

28. Panicutin, ein neues Alkaloid aus *Aconitum paniculatum* LAM.

4. Mitteilung über *Aconitum* [1]

von Alfred Katz¹⁾ und Esther Staehelin

Laboratorium der Holbein-Apotheke, Oberwilerstrasse 7, CH-4054 Basel

(8.IX.81)

Panicutin, a New Alkaloid from *Aconitum paniculatum* LAM.

Summary

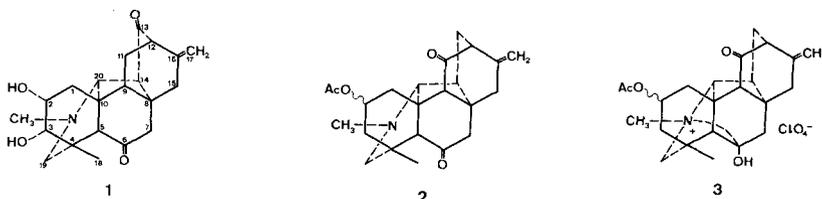
A new diterpene alkaloid, which we named panicutine (**2**), was isolated from the paniculatine-containing chemovariety of *Aconitum paniculatum* LAM. Investigation by spectral methods showed that **2** has the formula $C_{23}H_{29}NO_4$ and belongs to the hetidine(**1**)-type alkaloids. It has one acetoxy group at C(2) and one carbonyl group each at C(6) and C(11).

In der vorhergehenden Mitteilung über *Aconitum* [1] haben wir über die Isolierung des Alkaloides Paniculatin aus *Aconitum paniculatum* LAM., das in einem geographisch definierten Alpengebiet zu finden ist, berichtet. Im DC. dieser Pflanzenextrakte erscheint Paniculatin als Hauptalkaloidfleck, während *Aconitum paniculatum* LAM. anderer europäischer Gebiete einen anderen Hauptfleck aufweist [1]. Paniculatin wurde erstmals 1921 von Brunner aus zentralschweizerischem *A. paniculatum* LAM. isoliert [2], aber nicht weiter bearbeitet. Seither fand es keine Beachtung mehr. Aus den paniculatin-führenden Pflanzen der *Alpes Maritimes*, des *Isère*, des *Wallis* und der *Zentralschweiz* konnten wir nun ein zweites kristallisiertes Alkaloid isolieren. Einzig in den ebenfalls paniculatin-haltigen Exemplaren des *Vercors* war es nicht vorhanden. Sein Rf-Wert ist grösser als der des Paniculatin. Es handelt sich um ein neues Alkaloid (Smp. 160–165°), das wir *Panicutin* nennen. Die Isolierung ist im *Experimentellen Teil* beschrieben. Im folgenden berichten wir über die Konstitutionsermittlung.

Gesamtformel: Das Massenspektrum von Panicutin ergab ein Mol.-Gew. von 383. Das breitband-entkoppelte ^{13}C -NMR.-Spektrum zeigt 23 Signale; sie stammen von 3 CH_3 -, 7 CH_2 - und 6 CH -Gruppen sowie von 4 quartären C-Atomen und 3 Carbonylgruppen. Unter der Annahme, dass es sich wie bei den anderen Aconitalkaloiden um ein Diterpenalkaloid mit einem N-Atom handelt, ergibt sich die Summenformel $C_{23}H_{29}NO_4$, die 10 Doppelbindungsäquivalente enthält. Nach Abzug von 4 Doppel-

¹⁾ Korrespondenzautor.

²⁾ Frau Th. Zardin, Sandoz AG, Basel, sei auch hier für ihre grosse Hilfe bei der Interpretation der 1H -NMR.-Spektren gedankt.



bindungsäquivalenten für die sich aus den UV-, IR-, NMR- und Massenspektren ergebenden 2 Carbonylgruppen und die Acetoxy- und Methylidengruppe, ergibt sich eine Formel mit 6 Ringen. Die ^1H - und ^{13}C -NMR.-Spektren zeigen weiter das Vorhandensein einer C- und einer N-Methylgruppe. Diese Befunde machen das Vorliegen eines Alkaloides vom Typ des Hetidin (1) [3] wahrscheinlich. Es sei noch erwähnt, dass gemäss IR- und NMR.-Spektren in Panicutin (2) keine Hydroxylgruppe vorhanden ist.

