

198. Über die Alkaloide von *Anisocyclea grandidieri* H. Bn. (Menispermaceae)

von **Emil Schlittler** und **Nikolaus Weber**

Pharmakologisches Institut der Universität Heidelberg

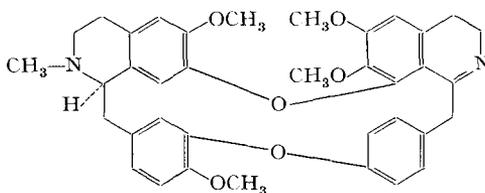
(3. VII. 72)

Summary. Four alkaloids were isolated from *Anisocyclea grandidieri* (Fam. Menispermaceae). Trilobine and stebisimine have already been found in other menispermaceous plants, whereas (–)-epistephanine and 12'-O-desmethyltrilobine have not been isolated before.

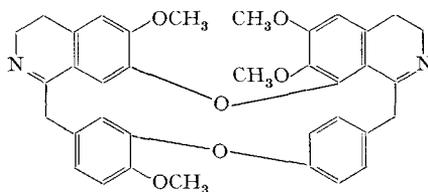
Boissier et al. [1] haben 1965 kurz über die pharmakologische Wirksamkeit des Alkaloidextraktes von *Anisocyclea grandidieri* H. Bn., einer Menispermacee Madagaskars, berichtet. Sie fanden, dass der Gehalt der Wurzeln an tertiären Alkaloiden bei 0,45% lag.

Wir haben die Alkaloide von *A. grandidieri* genauer untersucht und aus dem Rohextrakt vier Alkaloide isolieren können, von denen (–)-Epistephanin (I) und 12'-O-Desmethyltrilobin (III) noch unbekannt sind.

Trilobin (IIIa) fanden *Kondo et al.* [2] in *Cocculus trilobus* D. C.; Stebisimin (II) wurde kürzlich von *Barton et al.* [3] aus *Stephania japonica* Miers isoliert. Ebenfalls in *St. japonica* wurde (+)-Epistephanin gefunden [4].



I

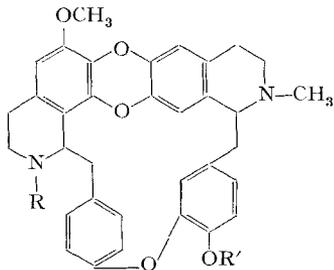


II

Die Identifizierung von I, II und IIIa wurde mit Hilfe spektroskopischer Methoden und Vergleich mit authentischem (+)-Epistephanin, Stebisimin und Trilobin durchgeführt.

III stellt das Ausgangsprodukt für die bisher bekannten Alkaloide des Trilobin-Typs Trilobin (IIIa) [2]; Cocsulin (IIIb) [6] und Isotrilobin (IIIc) [7] dar. Die Struk-

turaufklärung von III gelang durch Überführung in seine bekannten Derivate IIIa, IIIb, IIIc und deren Identifizierung mit Hilfe spektroskopischer Methoden und authentischen Vergleichsmaterials.



- III R = R' = H
 IIIa R = H; R' = CH₃
 IIIb R = CH₃; R' = H
 IIIc R = R' = CH₃

Über die pharmakologische Wirksamkeit der Alkaloide wird in einer gesonderten Arbeit berichtet.

Den Farbwerken *Hoechst* AG, Frankfurt/Main, danken wir für das zur Verfügung gestellte Pflanzenmaterial sowie für ein Stipendium für *N.W.*. Der *Hoffmann-La Roche* AG, Basel, danken wir für die Durchführung der Analysen und Aufnahme der Massenspektren.

Experimenteller Teil

Die Schmelzpunkte sind unkorrigiert. Die NMR.-Spektren wurden mit einem *Varian-A60*-Instrument mit Tetramethylsilan als innerem Standard, die IR.-Spektren mit einem *Perkin-Elmer-221*-Gerät als KBr-Pressling und die UV.-Spektren mit einem *Leitz-Unicam S.P. 800*-Gerät in Methanol aufgenommen. Die Massenspektren wurden mit einem *Varian-MS 9 AEI* (Manchester)-Massenspektrometer aufgenommen, die optischen Drehungen mit einem *Perkin-Elmer*-Polarimeter vom Typ 141 bestimmt.

