

LITERATURVERZEICHNIS

- [1] *M. Märky, Th. Doppler, H.-J. Hansen & H. Schmid*, *Chimia* **23**, 230 (1969).
 [2] *G. S. Reddy, J. H. Goldstein & L. Mandell*, *J. Amer. chem. Soc.* **83**, 1300 (1961).
 [3] *I. D. Rae*, *Austral. J. Chemistry* **19**, 1983 (1966); vgl. *K. L. Henold*, *Chem. Commun.* **1970**, 1340.
 [4] *H. Suhr*, «Anwendungen der kernmagnetischen Resonanz in der Organischen Chemie», S. 128, 130, Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, New York 1965.
 [5] *J. Streith & J. M. Gassal*, *Bull. Soc. chim. France* **1969**, 2175.
 [6] *L. A. Paquette & D. E. Kuhla*, *Tetrahedron Letters* **1967**, 4517.
 [7] *K. Hafner*, *Angew. Chem.* **75**, 1041 (1963); *ibid.* Intern. Ed. **3**, 165 (1964).
 [8] *J. A. Elvidge, R. P. Linstead, B. A. Orkin, P. Sims, H. Baer & O. B. Pattison*, *J. chem. Soc.* **1950**, 2228; *J. A. Elvidge, R. P. Linstead, P. Sims & B. A. Orkin*, *ibid.* **1950**, 2235; *J. A. Elvidge, R. P. Linstead & J. F. Smith*, *ibid.* **1953**, 708.
 [9] *W. Lwowski & R. L. Johnson*, *Tetrahedron Letters* **1967**, 891.
 [10] *F. D. Marsh & H. E. Simmons*, *J. Amer. chem. Soc.* **87**, 3529 (1965).
 [11] *H. E. Baumgarten & A. Staklis*, *J. Amer. chem. Soc.* **87**, 1141 (1965).
 [12] *R. Puttner & K. Hafner*, *Tetrahedron Letters* **1964**, 3119.
 [13] *G. Just & W. Zehetner*, *Tetrahedron Letters* **1967**, 3389.
 [14] *T. Mukai & M. Nitta*, *Chem. Commun.* **1970**, 1192.
 [15] *Altaf-ur-Rahman & A. J. Boulton*, *Chem. Commun.* **1968**, 73.
 [16] *T. S. Cantrell & W. S. Haller*, *Chem. Commun.* **1968**, 977.
 [17] *T. Mukai, T. Oine & A. Matsubara*, *Bull. chem. Soc. Japan* **42**, 581 (1969).
 [18] *Th. Zincke & Ph. Schwarz*, *Liebigs Ann. Chem.* **307**, 28 (1899).
 [19] *A. Ladenburg*, *Ber. deutsch. chem. Ges.* **18**, 2956 (1885).

82. Neue Alkaloide aus *Adhatoda vasica* Neesvon **S. Johne** und **D. Gröger**Deutsche Akademie der Wissenschaften zu Berlin,
Institut für Biochemie der Pflanzen, Halle/Saale,und **M. Hesse**Organisch-chemisches Institut der Universität Zürich¹⁾Herrn Prof. Dr. h. c. mult. *K. Mothes* zum 70. Geburtstag gewidmet

(6. II. 71)

Summary. In addition to the known alkaloid peganine (**1**) from young plants of the *Acanthacea Adhatoda vasica*, the base anisotinic (**7**) and the three new alkaloids vasicoline (**4**), adhatodine (**5**), and vasicolinone (**6**) were isolated and analysed. Mainly on the basis of spectral properties (UV., IR., NMR, and mass spectrometry) the structures were assigned. By atmospheric oxygen the bases vasicoline and adhatodine are oxidized in position 7; it is therefore remarkable that these bases are present as such in the plant.

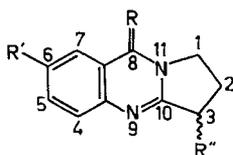
Aus der *Acanthaceae Adhatoda vasica* Nees sind bisher die drei Chinazolin-Alkaloide Peganin (Vasicin) (**1**) [2] [3], Vasicinon (**2**) [4] und 6-Hydroxypeganin (**3**) [5] isoliert worden. Das von *Rajagopalan et al.* [6] isolierte «Vasicinol» erwies sich nach Untersuchungen von *Bhatnager et al.* [7] als identisch mit **3**. Kürzlich berichteten *Ikram*

¹⁾ 142. Mitteilung über Alkaloide (Organisch-chemisches Institut der Universität Zürich); 141. Mitteilung: [1].

et al. [8] über ein neues Alkaloid «Vasicinin», welches in 1-proz. Ausbeute aus Blüten von *Adhatoda vasica* gewonnen werden konnte. Die Strukturaufklärung dieser Verbindung steht noch aus. Im Rahmen unserer Untersuchungen über die Biosynthese des Peganins [9] liessen sich besonders bei der Aufarbeitung von Jungpflanzen-Extrakten der Sprosse durch Dünnschichtchromatographie weitere *Dragendorff*-positive Flecke nachweisen.

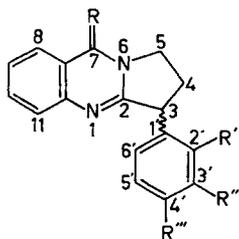
Im Folgenden berichten wir über die Isolierung und Strukturaufklärung von vier neuen Alkaloiden aus *A. vasica*: Vasicolin (4), Adhatodin (5), Vasicolinon (6) und Anisotin (7).

