

Herbert Budzikiewicz, Christian Horstmann, Klaus Pufahl und Klaus Schreiber

Isolierung von Fontaphillin, Gentianin und 4-Amino-nicotinsäuremethylester aus Blattextrakten von *Fontanesia phillyreoides* Labill.

Aus dem Institut für Organische Chemie der Technischen Hochschule Braunschweig (H. B.) und dem Institut für Kulturpflanzenforschung Gatersleben der Deutschen Akademie der Wissenschaften zu Berlin

(Eingegangen am 22. März 1967)

Aus mit Ammoniak versetzten methanolischen Blattextrakten der Oleaceae *Fontanesia phillyreoides* Labill. wurden drei Nicotinsäure-Derivate isoliert. Die bisher noch unbekannt, mit Fontaphillin bezeichnete Hauptkomponente besitzt die Struktur 4-[2-(4-Hydroxy-benzoyloxy)-äthyl]-5-vinyl-nicotinsäure-methylester (**1**). Bei Säurehydrolyse von **1** wurde neben 4-Hydroxybenzoesäure Gentianin (4-[2-Hydroxy-äthyl]-5-vinyl-nicotinsäurelacton, **2**) erhalten, das als zweite Komponente auch aus den Blattextrakten direkt gewonnen wurde. Die dritte Verbindung erwies sich mit 4-Amino-nicotinsäure-methylester (**3**) als identisch. Zumindest **1** und **2** dürften in der Pflanze nicht natürlich vorkommen, sondern im Verlauf der Aufarbeitung aus stickstofffreien monoterpenoiden Vorstufen vom Typ der Iridoide entstanden sein.

Bei einer orientierenden chemischen Überprüfung einer großen Zahl von Pflanzenarten verschiedener Familienzugehörigkeit auf vorkommende Alkaloide und weitere Inhaltsstoffe fanden wir in Blattextrakten von *Fontanesia phillyreoides* Labill. (Oleaceae) papier- und dünnschichtchromatographisch Dragendorff-positive Substanzen¹⁾. Da in Pflanzen der Familie der Oleaceen zwar schon gelegentlich „Alkaloide“ nachgewiesen, jedoch diese offensichtlich bisher weder in reiner Form gewonnen noch in ihrer Struktur aufgeklärt wurden²⁾, haben wir uns mit der präparativen Isolierung und näheren Untersuchung der nachgewiesenen Dragendorff-positiven *Fontanesia*-Verbindungen beschäftigt.

Hierzu wurde mit Petroläther entfettete Blatt-Trockensubstanz mit Methanol erschöpfend extrahiert, der eingeeengte Methanolauszug nach Zusatz von Salzsäure nochmals von Lipoiden befreit, dann mit Ammoniak alkalisiert und mit Äther ausgeschüttelt. Im Rückstand der ätherischen Lösung ließen sich dünnschichtchromatographisch³⁾ im wesentlichen 2 Substanzen (R_f 0.43 und 0.63) nachweisen. Durch

1) O. Aurich, G. Osske, K. Pufahl, A. Romeike, H. Rönisch, K. Schreiber und G. Sembdner, Kulturpflanze 13, 621 (1965).

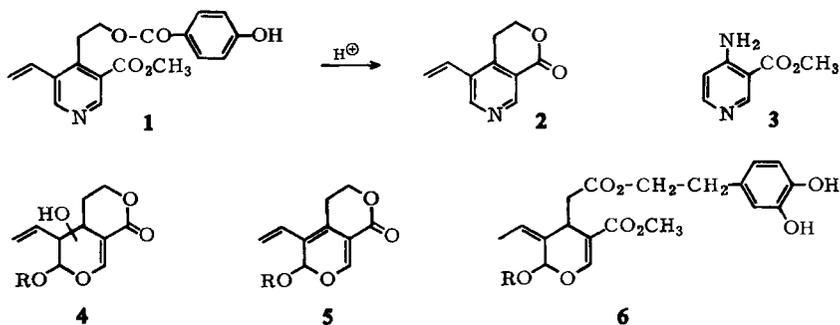
2) Vgl. J. J. Willaman und B. G. Schubert, Alkaloid-Bearing Plants and their Contained Alkaloids, Agric. Res. Serv. Techn. Bull. No. 1234, U. S. Dep. of Agricult., Washington 1961; H.-G. Boit, Ergebnisse der Alkaloid-Chemie bis 1960, Akademie-Verlag, Berlin 1961; E. Hultin, Acta chem. scand. 19, 1297 (1965).

