

214. Isolierung von (\pm)-Tembamid aus *Zanthoxylum tingoassuiba* L. (*Rutaceae*)¹⁾

von Heinz O. Bernhard und Kurt Thiele

Pharma Forschung und Entwicklung, Siegfried AG, CH-4800 Zofingen

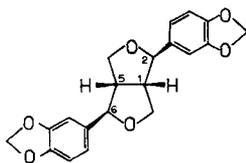
(9. VIII. 78)

Isolation of (\pm)-Tembamid from the Bark of *Zanthoxylum tingoassuiba* L. (*Rutaceae*)

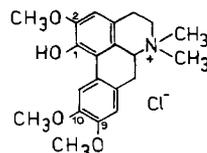
Summary

Racemic tembamid (**5**) has been isolated from the bark, and (–)-sesamin (**1**) from the leaves of *Zanthoxylum tingoassuiba* L.

Zanthoxylum tingoassuiba L. *Fagara tingoassuiba* (ST. HIL.) HOEHNE gehört zu der Familie der *Rutaceen* [1]. Die annähernd 300 Arten umfassende Gattung zeigt die für die *Rutaceen* charakteristischen Stoffgruppen der Alkaloide, Cumarine, Lignane und Flavonoide [2]. Aus der pharmakologisch wirksamen Rinde der in Brasilien beheimateten Art *Z. tingoassuiba* L. [3] wurden bis jetzt Lupeol und Sesamin (**1**) [4] sowie das Alkaloid 1-Hydroxy-2, 9, 10-trimethoxy-*N, N*-dimethylaporphinium-chlorid (**2**) [5] isoliert. Für unsere Arbeiten standen Blätter und Stengel sowie Rinde zur Verfügung, die wir in den Jahren 1973 und 1975 aus Brasilien erhielten.



1



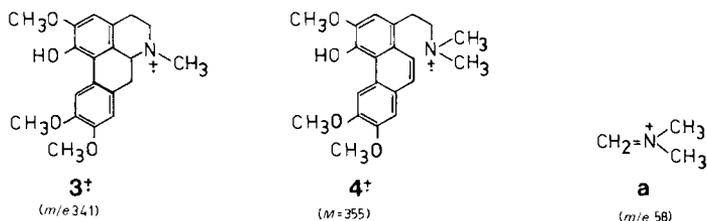
2

Aus dem methanolischen Extrakt der Blätter und Stengel haben wir nach mehrfachem chromatographischem Reinigen (1*S*,2*R*,5*S*,6*R*)-(–)-Sesamin (**1**) [6] [7] in einer Ausbeute von 0,03% isoliert ($[\alpha]_D = -59,8^\circ$ ($c = 1,00$, CHCl_3), optische

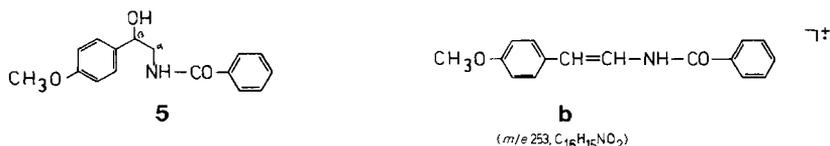
¹⁾ Teil des Referats gehalten anlässlich der 25. Jahrestagung der Gesellschaft für Arzneipflanzenforschung in Zürich, 12.-16. September 1977.

Reinheit 95%). *Antonaccio & Gottlieb* [4] isolierten Sesamin (**1**) aus der Rinde ($[\alpha]_D = -45^\circ$ ($c = 1,00$, CHCl_3)). In der Rinde konnten wir nur Spuren von Sesamin (**1**) im DC. nachweisen.