Die Isolierung erfolgte aus einem Chloroform- oder Methylenchlorid-Extrakt durch wiederholte Säulen- und Dünnschichtchromatographie. Anfänglich bereitete die Auftrennung ausserordentliche Schwierigkeiten, da die Substanzen 4 und 5 sehr leicht zu 6 bzw. 7 oxydiert werden. Eine befriedigende dünnschichtchromatographische Trennung gelang nur mittels der im exp. Teil angegebenen Laufmittel unter den zahlreichen von uns geprüften Lösungsmittelkombinationen. Da sich die in geringen Konzentrationen vorliegenden Substanzen 4, 5, 6 und 7 praktisch nur in Sprossen von Jungpflanzen nachweisen lassen und *A. vasica* unter unseren klimatischen Bedingungen im Gewächshaus kultiviert werden muss, stand nur wenig Material zur Verfügung. Die Strukturermittlung beruht daher im wesentlichen auf der Interpretation der UV-, IR-, NMR- und Massen-Spektren.



- 1, R = H₂, R' = H, R'' = OH²⁾
 2, R = O, R' = H, R'' = OH
 3, R = H₂, R' = OH, R'' = OH
 9, R = O, R' = H, R'' = H

Das Alkaloid 7 (C₂₀H₁₉N₃O₃, M = 349, Smp. 186°) erwies sich auf Grund von Misch-Smp., IR-, UV- und Massen-Spektren sowie auch dünnschichtchromatographisch als identisch mit dem aus *Anisotes sessiliflorus* C. B. Cl. isolierten *Anisotin*³⁾ [10].



- 4, R = H₂, R' = N(CH₃)₂, R'' = R''' = H; Vasicolin
 5, R = H₂, R' = H, R'' = COOCH₃, R''' = NHCH₃; Adhatodin
 6, R = O, R' = N(CH₃)₂, R'' = R''' = H; Vasicolinon
 7, R = O, R' = H, R'' = COOCH₃, R''' = NHCH₃; Anisotin
 8, R = H₂, R' = H, R'' = COOCH₃, R''' = N(CH₃)COCH₃
 10, R = O, R' = N(CH₃)₂, R'' = R''' = H, C(11)-OCH₃

Adhatodin (5, C₂₀H₂₁N₃O₂, M = 335, Smp. 183°) gibt im IR.-Spektrum (CHCl₃) Signale für >NH (3378 cm⁻¹) und eine aromatische Methoxycarbonylgruppe (1678 cm⁻¹). Das UV.-Spektrum zeigt Maxima bei 225 nm (log ε = 4,51), 262 (4,03), 300

²⁾ Die Bezifferung erfolgt nach [3].

³⁾ Für die Überlassung von Proben der aus *Anisotes sessiliflorus* C. B. Cl. isolierten Alkaloide danken wir auch an dieser Stelle Dr. R. R. Arndt, Pretoria, Südafrika, sehr herzlich.

(3,86) und 361 (3,70). Adhatodin liefert bei der Acetylierung mit Acetanhydrid/Pyridin eine Monoacetylverbindung **8** ($M = 377$), die nur massenspektrometrisch untersucht wurde. Aus der Beobachtung heraus, dass Adhatodin bei der Dünnschichtchromatographie an der Luft zu Anisotin (**7**) oxydiert wird, und aus der Analyse der Massenspektren (siehe später), kann der Schluss gezogen werden, dass Adhatodin Struktur **5** besitzt. Ähnliche oxydative Umwandlungen wie Adhatodin (**5**) \rightarrow Anisotin (**7**) werden auch bei Peganin (Vasicin, **1**) \rightarrow Vasicinon (**2**) sowie bei Desoxyvasicin \rightarrow Desoxyvasicinon (**9**) beobachtet.

In analoger Beziehung wie **5** zu **7** stehen auch die beiden anderen Basen Vasicolin (**4**) und Vasicolinon (**6**) zueinander:

Vasicolinon (**6**, $C_{19}H_{19}N_3O$, $M = 305$, Smp. 152°) besitzt im IR.-Spektrum ($CHCl_3$) charakteristische Banden bei 1678 (aromat. Ester), 1664 (aromat. Amid) und 1618 cm^{-1} ($>C=N-$). Im 100-MHz-NMR.-Spektrum ($CDCl_3$)⁴) wurden folgende Signale beobachtet: 2 N- CH_3 -Gruppen bei 2,64 ppm (Singulett); der Aromatenbereich integriert für 1 (Dublett mit Feinstruktur bei 8,31 ppm ($J = 9\text{ Hz}$)) + 7 Protonen (Multipllett zwischen 7,05 und 7,7 ppm). Das Dublett bei 8,31 ppm stammt von C(8)-H. Bei 5,04 ppm erscheint ein Triplett (1 Proton, $J = 9\text{ Hz}$), welches C(3)-H zugeordnet werden kann. C(3)-H koppelt mit C(4)=H₂ (Multipllett zwischen 1,9 und 2,9 ppm, 2 Protonen) und dieses mit den zwei Protonen an C(5), die, ebenfalls als Multipllett, zwischen 4,0 und 4,55 ppm absorbieren. Die chemischen Verschiebungen der Protonen an C(3), C(4), C(5) und C(8) stimmen weitgehend mit den entsprechenden in Desoxyaniflorin (**10**) [10] überein. Auf Grund der Ähnlichkeit der NMR.- und Massenspektren (siehe später) schlagen wir für Vasicolinon die Struktur **6** eines Desoxydemethoxy-aniflorins vor.