3) DC an Kieselgel G (Merck), Entwicklung mit Methylenchlorid/Methanol (19:1), Nachweis mit Dragendorff-Reagens; vgl. Beschreibung der Versuche.

mehrfache Säulenchromatographie an Kieselgel bzw. Al_2O_3 konnte das Gemisch in präparativem Maßstab aufgetrennt werden, wobei zusätzlich in kleiner Menge eine weitere Verbindung mit R_F 0.34 isoliert wurde.

Die als Fontaphillin bezeichnete, bisher unbekannte, optisch inaktive Hauptkomponente mit R_F 0.43 kristallisierte in farblosen Nadeln vom Doppel-Schmp. $80-81^\circ$ und $121-122^\circ$. Elementaranalyse und Massenspektrum ergeben die Summenformel $\text{C}_{18}\text{H}_{17}\text{NO}_5$. Bei HCl-Hydrolyse erhielt man neben 4-Hydroxy-benzoesäure eine Base, die sich nach DC, IR-, UV- und Massenspektrum mit authentischem Gentianin (4-[2-Hydroxy-äthyl]-5-vinyl-nicotinsäurelacton, **2**)^{4,5} sowie nach dünnschichtchromatographischen Befunden auch mit der isolierten zweiten *Fontanesia*-Verbindung vom R_F 0.63 als identisch erwies. Auf Grund dieser Befunde wird für Fontaphillin die Struktur 4-[2-(4-Hydroxy-benzoyloxy)-äthyl]-5-vinyl-nicotinsäure-methylester (**1**) vorgeschlagen. Diese Konstitution steht mit dem Elektronenstoß- und Elektronenanlagerungs-Massenspektrum (Abbild. 1), dem Infrarot- [Banden bei 698, 773 (*m*-subst. Pyridin), 850 (1,4-disubst. Benzolring), 1283 und 1723 (aromat. Carbonsäureester), 3513/cm (Hydroxyl)], dem Ultraviolett- [λ_{max} (log ϵ) 212 (4.49) und 257 nm (4.25)] und dem Protonenresonanzspektrum [δ = 3.60 (t, $-\text{CH}_2-\text{Py}$), 3.95 (s, $-\text{OCH}_3$), 4.55 (t, $-\text{CH}_2-\text{O}-$), 5.60 und 7.30 (2 m, $\text{H}_2\text{C}=\text{CH}-\text{Py}$), 6.80 und 7.85 (2 d, 4-Hydroxy-benzoyl, J = 8 Hz), 8.75 und 9.0 ppm (2 s, Pyridin- αH)] in Einklang.

Die durch Säulenchromatographie des isolierten Gemisches gewonnene dritte *Fontanesia*-Verbindung mit R_F 0.34, die auch gelegentlich beim Aufbewahren der ätherischen Lösung des Gemisches in sehr geringer Menge direkt auskristallisierte, wurde durch Elektronenstoß- und Elektronenanlagerungs-Massenspektroskopie (Abbild. 2) als 4-Amino-nicotinsäure-methylester (**3**) identifiziert und nach Misch-Schmp., DC, IR-, UV- und Massenspektrum mit synthetischem⁶ **3** als identisch befunden. Über ein natürliches Vorkommen von **3**, von freier 4-Amino-nicotinsäure oder anderen Derivaten dieser Verbindung ist unseres Wissens bisher noch nicht berichtet worden.

