Phytochemistry, 1980, Vol. 19, pp. 1275–1277. © Pergamon Press Ltd. Printed in England. 0031-9422/80/0601-1275 $02.00/0

PYRROLIZIDINALKALOIDE AUS *SENECIO DORONICUM**

E. RÖDER, H. WIEDENFELD und M. FRISSE

Pharmazeutisches Institut der Universität, 53 Bonn-Endenich, W. Germany

(*Eingegangen am* 13 *August* 1979)

Key Word Index—*Senecio doronicum*; Asteraceae; 2,4-dimethyl-5-hydroxyhexen(1)-1,5-dicarbonylplatynecine; 2,4-dimethyl-5-hydroxyhexen(1)-1,5-dicarbonylretronecine; bulgarsenine; doronenine; pyrrolizidine alkaloids.

EINFÜHRUNG

Die Asteraceae *Senecio doronicum* L. ist in den Alpenländern verbreitet. Die getrockneten Blüten werden dort als Volksheilmittel gegen Asthma verwendet. Über Alkaloidinhaltsstoffe dieser Droge ist noch nichts berichtet worden. Das Drogenmaterial wurde in Vent-Ötztal/Osterreich und am Mte. Baldo-Gardasee/Oberitalien gesammelt. Hieraus konnten zwei Alkaloide des Pyrrolizidintyps isoliert werden. Nach spektroskopischer Strukturaufklärung ergab sich, daß eines dieser Alkaloide bereits in der Literatur beschrieben war. Das zweite stellt eine bislang unbekannte Substanz dieser Stoffklass dar. Bei dem bekannten Alkaloid handelt es sich um Bulgarsenin, das von Nguyen *et al.*, aus verschiedenen Arten der *Senecio nemorensis* L. zum ersten Mal isoliert wurde [1]. Dem zweiten, unbekannten Alkaloid, von uns Doronenin genannt, kommt die Struktur eines 2,4-Dimethyl-5-hydroxihexen(1)-1,5-dicarbonylretronecins zu.

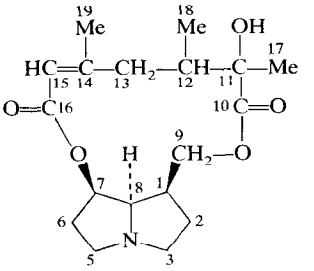
RESULTATE UND DISKUSSION

Die Alkaloide werden aus der getrockneten Droge mit Methanol erschöpfend extrahiert und durch präparative DC aufgetrennt. Zwei Alkaloide werden isoliert und aus Me_2CO–Petrolether umkristallisiert. Die Strukturen werden spektroskopisch aufgeklärt.

Struktur von Bulgarsenin

Das Massenspektrum ergibt einen Molekülpeak von M^+ 337 (4,42), dem die Summenformel $C_{18}H_{27}NO_5$ zugeordnet werden kann. Wie die weitere Fragmentierung *m/e* 141 (11,8), 140 (100,0), 139 (16,1), 138 (88,4), 123 (63,4), 122 (89,2), 121 (14,9), 97 (4,7), 96 (39,0), 95 (18,7) und 82 (94,9) zeigt, handelt es sich bei dem Aminoalkohol um ein gesättigtes Pyrrolizidinalkaloid vom Typ des Platynecins bzw. seiner Isomeren. Im IR-Spektrum treten Banden bei 3300 (-OH), 1742 (gesättigter Ester), 1718 (α,β-ungesättigter Ester) und 1650 cm^{-1} (unsymmetrisch substituierte Doppelbindung) auf.

Durch Entkopplungsexperimente werden für Bulgarsenin die ^1H NMR-Signale, wie in Tabelle 1 aufgeführt, zugeordnet. Die Daten des ^{13}C NMR-Spektrums sind in Tabelle 2 wiedergegeben. Nach diesen Ergebnissen und in Übereinstimmung mit Literaturangaben ist dieses Alkaloid identisch mit dem bereits beschriebenen Bulgarsenin [1], dessen Struktur **1** wiedergegeben ist.