In Übereinstimmung mit Struktur **6** lässt sich Vasicolinon nicht acetylieren (Acetanhydrid/Pyridin). Vasicolinon besitzt zwei voneinander isolierte Chromophore. Sein UV.-Spektrum (Äthanol) zeigt λ_{max} bei 227 nm ($\log \epsilon = 4,33$), 268 (3,91), 305 (3,52) und 317 (3,42), und λ_{min} bei 250 nm ($\log \epsilon = 3,69$), 297 (3,33) und 313 (3,30). Das UV.-Spektrum einer äquimolaren Mischung von N,N-Dimethyl-*o*-toluidin und Desoxyvasicinon (**9**)⁵) (in Äthanol) mit λ_{max} bei 227 nm ($\log \epsilon = 4,42$), 265 (3,92), 303 (3,62) und 314 (3,48); λ_{min} bei 260 nm ($\log \epsilon = 3,91$), 293 (3,57) und 309 (3,46) besitzt eine unverkennbare Ähnlichkeit zu demjenigen von **6**, was die getroffene Zuordnung der Chromophore untermauert.

Vasicolin (**4**, $C_{19}H_{21}N_3$, $M = 291$, Smp. 135°) zeigt ein UV.-Spektrum mit λ_{max} 212 nm ($\log \epsilon = 4,10$), 224 (4,07), 232 (3,94) und 293 (3,81). Im IR.-Spektrum ($CHCl_3$) treten intensive Signale bei 1621 ($>C=N-$), 1592 und 1572 cm^{-1} auf; eine Amidbande fehlt. **4** besitzt keine gegen D austauschbaren Protonen (CH_3OD ; massenspektrometrische Evidenz). Mit $LiAlH_4$ /Tetrahydrofuran erhält man die 1,2-Dihydro-Verbindung (nur massenspektrometrischer Nachweis)⁶).

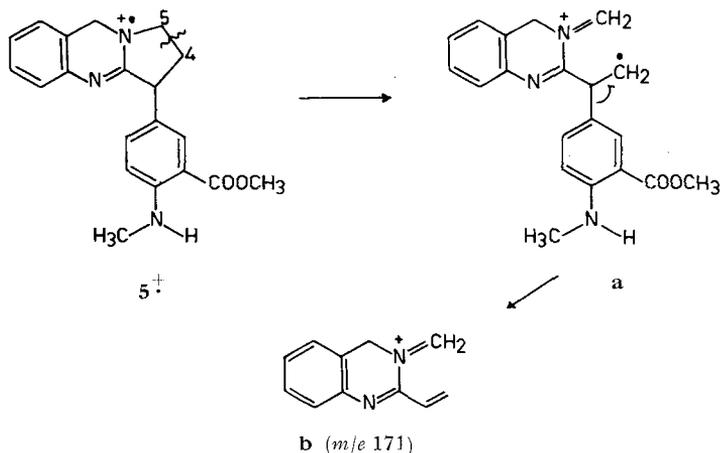
⁴) Die chemischen Verschiebungen sind relativ zu internem Tetramethylsilan als Standard ($\delta = 0$) angegeben.

⁵) Desoxyvasicinon (**9**) wurde aus Peganin (**1**) bereitet: Umsetzung von **1** mit $POCl_3$ liefert 3-Chlor-desoxyvasicin [11], welches mit Zn/Salzsäure zu Desoxyvasicin reduziert wurde [12]. Letzteres ergibt bei der Oxydation mit H_2O_2 **9** [13].

⁶) Unter den gleichen Reaktionsbedingungen wird Peganin (**1**) auch in sein 9,10-Dihydro-Derivat übergeführt.

Vasicolin wird durch Luftsauerstoff leicht zu Vasicolinon (**6**) oxydiert (dünnschichtchromatographischer und massenspektrometrischer Befund).

Im 100-MHz-NMR.-Spektrum (CDCl_3)⁴) von **4** fällt auf, dass im Gegensatz zu demjenigen von **6** die aromatischen Protonen (8 H) als ein Multiplett zwischen 6,8 und 7,3 ppm erscheinen. Das Dublett des zur C=O-Gruppe benachbarten Protons an C(8) fehlt im Spektrum von **4**. Demgegenüber erscheint bei 4,60 ppm ein Singulett, welches den beiden Protonen an C(7) zugeordnet werden kann. Dieses Signal wird überlagert vom Triplet des Protons an C(3) (4,50 ppm). Zusammen integriert dieser Bereich für drei Protonen. Die Signale der zwei anderen CH_2 -Gruppen erscheinen als Multiplette zwischen 3,1 und 3,4 ppm (2 Protonen), 1,6 und 2,1 ppm (1 Proton) und 2,25 und ca. 3,8 ppm (1 Proton). Die beiden N-Methylgruppen absorbieren bei 2,67 ppm (Singulett).



