singulett; ^{13}C -NMR: $\delta \approx 55.4, 56.0, 56.6, 57.8$ und 59.1 , Quartetts mit $J_{CH} > 140$ Hz; MS: $m/e 596$ (100%), $M - CH_3O^{3b}$) sowie eine *N*-Ethyl-Gruppe (1H -NMR: $\delta \approx 2.55$, Quartett; 1.08, Triplett, $J \approx 7$ Hz; ^{13}C -NMR: $\delta \approx 49.0$, Triplett, $J_{CH} \approx 135$ Hz; 13.4, Quartett, $J_{CH} \approx 126$ Hz).

Tab. 1. ^{13}C -NMR-Daten von Foresaconitin (1) und Chasmanin (2); Lösungsmittel $CDCl_3$; Temperatur 30 °C; Meßfrequenz 22.63 MHz

Kohlenstoff	Foresaconitin (1)			Chasmanin (2)		
	[ppm]	Multiplizität ^{a)}	Kopplungskonstanten [Hz] J_{CH} $^{2,3}J_{CH}$	Verseifungsprodukt [ppm] ^{b)}	authentisch ⁵⁾ [ppm]	
1	85.05	Dm	128	—	86.3 (D)	86.1
2	26.40	Tm	126	—	26.1 (T)	26.0
3	34.86	Tm	126	—	35.3 (T)	35.2
4	39.14	S	—	—	39.5 (S)	39.5
5	49.16	Dm	136	—	48.8 (D)	48.8
6	82.90 ^{c)}	Dm	132	—	82.5 (D) ^{c)}	82.5 ^{c)}
7	44.91	Dm	128	—	52.8 (D)	52.8
8	85.90	S	—	—	72.6 (S)	72.6
9	49.34	Dm	136	—	50.4 (D)	50.3
10	43.94	Dm	128	—	38.1 (D)	38.4
11	50.34	S	—	—	50.5 (S)	50.4
12	28.95	Tm	133	—	28.5 (T)	28.6
13	39.08	Dm	124	—	45.7 (D)	45.7
14	75.37	Dm	145	—	75.7 (D)	75.5
15	37.90	Tm	126	—	39.0 (T)	39.2
16	83.47 ^{c)}	Dm	136	—	82.3 (D) ^{c)}	82.3 ^{c)}
17	61.66	Dm	144	—	62.7 (D)	62.4
18	80.44	Tm	132	—	80.9 (T)	80.8
19	53.80	Tm	—	—	54.0 (T)	54.0
20	49.03	Tm	134	—	49.4 (T)	49.3
21	13.44	Qt	126	3	13.8 (Q)	13.6
1-OCH ₃	56.56	Qd	140	4	56.5 (Q)	56.3
6-OCH ₃	57.80	Qd	140	5.6	57.4 (Q)	57.2
16-OCH ₃	56.04	Qd	140	4	56.2 (Q)	55.9
18-OCH ₃	59.11	Qm	140	—	59.3 (Q)	59.2
4'-OCH ₃	55.41	Q	144	—	—	—
<i>O</i> -Acetyl-CH ₃	21.76	Q	128	—	—	—
<i>O</i> -Acetyl-CO	169.77	Sq	—	6	—	—
1'-CO	166.16	S (breit)	—	—	—	—
4'-	163.46	Sm	—	—	—	—
2',6'-	131.78	Dd	162	6.6	—	—
1'-	123.03	St	—	7.5	—	—
3',5'-	113.76	Dd	160.5	4.5	—	—

^{a)} S,D,T,Q: Singulett, Dublett, Triplett, Quartett infolge Kopplung über eine Bindung;

d,t,m: Dublett, Triplett, schlecht aufgelöstes Multipllett infolge Kopplung über zwei und drei Bindungen.

^{b)} In Klammern: Off-Resonance Multiplizitäten; S,D,T,Q für Singulett, Dublett, Triplett, Quartett.

^{c)} Zuordnung vertikal vertauschbar.

