

ISOLIERUNG DES ARCTIGENINS UND HERSTELLUNG EINIGER AMIN-DERIVATE

Von

S. FÖLDEÁK, P. HEGYES und GY. DOMBI

Institut für Organische Chemie der Attila-József-Universität Szeged

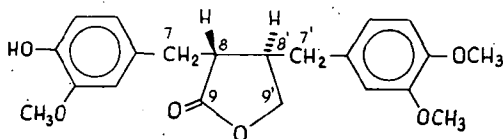
(Eingegangen am 30. September 1974)

Es wird eine einfache Extraktion des Arctigenins aus den Kernen von *Arctium Lappa*, sowie die chemisch modifizierte Herstellung einiger Aminderivate mitgeteilt und über die Struktur dieser Verbindungen aufgrund spektroskopischer (IR, NMR) Befunde berichtet.

In früheren Mitteilungen [1, 2] berichteten wir über die tumorwachstumhemmende Wirkung von aus den Wurzeln von *Arctium Lappa* (Burdock) (AL) extrahierten und chromatographisch gereinigten Stoffen. Vorliegender Artikel beschreibt die einfache Gewinnung des aus den Kernen des AL isolierbaren Arctigenins und die Herstellung einiger Derivate.

Zur Isolierung des Arctigenins aus AL-Samen wurde ein wesentlich einfacheres Extraktionsverfahren gefunden, das bessere Ausbeute liefert als die in der Literatur angegebenen Methoden [3, 4]. Die AL-Samen wurden im Herbst (im Oktober und November) gesammelt, getrocknet und gemahlen, das Mahlgut vor dem Extrahieren mit Wasser befeuchtet und nach 24-stündigem Stehen mit Äther extrahiert. Auf diese Weise sind aus den AL-Kernen 2—4% Arctigenin zu gewinnen; ohne Befeuchtung dagegen nur 1—2%. Dies ist damit zu erklären, daß durch die Wirkung des Wassers der Präkursor Arctiin durch Hydrolyse — wahrscheinlich enzymatisch — zu Arctigenin gespalten wird.

Die Zusammensetzung des Arctigenins (I) wurde durch SHINODA [3] und KAWAGOJE [5] angegeben. Die ersten Mitteilungen über seine Struktur stammen von OMAKI [6].



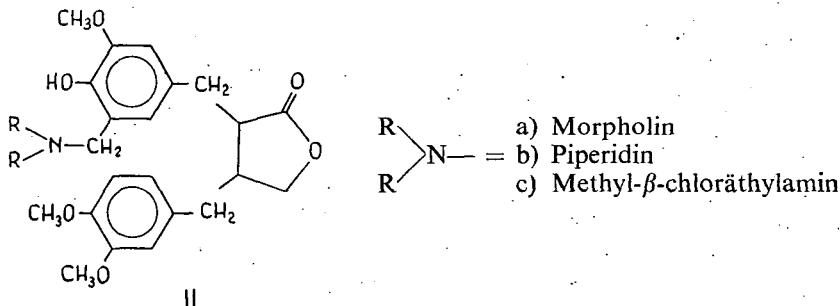
I.

HAWORTH und KELLY [7] haben die Verwandtschaft des Arctigenins mit dem Mateiresinol nachgewiesen: sie konnten aus *l*-Arctigenin durch Methylierung

das Dimethyl-Mateiresinol herstellen. Somit ist Arctigenin der Monomethyl-Äther des Mateiresinols. Schließlich wurde die Struktur des Arctigenins (I) von HAWORTH [9] durch Synthese bewiesen. Mit den sterischen Verhältnissen befassen sich Arbeiten von HAWORTH [10] und anderen Autoren [11—14]. Demnach nehmen im Arctigenin (I) die Substituenten des Butyrolaktonrings *trans*-Stellung ein.