Im Massenspektrum von Anisotin (**7**) ist das intensivste Fragment-Ion m/e 185 ($\text{C}_{11}\text{H}_9\text{N}_2\text{O}$) [10]. Im Spektrum der entsprechenden Desoxoverbindung **5** (Adhatodin) ist dieses Signal nach m/e 171 ($\text{C}_{11}\text{H}_{11}\text{N}_2$) verschoben. Die Struktur dieses Ions ist **b**:

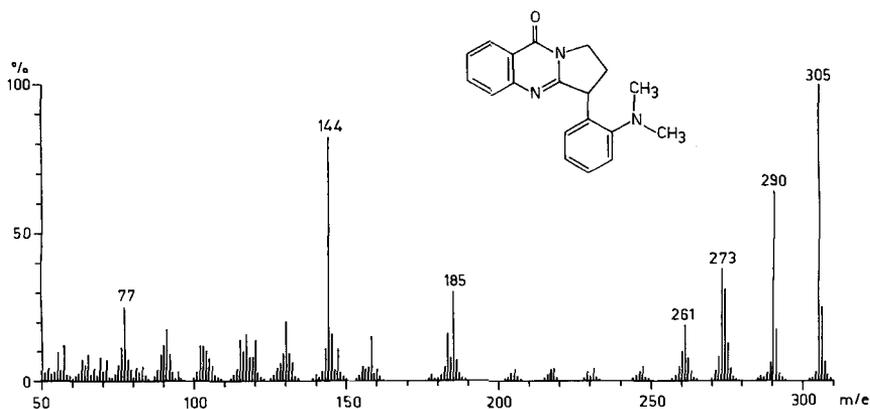


Fig. 1. Massenspektrum von Vasicolinon (**6**)

Spaltung der C(4)–C(5)-Bindung liefert das Ion **a**, welches durch Radikalabbruch in **b** übergeht.

Andere bedeutende Fragment-Ionen sind im Spektrum von **5** bzw. von **7** nicht vorhanden.

Demgegenüber sind die Massenspektren von Vasicolinon (**6**) und Vasicolin (**4**) (s. Fig. 1 bzw. 2) wesentlich strukturierter.

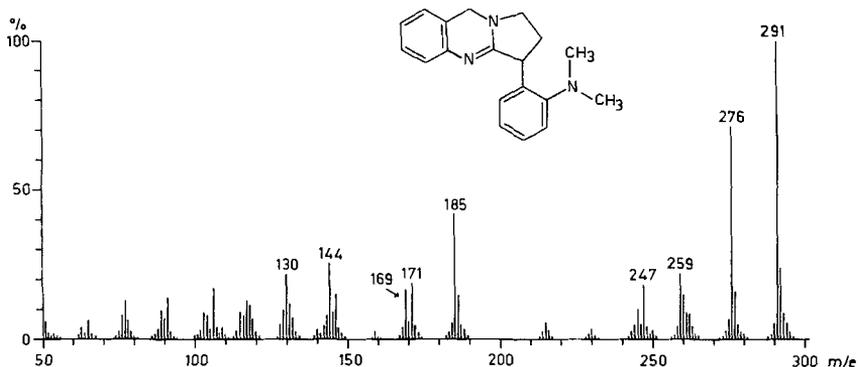
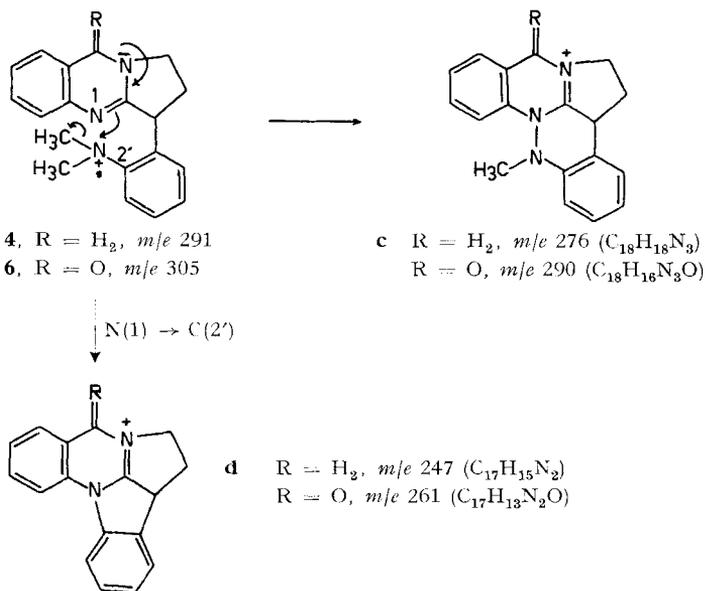


Fig. 2. Massenspektrum von Vasicolin (**4**)

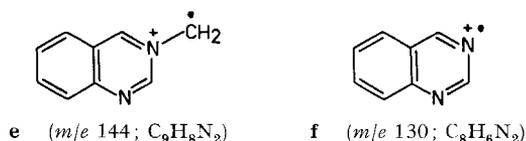
Auffallend ist der starke Verlust von $\cdot\text{CH}_3$ aus dem Molekular-Ion, der am besten durch eine Ringbildung zwischen N(1) und $-\text{N}(\text{CH}_3)_2$ im Sinne von Struktur **c** zu erklären ist. Eine ähnliche Reaktion ist für den Verlust des $\text{N}(\text{CH}_3)_2$ -Restes, Bildung von **d**, verantwortlich. Durch eine weitere Reaktion dieser Art scheinen die Ionen



m/e 273 ($C_{18}H_{13}N_2O$) aus **6** bzw. 259 ($C_{18}H_{15}N_2$) aus **4** gebildet zu werden. Sie entsprechen dem Verlust von NH_3 aus **c**. Da bisher keine N-Markierung ausgeführt wurde, kann über die Art der NH_3 -Abspaltung nichts ausgesagt werden. Zum allgemeinen Typ derartiger Reaktionen vgl. [14].