Die Stengel von *A. grandidieri* wurden im März 1967 in Betsipotika/Morondava (Madagaskar) gesammelt.

Extraktion von A. grandidieri: 250 g der gemahlenden Stengel wurden im Soxhlet-Extraktor 60 Std. mit 2 l 2proz. essigsäurem Methanol extrahiert. Das Lösungsmittel wurde anschliessend stark eingeeengt und mit 500 ml Wasser versetzt. Die Lösung wurde über Nacht im Kühlschrank aufbewahrt, der entstandene Niederschlag zentrifugiert. Die überstehende Lösung wurde dekantiert, der Niederschlag noch zweimal mit je 100 ml 2N Essigsäure aufgeschlämmt, zentrifugiert und die überstehende Lösung mit der zuerst abgetrennten vereinigt. Die Lösung wurde dann bis zur neutralen Reaktion mit konz. Na₂CO₃-Lösung, anschliessend bis zur stark alkalischen Reaktion (pH 12–14) mit 2N NaOH versetzt. Danach wurde zehnmal mit je 100 ml CH₂Cl₂ extrahiert, worauf die wässrige alkalische Lösung keine positive Alkaloidreaktion mehr zeigte. Nach Trocknung über Na₂SO₄ und Destillation des Lösungsmittels blieben 3,8 g braunes Rohbasengemisch (B.1) zurück, das nach Filtration mit 1,5 l CHCl₃/CH₃OH 10:1 durch eine Säule von 60 g Al₂O₃ (*Woelm*, neutral) 3,5 g Rohbasengemisch (B.2) ergab.

Chromatographie des Alkaloidgemisches an Aluminiumoxid

1. *Isolierung von II und III*: 3,5 g B.2 wurden an einer Säule von 103 g Al₂O₃ (*Woelm*, neutral) chromatographiert. Die 1. Fraktion wurde mit 1,5 l Äther/Methanol 10:1 eluiert, die 2. Fraktion mit 1,5 l CHCl₃/CH₃OH 10:1.

Die 1. Fraktion lieferte nach Abdampfen des Lösungsmittels 1,5 g (B.3), die 2. Fraktion 1,7 g (B.4) hellbraunen Extrakt. Nach Aufkochen mit einem Methanol/Benzol-Gemisch kristallisierte aus B.3 0,59 g II, aus B.4 0,91 g III aus.

2. *Isolierung von I*: Nach Filtration von II und Abdampfen des Lösungsmittels verblieben 0,90 g einer Rohbase (B.5), die an einer Säule von 130 g Al₂O₃ (*Woelm*, neutral) chromatographiert folgende Fraktionen ergab (Tab. 1):

Tabelle 1¹⁾

Fraktion	gefundene Basen	Lösungsmittel in %		Volumen (ml)	Gewicht (g)
		Äther	Methanol		
1	keine Alkal.	100	–	500	0,11
2	I	99	1	250	0,14
3	I	98	2	300	0,18
4	II	98	2	500	0,09
5 bis 10	Alkaloid-gemische	verschiedene Äther/Methanol- und CHCl ₃ /CH ₃ OH-Gemische			0,36
				gesamt	0,88

Die 2. und 3. Fraktion, die das gleiche Alkaloid I enthielten, wurden vereinigt. Nach Destillation des Lösungsmittels und Versetzen des Rückstandes mit einem Äther/Methanol-Gemisch kristallisierten 0,19 g I aus. Aus der 4. Fraktion fielen nach Verdampfen des Lösungsmittels und Aufnahme des Rückstandes in Methanol/Benzol 10:1 40 mg I1 aus.