Zur Bestimmung des Grundgerüsts wurde Foresaconitin in methanolischer Natronlauge verseift. Als Produkte wurde *p*-Anissäure identifiziert sowie eine Base der Elementarzusammensetzung $C_{25}H_{41}NO_6$ isoliert. Schmelzpunkt, 1H - und ^{13}C -NMR-Spektren der Base stimmen mit den Daten des als Chasmanin (**2**)⁴⁻⁸ bekannten $8\beta,14\alpha$ -Dihydroxy- $1\alpha,6\alpha,16\beta$ -Trimethoxy- 4β -(methoxymethyl)aconitins (**2**)⁴⁻⁸ überein (Tab. 1). Foresaconitin ist somit das 8-*O*-Acetyl-14-*O*-(4-methoxybenzoyl)-Derivat von **2**. Die Stellung der Acyl-Gruppen wurde in Analogie zu anderen Aconitum-Alkaloiden aufgrund der Acetyl-Methyl- 1H -Verschiebung zugeordnet.

Die für eine *O*-Acetyl-Gruppe kleine Methyl-Verschiebung im 1H -NMR-Spektrum (normal: >2 ppm; gefunden: 1.4 ppm) ergibt sich aus der räumlichen Nähe des Phenyl-Ringes der 4-Methoxybenzoyl-Gruppe, dessen Ringstromfeld für die Abschirmung um etwa 0.6 ppm verantwortlich sein dürfte^{9, 10}. Die Zuordnungen der ^{13}C -NMR-Signale sind in Tab. 1 zusammengefaßt.

Chen-Wei-shin dankt der *Alexander-von-Humboldt-Stiftung* für die Gewährung eines Stipendiums.

Experimenteller Teil

Geräte: Schmelzpunkte (unkorrigiert): Kofler-Heizmikroskop. – UV-Spektren (in Ethanol): UV-210 A (Schimazu). – IR-Spektren (KBr-Preßlinge): IR-450 (Schimazu). – 1H - und ^{13}C -NMR (in $CDCl_3$): WH-90 (Bruker, 90 MHz (1H) und 22.628 MHz (^{13}C)). – Massenspektren (Direkt-einlaß): JMS-D-30 (Jeol).

Extraktion und Isolierung: 4 kg getrocknetes zerkleinertes Wurzelmaterial wurden nach Befeuchten mit 10proz. Ammoniak in Benzol perkoliert. Die entstandene Lösung wurde mit 3proz. wäbr. Salzsäure extrahiert. Aus der wäbr. sauren Lösung fielen nach Zusatz von Ammoniak (10proz.) bis zur alkalischen Reaktion die Rohalkaloide aus. Ausb. an getrockneten Rohalkaloiden 16 g. Das Eindampfen des Chloroform-Extraktes ergab zusätzliche 0.1 g. Die Rohalkaloide wurden in 3proz. wäbr. Salzsäure gelöst, und die Lösung wurde mehrmals mit Chloroform extrahiert.

Reinigung: Der Chloroform-Extrakt wurde nach Waschen mit wäbr. Ammoniak i. Vak. zur Trockne eingedampft. Nach Lösen des Rückstandes in Ether und Filtrieren der Lösung wurde erneut i. Vak. eingedampft. Der verbleibende Rückstand ließ sich aus Methanol umkristallisieren. Zur Beseitigung einer dünn-schichtchromatographisch nachgewiesenen Verunreinigung wurde das Präparat in Aceton gelöst. Das Filtrat dieser Lösung wurde i. Vak. konzentriert. Aus dem Konzentrat kristallisierten nach Zusatz von Methanol im Kühlschrank farblose dünn-schichtchromatographisch einheitliche Nadeln aus. Nach Absaugen der Kristalle wurde die Mutterlauge mit den in Aceton unlöslichen Substanzen und dem Methanol-Filtrat vereinigt und das Gemisch i. Vak. eingedampft. Der Rückstand wurde auf einer Aluminiumoxid-Säule mit Ether als Laufmittel von einer gelben Fraktion befreit. Nach Eindampfen des farblosen Ether-Eluats und Umkristallisieren aus Aceton/Methanol verblieben Kristalle, die mit dem bereits isolierten Präparat dünn-schichtchromatographisch identisch waren. Die Gesamtausbeute an *Foresaconitin* (**1**) betrug 8.0 g (0.2 %). Erneutes Umkristallisieren aus Aceton/Methanol ergab das zur Spektroskopie verwendete *Foresaconitin* vom Schmp. 153 – 154 °C mit $\alpha_{20}^{20} = +30.5^\circ$ ($CHCl_3$).

