

Über die Isolierung des Achilleins aus *Achillea millefolium* L. und dessen Identifizierung als Betonicin

Von

M. Pailer und W. G. Kump

Aus dem II. Chemischen Institut der Universität Wien

Mit 1 Abbildung

(Eingegangen am 6. Mai 1959)

Aus der heimischen Pflanze *Achillea millefolium* L. (Schafgarbe) wurde die als Glykoalkaloid beschriebene Base Achillein isoliert, charakterisiert und als Betonicin [1-Methyl-4-hydroxypyrrolidincarbonsäure-(2)-methylbetain] identifiziert.

Die Schafgarbe (*Achillea millefolium* L.) ist eine der ältesten bekannten Heilpflanzen. Das zur Familie der Korbblütler gehörige und bei uns häufig auf Wiesen, Ackerrändern, Wegen usw. anzutreffende Unkraut dürfte mit der Kamille, der Pfefferminze und dem Baldrian wohl zu den meist bekannten und meist gebrauchten Mitteln der Volksheilkunde zählen.

Die volkstümliche, arzneiliche Verwendung der Droge hat seit dem Altertum, besonders seit dem Mittelalter eine erhebliche Ausdehnung erfahren, und man findet die Pflanze heute in den zeitgenössischen Kräuterbüchern übereinstimmend gegen eine Vielzahl verschiedener Leiden und Krankheiten empfohlen. Es war daher naheliegend, daß man sich verschiedentlich mit der Untersuchung dieser interessanten Droge beschäftigte, worüber in einer Reihe von Arbeiten berichtet wurde. Zanon¹ isolierte erstmals zwei basische Stoffe, die er „Achillein“ und „Moschatin“ nannte. Von Planta² beschäftigte sich ebenfalls mit den Basen der Droge und beschrieb das Achillein als ein „Glykoalkaloid“ von der Formel

¹ B. Zanon, Ann. Chem. Pharm. **58**, 21 (1846).

² A. von Planta-Reichenau, Ann. Chem. Pharm. **155**, 153 (1870).

$C_{20}H_{38}N_2O_{15}$, das sich nach seiner Angabe in Zucker, ein Aglykon „Achiletin“, Ammoniak und eine flüchtige, aromatische Substanz spalten ließ.

Da bei diesen Untersuchungen das Achillein als „braunrote Masse“ beschrieben wurde, hatten von *Planta* und *Zanon* zweifellos keine Reinstoffen in Händen, so daß die Abweichungen späterer Untersuchungen von den Ergebnissen der beiden Autoren ohneweiters verständlich erscheinen.

Als definierte Verbindung wurde das Achillein erstmals von *Miller* und *Chow*³ beschrieben. Sie isolierten aus der Schafgarbe ein kristallisiertes Alkaloid vom Schmp. 247—248°, $[\alpha]_D$: — 14,3°, für das sie den Namen Achillein beibehielten. Auf Grund der Elementaranalyse und des von ihnen durch Kryoskopie bestimmten Molgewichtes von 300 kamen die beiden Autoren zu der Formel $C_{14}H_{26}N_2O_6$ für das Achillein. Auffällig war die weitgehende Resistenz der Verbindung gegen Säure- und Permanganateinwirkung, die sich weder mit der Konstitution eines Glykosides noch mit der eines „Glykoalkaloides“ in Einklang bringen läßt.

Miller und *Chow* vermuteten trotzdem in dem Alkaloid ein „Glykoalkaloid“, das einen Pyrrolidin- oder einen Piperidinring und eine Säureamidgruppe (IR-Bande bei 6,1 μ) enthalten sollte.

Die eigenartige Summenformel des Achilleins, das ganz besondere chemische Verhalten und sein Vorkommen in der viel verwendeten Droge haben uns zur Untersuchung dieses Naturstoffes angeregt.

Anfangs versuchten wir, das gut wasserlösliche Achillein durch Perkolat mit Wasser aus der Droge zu isolieren. Da hierbei aber auch eine unverhältnismäßig große Menge zuckerartiger und anorganischer Verbindungen in Lösung ging, und die Anreicherung und Abtrennung des nur in einer Menge von 0,02% vorhandenen Achilleins störte, wurde die Droge mit Äthanol extrahiert. Nach Abtrennung von paraffin- und fettartigen Extraktionsbestandteilen durch Ausziehen des Abdampfrückstandes mit Wasser wurden die Basen durch Behandlung der abgedampften wässrigen Auszüge mit absol. Äthanol von Zuckern und anorganischen Salzen getrennt. Die so erhaltenen achilleinreichen Fraktionen waren jedoch noch mit dunklen Stoffen verunreinigt und konnten nicht zur Kristallisation gebracht werden. Zur Abtrennung des Achilleins aus diesen angereicherten Fraktionen filtrierten wir deren wässrige Lösungen durch Säulen, die mit dem stark sauren Polystyrolharz Lewatit S 100 beschickt waren. Dabei wurde das Achillein festgehalten, während beträchtliche Mengen dunkel gefärbter Verunreinigungen ausgewaschen werden konnten. Nach der Elution mit 5proz. Ammoniak und Abdampfen der Lösung blieb das rohe Achillein als braunes Harz zurück.