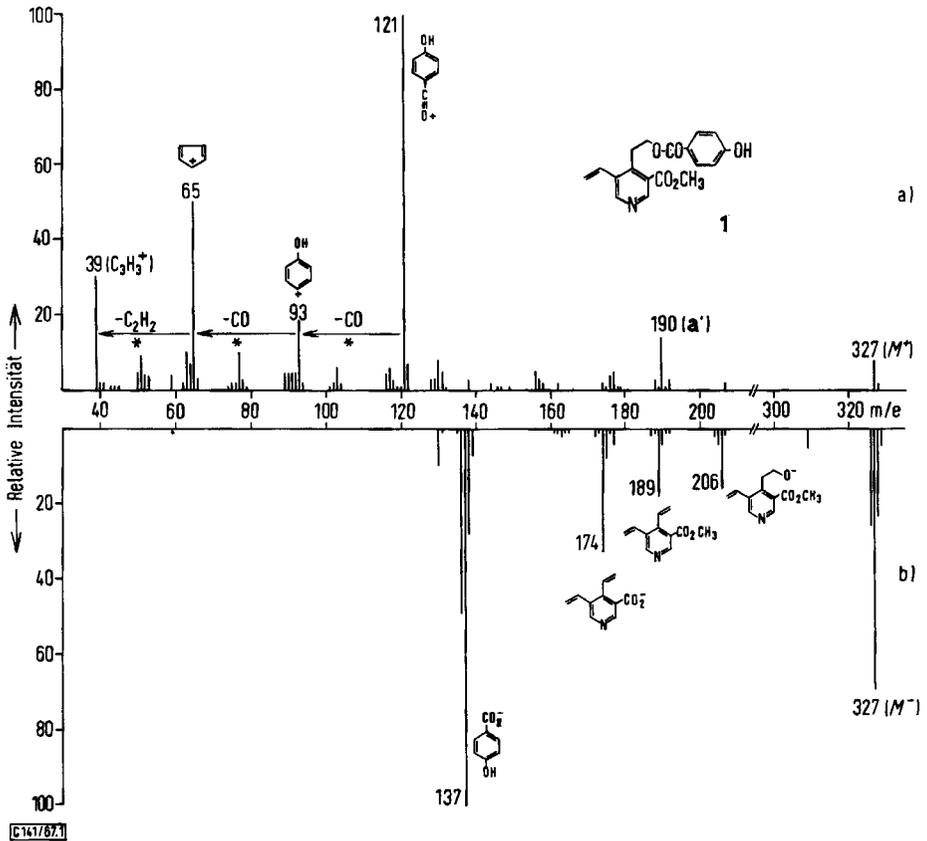


R = Glucosyl

4) Vgl. H.-G. Boit, l. c.²⁾, S. 141 und 174.

5) M. Plat, M. Koch, A. Bouquet, J. LeMen und M.-M. Janot, Bull. Soc. chim. France 1963, 1302.

6) A. Kirpal, Mh. Chem. 23, 239 (1902).

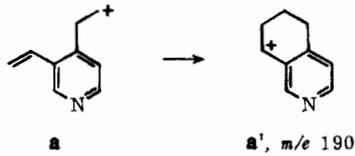


Abbild. 1. a) Elektronenstoß-, b) Elektronenanlagerungs-Massenspektrum von Fontaphillin (1) (bezüglich der durch * gekennzeichneten metastabilen Übergänge siehe Versuchsteil)

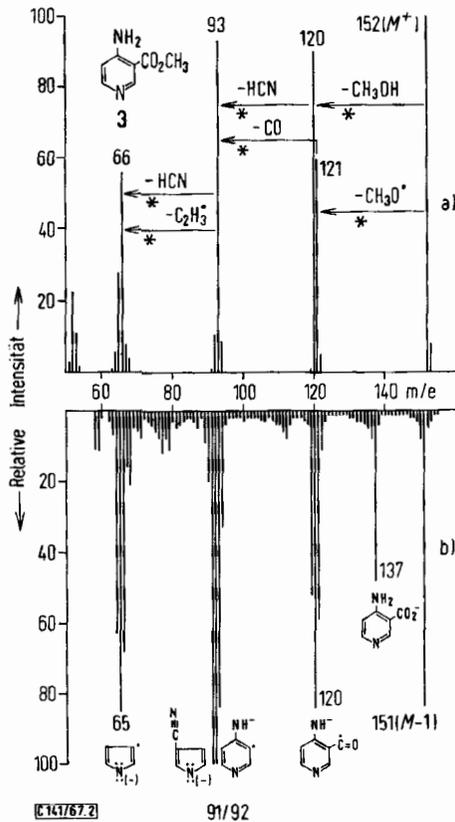
Die Massenspektren von Fontaphillin (1) bedürfen einer kurzen Diskussion, einmal, da sie von Bedeutung für die Strukturermittlung von 1 sind, und zum anderen, da sie ein gutes Beispiel dafür geben, wie sich Elektronenstoß- (Abbild. 1 a) und Elektronenanlagerungsspektrum (Abbild. 1 b) gegenseitig ergänzen. Der untere Massenbereich des Elektronenstoßspektrums von 1 ist von den erwarteten⁷⁾ Fragmenten des *p*-Hydroxy-benzoesäure-Restes beherrscht: das *p*-Hydroxy-benzoyl-Ion (m/e 121) verliert zweimal CO (m/e 93 und 65, siehe Abbild. 1 a) und schließlich Acetylen (m/e 39). Im oberen Massenbereich ist einzig ein Fragment der Masse 190 von Bedeutung, dessen Entstehung in einem Schritt aus dem Molekül-Ion ein metastabiler Peak bei m/e 110.4 anzeigt. Es entspricht dem Verlust von $\text{HO}-\text{C}_6\text{H}_4-\text{COO}^\cdot$. Derartige γ -Spaltung eines Substituenten ist charakteristisch für 2-, nicht aber für 4-Alkyl-pyridine⁸⁾, und daher im Falle von 1 unerwartet. Eine Erklärung könnte die Annahme eines Ringschlusses des primär gebildeten a zu a' geben.