3. *Isolierung von IIIa*: 5 kg gemahlene Stengel von *A. grandidiervi* wurden – wie beschrieben – extrahiert und aufgearbeitet. Nach Abtrennung von I aus der Rohbase B.5 wurden 6,5 g B.6 erhalten, die in 2N HCl gelöst und mit CHCl₃ extrahiert wurden. Der saure Chloroformextrakt zeigte nur eine geringe positive Alkaloidreaktion und wurde deshalb verworfen. Danach wurde die saure Lösung mit 2N NaOH alkalisch gemacht (pH 12–14) und mit CHCl₃ extrahiert. Nach dem Trocknen über Na₂SO₄ und Destillation des Lösungsmittels blieben 4,6 g B.7 zurück, die an einer Säule von 350 g Al₂O₃ (*Woelm*, neutral) chromatographiert folgende Fraktionen ergaben (Tab. 2):

Tabelle 2¹⁾

Fraktion	gefundene Basen	Lösungsmittel in %			Volumen (ml)	Gewicht (g)
		Äther	CHCl ₃	CH ₃ OH		
1	–	98,5	–	1,5	2500	0,5
2	I und II	95	–	5	1500	1,1
3	–	90	–	10	1500	0,6
4	IIIa	47,5	47,5	5	1250	0,7
5	IIIa	–	95	5	1000	0,9
6	–	–	90	10	1000	0,4
					gesamt	4,5

Die 4. und 5. Fraktion wurden, da sie das gleiche Alkaloid IIIa enthielten, vereinigt, das Lösungsmittel abgezogen, der Rückstand (1,6 g B.8) in CH₃OH aufgenommen und mit methanolischer HCl bis pH 3 angesäuert. Nach Abdampfen des Lösungsmittels wurde B.8 im Vakuum 12 Std. über KOH aufbewahrt. Beim Aufnehmen in CH₃OH fiel IIIa als kristallines HCl-Salz (210 mg) aus, wurde abgesaugt, in 1N NaOH aufgenommen und mit CHCl₃ extrahiert. Nach Destillation des Lösungsmittels blieben 170 mg gelbliches Öl zurück, das auf Zugabe von Aceton 90 mg kristallines IIIa ergab.

Identifizierung der Alkaloide

(–)-*Epistephanin* (I): Nach dem Umkristallisieren aus CH₃OH lag der Smp. bei 198–206°, $[\alpha]_D^{20} = -216^\circ$ (CHCl₃, *c* = 1,94); (nach [3] für (+)-*Epistephanin* $[\alpha]_D^{20} = +226^\circ$ (CHCl₃, *c* = 1,04), Smp. 188–206°, 200–204°). Die Spektren (NMR., IR., UV.) stimmten mit den in [3] für (+)-*Epistephanin* angegebenen und den Werten einer (+)-*Epistephanin*-Vergleichsprobe²⁾ überein.

1) Das fortschreitende Chromatogramm wurde dünnschichtchromatographisch kontrolliert: Adsorbens Kiesegel G (*Merck*), Laufmittel: Chloroform/Aceton/Methanol 5:4:1.

2) Wir danken Herrn Prof. Dr. Y. Inubushi, University of Kyoto, für die Überlassung von (+)-*Epistephanin*, Trilobin und Isotrilobin.

Stebisimin (II): Nach dem Umkristallisieren aus CHCl_3 betrug der Smp. 239–241°, $[\alpha]_D^{20} = 0^\circ$ (CHCl_3 , $c = 1,06$); (nach [3]: Smp. 233–235°, $[\alpha]_D^{25} = 0^\circ$ (CHCl_3 , $c = 1,26$)). Der Misch-Smp. mit authentischem Material lag bei 233–237°. Die Spektren (MS., NMR., IR., UV.) stimmten mit den in [3] angegebenen und den Werten einer authentischen Vergleichsprobe³⁾ überein.

Trilobin (IIIa): Nach dem Umkristallisieren aus Aceton betrug der Smp. 235–239°, $[\alpha]_D^{20} = +305^\circ$ (CHCl_3 , $c = 1,26$) (nach [8]: Smp. 235°, $[\alpha]_D = +308^\circ$ (CHCl_3)). Die Spektren (NMR., IR., UV.) stimmten mit denen einer authentischen Vergleichsprobe überein²⁾.