$C_{25}H_{49}NO_9$ (627.8) Ber. C 66.98 H 7.82 N 2.23 Gef. C 66.70 H 7.88 N 2.15

Alkalische Hydrolyse des Foresaconitins: 100 mg *Foresaconitin* wurden mit 5 ml 4proz. methanolischer Natronlauge unter Rückfluß 4 h auf dem Wasserbad erhitzt. Nach Zusatz von Wasser und Abdampfen des Methanols wurde die wäbr. Lösung mit Chloroform extrahiert („alkalischer“ Chloroform-Extrakt). Nach Ansäuern der wäbr. Phase mit verd. Salzsäure wurde erneut mit Chloroform extrahiert („saurer“ Chloroform-Extrakt). Der alkalische Chloroform-

Extrakt wurde nach Waschen mit Wasser und Trocknen über Natriumsulfat i. Vak. eingedampft. Der Rückstand lieferte nach dreimaligem Umkristallisieren aus n-Hexan eine Base vom Schmp. 84 °C, die sich aufgrund von Misch.-Schmp., Dünnschicht-Chromatogramm und der ¹H- und ¹³C-NMR-Spektren (Tab. 1) als *Chasmanin* (2) erwies.

C₂₅H₄₁NO₆ (451.6) Ber. C 66.52 H 9.09 N 3.10 Gef. C 66.04 H 9.12 N 3.09

Der saure Chloroform-Extrakt wurde nach Waschen mit Wasser und Trocknen über Natriumsulfat eingedampft. Der Rückstand löste sich in Methanol. Nach Zufügen von Wasser und Verdampfen des Methanols kristallisierte beim Stehenlassen *p*-Anissäure vom Schmp. 184 – 186 °C aus. Die Übereinstimmung mit authentischer 4-Methoxybenzoesäure wurde durch Misch.-Schmp. und Dünnschicht-Chromatographie (Kieselgel G, Ethanol/Wasser/Ammoniak (25proz) = 100:12:16¹¹), Anfärben mit Bromkresolgrün) festgestellt.

- ¹⁾ E. Ochiari, T. Okamoto und S. Sasaki, J. Pharm. Soc. Jap. **75**, 545 (1955).
- ²⁾ K. S. Dharmi und J. B. Stothers, Can. J. Chem. **45**, 233 (1967).
- ³⁾ M. Hesse, H. Meier und B. Zeeh, Spektroskopische Methoden in der Organischen Chemie, S. 367, 373, Georg-Thieme Verlag, Stuttgart 1979.
- ⁴⁾ O. Achmatowicz jr., Y. Tsuda, L. Marion, T. Okamoto, M. Natsume, H.-C. Chang und K. Kajima, Can. J. Chem. **43**, 825 (1965).
- ⁵⁾ S. W. Pelletier und Z. Djarmati, J. Am. Chem. Soc. **98** (9), 2626 (1976).
- ⁶⁾ O. E. Edwards, L. Fonzes und L. Marion, Can. J. Chem. **44**, 583 (1966).
- ⁷⁾ S. W. Pelletier, W. H. De Camp, S. D. Lajšić, Z. Djarmati und A. H. Kapadi, J. Am. Chem. Soc. **96**, 7817 (1974).
- ⁸⁾ S. W. Pelletier, W. H. De Camp und Z. Djarmati, J. Chem. Soc., Chem. Commun. **1976** (7), 253.
- ⁹⁾ Y. Tsuda und L. Marion, Can. J. Chem. **41**, 1634 (1963).
- ¹⁰⁾ L. H. Keith und S. W. Pelletier, J. Org. Chem. **33**, 2497 (1968).
- ¹¹⁾ D. Braun und H. Geenen, J. Chromatogr. **7**, 56 (1962).

[193/80]