Das isolierte Arctigenin wurde für pharmakologische Untersuchungen [15] auf chemischem Wege wasserlöslich gemacht. Öffnen des Laktonringes und Umwandlung in ein Karbonsäuresalz kam nicht in Betracht, weil der Laktonring zur Wirkung erforderlich war. Das Problem wurde durch Einführen einer basischen Aminogruppe gelöst, von deren Salz eine Erhöhung der Wasserlöslichkeit zu erwarten war. Die Einführung einer Aminogruppe wurde infolge der Anwesenheit der phenolischen Hydroxygruppe, mittels Mannich-Reaktion möglich [16].

Die Reaktion wurde in Gegenwart von Formaldehyd mit Piperidin-Morpholin oder β -Chloräthylmethylamin durchgeführt, wodurch die eine basische Gruppe enthaltenden Arctigeninderivate (II) erhalten wurden.



Diese Verbindungen erweisen sich dünnschichtchromatographisch einheitlich, sind aber dennoch mit Ausnahme des Morpholinderivats schwer oder überhaupt nicht kristallisierbar. Die nicht kristallisierenden Verbindungen wurden in äthanolischer Lösung in die entsprechenden Hydrochloride überführt, die im Vakuum einen festen Schaum ergaben. Die mittels Mannich-Reaktion modifizierten Verbindungen wurden durch Analyse und NMR-Spektren identifiziert. Im IR-Spektrum des Arctigenins (Fig. 1) erscheint bei 3420 cm^{-1} eine scharfe Bande (phenolisches OH), im Spektrum von II (Fig. 2) erscheint eine breite Bande mit einem Maximum bei 3450 cm^{-1} . Dies deutet wegen der Nähe der Aminogruppe auf eine $\text{N}\rightarrow\text{H}$ -Protonierung hin. Im NMR-Spektrum des Arctigenins erscheinen in der Umgebung von $\delta=6,8$ ppm sechs Protonen, während das Proton des phenolischen OH bei $\delta=5,8$ ppm erscheint. Bei Verbindung II sind in der aromatischen Region um $\delta 6,6$ ppm die Signale von nur fünf Protonen zu finden; das Signal des OH ist nach $\delta 3,60\text{--}3,70$ ppm verschoben (in $\text{F}_3\text{CCOOH} + \text{D}_2\text{O}$ verschwindet das Signal). Eine so starke chemische Verschiebung des Hydroxylsignals weist auf eine wesentliche Änderung seiner Umgebung, auf das Zustandekommen einer $\text{N}\rightarrow\text{H}$ -Brücke zwischen dem durch die Mannich-Reaktion eingeführten Amin und der Hydroxylgruppe hin. Das Entstehen der Wasserstoffbrücke in der Struktur von II wird durch die Möglichkeit der Bildung eines sechsgliedrigen stabilen Ringes erleichtert. Folglich ist es unwahrscheinlich, daß die durch die Mannich-Reaktion eingeführte Aminomethylgruppe an den Butyrolaktonring, oder an die zwei OCH_3 -Gruppen tragende

Phenylgruppe gebunden ist. Aufgrund obiger Spektraldaten und Analogien in der Literatur [16] ist zu folgern, daß die Methylamino-Gruppe nachbarständig zur phenolischen Hydroxylgruppe ist. Das bedeutet, daß die erhaltenen Verbindungen die Struktur II besitzen.