Das von *Riggs et al.* 1961 [5] in der Rinde aufgefundene Aporphinium-Alkaloid **2** haben wir ebenfalls aus Rinde ohne Schwierigkeiten isoliert. Die massenspektrometrischen Untersuchungen zeigten, dass beim Verdampfen des quartären Salzes **2** im Massenspektrometer thermisch zwei Basen entstehen. Durch eine Dealkylierungsreaktion bildet sich **3** mit Signalen bei m/e 341 (M^+), 326, 310 und 298. Andererseits entsteht durch *Hofmann*-Abbau das Phenethylderivat **4** ($M = 355$), welches den Basispik m/e 58 (**a**) ergab, vgl. [8].



Bei der Chromatographie des Rinden-Extraktes von *Z. tingoassuiba* L. über Kieselgel und Elution mit Chloroform erhielten wir in 1% Ausbeute noch eine neutrale Substanz. Aufgrund spektroskopischer Untersuchungen sowie der Synthese wurde bewiesen, dass es sich dabei um Tembamid (**5**) handelt. Tembamid (**5**, $\text{C}_{16}\text{H}_{17}\text{NO}_3$, $M = 271$, Smp. $152,0\text{--}153,5^\circ$ (Essigester)), gibt mit Kaliumiodoplatinatlösung [9], gefolgt von Cer(IV)sulfat-Reagens [10], eine blaue Farbreaktion. **5** zeigt im IR.-Spektrum (CHCl_3) die Banden für OH (3400 cm^{-1}) und für ein *N*-substituiertes Amid (1655 sowie 1645 cm^{-1}). Das $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum von Tembamid (**5**) in Trifluoressigsäure lässt bei 4,0 ppm eine aromatische Methoxygruppe erkennen und bei 7,15 und 7,55 ppm vier aromatische Protonen eines *AA'BB'*-Systems. Die weiteren fünf aromatischen Protonen bei 7,6–8,4 ppm (*m*) gehören zu einem monosubstituierten Benzolring. Die Signale bei 4,65 ppm (*m*) und 6,55 ppm (*t*) gehören zu drei Protonen eines *ABX*-Systems einer substituierten Äthyl-Kette. Das Verhalten der Substanz im Massenspektrometer entspricht jenem einer β -Hydroxyphenäthylamin-Verbindung [8], spaltet sich doch thermisch Wasser ab zum Ion m/e 253 (**b**, $\text{C}_{16}\text{H}_{15}\text{NO}_2$). Schliesslich wurde das Naturprodukt noch durch direkten Vergleich mit synthetisiertem Tembamid (**5**) [11] identifiziert.



Tembamid (**5**) wurde bis jetzt aus der südamerikanischen *Fagara hyemalis* ST. HIL. [11], aus australischer *Zanthoxylum conspersipunctatum* MERR. [12] und aus *Clausena brevistyla* OLIVER [13] sowie indischer *Aegle marmelos* CORR. [14] isoliert. Besonders in der Gattung der *Rutaceen* fehlt es nicht an Versuchen,

taxonomische Studien durchzuführen, basierend auf den unterschiedlichen Alkaloiden der Arten je nach Herkunft [15]. Das Vorkommen von Tembamid (5) in einer weiteren südamerikanischen *Zanthoxylum*-Art sowie von Sesamin (1) in den Blättern derselben stellen einen Beitrag dar zur Vervollständigung des Bildes über die Verbreitung von Alkaloiden und Lignanen in den *Rutaceen*.

Für die Beschaffung von Pflanzenmaterial danken wir Prof. Dr. *W. Leuzinger*, Rio de Janeiro, Den Herren Prof. Dr. *M. Hesse* und *N. Bild*, Organisch-chemisches Institut der Universität Zürich, danken wir sehr herzlich für die Aufnahme der Massenspektren.