Zur Lage der Ketogruppe an C(11): Das ^{13}C -NMR.-Spektrum zeigt je 1 s bei 204,9 und 211,6 ppm, welche auf 2 Carbonylgruppen schliessen lassen. Im UV.-Spektrum erscheint ein breites Maximum bei 300 nm ($\log \epsilon = 2,35$), welches darauf deutet, dass eine β, γ -ungesättigte Carbonylgruppe vorliegt. Für eine solche kommen C(11) und C(13) in Frage. Aufgrund folgender ^1H -NMR.-Daten ist diese Carbonylgruppe C(11) zuzuordnen: Bei relativ tiefem Feld erscheint ein *d* (2,50 ppm), das mit einem *m* (1,99–2,07 ppm) koppelt³). Es ist evident, dass das *d* von dem zum N-Atom geminalen H–C(20) und nicht von H–C(9) herrührt. Letzteres, zwischen C(11) und den quartären C(8) und C(10) stehend, verursacht ein *s* bei wesentlich höherem Feld. Das mit H–C(20) koppelnde *m* gehört demnach zu H–C(14), welches mit den 2 H–C(13) koppelt.

Zur Lage der zweiten Ketogruppe: Die zweite Ketogruppe ist dem C(6) zuzuordnen. Dies geht aus dem ^1H -NMR.-Spektrum hervor, in welchem die C-ständige CH_3 -Gruppe die grosse Verschiebung von 1,48 ppm (*s*, 3 H) aufweist. Bei Hetisin und ähnlichen Alkaloiden erscheint diese CH_3 -Gruppe ungefähr bei 1,0 ppm [3] [1], während bei Vorliegen eines *O*-Substituenten an C(6) eine Verschiebung nach tieferem Feld eintritt [4–7]. Auch die leichte Überführbarkeit von Panicutin (2) in das quaternäre Ammoniumsalz 3 durch Perchlorsäure spricht für eine Ketogruppe in 6-Stellung (s. unten).

Übrige funktionelle Gruppen. Das ^1H -NMR.-Spektrum zeigt je ein Signal bei 4,82 und 4,98 ppm, die charakteristisch sind für eine Methylidengruppe an C(16) bei Diterpenalkaloiden [7] [5] [3]. Das ^{13}C -NMR.-Spektrum bestätigt diese Gruppe durch ein *t* bei 110,5 ppm (= CH_2) und ein *s* bei 142,3 ppm (quartäres C(15)). Die *Acetoxygruppe* manifestiert sich im ^{13}C -NMR.-Spektrum durch das *qa* der CH_3 -Gruppe bei 21,6 ppm und das *s* der Carbonylgruppe bei 169,8 ppm. Im ^1H -NMR.-Spektrum finden wir ein *m* bei 5,14 ppm, das dem Proton an dem die Acetylgruppe tragenden C-Atom zuzuordnen ist. Es koppelt mit zwei bei hohem Feld liegenden Protonen, die je ein Teil eines *ABX*-Systems sind, muss also zwischen zwei Methy-

³) Alle erwähnten Kopplungen sind durch Doppelresonanzexperimente belegt.

lengruppen liegen. Die Folge $-\text{CH}_2-\text{CH}-\text{CH}_2-$ lässt sich nur in Ring A unterbringen. Die Acetoxygruppe steht demnach an C(2). Die 2 H-C(1) erscheinen bei 2,0-2,05 und 1,55-1,6 ppm, die 2 H-C(3) bei 1,7-1,8 und 1,45-1,55 ppm, d.h. $\Delta\delta_{AB}$ von 2 H-C(1) ist mit 150 Hz wesentlich grösser als $\Delta\delta_{AB}$ von 2 H-C(3) mit 90 Hz. Dies dürfte dem Einfluss der Carbonylgruppe in 11-Stellung zuzuschreiben sein (Abstand von $H_a-\text{C}(1)$ zu $\text{O}-\text{C}(11)$ im *Dreiding*-Modell: 2,1 Å). Die *N-CH₃-Gruppe* ist belegt durch ein *qa* bei 43,3 ppm im ^{13}C -NMR.-Spektrum und ein *s* (3 H) bei 2,35 ppm im ^1H -NMR.-Spektrum. Ein *m* bei 2,92 ppm gehört zu H-C(12). Es koppelt mit den beiden Multipletten von 2 H-C(13) bei 1,8-1,9 und 2,0-2,1 ppm. Ein *AB*-System bei 2,68 und 2,54 ppm ($J_{AB}=10$ Hz, $\Delta\delta_{AB}=50$ Hz) ist den 2 H-C(19) in α -Stellung zum N-Atom zuzuordnen. Bei 2,60 ppm erscheint das *s* (1 H) von H-C(5), bei 2,35 und 2,49 ppm ($J_{AB}=16$ Hz, $\Delta\delta_{AB}=65$ Hz) das *AB*-System von 2 H-C(15), das Fernkopplung mit 2 H-C(13) aufweist.