12'-O-Desmethyltrilobin (III): wurde wegen seiner Schwerlöslichkeit durch Auskochen mit einem Methanol/Aceton-Gemisch gereinigt, Smp. 256–258°, $[\alpha]_D^{20} = +332^\circ$ (Pyridin, $c = 1,52$).

HCl-Salz: Smp. $> 290^\circ$. Mit $\text{H}_2\text{SO}_4/\text{HNO}_3$ zeigte III eine blaugrüne Färbung, charakteristisch für Alkaloide mit einem Diphenylendioxyd-System [6].

IR.: 3295, 1630, 1590, 1503, 1443, 1353, 1118 cm^{-1} . – UV.: λ_{max} (log ϵ): 233 (4,73), 2,75 (3,80), 289 (3,84), 306 (3,64; Schulter) nm. – NMR. (Pyridin): τ 6,20 (1 O– CH_3), 7,52 (1 N– CH_3). – MS. m/e (rel. %): 548,2311 (M^+ , 60,7) ($\text{C}_{34}\text{H}_{32}\text{N}_2\text{O}_5$), 547 (42,1), 336 (26,3), 335 (100), 321 (16,4), 319 (18,2), 168 (72,4), 167 (16,7).

Doppelt geladene Ionen bei 168,57 (14,84), 167,56 (8,1).

$\text{C}_{34}\text{H}_{32}\text{N}_2\text{O}_5$	Ber. C 74,44	H 5,88	N 5,11	OCH_3 5,66%
(548,2)	Gef. ,, 74,30	,, 5,81	,, 5,02	,, 5,60%

Herstellung der Derivate von III

Trilobin (IIIa): III wurde nach Späth *et al.* [9] mit ätherischer Diazomethanlösung in IIIa überführt, identisch (NMR., IR., UV., Smp.) mit authentischem Vergleichsmaterial²⁾.

Coculidin (IIIb): III wurde nach Kupchan *et al.* [10] mit Formaldehyd/Ameisensäure in IIIb überführt, identisch (NMR., IR., UV., Smp.) mit den Literaturangaben [6].

Isotrilobin (IIIc): IIIa wurde nach [10] in IIIc überführt, identisch (NMR., IR., UV., Smp.) mit einer authentischen Probe²⁾. Ebenso konnte IIIb nach [9] in IIIc überführt werden.

LITERATURVERZEICHNIS

- [1] J. R. Boissier, G. Combes, R. Pernet & C. Dumont, *Lloydia* 28, 191 (1965).
- [2] H. Kondo & T. Nakazato, *J. pharm. Soc. Japan* 44, 691 (1924) (Chem. Abstr. 19, 1708 (1925)).
- [3] D. H. R. Barton, G. W. Kirby & A. Wiechers, *Chem. Commun.* 1966, 266; D. H. R. Barton, G. W. Kirby & A. Wiechers, *J. chem. Soc., C*, 1966, 2313.
- [4] H. Kondo & T. Sanada, *J. pharm. Soc. Japan* 47, 31 und 177, 126 und 930 (1927) (Chem. Zbl. 1927, II, 263 und 1928, I, 929).
- [5] M. Tomita & Y. Inubushi, *Pharm. Bull. (Japan)* 3, 7 (1955) (Chem. Abstr. 50, 1854 (1956)).
- [6] D. S. Bhakuni, N. C. Gupta & M. M. Dhur, *Experientia* 26, 241 (1970).
- [7] M. Tomita & T. Tani, *J. pharm. Soc. Japan* 62, 468 und 481 (1942) (Chem. Abstr. 45, 4728 (1951)).
- [8] H. G. Boit, *Ergebnisse der Alkaloidchemie bis 1960*, Akademie-Verlag, Berlin 1961, S. 233.
- [9] E. Späth & J. Pökl, *Ber. deutsch. chem. Ges.* 62, 2251 (1929).
- [10] S. M. Kupchan, B. Dasgupta, E. Fujita & M. L. King, *Tetrahedron* 19, 227 (1963).

³⁾ Herrn Dr. A. Wiechers, University of Pretoria, danken wir für die Überlassung von Stebisimin.