⁷⁾ E. M. Emery, *Analytic. Chem.* **32**, 1495 (1960).

⁸⁾ H. Budzikiewicz, C. Djerassi und D. H. Williams, *Mass Spectrometry of Organic Compounds*, Kap. 20, Holden-Day, San Francisco 1967.

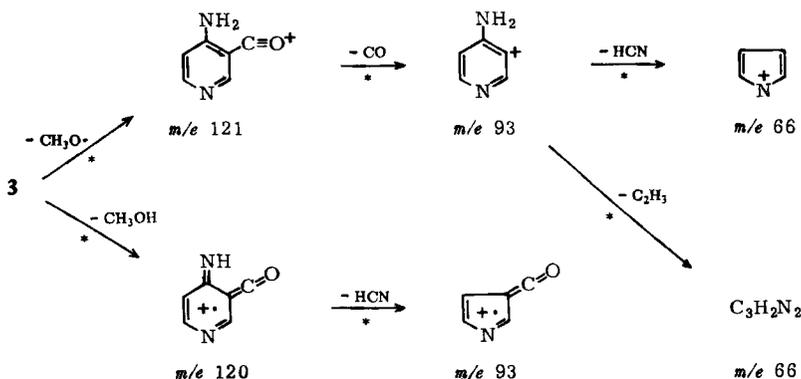


Da in Elektronenanlagerungsspektren stabile Anionen als Bruchstücke gebildet werden, liefert das entsprechende Spektrum von **1** (Abbild. 1b) wichtige Ergänzungen. So zeigt das dem Benzoyl-Ion (m/e 121, Abbild. 1b) entsprechende Benzoat-Ion (m/e 137, Abbild. 1b), daß man es mit einem Hydroxybenzoesäure-Derivat zu tun hat. Im oberen Massenbereich erscheint das durch Abspaltung eines Benzoyl-Radikals entstandene Alkoholat-Ion (m/e 206). Ob das Ion bei m/e 189 durch thermische Abspaltung von *p*-Hydroxy-benzoesäure aus **1** und nachfolgende Ionisierung entstanden ist, ist eine offene Frage; die Bildung des Divinylnicotinat-Anions (m/e 174) entspricht dann der erwarteten Fragmentierung.



Abbild. 2. a) Elektronenstoß-, b) Elektronenanlagerungs-Massenspektrum von 4-Aminonicotinsäure-methylester (**3**) (bezüglich der durch * gekennzeichneten metastabilen Übergänge sowie der genauen Massenbestimmungen siehe Versuchsteil)

Das Fragmentierungsverhalten von **3** (positive Ionen, Abbild. 2a) entspricht den Erwartungen für einen aromatischen *o*-Amino-carbonsäureester⁹⁾ und ein Pyridin-derivat⁸⁾ und kann im folgenden Formelschema zusammengefaßt werden (* bedeutet metastabilen Peak):



Mögliche Formulierungen für die im Elektronenanlagerungsspektrum registrierten Ionen sind in Abbild. 2b wiedergegeben. Es sei jedoch erwähnt, daß hier Überprüfung der Elementarzusammensetzungen durch exakte Massenmessungen nicht möglich war.

Gentianin (**2**) war bereits früher in Extrakten einiger Gentianaceen^{4,10-12)}, Dipsacaceen⁴⁾ und Loganiaceen^{5,13)}, jedoch bisher noch nicht in solchen von Oleaceen gefunden worden¹⁴⁾. Weiterhin wurden aus einigen Gentianaceen außer **2** auch andere ähnliche Basen isoliert, z. B. Gentialutin, vermutlich 4-[2-Hydroxy-äthyl]-3-vinylpyridin¹⁰⁾, Gentianidin, dem die Struktur des 6-Methyl-4-[2-hydroxy-äthyl]-nicotinsäurelactons zukommen soll¹⁵⁾, sowie einige nicht näher untersuchte und bezeichnete Verbindungen^{11,16)}. Allerdings konnte in mehreren Fällen festgestellt werden, daß Gentianin normalerweise nicht natürlich in den Pflanzen vorkommt, sondern aus stickstofffreien, glykosidischen, monoterpenoiden Vorstufen vom Typ der Iridoide¹⁷⁾ (z. B. Swertiamarin (**4**) oder Gentiopikrosid (**5**)) durch Hydrolyse und Ammoniak-einwirkung als Artefakt entsteht^{5,12,18)} (vgl. hingegen l. c.¹¹⁾). Deshalb erschien es

⁹⁾ K. Biemann, *Angew. Chem.* **74**, 102 (1962); *Angew. Chem. internat. Edit.* **1**, 98 (1962).