Die beim Anisotin (**7**) und Adhatodin (**5**) registrierten Ionen **b** werden auch in den Spektren von **6** (m/e 185, $C_{11}H_9N_2O$) bzw. von **4** (m/e 171, $C_{11}H_{11}N_2$) gefunden. Beide Ionen sind Singulette. Im Massenspektrum von **4** tritt jedoch noch ein weiteres Signal bei m/e 185 ($C_{12}H_{13}N_2$) auf, das im Spektrum von **6** nur ca. 5% des Signals bei m/e 185 ausmacht.

Ausser dem Pik bei m/e 185 im Spektrum von **4** erscheinen noch weitere intensive Signale bei m/e 144 (ca. 70% $C_{10}H_{10}N$; ca. 30% $C_9H_8N_2$), 130 (ca. 60% C_9H_8N ; ca. 40% $C_8H_6N_2$) und 106 (C_7H_8N). Den weniger intensiven Ionen bei m/e 144 und 130 kann man die Strukturen **e** bzw. **f** zuordnen. Strukturzuordnungen für die anderen Ionen im Spektrum von **4** schon jetzt treffen zu wollen erscheint infolge des Fehlens



geeigneter markierter Verbindungen sinnlos, da es meistens mehrere strukturelle Möglichkeiten gibt.

Ähnliche Formulierungsschwierigkeiten existieren für m/e 144 ($C_{10}H_{10}N$) im Spektrum von Vasicinon (**6**), welches auf Grund seiner Zusammensetzung nicht gleich wie in [10] formuliert werden kann⁷⁾. Wir verzichten deshalb auf die Angabe von Strukturen der betreffenden Ionen.

Zusammenfassend lässt sich feststellen, dass die Strukturzuweisung von Adhatodin (**5**) im wesentlichen auf derjenigen des bekannten Anisotins (**7**) beruht. Die Ableitung der für Vasicolin und Vasicolinon vorgeschlagenen Strukturen **4** bzw. **6** basiert einmal auf der oxydativen Umwandlung von **4** \rightarrow **6** und andererseits auf der Analyse der UV.-Spektren (besonders des Misch-UV.-Spektrums der beiden Einzelchromophore), der IR.- und NMR.-Spektren sowie des Massenspektrums. Bei der massenspektrometrischen Fragmentierung kommt der Nachbargruppenbeteiligung (Bildung der Ionen **c** und **d**) und dem Auftreten der Ionen **b** ($R = O$ bzw. $R = H_2$), die auch in den Spektren von **5** und **7** registriert wurden, besondere Bedeutung zu, vgl. [15]. – Aus Substanzmangel konnten leider keine Drehungen bestimmt werden.

Die Zahl der in 3-Stellung des Pyrrolidinochinazolin-Gerüsts durch einen Aromaten substituierten Alkaloide hat sich durch die Alkaloide **4**, **5** und **6** um drei erhöht. Ferner ist Anisotin in einer weiteren Acanthacee nachgewiesen worden. Wie in *Anisotes sessiliflorus* C. B. Cl. sind auch in *Adhatoda vasica* Nees die Vertreter dieses Alkaloid-Typs als Nebenalkaloide anzusehen. In beiden Fällen ist Peganin (**1**) das Hauptalkaloid. Welche Stellung diesen Nebenalkaloiden im Stoffwechsel von *Anisotes* und *Adhatoda* zukommt, ist weitgehend ungeklärt. Bei *Adhatoda* scheinen sie nur in einem bestimmten Stadium der Entwicklung aufzutreten. Es ist anzunehmen, dass

⁷⁾ Ein eigentlicher Strukturbeweis für das Ion m/e 144 im Spektrum von Desoxyaniflorin wurde nicht gegeben [10].

auch von den übrigen in *Anisotes* vorkommenden Chinazolin-Alkaloiden die entsprechenden in 4-Stellung des Chinazolin-Gerüsts nicht oxydierten Formen in der Natur vorkommen. Die Biosynthese dieser Alkaloide könnte so verlaufen, dass zuerst das Peganin- bzw. Vasicinon-Gerüst gebildet und anschliessend der Aromat an C(3), wahrscheinlich ausgehend von Anthranilsäure, angefügt wird.

Wir danken Frau Chem.-Ing. *I. Horn* für vielfältige Hilfeleistung bei der Isolierung und Fräulein Dipl.-Agr. *Th. Volkamer* für die Anzucht des umfangreichen Pflanzenmaterials. Die NMR.-Spektren wurden in dankenswerter Weise von Herrn Dipl.-Chem. *P. Hamm* aufgenommen. Dem *Schweizerischen Nationalfonds* danken wir für die Unterstützung dieser Arbeit.