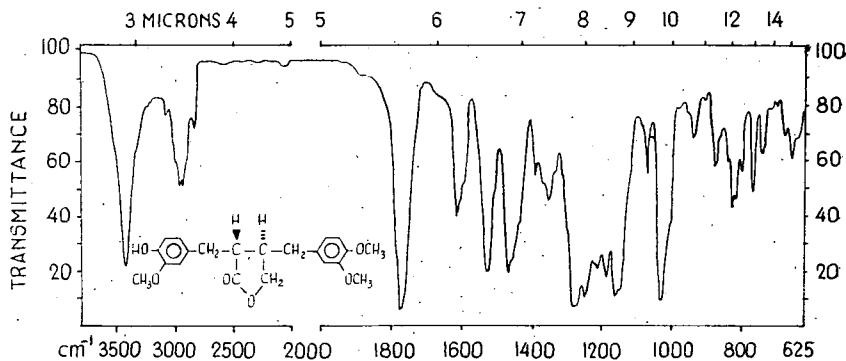


Fig. 1

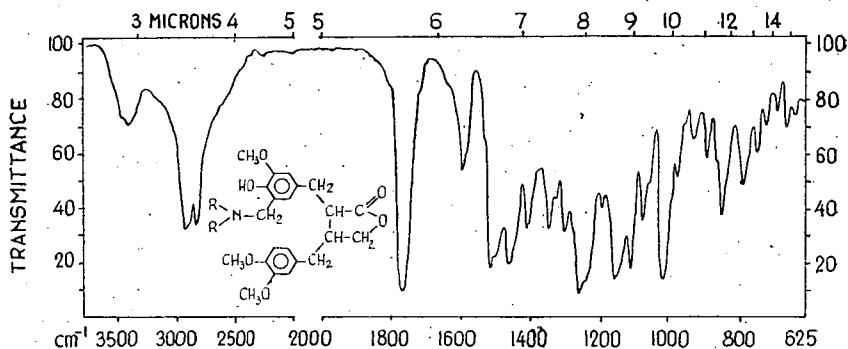


Fig. 2

Experimenteller Teil


Die Schmelzpunkte wurden mit einem Kofler-Apparat bestimmt. Die angegebenen Werte sind unkorrigiert. Die IR-Spektren wurden mit einem UNICAM SP-200, die NMR-Spektren mit einem JEOL 60 MHz-Gerät aufgenommen. Die Reinheit der Verbindungen wurde an Kieselgel-G-Platten mit Benzol:Äthanol 80:15 als Laufmittel dünn-schichtchromatographisch kontrolliert.

Isolierung des Arctigenins.

2 kg AL-Kerne werden zu Mehl zermahlen, mit 200 ml Wasser bespritzt und 2 Tage in einem PVC-Beutel stehen gelassen. Dann wird mit 4 l peroxydfreiem Äther unter Rückfluß 8 Stunden lang erhitzt, nach dem Erkalten filtriert, mehrmals mit Äther gewaschen und die vereinigten ätherigen Lösungen auf 350–400 ml ein-

gedampft. Die zurückbleibende zähe Lösung enthält neben mehreren anderen Stoffen das Arctigenin und große Mengen pflanzlichen Öles. Sie wird mit 10–15 ml 24%-igem salzsäurehaltigem Alkohol versetzt und 2–3 Tage stehen gelassen. Das ausgeschiedene kristalline Arctigenin wird abfiltriert und mit Äther, dann mit Äthanol gewaschen. Ausbeute: 50 g schneeweiße Kristalle (2,5% auf trockene AL-Kerne berechnet). Aus 150 ml Äthanol umkristallisiert 42,0 g. Schmp.: 102 °C. (Lit. Schmp.: 100–101 °C [13]). $[\alpha]_D^{25} = -38,0^\circ$ (in 5% Äthanol). (Lit.: $[\alpha]_D^{25} = -37,3^\circ$ [13]). R_f : 0,71. $C_{21}H_{24}O_6$ (372,43) Berechnet: C: 67,73; H: 6,49. Gefunden: C: 67,65; H: 6,58%. IR_{max} 3420 cm^{-1} (OH), 1760 cm^{-1} (CO). NMR (in $CDCl_3$) $\delta = 6,60$ – $7,00$ (6H aromatisch), 5,75 (1H, OH; mit D_2O verschwindend), 3,90–4,00 (11H, 9H Methoxy + 2 H C–9), 2,90–3,10 (2 H, C–8',8), 2,50–2,70 (4 H C–7,7').