Die weitere Reinigung erfolgte durch Chromatographie an Aluminium-

³ *F. M. Miller* und *L. M. Chow*, *J. Amer. Chem. Soc.* **76**, 1353 (1954).

oxyd. Bei der Elution mit n-Butanol konnte eine sehr rasch laufende Fraktion mit starker *Dragendorff*-Farbreaktion* abgetrennt werden. Sie enthielt kein Achillein**. Dieses wurde langsamer eluiert und befand sich in den *Dragendorff*-inaktiven Fraktionen des Eluates. Nach Abdampfen hinterblieb ein im wesentlichen aus Achillein bestehendes Kristallisat, das allerdings noch mit schmierigen Bestandteilen verunreinigt war. Diese lösten sich beim Waschen mit kaltem Isopropanol und die zurückbleibenden Kristalle wurden mehrmals aus Äthanol umgelöst. Sie bestanden bereits nach wenigen derartigen Operationen aus reinem Achillein vom Schmp. 254—256° (Zers.).

Miller und *Chow* gaben auf Grund der Elementaranalysen und der kryoskopischen Molgewichtsbestimmung, bei welcher sie einen Wert von 300 fanden, für das Achillein die Bruttoformel $C_{14}H_{26}N_2O_6$ an. Unsere Analysen stimmten mit den Ergebnissen der beiden Autoren überein, jedoch konnten wir bei der Molgewichtsbestimmung in Wasser für den Naturstoff immer nur Werte um 150 ermitteln. Die Bruttoformel des Achilleins ist demnach $C_7H_{13}NO_3$.

Das IR-Spektrum des Achilleins zeigt eine Bande von 1625 K, die einer $-\text{COO}^{(-)}$ -Gruppe zuzuordnen ist. Diese Gruppierung konnte durch Veresterung mit Methanol und die Methoxybestimmung der Methylester-tetraphenylborverbindung bewiesen werden. Eine Betainnatur des Achilleins war durch sein thermisches Verhalten sehr wahrscheinlich (vgl. *Willstätter*⁴ und *Kuhn*⁵). Bei der Pyrolyse entstand nämlich in der für α -Betaine charakteristischen Weise durch intramolekulare Alkylierung der einem Norachillein entsprechende Methylester. Er wurde als Pikronat charakterisiert (Schmp. 185—187°). Die Analysen entsprachen der Formel $C_7H_{13}NO_3$ und zeigten das Vorhandensein einer $-\text{COOCH}_3$ -Gruppe und einer N-Methylgruppe. Die Verbindung nahm außerdem bei der katalytischen Hydrierung keinen Wasserstoff auf. Da die Verbindung Reaktionen eines tertiären Amins zeigte und im IR-Spektrum eine deutliche OH-Bande aufwies, mußte für den Norachilleinmethylester die Struktur eines N-Methyl-hydroxypyrrolidin-carbonsäuremethylesters angenommen werden. Die von uns beobachtete Entstehung von Trimethylamin bei der Pyrolyse und von Dimethylamin bei der Kalischmelze des Achilleins (beide Basen wurden als Pikrate gefaßt und identifiziert), bei Anwesenheit von nur einem Stickstoff im Molekül, wider-

* Tüpfeln auf Papier und nachfolgendes Besprühen mit Reagenslösung.