Panicutin-Perchlorat. Es ist bekannt, dass Alkaloide des Hetidintyps mit Ketogruppe in 6-Stellung durch Säureeinwirkung unter Ringschluss in das Salz einer quaternären Ammoniumbase übergeführt werden, wobei die Ketogruppe in 6-Stellung zur tertiären Hydroxylgruppe wird [4] [6] (vgl. auch [7]). Wir führten Panicutin in das Perchlorat **3** über und fanden in dessen IR.-Spektrum bei 3600-3200 cm^{-1} eine eindeutige Hydroxylabsorption, welche im Panicutin nicht vorhanden ist. Gleichzeitig verschwand die relativ tief liegende Carbonylabsorption bei 1692 cm^{-1} . Ähnlich tief liegende Carbonylabsorptionen wurden bei anderen 6-Oxo-Alkaloiden gefunden [4] [6], fehlten aber bei den zugehörigen quaternären Salzen, auch bei Anwesenheit weiterer Ketogruppen. Im Panicutin-Perchlorat blieb die zweite Carbonylabsorption bei 1725 cm^{-1} erhalten ($\text{O}=\text{C}(11)$ und Acetyl). Diese Befunde sind zusätzliche Beweise für die Stellung der Ketogruppe in 6-Stellung.

Alle beschriebenen Resultate stehen in Einklang mit der Struktur **2** für Panicutin. Legt man Ringsysteme anderer Diterpenalkaloide zu Grunde, so gerät man in Widersprüche. Wir halten Struktur **2** deshalb für gesichert, wobei einzig die Konfiguration an C(2) ungeklärt bleibt. Aufgrund der kleinen Kopplungskonstanten von H-C(2) können wir für die Acetoxygruppe β -Stellung bei Sesselkonformation des Ringes A sowie α -Stellung bei Wannenkonformation ausschliessen. Die Entscheidung zwischen den beiden anderen Möglichkeiten sollen weitere Untersuchungen bringen.

Experimenteller Teil

Isolierung von Panicutin (2). Herstellung des Rohextraktes mit 55 g unterirdischen Teilen von *A. paniculatum* LAM. ssp. *paniculatum* wie früher beschrieben [1]. Eine Lösung von 350 mg Rohextrakt in ca. 40 ml CHCl_3 wurde mit 2proz. Na_2CO_3 -Lösung ausgeschüttelt, die organische Phase i.V. eingedampft und der Rückstand aus Aceton/Äther kristallisiert, wobei 66 mg krist. Paniculatin abgetrennt wurden. Der Mutterlaugenrückstand (230 mg) wurde in ca. 10 ml Cyclohexan/ CHCl_3 /Diäthylamin 7:2:1 gelöst und auf eine mit demselben Gemisch präparierte Kieselgelsäule gegossen (Kieselgel für Säulenchromatographie *Merck*). Die ersten mit Äther eluierten Fraktionen gaben aus Äther/Pentan 30 mg krist. **2**. Die Mutterlauge wurde auf DC.-Fertigplatten (*Merck*, Kieselgel 60 F₂₅₄ 0,5 mm) mit Cyclohexan/ CHCl_3 /Diäthylamin 7:2:1 präparativ gereinigt (Vorsättigung der Platten während 30 Min., 2mal Entwickeln): 8 mg krist. **2**. Das Rohkristallisat wurde mehrmals aus Äther/Pentan umkristallisiert:

Smp. 160-165° (Sintern ab 157°). DC. auf HPTLC.-Fertigplatten (Merck, Kieselgel 60 F₂₅₄; Linear-kammer Camag; Vorsättigung der Platten während 10 Min.) bei 19° mit a) Cyclohexan/Diäthylamin 8:1 (3 Durchgänge): Rf (2) 0,29, Rf (Aconitin) 0,13, Rf (Paniculatin) 0,09; b) Cyclohexan/CHCl₃/Diäthylamin 8:1:1 (2 Durchgänge): Rf (2) 0,32, Rf (Aconitin) 0,16, Rf (Paniculatin) 0,13; c) Cyclohexan/CHCl₃/Diäthylamin 7:2:1 Rf (2) 0,29, Rf (Aconitin) 0,21, Rf (Paniculatin) 0,18; [α]_D²⁰ = -141,1°, [α]_D²⁶ = -148,8°, [α]_D³⁶ = -174,4°, [α]_D³⁶ = -370,9°, [α]_D³⁰ = -926,8° (Polarimeter Perkin-Elmer 241; c = 0,429, CHCl₃⁴). - UV. (Hitachi 101 Spektrophotometer; Äthanol): 300 (log ϵ = 2,35). - IR. (Perkin-Elmer 177 Grating Infrared Spectrophotometer 1,2 mg 2 in 300 mg KBr⁴): 3070_w (=CH₂); 2780_m (N-CH₃); 1725_s, 1715_s (Acetyl und O=C(11)); 1690_s (O=C(6)); 895_w (=CH₂). - ¹H-NMR. (Bruker Spectrospin 360 MHz; 5 mg 2 in 0,4 ml CDCl₃, Int. Standard TMS⁵): 1,48 (s, 3 H, H₃C(18)); 1,45-1,55 und 1,7-1,8 (AB von ABX; $\Delta\delta_{AB}$ = 90 Hz, 2 H-C(3)); 1,60 (s, H-C(9)); 1,55-1,6 und 2,0-2,05 (2 m, AB von ABX, $\Delta\delta_{AB}$ = 150 Hz, 2 H-C(1)); 1,8-1,9 und 2,0-2,1 (2 m, AB von ABX, $\Delta\delta_{AB}$ \approx 70 Hz, 2 H-C(13)); 1,99-2,07 (m, 2 H-C(14)); 2,05 (s, CH₃COO); 2,26 und 2,69, (AB, J_{AB} = 18 Hz, $\Delta\delta_{AB}$ = 160 Hz, H-C(7)); 2,35 (s, CH₃-N); 2,35 und 2,49 (AB; J_{AB} = 16 Hz, $\Delta\delta_{AB}$ = 65 Hz (kein reines AB), 2 H-C(15)); 2,50 (d, w_{1/2} = 5 Hz, H-C(20)); 2,54 und 2,68 (AB, J_{AB} = 10 Hz, $\Delta\delta_{AB}$ = 50 Hz (2 H-C(19)); 2,60 (s, 1 H, H-C(5)); 2,92 (m, 1 H, w_{1/2} = 7 Hz, H-C(12)); 4,82 und 4,98 (je 1 H, w_{1/2} = 4 Hz, 2 H-C(17)); 5,14 (m, 1 H, w_{1/2} = 10 Hz, H-C(2)). - ¹³C-NMR. (Bruker Spectrospin 90,5 MHz, 30 mg 2 in 0,15 ml CDCl₃, Int. Standard TMS⁵): 21,6 (qa, CH₃COO); 22,7 (t); 31,2 (qa, C(18)); 34,8 (t); 35,9 (t); 36,8 (s); 41,8 (s); 43,3 (qa, CH₃N); 43,9 (t); 44,5 (s); 50,0 (d); 50,4 (t); 52,8 (d); 59,2 (d); 60,4 (t); 63,2 (d); 68,5 (d); 70,9 (d); 110,5 (t, C(17)); 142,3 (s, C(16)); 169,8 (s, CH₃COO); 203,8 (s, C=O); 211,5 (s, C=O). - MS. (Massenspektrometer AET MS 30/C; Einlass-System: direkt; Elektronenenergie: 70 eV⁵): 383 (M⁺), 368, 355, 340, 324 (M⁺ - CH₃COO), 296, 282, 224, 217, 173, 112, 91, 70, 55, 28, 18.

Herstellung von Panicutin-perchlorat (3). Eine Lösung von 10 mg Panicutin (2) in 1 ml Äthanol und 0,05 ml 10proz. Perchlorsäure wurde 3 Std. bei RT. belassen. Nach Abdampfen i.V. wurde der Rückstand wiederholt in Äthanol gelöst und die Lösung i.V. eingedampft. Kristallisation und 4mal Umkristallisieren aus Äthanol/Äther ergaben 6,5 mg 3 als Nadeln, Smp. 279-285°. - IR. (Perkin-Elmer 177 Grating Infrared Spectrophotometer; 1,5 mg 3 in 300 mg KBr⁴): 3600-3200_s (HO-C(6)); 1720_s (O=C(11) und Acetyl); 893_w (H₂C(17)); 625_s (ClO₄⁻).

LITERATURVERZEICHNIS

- [1] E. Staehelin & A. Katz, Pharm. Acta Helv. 55, 221 (1980).
- [2] G.E. Brunner, Diss. ETH, Zürich 1921, S. 60.
- [3] S.W. Pelletier, K.N. Iyer, V.K. Bhalla, M.G. Newton & R. Aneja, J. Chem. Soc., Chem. Commun. 1970, 393.
- [4] M. Natsume, Chem. Pharm. Bull. 10, 2702 (1962).
- [5] M. Götz & K. Wiesner, Tetrahedron Lett. 60, 5335 (1969).
- [6] Y. Ichinohe, M. Yamaguchi, N. Katsui & S. Kakimoto, Tetrahedron Lett. 27, 2323 (1970).
- [7] A.J. Solo & S.W. Pelletier, J. Org. Chem. 27, 2702 (1962).

⁴) Herrn Prof. Dr. H.H.A. Linde danken wir sehr, dass wir das IR.-Spektrophotometer und das Polarimeter des Pharmazeutischen Institutes der Universität Basel gebrauchen durften.

⁵) Wir sind der Firma Sandoz AG, Basel, für die Aufnahme der NMR.- und Massenspektren sehr dankbar, insbesondere Frau Th. Zardin (¹H-NMR.) und Herrn H. R. Loosli (¹³C-NMR.).