Morpholinomethylarctigenin (IIa)

2,34 g (0,027 Mol) Morpholin, 1,0 g Paraformaldehyd, 3,37 g (0,054 Mol) Essigsäure und 10,0 g (0,027 Mol) Arctigenin werden in 80 ml Benzol unter Anwendung eines Wasserseparators 2,5 Stunden unter Rückfluß erwärmt. Nach Erkalten wird mit 3×30 ml *N*. Salzsäure extrahiert. Die Salzsäure Lösung wird filtriert, mit Natriumhydrocarbonatlösung neutralisiert und dann mit 2×30 ml Äthylacetat extrahiert. Die organische Phase wird mit 3×10 ml Wasser gewaschen und über entwässertem $MgSO_4$ getrocknet. Nach Abdestillieren des Äthylacetats bleiben 9,0 g Öl (71%) zurück, die aus 20 ml Äthanol kristallisiert werden. (Die ersten Kristalle erscheinen nach 5–8 Tagen; mit Kristallen geimpft, kristallisiert das Produkt in kurzer Zeit aus). Ausbeute: 7,4 g (58,5%). Schmp.: 111–112 °C. R_f : 0,69, ν_{max} 3450 cm^{-1} (OH), 1768 cm^{-1} (CO-Lakton), NMR (in $CDCl_3$) $\delta = 6,3$ – $6,85$ (5 H; aromatisch), 3,8–4,0 (13 H: 9 H–3 OCH_3 , 2 H–C9, 2 H– CH_2 –N  $\delta = 3,6$ – $3,7$ (5 H; 4 H–Morpholin, 1 H–OH, mit $CF_3COOH + D_2O$ verschwindend) $\delta = 2,80$ – $2,00$ (2 H; C 8,8'), $\delta = 2,40$ – $2,70$ (8 H; 4 H–C 7,7'; 4 H–Morpholin). $C_{26}H_{34}NO_7$ (472,5) Berechnet: C: 66,30; H: 7,06; N: 2,97. Gefunden: C: 66,54; H: 7,14; N: 3,10%.

Piperidinomethylarctigenin-hydrojodid (IIb)

2,28 g (0,027 Mol) Piperidin und 0,9 g Paraformaldehyd werden in 5 ml Äthanol erwärmt, bis der Paraformaldehyd in Lösung gegangen ist. (10–15 Minuten). Der erkalteten Lösung werden 2,5 ml Eisessig und 10 g (in 20 ml Äthanol gelöstes) Arctigenin zugesetzt. Man läßt 1 Stunde bei Zimmertemperatur stehen und erwärmt dann auf dem Wasserbad 5 Stunden unter Rückfluß. Dann werden 4,5 g KJ (in 20 ml MeOH gelöst) zugegeben, im Vakuum auf 15–20 ml eingedampft, mit 30 ml absol. Aceton und 2,8 ml 34%-igem salzsäurehaltigem Äthanol vermischt und 10 Minuten geschüttelt. Das aus der Lösung ausgeschiedene KCl wird durch Filtrieren entfernt. Dem Filtrat wird bis zur beginnenden Trübung absol. Äther zugesetzt, dann wird schnell filtriert und die Lösung im Kühlschrank aufbewahrt. Nach 15–20 Minuten scheiden kleine Kristallnadeln aus, die filtriert und mit Äther gewaschen werden. Ausbeute: 10,4 g (65%), aus Aceton umkristallisiert 6,2 g (39%) Schmp.: 105–105,5 °C. $C_{27}H_{36}NO_6J$ (597,5). Berechnet: C: 54,26; H: 6,07; N: 2,34; J: 21,24. Gefunden: C: 54,86; H: 6,35; N: 2,49; J: 20,60%.