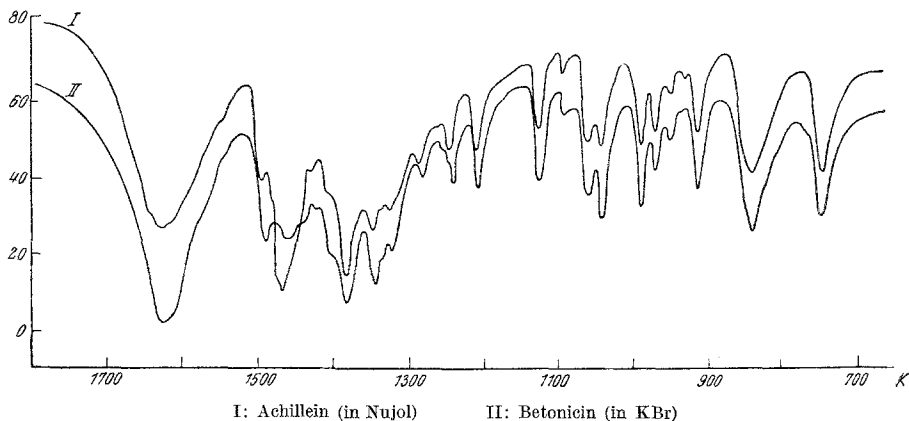
** Achillein reagiert auch mit *Dragendorffschem* Reagens. Die Farbe (gelb) ist jedoch wenig intensiv und erscheint erst einige Zeit nach dem völligen Trocknen des Papiers.

⁴ *R. Willstätter*, Ber. dtsch. chem. Ges. **35**, 588 (1902); *R. Willstätter* und *W. Kahn*, Ber. dtsch. chem. Ges. **37**, 401, 1853 (1904).

⁵ *R. Kuhn* und *F. Giral*, Ber. dtsch. chem. Ges. **68**, 387 (1935).

spricht dieser Formulierung nicht, da z. B. auch Schulze⁶ und Trier⁷ die gleichen Abbaubasen bei der Pyrolyse bzw. Kalischmelze des Stachydrins nachweisen konnten.

Nach diesen Ergebnissen konnte das Achillein mit dem bereits mehrmals in Pflanzen aufgefundenen Methylbetain des 1-Methyl-4-hydroxyprolins, dem Betonicin, identisch sein. Wie ein Vergleich mit einem aus synthetischem L-Hydroxyprolin hergestellten Betonicin zeigte, war dies auch tatsächlich der Fall. Achillein und Betonicin hatten identische



Schmelzpunkte (254—256°, korr.), zeigten im Gemisch keine Schmelzpunktsdepression, lieferten übereinstimmende IR-Spektren (Abb. 1), und die Hydrochloride beider Basen hatten die gleiche spezif. Drehung. Der Name Achillein ist somit aus der Literatur zu streichen.

Wir danken der Österreichischen Akademie der Wissenschaften für die finanzielle Unterstützung dieser Arbeit aus den Mitteln der Ölzelt-Stiftung.

Experimenteller Teil

Isolierung des Achilleins aus *Achillea millefolium* L.

Die zerkleinerte und gut getrocknete Droge (*Hba. millefolii* c. fl. des Handels) wurde in einem Extraktor mehrere Tage mit Äthanol extrahiert und der schwarzgrüne Extrakt auf dem Wasserbad im Vak. zur Trockene verdampft. Der zurückbleibende Teer wurde erschöpfend mit Wasser ausgezogen, die filtrierte, wäßrige Lösung abgedampft und der so erhaltene, trockene Abdampfrückstand mit heißem Alkohol ausgezogen. Nach Eindampfen dieser alkohol. Lösung wurde der Rückstand mit absol. Äthanol behandelt und so die anorganischen Salze und Zucker weitgehend abgetrennt. Die stark braun gefärbte Lösung wurde wieder eingedampft, der Rückstand

⁶ E. Schulze und G. Trier, Z. physiol. Chem. **67**, 59 (1910).

⁷ G. Trier, Z. physiol. Chem. **67**, 324 (1910).

in destilliertem Wasser gelöst und die filtrierte Lösung auf eine Säule, die mit dem in der H-Form befindlichen Austauschere Lewatit S 100 gefüllt war, langsam (etwa 50 Tropfen pro Sek.) aufgetropft. Anschließend wurde mit destill. Wasser so lange gewaschen, bis die ausfließende Flüssigkeit farblos war und neutral reagierte. Dann ließen sich die Basen durch Zutropfen von 5proz. Ammoniak eluieren. Das dunkelbraune Eluat wurde im Vak. auf dem Wasserbad eingedampft, das zurückbleibende Harz in wenig Alkohol gelöst und die filtrierte Lösung mit etwas Aluminiumoxyd verdampft. Das im Vak. gut getrocknete Pulver wurde auf eine mit Aluminiumoxyd (Merek, nach *Brockmann*, Aktivität III) beschickte Säule als Kopf aufgebracht. Hierauf eluierte man mit *n*-Butanol und trennte die ersten Fraktionen, die eine starke Reaktion mit *Dragendorffschem* Reagens gaben, ab. Die folgenden, *Dragendorff*-inaktiven Fraktionen wurden zusammen eingedampft und hinterließen eine schwach bräunliche, schmierige Kristallmasse. Nach mehrmaligem, kurzem Waschen mit wenig eiskaltem Isopropanol waren die Kristalle frei von schmierigen Bestandteilen. Sie wurden einige Male aus heißem Äthanol unter Zusatz von einem Fünftel des Volumens *n*-Butanol umkristallisiert. Die reine Base bildete aus Alkohol große, wohl ausgebildete, vierseitige Pyramiden, oft mit abgeschnittener Spitze. Es konnte kein Kristallalkohol und kein Kristallwasser festgestellt werden. Ausbeute 0,02%, bezogen auf die eingesetzte Droge. Schmp. 254—256° (korr.) (Zers.).