Experimenteller Teil

(unter Mitarbeit von Frau **Katharina Kern-Klaus**)

Allgemeine Bemerkungen. Smp. auf Kofler-Block (nicht korrigiert). Abdampfoperationen bei 30°–40° Badtemperatur im Rotationsverdampfer bei Wasserstrahlvakuum. Zur Säulenchromatographie wurden Al_2O_3 (basisch) Akt.-Stufe 1 der Firma *VEB Chemiewerk, Greiz-Dörlau*, und Kieselgel H (*Merck*) eingesetzt. Dünnschichtchromatogramme (DC.) auf Kieselgel PF₂₅₄ (*Merck*) und GF₂₅₄ (*Merck*). Die Lösungsmittel wurden über Al_2O_3 filtriert bzw. destilliert. «Alkalische» Platten: Kieselgel wurde mit 0,5-proz. Kalilauge angerührt. Sichtbarmachung der Flecke: UV.-Licht und Sprühreagens nach *Dragendorff-Munier* [16] bzw. Einstellen der Platten in Joddampf. UV.-Spektren in 99-proz. Äthanol; Angaben in nm (log ϵ). IR.-Spektren: Angaben in cm^{-1} . NMR.-Spektren in CDCl_3 bei 100 MHz; Angaben in ppm relativ zu internem Tetramethylsilan = 0, S = Singulett, D = Dublett, T = Triplett, M = Multiplett. Massenspektren mit CEC-Gerät Typ 21-110B (Direkteinlass, 70 eV), Angaben in *m/e* (rel. %). Die Hochauflösungen erfolgten auf Photoplatten, Auswertung: *Projectina* [17].

Die Samen von *Adhatoda vasica* Nees wurden in verschiedenen Gebieten Indiens gesammelt. Die Anzucht der Jungpflanzen erfolgte in Gewächshäusern (Halle).

1. *Extraktion der Pflanzen.* Das Pflanzenmaterial stammte aus verschiedenen Vegetationsperioden und wurde jährlich aufgearbeitet. Insgesamt standen 3 kg Jungpflanzen-Sprosse (ca. 10–15 cm hoch) aus der Anzucht im Gewächshaus zur Verfügung. Schema: Das nach Trocknen bei 60° gemahlene Pflanzenmaterial wurde mit 10-proz. Ammoniak-Lösung angefeuchtet und dreimal einige Stunden mit Methylenchlorid oder Chloroform digeriert. Die vereinigten Extrakte hat man im Vakuum eingengt und erschöpfend mit 10-proz. Essigsäure ausgeschüttelt. Nach dem Ausäthern wurde vorsichtig alkalisch gestellt und die Alkaloide mit Methylenchlorid extrahiert. Der Alkaloidgehalt des Gemisches der Nebenalkaloide schwankte zwischen 0,001 und 0,003%.

2. *Abtrennung von Peganin (1).* Durch Säulenchromatographie des stark eingengten und über Na_2SO_4 getrockneten Methylenchlorid-Extraktes an Alox liess sich die Hauptmenge von **1** abtrennen. Die Elution erfolgte mit Methylenchlorid, dem in steigendem Masse Methanol (bis 2%) zugesetzt worden war. Vasicinon (**2**) und 6-Hydroxypeganin (**3**) liessen sich bei diesen Versuchen nicht nachweisen. Die Fraktionen, die ein Gemisch der Alkaloide **1**, **4**, **5**, **6**, **7** enthielten, wurden vereinigt und durch präparative DC. weiter aufgetrennt (Kieselgel PF₂₅₄ bzw. GF₂₅₄. «alkalische» Platten, 2 mm). Lösungsmittelsystem: Chloroform/Methanol (6/1). Rf-Werte: **1**: 0,36; **4**: 0,67; **5**: 0,79; **6**: 0,95; **7**: 0,95.

Massenspektrum von Peganin (**1**): 188 (*M*⁺, 52), 187 (100), 169 (6), 159 (14), 142 (6), 131 (20).

3. *Isolierung von Vasicolin (4).* Die im UV.-Licht angezeichnete Zone von **4** wurde aus dem Adsorbens mit Chloroform/Methanol (1/1) eluiert und nach schonendem Einengen (Oxydation zu **6**!) zur Abtrennung von Spuren von **5** erneut chromatographiert (Kieselgel PF₂₅₄; 2 mm, Chloroform/Methanol/Eisessig (95/12/6)). Unter Verwendung des gleichen Lösungsmittelsystems hat man anschliessend auf «alkalischen» Platten (Kieselgel GF₂₅₄; 1 mm) chromatographiert. Rf-Werte in diesem System: **4**: 0,23; **5**: 0,33; **6**: 0,92; **7**: 0,92. – Eine andere Variante bestand darin, dass man das Eluat der Alox-Säule (Versuch 2) an einer Kieselgel-H-Säule mit Chloroform/Methanol (6/1) chromatographierte und anschliessend durch DC. im gleichen Lösungsmittelgemisch auftrennte. Zur Reinigung von **4** wurde auch folgendes Lösungsmittelsystem eingesetzt: Heptan/Aceton/Ammoniak (25-proz.) (35/65/0,5); der jeweils erhaltene Rückstand wurde bei 10⁻² Torr

und maximal 160° Badtemperatur sublimiert. Umkristallisation aus Aceton/Heptan. Ausbeute: 12 mg; Smp. 135°. UV.: λ_{max} 212 (4,10), 224 (4,07), 293 (3,81); λ_{min} 222 (4,06), 247 (3,42); Schulter bei 232 (3,94). IR. (CHCl₃): 1621 (>C=N-), 1592, 1572; (KBr): 1652, 1590, 1570, 770, 720. NMR.: 7,3–6,8 (M, 8 H), 4,60 (S, C(7)H₂), 4,50 (T, J = 9 Hz, C(3)H), 3,4–3,1 (M, C(5)H₂), ca. 3,8–2,25 und 2,1–1,6 (je 1 M, C(4)H₂), 2,67 (S, N(CH₃)₂). Massenspektrum: vgl. Fig. 2.