¹⁰⁾ J. Cieślak, J. Kuduk und F. Rulko, *Acta polon. pharmac.* **21**, 265 (1964), *C. A.* **62**, 13507 (1965).

¹¹⁾ N. Mollov, N. Marekov, S. Popov und B. Kouzmanov, *C. R. Acad. bulg. Sci., Sci. math. natur.* **18**, 947 (1965); N. Marekov, N. Mollov und S. Popov, ebenda **18**, 999 (1965).

¹²⁾ J. Rai und K. A. Thakar, *Current Sci. [Bangalore]* **35**, 148 (1966); T. R. Govindachari, S. S. Sathe und N. Viswanathan, *Indian J. Chem.* **4**, 201 (1966).

¹³⁾ A. S. C. Wan und Y. L. Chow, *J. Pharmacy Pharmacol.* **16**, 484 (1964).

¹⁴⁾ Ebenfalls mit Gentianin wurde ein aus *Gentiana acaulis* isoliertes Anthocyan bezeichnet; vgl. P. Karrer und R. Widmer, *Helv. chim. Acta* **10**, 5, 58 (1927).

¹⁵⁾ L. Xiao-tian Y. De-quan und F. Feng-yung, *Acta pharmac. sinica* **11**, 412 (1964); *Scientia sinica* **14**, 869 (1965).

¹⁶⁾ E. Steinegger und Th. Weibel, *Pharmac. Acta Helvetiae* **26**, 259 (1951).

¹⁷⁾ Vgl. E. C. Bate-Smith und T. Swain, in T. Swain, *Comparative Phytochemistry*, S. 159, Academic Press, London-New York 1966.

¹⁸⁾ T. Kubota und Y. Tomita, *Tetrahedron Letters* [London] **1961**, 453; H. G. Floss, U. Mothes und A. Rettig, *Z. Naturforsch.* **19b**, 1106 (1964).

nicht ausgeschlossen, daß auch die von uns isolierten Verbindungen Fontaphillin (1) und Gentianin (2) erst während der Aufarbeitung des Pflanzenmaterials aus anderen Inhaltsstoffen gebildet wurden. In der Tat ließ sich im methanolischen Blattextrakt von *F. phillyreoides* weder 1 noch 2 nachweisen. Wurde der Extrakt jedoch angesäuert und dann ammoniakalisch gemacht, so konnte dünn-schichtchromatographisch sowohl 1 als auch 2 festgestellt werden. Dabei erwies sich nicht nur die Ammoniak-, sondern auch die vorangehende Säurebehandlung als notwendig. In Angriff genommene Untersuchungen beschäftigen sich mit der Isolierung und Identifizierung der nativen terpenoiden Vorstufen sowie mit der Klärung der Frage, ob der in nur sehr geringen Mengen festgestellte 4-Amino-nicotinsäure-methylester auch ein Artefakt ist oder als natürlicher Inhaltsstoff von *F. phillyreoides* angesehen werden muß. In diesem Zusammenhang sei darauf hingewiesen, daß aus einer anderen Oleacee, *Olea europaea* L., das mit 4 und 5 chemisch verwandte Iridoid Oleuropein isoliert wurde, dem die Struktur 6 zugeschrieben wird¹⁹⁾. Die Biogenese der Iridoide wird von *Bate-Smith* und *Swain*¹⁷⁾, ein möglicher Mechanismus ihrer Umwandlung in monoterpenoide Nicotinsäure-derivate bereits von *Dean*²⁰⁾ diskutiert.

Wir danken Herrn Prof. Dr. *J. LeMen*, Paris, für eine authent. Probe von Gentianin und Herrn Dr. *W. Metlesics*, Nutley/New Jersey, für eine Probe von synthetischem 4-Amino-nicotinsäure-methylester. Für die Aufnahme der Elektronenanlagerungs-Massenspektren sind wir Herrn Dr. *R. Tümmler*, Dresden, sehr verbunden. Die Elementaranalyse wurde vom Mikroanalytischen Laboratorium *A. Bernhardt*, Mülheim/Ruhr, ausgeführt.