Methyl- β -chloräthylaminomethylarctigenin-hydrochlorid (IIc)

2,36 g (0,025 Mol) Methyl- β -chloräthylamin-hydrochlorid, 0,75 g (0,025 Mol) Paraformaldehyd, 1,80 g (0,03 Mol) Essigsäure und 7,44 g (0,02 Mol) Arctigenin werden in einem Gemisch von 20 ml Nitrobenzol und 20 ml Benzol unter Rückfluß und Anwendung eines Wasserseparators 2 Stunden lang erwärmt und nach Erkalten mit 3×20 ml 0,4 N HCl extrahiert. Der salzsaure Extrakt wird filtriert, mit 5%-igem Na_2CO_3 alkalisiert (pH 8—9) und mit 3×20 ml Äthylacetat extrahiert. Die Lösung wird über MgSO_4 getrocknet und das Lösungsmittel bei vermindertem Druck abdestilliert. Rückstand 3,6 g Öl (27%). Das unkrystallisierbare Öl wird in 20 ml Äthanol gelöst, mit salzsaurem Äthanol in das Hydrochlorid umgewandelt (pH 4—5) und die Lösung bei vermindertem Druck zum Trocknen gebracht. Der feste Schaum wird über P_2O_5 im Vakuum getrocknet. $\text{C}_{25}\text{H}_{33}\text{NO}_6\text{Cl}_2$ (514,4). Berechnet: C: 58,36; H: 6,47; Cl^- : 6,89. Gefunden: C: 57,86; H: 6,58; Cl^- : 6,38%.

* * *

Die Verfasser danken Herrn I. FÖLDEÁK für seine Mitwirkung bei der Isolierung und der Herstellung der Grundstoffe.

Literatur

- [1] Földeák, S., G. A. Dombrádi: Acta Phys. et Chem. Szeged 10, 91 (1964).
- [2] Dombrádi, G. A., S. Földeák: Tumori 52, 175 (1966).
- [3] Shinoda, J.: J. Pharm. Soc. Japan 1929, 183.
- [4] Shinoda, J., T. Kawasaki: J. Pharm. Soc. Japan 1931, 132.
- [5] Shinoda, J., Kawagoje: J. Pharm. Soc. Japan 1929, 94.
- [6] Omaki, T.: J. Pharm. Soc. Japan 1935, 159.
- [7] Haworth, R., W. Kelly: J. Chem. Soc. 1936, 998.
- [8] Omski, T.: J. Pharm. Soc. Japan 1936, 180.
- [9] Haworth, R., W. Kelly: J. Chem. Soc. 1937, 384.
- [10] Haworth, R. D., P. Woodcok: J. Chem. Soc. 1939, 1054.
- [11] Imagaki, I., S. Hasida, S. Nishibe: Chem. Pharm. Bull. Japan 20, 2710 (1973).
- [12] Haworth, R. D., D. Woodcok; J. Chem. Soc. 1939, 154.
- [13] Burden, R. S., L. Crombie, D. A. Whiting: J. Chem. Soc. (C) 1969, 693.
- [14] Corrie, J. E. T., G. H. Green, E. Ritchie, C. W. Taylor: Aust. J. Chem. 23, 133 (1970).
- [15] Dombrádi, G. A.: Chemotherapy 15, 250 (1970).
- [16] Reichert, B.: Die Mannich-Reaktion. Springer-Verlag Berlin, 1959, S. 53—68.

ВЫДЕЛЕНИЕ АРЦИГЕНИНА И СИНТЕЗ ЕГО
НЕКОТОРЫХ АМИНО-ПРОИЗВОДНЫХ

Ш. Фелдеак, П. Хедешь, Г. Домби

Авторы сообщают о простом способе выделения арктигенина из зерн *Arctium Lappa* а также о синтезе некоторых его новых амино-производных. Сообщаются предположения авторов о структуре этих соединений на основании спектроскопических данных (ИК-, ЯМР-спектроскопии).