Hochaufgelöste Pike im Massenspektrum:

Ber. (R.D., 10 ⁻⁵) ^a	Summenformel	Gef. R.D., 10 ⁻⁵) ^a
291,1735 (85059)	C ₁₉ H ₂₁ N ₃	85060
276,1501 (59992)	C ₁₈ H ₁₈ N ₃	59965
259,1235 (29843)	C ₁₈ H ₁₅ N ₂	29862
247,1235 (34756)	C ₁₇ H ₁₅ N ₂	34751
185,1079 (34689)	C ₁₂ H ₁₃ N ₂	34719
171,0922 (17779)	C ₁₁ H ₁₁ N ₂	17776
144,0813 (09246)	C ₁₀ H ₁₀ N	09251 ca. 70%
144,0687 (09140)	C ₉ H ₈ N ₂	09150 ca. 30%
130,0657 (92448)	C ₉ H ₈ N	92454 ca. 60%
130,0531 (92345)	C ₈ H ₆ N ₂	92355 ca. 40%
106,0657 (51308)	C ₇ H ₈ N	51297

Lässt man die Lösung von Vasicolin (4) in CHCl₃ oder CH₃OH einige Std. unter Luftzutritt stehen, so entsteht *Vasicolinon* (6) (dünnschichtchromatographischer und massenspektrometrischer Nachweis).

4. *Isolierung von Adhatodin* (5). Ein aliquoter Teil des Eluats der Alox-Säule (Versuch 2) wurde an einer Kieselgel-H-Säule bzw. Kieselgel 0,05–0,2 mm *Merck* mit Chloroform/Methanol (9/1) chromatographiert. Der Nachweis von 5 wurde erleichtert durch die intensiv blaue Fluoreszenz. Die weitere Reinigung erfolgte durch präparative DC. («alkalische» Kieselgel-PF₂₅₄-Platten, Chloroform/Methanol (6/1)). Der im Vakuum zur Trockne gebrachte Rückstand wurde sublimiert (10⁻² Torr/Bad von 160°) und anschließend aus Aceton/Hexan bzw. Chloroform/Heptan-Gemischen umgelöst. Ausbeute: 11 mg; Smp. 183°. UV.: λ_{max} 225 (4,51), 262 (4,03), 300 (3,86), 361 (3,70); λ_{min} 245 (3,70), 275 (3,65), 339 (3,42). IR. (CHCl₃): 3378 (NH), 1678 (COOCH₃, arom.), 1626 (>C=N-), 1608, 1575 (aromat.), 1439 (δ CH in N-CH₃); (KBr): 3385, 1685, 1630, 1598, 1575, 770. Massenspektrum: 335 (M⁺, 100), 334 (78), 302 (11), 277 (14), 276 (14), 248 (10), 247 (11), 246 (12), 218 (9), 171 (28), 150,5 (21), 136,5 (14).

Hochaufgelöste Pike im Massenspektrum:

Ber. (R.D., 10 ⁻⁵) ^a	Summenformel	Gef. R.D., 10 ⁻⁵) ^a
335,1634 (35070)	C ₂₀ H ₂₁ N ₃ O ₃	35089
334,1555 (26643)	C ₂₀ H ₂₀ N ₃ O ₂	26643
302,1293 (76405)	C ₁₉ H ₁₆ N ₃ O	76430
277,1579 (68365)	C ₁₈ H ₁₉ N ₃	68358
276,1501 (59992)	C ₁₈ H ₁₈ N ₃	59996
248,1313 (43176)	C ₁₇ H ₁₆ N ₂	43202
171,0922 (17779)	C ₁₁ H ₁₁ N ₂	17788

Behandlung von 5 mit Acetanhydrid/Pyridin (12 Std./40°) ergab die *Monoacetylverbindung* 8, die folgendes Massenspektrum zeigte: 377 (M⁺, 48), 376 (31), 363 (10), 349 (21), 335 (100), 334 (81), 302 (16), 277 (16), 276 (19), 248 (16), 247 (18), 246 (19), 218 (16), 171 (43).

Eine Probe von 5 in CHCl₃ oder CH₃OH in Gegenwart von Luft ergibt nach einigen Std. *Anisotin* (7) (dünnschichtchromatographischer und massenspektrometrischer Nachweis).

5. *Isolierung von Vasicolinon* (6) und *Anisotin* (7). Das bei der Isolierung von 4 und 5 ständig anfallende Gemisch von 6 und 7 sowie das bei der präparativen DC. (vgl. Versuch 2) abgetrennte Gemisch von 6 und 7 wurde an einer Kieselgel-H-Säule mit Chloroform/Heptan (1/1) chromatographiert. Die Trennung von 6 und 7 erfolgte durch DC. auf PF₂₅₄-(2 mm)-Platten bzw. «alkalischen» GF₂₅₄-(1 mm)-Platten. Als Laufmittel dienten: Heptan/Chloroform/Methanol (7/3/1) (Rf: 6: 0,41; 7: 0,35) oder Cyclohexan/Trichloräthylen/Methanol (7/4/1) (Rf: 6: 0,50; 7: 0,60). Da sich in beiden

^a) Die R.D.-Werte (Relativdistanzen) wurden nach [17] bestimmt.

Lösungsmittelsystemen nur geringe Rf-Wert-Unterschiede ergaben, wurde mehrfach chromatographiert bzw. die Durchlauftechnik angewandt. Anisotin (7) fluoresziert im UV.-Licht blau.