Beschreibung der Versuche

Die Schmelzpunkte wurden auf dem Mikroheiztisch nach Boëtius bestimmt und sind korrigiert. — Die IR-Spektren in Nujol wurden mit dem Zeiss-Zweistrahl-Spektralphotometer UR 10, die UV-Spektren in Äthanol mit dem Perkin-Elmer-Spektrophotometer 137 UV und die NMR-Spektren mit dem Varian-Spektrometer HA 100 bei Raumtemp. in Deuteriochloroform als Lösungsmittel und Tetramethylsilan als innerem Standard aufgenommen. Die Elektronenstoß-Massenspektren wurden mit dem Atlas-Massenspektrometer CH 4 bzw. mit dem doppelfokussierenden AEI-Massenspektrometer MS 9, die Elektronenanlagerungs-Massenspektren mit dem Dresdner Molekül-Massenspektrographen²¹⁾ gemessen. — Für die Dünnschichtchromatographie (DC) beschichteten wir Glasplatten der Größe 13 × 25 cm durch Aufgießen einer Suspension von 6 g Kieselgel G (Merck) in 22 ccm 0.1 *n* NaOH; nach Trocknen bei Raumtemp. aktivierte man 30 Min. bei 110°. Die Entwicklung erfolgte mit Methylchlorid/Methanol (19 : 1), die Detektion mit Dragendorff-Reagens.

Aufarbeitung des Pflanzenmaterials: 200 g getrocknete und zerkleinerte Blätter von *Fontanesia phillyreoides* (Ernte Juli) wurden im Soxhlet-Apparat zunächst mit *Petroläther* (30–50°) und anschließend mit *Methanol* erschöpfend extrahiert. Der methanol. Auszug wurde i. Vak. auf ca. 100 ccm eingengt, mit 400 ccm Wasser + 50 ccm *n HCl* versetzt und mehrmals mit Benzol/Äther (1 : 1) ausgeschüttelt, bis die organ. Phase nahezu farblos war. Die wäßr.

¹⁹⁾ *L. Panizzi, M. L. Scarpati und G. Oriente*, Gazz. chim. ital. **90**, 1449 (1960).

²⁰⁾ *F. M. Dean*, Naturally Occurring Oxygen Ring Compounds, S. 457, Butterworths, London 1963; vgl. auch I. c.^{5,18)}.

²¹⁾ Zur Methodik vgl. *M. von Ardenne, K. Steinfelder, R. Tümmler* und *K. Schreiber*, Experientia [Basel] **19**, 178 (1963); *M. von Ardenne, K. Steinfelder* und *R. Tümmler*, Z. Chem. **5**, 287 (1965); *R. Tümmler* und *K. Steinfelder*, ebenda **7**, 1 (1967).

salzsaure Lösung versetzte man mit 15 ccm 30-proz. *Ammoniak* und extrahierte 4 mal mit je 600 ccm Äther. Trocknen des Ätherextrakts über Na_2SO_4 und Abdestillieren des Lösungsmittels i. Vak. lieferte 430 mg eines dunkelgrünen, zum Teil öligen Rückstands (DC: 2 Hauptkomponenten mit R_F 0.43 (1) und 0.63 (2)). Der Rückstand wurde, in wenig Methylenchlorid gelöst, an 80 g Kieselgel (Merck, Säulengröße 25×3 cm) chromatographiert; Entwicklung bei Fraktt. 1–6 (zu je 60 ccm) mit Methylenchlorid, Fraktt. 7–12 mit Methylenchlorid + 0.1% Methanol, Fraktt. 13–18 + 0.2%, Fraktt. 19–36 + 0.5%, Fraktt. 37–42 + 1%, Fraktt. 43–54 + 1.5%, Fraktt. 55–72 + 2%, Fraktt. 73–86 + 3% und Fraktt. 87–94 + 4% Methanol. Folgende Fraktt. wurden vereinigt:

Fraktt.	Bezeichnung	Rückstand (mg)	DC (R_F)
36–39	A	18	0.76, daneben grüner Farbstoff
40–49	B	71	0.76 + 0.63 (2) + 0.59
50–66	C	256	0.43 (1)
67–94	D	60	0.43 (1) + 0.34 (3) + 0.28