$C_7H_{13}NO_3$ (159). Ber. C 52,81, H 8,23, N 8,79.

Gef. C 53,02, H 8,14, N 8,96.

MG (kryosk., H_2O , $c = 0,07$ g/ml) 148.

Achilleinhydrochlorid: Durch Eindampfen von Achillein mit Salzsäure und mehrmaliges Umlösen der zurückbleibenden Kristalle aus Äthanol. Zur Analyse wurde 2 Stdn. bei 80° und 0,002 Torr getrocknet. $[\alpha]_D^{20} = -24,2^\circ$ (Wasser, $c = 0,0892$ g/ml).

$C_7H_{14}ClNO_3$. Ber. C 42,96, H 7,21, N 7,16, Cl 18,12.

Gef. C 43,03, H 7,25, N 7,18, Cl 18,00.

Achilleinmethylester-tetraphenylborat: In eine am Rückflußkühler kochende Lösung von 120 mg Achillein in 10 ml absol. CH_3OH wurde 5 Stdn. lang ein mäßiger Strom trockenen HCl eingeleitet. Hierauf dampften wir bei 14 Torr und 30° ein und entfernten die letzten Spuren HCl im evakuierten Exsikkator über fester NaOH. Das sehr hygroskopische, zähe Harz des Methylesterhydrochlorids ließ sich nicht analysenrein erhalten. Die saure Lösung des Achillein-methylesterhydrochlorids in Wasser wurde daher nach dem Versetzen mit einigen Tropfen 0,2 molarer $AlCl_3$ -Lösung in der Kälte mit einer 10proz. wäßrigen Lösung von Natriumtetraphenylborat gefällt. Der dickflockige Niederschlag wurde rasch abfiltriert, mit destilliertem Wasser gewaschen und mehrmals vorsichtig unter Vermeidung von Überhitzung aus verd. Alkohol umkristallisiert. Lange, nadelartige Kristalle, Schmp. 180 bis 182° (korr.). Zur Analyse wurde 2 Stdn. bei 80° und 0,002 Torr getrocknet.

$C_{32}H_{36}BNO_3$. Ber. OCH_3 6,28. Gef. OCH_3 6,35.

Norachilleinmethylester: Die bei 170—180° (Luftbadtemp.) in einem Kugelrohr im Hochvak. durchgeführte Pyrolyse des Achilleins ergab als destillierbares Produkt ein gelbes Öl, aus dem sich bei wiederholter fraktionierter Destillation ein bei 50—60°/0,01 Torr übergelender Teil abtrennen ließ. Diese ölige Fraktion wurde in Äther gelöst, die äther. Lösung mit Wasser

und verd. Natriumbicarbonatlösung ausgeschüttelt und hierauf mit Kochsalz getrocknet. Durch Aufbringen dieser Lösung auf Aluminiumoxyd (Aktivität III) und Nachwaschen mit Äther konnte zuerst eine rasch wandernde Substanz abgetrennt werden, die alle Reaktionen eines Pyrrols zeigte (Fichten-spanreaktion, *Ehrlichs* Reaktion, Kupplung mit diazotierter Sulfanilsäure). Bei anschließendem Entwickeln mit Äthanol-Äther 2:1 wurde der Norachilleinmethylester eluiert, welcher zur Reinigung nochmals im Vak. destilliert wurde. Der Ester nahm bei einem Versuch einer katalytischen Hydrierung keinen Wasserstoff auf.

$C_7H_{13}NO_3$. Ber. C 52,81, H 8,23, N 8,79, OCH_3 19,49.
Gef. C 52,89, H 8,13, N 8,50, OCH_3 19,01.

Pikrolonat: Durch Versetzen der äther. Lösung des Esters mit einer äther. Lösung von Pikrolonsäure in Form feiner, schmaler Blättchen erhalten. Umgelöst aus Alkohol-Äther. Schmp. 185—187° (korr.), vorheriges Sintern.

$C_{17}H_{21}N_5O_8$. Ber. OCH_3 7,33. Gef. OCH_3 7,42.