5.1. *Vasicolinon* (6) liess sich bei 10^{-2} Torr/Bad von 160° sublimieren. Anschliessende Kristallisation aus Hexan ergab 21 mg vom Smp. 152° . UV.: λ_{max} 227 (4,33), 268 (3,91), 305 (3,52), 317 (3,42); λ_{min} 250 (3,69), 297 (3,33), 313 (3,30). IR. (CHCl₃): 1664 (Amid), 1618 (>C=N-); (KBr): 1705, 1670, 1620, 785, 765. NMR.: 8,31 (D mit Feinstruktur, $J = 9$ Hz, C(8)H), 7,7–7,05 (M, 7 arom. H), 5,04 (T, $J = 9$ Hz, C(3)H), 4,55–4,0 (M, C(5)H₂), 2,9–1,9 (M, C(4)H₂). Massenspektrum: vgl. Fig. 1.

Hochaufgelöste Pike im Massenspektrum:

Ber. (R.D., 10^{-5}) ⁸⁾	Summenformel	Gef. R.D., 10^{-5} ⁸⁾
305,1528 (01231)	C ₁₉ H ₁₉ N ₃ O	01234
290,1293 (76412)	C ₁₈ H ₁₆ N ₃ O	76418
273,1028 (34583)	C ₁₈ H ₁₃ N ₂ O	34604
261,1028 (44033)	C ₁₇ H ₁₃ N ₂ O	44031
185,1079 (34689)	C ₁₂ H ₁₃ N ₂	34700 ca. 5%
185,0715 (34384)	C ₁₁ H ₉ N ₂ O	34392 ca. 95%
158,0966 (44639)	C ₁₁ H ₁₂ N	44630
144,0813 (09246)	C ₁₀ H ₁₀ N	09254

5.2. *Anisotin* (7). Der nach wiederholter DC.-Trennung erhaltene Rückstand ergab, aus Aceton/Heptan (Kühlung) umkristallisiert 19 mg Substanz vom Smp. 186° , deren IR., UV.- und Massenspektren identisch mit denjenigen von Anisotin [10] sind; auch dünnschichtchromatographisch verhalten sich beide Präparate gleich.

Hochaufgelöste Pike im Massenspektrum:

Ber. (R.D., 10^{-5}) ⁸⁾	Summenformel	Gef. R.D., 10^{-5} ⁸⁾
349,1426 (51576)	C ₂₀ H ₁₉ N ₃ O ₃	51602
316,1086 (79672)	C ₁₉ H ₁₄ N ₃ O ₂	79674
290,1293 (76412)	C ₁₈ H ₁₆ N ₃ O	76432
262,1106 (51238)	C ₁₇ H ₁₄ N ₂ O	51240
185,0715 (34384)	C ₁₁ H ₉ N ₂ O	34386

Behandlung von Anisotin (7) mit Acetanhydrid/Pyridin (12 Std./ 40°) ergab eine *Monoacetylverbindung*, die folgendes Massenspektrum zeigte: 391 (M^+ , 14), 349 (100), 316 (27), 290 (11), 288 (11), 262 (13), 185 (28).

LITERATURVERZEICHNIS

- [1] M. Pinar, M. Hanaoka, M. Hesse & H. Schmid, *Helv.* 54, 15 (1971).
- [2] D. Hooper, *Pharmac. J.* 78, 841 (1888).
- [3] E. Späth, *Mh. Chem.* 72, 115 (1939).
- [4] A. H. Amin & D. R. Mehta, *Nature* 194, 1317 (1959).
- [5] E. Späth & F. Keszler-Gandini, *Mh. Chem.* 91, 1150 (1960).
- [6] T. R. Rajagopalan, S. Bhattacharji & M. L. Dhar, *Proceedings, Symposium on Drugs and Antibiotics (Defence Research Laboratory, Kanpur) 1963*, 121.
- [7] A. K. Bhatnagar, S. Bhattacharji & S. P. Popli, *Indian J. Chemistry* 3, 524 (1965).
- [8] M. Ikram, M. E. Hug, S. A. Warsi & V.-U. Ahmad, *Pakistan J. sci. ind. Res.* 8, 76 (1965).
- [9] S. Johnne & D. Gröger, *Pharmazie* 25, 22 (1970).
- [10] R. R. Arndt, S. H. Eggers & A. Jordaan, *Tetrahedron* 23, 3521 (1967).
- [11] E. Späth & E. Nikowitz, *Ber. deutsch. chem. Ges.* 67, 45 (1934).
- [12] T. P. Ghose, *Quart. J. Indian chem. Soc.* 4, 1 (1927); E. Späth, F. Kuffner & N. Platzer, *Ber. deutsch. chem. Ges.* 68, 497 (1935).
- [13] R. C. Morris, W. E. Hanford & R. Adams, *J. Amer. chem. Soc.* 57, 951 (1935).
- [14] H. J. Veith, A. Guggisberg & M. Hesse, *Helv.* 54, 653 (1971).
- [15] S. Johnne & D. Gröger, *Abh. dtsh. Akad. Wiss. Berlin, Akademie-Verlag, Berlin (im Druck)*.
- [16] R. Munier, *Bull. Soc. chim. biol.* 35, 1225 (1953).
- [17] W. Oberhänsli & W. Richter, «Distanz – Masse – Komposition», F. Hoffmann-La Roche & Co., AG, Eigenverlag, Basel 1967.