4-[2-(4-Hydroxy-benzoyloxy)-äthyl]-5-vinyl-nicotinsäure-methylester (*Fontaphillin*, 1): Die Hauptfraktion C (256 mg = 0.13%, bez. auf Blatt-Trockengew.) enthielt neben geringen Mengen gelbgrünen Farbstoffs und im wesentlichen 1 keine anderen Dragendorff-positiven, durch DC nachweisbaren Verbindungen. Zur weiteren Reinigung wurde die Fraktion nochmals an 37 g Kieselgel (Merck, Säulengröße 22.5×2 cm) chromatographiert; Fraktt. zu je 30 ccm; Entwicklung mit Methylenchlorid (Fraktt. 1–6), Methylenchlorid + 0.2% Methanol (Fraktt. 7–12), + 0.5% Methanol (Fraktt. 13–18), + 1% Methanol (Fraktt. 19–24), + 1.5% Methanol (Fraktt. 25–30) und + 2% Methanol (Fraktt. 31–43). Die Fraktt. 31–43 enthielten DC einheitliches, Fraktt. 34 und 35 nach Abdampfen des Lösungsmittels bereits kristallines 1. Die Kristalle (120 mg) wurden aus Methanol/Wasser umkristallisiert: 98 mg farblose Nadeln vom Doppel-Schmp. $80-81^\circ$ und $121-122^\circ$. Zur Analyse wurde bei 70° i. Hochvak. getrocknet (Gewichtsverlust 5.6 bzw. 6.9%, ber. für 1 H_2O 5.2%).

$\text{C}_{18}\text{H}_{17}\text{NO}_5$ (327.3) Ber. C 66.05 H 5.23 N 4.28 Gef. C 65.42 H 5.66 N 5.64

UV: λ_{max} (log ϵ) 212 (4.49) und 257 nm (4.25).

IR: 698, 720, 773, 790, 808, 820, 850, 870, 882, 917, 927, 972, 989, 1015, 1040, 1072, 1110, 1119, 1129, 1142, 1172, 1188, 1202, 1222, 1241, 1257, 1283, 1300, 1318, 1340, 1377, 1466, 1585, 1600, 1610, 1683, 1723 und $3513/\text{cm}$.

Elektronenstoß-Massenspektrum: Vgl. Abbild. 1a); metastabile Peaks bei m/e 131.0 (327 \rightarrow 207), 110.4 (327 \rightarrow 190), 71.5 (121 \rightarrow 93), 45.4 (93 \rightarrow 65), 44.8 (327 \rightarrow 121) und 23.4 (65 \rightarrow 39).

Elektronenanlagerungs-Massenspektrum: Vgl. Abbild. 1b); Verdampfungstemp. 100° , Expositionszeit 2 Sek.

NMR-Spektrum: Vgl. allgem. Teil.

4-[2-Hydroxy-äthyl]-5-vinyl-nicotinsäurelacton (*Gentianin*, 2)

a) Aus dem Blattextrakt von *F. phillyreoides*: Fraktion B der Kieselgel-Säulenchromatographie (71 mg) wurde durch präparative DC an 2 Platten der Größe 13×25 cm aufgetrennt (je Platte 15 g Kieselgel G (Merck), suspendiert in 30 ccm Wasser, Entwicklung mit Äther, Randstreifendetektion mit Dragendorff-Reagens). Die Verbindung 2 enthaltenden Zonen

(R_F ca. 0.38) wurden abgekratzt und **2** in einer Säule mit Methylenchlorid/Methanol (9:1) eluiert; 22 mg gelblicher Rückstand, nach DC (Entwicklung mit Methylenchlorid/Methanol (19:1) R_F 0.63, mit Äther R_F 0.35) identisch mit authent. *Gentianin*.

b) *Durch Hydrolyse von 1*: 7.2 mg **1** wurden mit 2 ccm *n HCl* 2 Stdn. auf dem Dampfbad erhitzt und anschließend das Hydrolysat 3mal mit je 2 ccm Äther ausgeschüttelt. Man trocknete den äther. Auszug über Na_2SO_4 und destillierte das Lösungsmittel ab: 1.8 mg kristalliner Rückstand vom Schmp. 191–194°, nach Misch-Schmp., IR- und Massenspektrum identisch mit authent. *4-Hydroxy-benzoessäure*.

Die nach Ätherextraktion des Hydrolysats verbleibende wäbr.-saure Lösung wurde durch Zusatz von *Ammoniak* alkalisiert und 3mal mit Chloroform ausgeschüttelt. Nach Trocknen über Na_2SO_4 wurde das Chloroform abdestilliert. Der Rückstand (2.4 mg) erwies sich nach DC (2 Systeme (s. o.), R_F 0.63 und 0.35), IR-, UV- und Massenspektrum als identisch mit authent. *Gentianin* (**2**).