Experimenteller Teil

Allgemeines. Die Schmelzpunkte (Smp.) wurden mit einem Apparat nach Dr. *Tottoli* bestimmt und sind unkorrigiert. Die Dünnschichtchromatogramme (DC.) wurden mit DC.-Fertigplatten Kieselgel 60 F (254) (*Merck*) in den jeweils angegebenen Lösungsmittelsystemen ausgeführt und unter einer UV.-Lampe (bei 254 und 366 nm) bzw. nach Anfärbung mit Kaliumiodoplatinat-Lösung [9] gefolgt von Cer(IV)sulfonat-Reagens [10] ausgewertet. Zur Säulenchromatographie diente Kieselgel 60 (*Merck*) der Korngrösse 0,06–0,2 mm. – Die IR.-Spektren wurden mit einem Spektrophotometer von *Beckman* (Modell IR-33) registriert, wobei die wichtigsten Banden in cm^{-1} angegeben sind. $^1\text{H-NMR}$ -Spektren wurden mit 60-MHz- und 100-MHz-Geräten von *Varian* aufgenommen. Signallagen in ppm relativ zu internem Tetramethylsilan ($= 0$ ppm), *s* = Singulett, *d* = Dublett, *t* = Triplett, *m* = Multiplett, *J* = Kopplungskonstante in Hz.-Massenspektren (MS.) wurden auf dem Gerät *Varian* MAT 711 gemessen.

1. *Isolierung von Sesamin (1).* 1,05 kg gemahlene Blätter und Stengel von *Zanthoxylum tingoassuiba* L. wurden mit Methanol/Essigsäure 100:3 extrahiert. Die erhaltene Lösung wurde schonend eingedampft, der Rückstand (162 g) in 700 ml 0,2N HCl gelöst und erschöpfend mit Äther extrahiert. Die Ätherlösung wurde mit 10proz. Na_2CO_3 -Lösung neutral gewaschen, getrocknet (Na_2SO_4), schonend eingedampft und der Rückstand (42 g) an Aluminiumoxid (*Merck*, neutral, Aktivität III) mit Benzol chromatographiert. Die Sesamin (1) enthaltenden Fraktionen (DC.-Prüfung, CHCl_3) wurden vereinigt, eingedampft und der Rückstand (3,1 g) mit Petroläther (40–60°) verrieben, wobei 1 ungelöst blieb. Nach präp. DC. an SiO_2 mit CHCl_3 wurden 330 mg 1 (0,03%) als farblose Nadeln vom Smp. 123,5–124° (Äthanol) erhalten; der Misch-Smp. mit authentischem Sesamin (1) aus Sesamöl [16] zeigte keine Erniedrigung. $[\alpha]_D^{20} = -59,8^\circ$ ($c = 1,00$, CHCl_3 ; optische Reinheit 95%) ([17]: $[\alpha] = -65^\circ$ ($c = 1,00$, CHCl_3)), Rf 0,33 (SiO_2 , CHCl_3). – UV-, IR.- und NMR.-Spektren: identisch mit jenen von authentischem Sesamin (1). – MS.: 354 (M^+ , 12), 323 (5), 219 (10), 203 (15), 178 (13), 161 (35), 149 (100), 135 (44), 131 (38), vgl. [18].

2. *Isolierung von 1-Hydroxy-2,9,10-trimethoxy-N,N-dimethylaporphinium-chlorid (2).* Bezüglich der Isolierung vgl. [5]. Aus 700 g gemahlener Rinde wurden 2,8 g 2 isoliert, Smp. 199–200° (Methanol/Essigester) ([5]: Smp. 215–219°), $[\alpha]_D^{20} = +63,25^\circ$ ($c = 0,200$, H_2O). – MS.: 355 (M^+ , 7), 341 (2), 340 (4), 339 (4), 326 (2), 324 (5), 297 (5), 251 (4), 211 (3), 181 (3), 168 (3), 165 (3), 153 (4), 139 (3), 58 (100), vgl. [8].