1

Struktur von Doronenin

Das Massenspektrum weist einen Molekülpeak von M^+ 335 (6,4) auf, dem die Summenformel $C_{18}H_{25}NO_5$ zugeordnet werden kann. Weitere charakteristische Peaks treten bei *m/e* 139 (17,9), 138 (71,1), 137 (34,4), 136 (100,0), 121 (81,6), 120 (90,3), 119 (88,3), 95 (67,6), 94 (64,6), 93 (88,5), und 80 (24,9) auf. Diese Fragmentierung ist bezeichnend für Retronecin oder einem seiner Isomeren. Bestätigt wird dieses Ergebnis durch das Massenspektrum des Necins, das durch alkalische Verseifung des Alkaloids isoliert werden kann. Typische Peaks sind hieraus bei *m/e* 155 (6,6), 138 (1,6), 111 (13,7), 94 (4,6) und 80 (13,7) zu ersehen. Die für Bulgarsenin aufgeführten signifikanten Banden im IR-Spektrum treten hier in gleicher Weise auf. Die Daten des ^1H NMR-Spektrums sind in Tabelle 1 und die des ^{13}C NMR-Spektrums in Tabelle 2 wiedergegeben.

Die höheren ppm-Werte für die Protonen am C_6 lassen vermuten, daß es sich bei dem Necin um Retronecin handelt [2]. Durch eine Röntgenstrukturanalyse wird dies bestätigt (Kirfel, A., Wiedenfeld, H., Will, G. und Röder, E., unveröffentlichte Ergebnisse). Die allylische Struktur C_{14}—C_{15}—C_{19} wird im ^1H NMR-Spektrum durch das Dublett der C_{19}-Methylgruppe bei 1,84 ppm, Kopplungskonstante J = 1,5 Hz, und das Signal für das C_{15}-Methinproton bei 5,65 ppm bewiesen. Die Transstellung der C_{19}-Methylgruppe zum C_{15}-Methinproton zeigt sich im ^{13}C NMR-Spektrum durch den nach tiererem Feld

* Teilergebnisse der beabsichtigten Dissertation, M. Frisse, Bonn.

Herrn Prof. Dr. Maximillian Steiner, Bonn, zum 75. Geburtstag gewidmet.

Tabelle 1. ^{1}H NMR-Spektren von Bulgarsenin und Doronenin

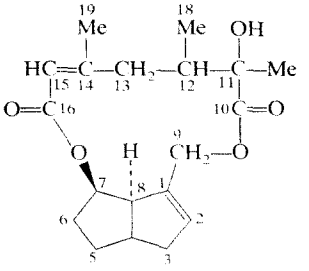
Prot. am C	Bulgarsenin δ (ppm)	Bulgarsenin Protonen	Doronenin δ (ppm)	Doronenin Protonen
1	3,30	1H, *m*	—	—
2	2,74; 2,27	2H, *m*	6,13	1H, *m*
3	2,88; 2,55	2H, *m*	3,97; 3,42	2H, *qd*, J = 50 Hz; J = 15 Hz
5	2,88; 2,55	2H, *m*	3,23; 2,49	2H, *d*, *m*
6	2,74; 2,27	2H, *m*	2,29; 2,10	2H, *d*, *m*
7	5,50	1H, *m*	5,14	1H, *m*
8	3,30	1H, *dd*, J = 6,5 Hz; J = 4,5 Hz	4,25	1H, *m*
9	4,42; 4,01	2H, *m*, *dd*, J = 11,5 Hz; J = 3,0 Hz	5,56; 4,11	2H, *dd*, J_{AB} = 130 Hz; J_{ab} = 13 Hz
11	3,19	1H, *s*, OH-Gruppe	3,19	1H, *s*, OH-Gruppe
12	2,41	1H, *m*	2,19	1H, *m*
13	2,74; 2,14	2H, *m*	2,65; 1,96	2H, *d*, *m*
15	5,66	1H, *m*	5,65	1H, *m*
17	1,26	3H, *s*	1,32	3H, *s*
18	1,00	3H, *d*, J = 6,5 Hz	0,93	3H, *d*, J = 6,5 Hz
19	1,87	3H, *d*, J = 1,5 Hz	1,84	3H, *d*, J = 1,5 Hz

verschobenen Wert von 28,3 ppm für die C_{19}-Methylgruppe. Im ^{1}H NMR-Spektrum tritt die C_{18}-Methylgruppe als Dublett mit der Kopplungskonstante J = 6,5 Hz, die für Methylgruppen am tertiären Kohlenstoff charakteristisch ist, bei 0,93 ppm auf. Die C_{17}-Methylgruppe am quartären Kohlenstoff erscheint hier bei 1,32 ppm als Singulett. Zusammenfassend ergibt sich für den Säureteil des Alkaloids die Struktur einer 2,4-Dimethyl-5-hydroxihexen(1)-1,5-dicarbonsäure.