Elektronenstoß-Massenspektrum: Hauptpeaks (relative Intensität über 5%) bei m/e 176, 175 (M^+), 147, 146, 118, 117, 92, 91, 90, 63; metastabile Peaks bei m/e 145.0 (147 → 146), 123.5 (175 → 147), 89.0 (91 → 90), 78.2 (175 → 117), 70.8 (117 → 91); genaue Massenbestimmungen für

$\text{C}_{10}\text{H}_9\text{NO}_2$	Ber. 175.0633	Gef. 175.0639
$\text{C}_9\text{H}_9\text{NO}$	147.0684	147.0688
$\text{C}_8\text{H}_7\text{N}$	117.0579	117.0577
C_7H_6	90.0470	90.0474

4-Amino-nicotinsäure-methylester (**3**): Die in Fraktion D der Kieselgel-Säulenchromatographie durch DC nachgewiesene Substanz mit R_F 0.34 erwies sich als identisch mit einer Verbindung, die sich aus dem ursprünglichen Ätherextrakt in geringen Mengen kristallin abschied. Nach 3maliger Umkristallisation aus wenig Methanol/Wasser farblose Nadeln vom Schmp. 174–176°. Nach Misch-Schmp., IR-, UV- und Massenspektrum identisch mit synthetischem **3** (Lit.⁶): Schmp. 173°).

Elektronenstoß-Massenspektrum: Vgl. Abbild. 2a); metastabile Peaks bei m/e 96.3 (152 → 121), 94.7 (152 → 120), 71.8 (breit, 121 → 93 und 120 → 93), 46.8 (93 → 66); genaue Massenbestimmungen für

$\text{C}_7\text{H}_8\text{N}_2\text{O}_2$	Ber. 152.0586	Gef. 152.0582	
$\text{C}_6\text{H}_5\text{N}_2\text{O}$	121.0402	121.0397	
$\text{C}_6\text{H}_4\text{N}_2\text{O}$	120.0324	120.0322	
$\text{C}_5\text{H}_5\text{N}_2$	93.0453	93.0452	} 1:1
$\text{C}_5\text{H}_3\text{NO}$	93.0215	93.0214	
$\text{C}_4\text{H}_4\text{N}$	66.0344	66.0340	} 10:1
$\text{C}_3\text{H}_2\text{N}_2$	66.0218	66.0216	

In dem isolierten Präparat ließ sich bei m/e 166 ein geringer Anteil einer homologen Verbindung nachweisen:

Ber. für $\text{C}_8\text{H}_{10}\text{N}_2\text{O}_2$ m/e 166.0742, Gef. 166.0739.

Da die Fragment-Ionen (siehe Abbild. 2) keine entsprechenden um 14 Masseneinheiten schwereren Satelliten aufweisen, handelt es sich wahrscheinlich um den **3** entsprechenden Äthylester (vgl. das Fragmentierungsschema von **3**, das im ersten Schritt Verlust des Alkoholrestes zeigt ($M^+ - \text{OCH}_3$ bzw. CH_3OH in Abbild. 2a), $M^- - \text{CH}_3$ in Abbild. 2b)).

Elektronenanlagerungs-Massenspektrum: Vgl. Abbild. 2b); Verdampfungstemp. 70°, Expositionszeit 10 Sek.

Nachweis der Artefaktbildung: 20 g getrocknete, zerkleinerte Blätter von *F. phillyreoides* wurden im Soxhlet-Apparat erschöpfend mit Methanol extrahiert. Im Rückstand des so gewonnenen Extrakts konnte durch DC weder **1** noch **2** nachgewiesen werden. Man nahm den Rückstand in wenig Wasser auf und teilte die filtrierte Lösung in 3 Teile (A–C). Vor dem Ausschütteln mit Äther wurde *Teil A* mit *Salzsäure* angesäuert und nach 20 Min. mit *Ammoniak* alkalisiert, *Teil B* ebenfalls mit *Salzsäure* versetzt, jedoch nach 20 Min. mit *Natriumcarbonatlösung* alkalisiert sowie *Teil C* ohne Säurebehandlung nur mit *Ammoniak* versetzt. Die DC der Ätherextrakte ergab folgende Ergebnisse: Teil A: 2 Substanzen mit R_F 0.43 (**1**, Hauptkomponente) und 0.63 (**2**), Teil B: keine Dragendorff-positiven Verbindungen, Teil C: **1** und **2** nicht nachweisbar, lediglich schwachpositive Dragendorff-Reaktion am Startpunkt.

[141/67]