3. *Isolierung von Tembamid (5).* 920 g gemahlene Rinde von *Zanthoxylum tingoassuiba* L. wurden mit 1 l Äthanol/Wasser 1:1 extrahiert und der Extrakt schonend eingedampft. Vom Rückstand (107 g) wurden 80 g auf Kieselgel chromatographiert. Eluieren mit CHCl_3 gab 6,4 g 5 (1%) als farblose Nadeln vom Smp. 152–153,5° (Essigester); der Misch-Smp. mit einem authentischen Präparat [11] zeigte keine Erniedrigung. $[\alpha]_D^{20} = +2^\circ$ ($c = 1,0$, CHCl_3). – IR. (CHCl_3): 3400 (OH), 1655 und 1645 (CONH). – NMR. (CDCl_3): 8,2–7,6 (*m*, 5 arom. H); 7,55 und 7,15 (2 *d*, $J = 9$, 4 arom. H); 6,55 (*t*, $J = 10$, H–C(β)); 5,0–4,4 (*m*, 2 H–C(α)); 4,02 (*s*, CH_3O). – MS.: 271 (M^+ , 1, $\text{C}_{16}\text{H}_{17}\text{NO}_3$), 253 (8, $\text{C}_{16}\text{H}_{15}\text{NO}_2$), 150 (50, $\text{C}_9\text{H}_{10}\text{O}_2$), 137 (41, $\text{C}_8\text{H}_9\text{O}_2$), 135 (82, $\text{C}_8\text{H}_9\text{NO}$), 134 (100, $\text{C}_8\text{H}_8\text{NO}$), 117 (42, $\text{C}_8\text{H}_7\text{N}$), 109 (20, $\text{C}_7\text{H}_9\text{O}$), 105 (69, $\text{C}_7\text{H}_5\text{O}$), vgl. [8].

$\text{C}_{16}\text{H}_{17}\text{NO}_3$ Ber. C 70,82 H 6,32 N 5,16% Gef. C 71,35 H 6,48 N 5,36%

LITERATURVERZEICHNIS

- [1] *P. G. Waterman*, *Taxon* 24, 361 (1975).
- [2] *R. Hegnauer*, «Chemotaxonomie der Pflanzen», Vol. 6, Birkhäuser Verlag, Basel 1973.
- [3] *Farmacopéia Brasileira* 1. Ed., 955.
- [4] *L. D. Antonaccio & O. R. Gottlieb*, *Anais, assoc. brasil. quim.* 18, 183 (1959); *Chem. Abstr.* 54, 11 163 h (1960).
- [5] *N. V. Riggs, L. Antonaccio & L. Marion*, *Canad. J. Chemistry* 39, 1330 (1961).
- [6] *A. I. Gurevich, M. N. Kolosov & M. M. Shemyakin*, *Doklady Akad. Nauk. S.S.S.R.* 131, 833 (1960); *Chem. Abstr.* 54, 16442 f (1960).
- [7] *K. Freudenberg & G. Singh Sidhu*, *Chem. Ber.* 94, 85 (1961).
- [8] *M. Hesse & H. O. Bernhard*, «Alkaloide ausser Indol-, Triterpen- und Steroidalkaloide, Fortschritte der Massenspektrometrie», Vol. 3, Verlag Chemie, Weinheim 1975.
- [9] *E. Schlittler & J. Hohl*, *Helv.* 35, 29 (1952).
- [10] *H. Schmid & P. Karrer*, *Helv.* 29, 1853 (1946); *idem*, *ibid.* 33, 512 (1950).
- [11] *S. M. Albonico, A. M. Kuck & V. Deulofeu*, *J. chem. Soc. (C)* 1967, 1327.
- [12] *H. R. Krajniak, E. Ritchie & W. C. Taylor*, *Austral. J. Chemistry* 26, 687 (1973).
- [13] *S. R. Johns, J. A. Lambertson & J. R. Price*, *Austral. J. Chemistry* 20, 2795 (1967).
- [14] *A. Shoeb, R. S. Kapil & S. P. Popli*, *Phytochemistry* 12, 2071 (1973).
- [15] *P. G. Waterman, A. I. Gray & E. G. Crichton*, *Biochem. Syst. Ecol.* 4, 259 (1976).
- [16] *K. Freudenberg & E. Fischer*, *Chem. Ber.* 89, 1230 (1956).
- [17] *B. Carnmalm, H. Erdtman & Z. Pelchowicz*, *Acta chem. scand.* 9, 1111 (1955).
- [18] *A. Pelter*, *J. chem. Soc. (C)* 1967, 1376.