Wie aus den spektroskopischen Daten zu ersehen ist, tritt in beiden Alkaloiden die gleiche Säurekomponente auf. Der Unterschied der beiden Alkaloide liegt lediglich im Auftreten einer Doppelbindung im Necinanteil. Hiernach und nach den Ergebnissen der Röntgenstrukturanalyse ergibt sich für dieses Alkaloid die absolute Konfiguration (1a*R*,6b*R*,10*R*,11*R*)-9,15-dioxo-10-hydroxi-10,11,13-trimethyl-1a,2,3,6b-tetrahydro-5H-pyrrolizino-[1a,6b,6a-b,c]-1,8-dioxa-*cis*-13-cyclotridecen, das in **2** wiedergegeben ist.

Tabelle 2. ^{13}C NMR-Spektren von Bulgarsenin Doronenin Doronenin

Kohlenstoff	Bulgarsenin δ (ppm)	Doronenin δ (ppm)
1	37,6	132,0
2	32,7	135,4
3	50,6	63,4
5	52,6	52,6
6	37,0	34,1
7	72,6	77,1
8	70,4	75,7
9	67,4	60,5
10	187,7	177,7
11	75,7	75,7
12	36,0	34,6
13	37,3	41,1
14	154,4	151,8
15	118,3	118,5
16	166,9	167,7
17	26,8	24,6
18	15,5	11,7
19	28,1	28,3



2

Struktur der Necinsäure

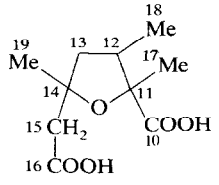
Um die angegebenen Strukturen zu erhärten werden beide Alkaloide alkalisch verseift und die Strukturen der Necinsäuren ermittelt. Die isolierten Säuren von Bulgarsenin und Doronenin stimmen in allen physikalischen und spektroskopischen Daten überein. Diese Säure wurde erstmals aus verschiedenen Varietäten der *Senecio nemorensis* L. isoliert und dort Nemorensinsäure genannt [1]. Die von uns gefundenen ^{1}H NMR-Signale stimmen mit den Literaturdaten überein und sind in Tabelle 3 wiedergegeben. In Ergänzung hierzu wurde auch ein ^{13}C NMR-Spektrum aufgenommen, dessen Daten in Tabelle 3 aufgeführt sind.

Im Gegensatz zu den Spektren der Alkaloide tritt im ^{13}C NMR-Spektrum der Säure neben dem C_{13}-Methylensignal bei 43,8 ppm noch eine weitere Methylengruppe bei 45,2 ppm auf. Das tertiäre C_{15} bei 118,5 ppm erscheint dagegen nicht mehr. Hieraus ergibt sich, daß nach der Verseifung weder eine Allylstruktur noch eine freie OH-Gruppe vorhanden ist. Nach den ermittelten Daten und den Ergebnissen einer Röntgenstrukturanalyse (Kirfel, A., Wiedenfeld, H., Will, G. and Röder, E., unveröffentlichte Ergeb-

Tabelle 3. NMR-Spektren der Nemorensinsäure

	^{13}C	^{1}H	
Kohlenstoff	δ (ppm)	δ (ppm)	Protonen
10	172,2	—	—
11	80,6	—	—
12	39,4	1,79	1H, *m*
13	43,8	2,00	2H, *m*
14	84,4	—	—
15	45,2	2,55	2H, *s*
16	176,3	—	—
17	20,1	1,35	3H, *s*
18	13,8	1,16	3H, *d*, J = 7,0 Hz
19	27,5	1,47	3H, *s*

nisse) muß demnach die Struktur eines (2*S*,4*R*,5*R*)-2-Carboximethyl-5-carboxi-2,4,5-trimethyl-2,3,4,5-tetrahydrofuran vorliegen, die in **3** wiedergegeben ist. Bei der alkalischen Verseifung der Alkaloide ist eine Umlagerung der Säure von der offenkettigen in die cyclische Form eingetreten.



3

EXPERIMENTELLES

Die Schmelzpunke wurden unkorrigiert bestimmt. Zur Messung der spezifischen Drehung stand ein Perkin–Elmer 214 zur Verfügung. Die IR-Spektren wurden als KBr-Preßlinge Vermessen. Die Massenspektren wurden bei einer Emission von 70 eV und einer Quellentemperatur von 200° angefertigt. Die ^{1}H NMR-Spektren wurden auf einem Gerät WH 90, 90 MHz, Fa. Bruker, aufgenommen. Lösungsmittel war $CDCl_3$ und innerer Standard TMS. Ausgetauscht wurde mit D_2O. Die ^{13}C NMR-Spektren wurden auf einem Bruker WH 90, 22,63 MHz, vermessen. Lösungsmittel für die Aufnahme der Alkaloide war $CDCl_3$ und für die Säure DMSO. Innerer Standard war jeweils TMS.

Die Extraktion der getrockneten und pulverisierten Droge (300 g) erfolgte in einer Soxhlet-Apparatur mit MeOH. Der eingedampfte teerartige Rückstand wird mit 2,5%-iger HCl aufgenommen und das Chlorophyll mit Äther abgetrennt. Die saure Wasserphase wird mit Ammoniak alkalisch gemacht und mit CH_2Cl_2 extrahiert. Die organische Phase wurde nochmals mit Salzsäure ausgeschüttelt. Dise salzsaure Phase wurde ammoniakalisiert und mit CH_2Cl_2 extrahiert. Bei der anschließenden Auftrennung durch präparative DC fanden Kieselgel-Fertigplatten (Kieselgel 60; F_{254}; Schichtdicke 0,25 mm) der Fa. Merk Verwendung. Das Fließmittelgemisch setzte sich aus CH_2Cl_2, MeOH und NH_3 (25%) 85:14:1 zusammen. Die Alkaloide wurden aus Aceton/Petrolether umkristallisiert. Die gaschromatische Untersuchung ergab einen Gesamtalkaloidehalt von 0,12% bezogen auf getrocknete, pulverisierte Droge: Bulgarsenin 0,07%, Doronenin 0,05%. Bulgarsenin: R_f: *ca* 0,3–0,4; Fp: 112–113° (Lit.: 115°); $[\alpha]_D^{20}$: −74,2° (EtOH) (Lit.: $[\alpha]_D^{24}$: −54° ± 2; c = 0,78 in $CHCl_3$). Doronenin: R_f: *ca* 0,5–0,6; Fp: 124–127° $[\alpha]_D^{20}$: +123,4° (EtOH).

Zur Verseifung der Alkaloide wurden jeweils 200 mg mit 20 ml einer 10%-igen $Ba(OH)_2$-Lösung zwei Stunden lang unter Rückfluß und Stickstoffbegasung gekocht. Die Necine wurden mit CH_2Cl_2 ausgeschüttelt. Es konnten nur 20 mg Retronecin isoliert werden. Nach anschließendem Ansäuern mit HCl wurden die Säuren ebenfalls mit CH_2Cl_2 ausgeschüttelt und aus Me_2CO–Petrolether umkristallisiert. Es wurden jeweils 55 mg Nemorensinsäure isoliert. Nemorensinsäure: Fp: 176–180° (Lit: 174–177°) [3]; $[\alpha]_D^{20}$: −59,6° (EtOH) (Lit.: $[\alpha]_D^{20}$: −48° ± 5; c = 1,0 in $CHCl_3$).

Danksagungen—Dem Minister für Wissenschaft und Forschung des Landes Nordrhein-Westfalen (X) und der Deutschen Forschungsgemeinschaft danken wir für die Bereitstellung von Sach- und Personalmittel. Herrn Prof. Dr. H. Pitschmann, Institut für Botanische Systematik und Geobotanik der Universität Innsbruck danken wir für seine Hilfe bei der Beschaffung des Pflanzenmaterials.

LITERATUR

1. Nguyen Thi Hghia, Sedmera, P., Klasek, A., Boeva, A., Drjanovska, L., Dolejs, L. und Santavy, F. (1976) *Collect. Czech. Chem. Commun.* **41,** 2952.
2. Culvenor, C. C. J. und Woods, W. G. (1965) *Aust. J. Chem.* **18,** 1625.
3. Klasek, A., Sedmera, P., Boeva, A. und Santavy, F. (1973) *Collect. Czech. Chem. Commun.* **38,** 2504.