

**Fluorodaturatin und Homofluorodaturatin — zwei neue
 β -Carbolinderivate in Samen von
Datura stramonium L. var. *stramonium*****

**Ingeborg Maier^a, Johann Jurenitsch^a, Franz Heresch^b,
Ernst Haslinger^c, Gerhard Schulz^d, Maximilian Pöhm^a
und Kurt Jentzsch^a**

^a * Institut für Pharmakognosie, Universität Wien, A-1090 Wien, Österreich

^b Institut für Analytische Chemie, Universität Wien, A-1090 Wien, Österreich

^c Institut für Organische Chemie, Universität Wien, A-1090 Wien, Österreich

^d Sandoz Forschungsinstitut, A-1235 Wien, Österreich

(Eingegangen 14. April 1981. Angenommen 22. April 1981)

*Fluorodaturatin und Homofluorodaturatin — two new β -Carboline Derivatives in
Seeds of *Datura Stramonium* L. var. *Stramonium**

In the transverse section of the seeds of *Datura stramonium* L. var. *stramonium* a conspicuous sea-green fluorescence under UV-light (365 nm) can be observed. Thinlayer chromatography of a methanolic extract shows many blue and sea-green fluorescing substances, the main component being a polar, sea-green fluorescing compound. This substance is characteristic for all of the four varieties of *Datura stramonium* L., and therefore of taxonomic interest. Isolation was tried by means of different chromatographic techniques. Combination of column chromatography and preparative thinlayer chromatography allowed the isolation of the main product, which was shown to consist of two substances (*GF* and *GFa*). Application of chemical and spectroscopic methods established the structure of *GF*, named Fluorodaturatin, as 2,3,5,6-Tetrahydro-9-hydroxy-1*H*-pyrido-[1,2,3-*l*, *m*]- β -carboline-3-one. The second substance *GFa*, called Homofluorodaturatin, was identified as analogue of *GF* and the structure could be determined as 1,2,3,4,6,7-Hexahydro-10-hydroxy-azepino-[1,2,3-*l*, *m*]- β -carboline-4-one.

[*Keywords:* β -Carbolinederivatives; *Datura stramonium* L. var. *stramonium*; 1,2,3,4,6,7-Hexahydro-10-hydroxy-azepino-[1,2,3-*l*, *m*]- β -carboline-4-one (Homofluorodaturatin); 2,3,5,6-Tetrahydro-9-hydroxy-1*H*-pyrido-[1,2,3-*l*, *m*]- β -carboline-3-one (Fluorodaturatin)]

** Teil der Dissertation *I. Maier*, Universität Wien, 1981; Auszugsweise vorgetragen bei der 2. Wissenschaftlichen Tagung der Österreichischen Pharmazeutischen Gesellschaft, 17. bis 19. Mai 1981, Graz.

Einleitung

Die Blätter von *Datura stramonium* L. (Solanaceae) sind wegen ihres Gehaltes an Tropanalkaloiden¹ auch heute noch in den meisten Pharmakopöen officinell; die Samen hingegen dienen hauptsächlich der Gewinnung dieser pharmazeutisch wichtigen Alkaloide und finden daneben auch Anwendung in der Homöopathie.

Den Samen der vier Varietäten von *Datura stramonium* L. ist die bei Bestrahlung mit UV-Licht (365 nm) am Querschnitt zu beobachtende intensiv gelbgrüne Fluoreszenz gemeinsam, welche im übrigen bei anderen *Datura*-Arten schwächer und eher türkisblau erscheint². Im Gegensatz zu den Alkaloiden findet die Fluoreszenz in der Literatur wenig Beachtung, obwohl sie schon sehr früh beschrieben³ und auch als diagnostisches Merkmal empfohlen wurde^{4,5}. *Kučera*⁶ gelang durch Chromatographie des wäßrigen Auszuges an Aluminiumoxid die Trennung in eine blau und in eine grün fluoreszierende Zone; in einer späteren Arbeit wird als Ursache der strahlenden Fluoreszenz eine gelbgrün fluoreszierende Substanz ("GF") beschrieben, die neben zahlreichen anderen blau und gelbgrün fluoreszierenden Verbindungen bei der chromatographischen Prüfung der methanolischen Auszüge stets besonders hervortrat². Da andere Versuche zur Identifizierung dieser fluoreszierenden Komponenten nur wenige Anhaltspunkte bzw. auch widersprüchliche Ergebnisse lieferten^{2,7}, wurde versucht, die gelbgrün fluoreszierende Hauptkomponente aus *Semen Stramonii* mit Hilfe spektroskopischer Verfahren aufzuklären.

Ergebnisse und Diskussion

Die Extraktion der entfetteten Samen von *Datura stramonium* var. *stramonium* erfolgte mit Methanol-Wasser (3 + 1, V/V). Durch die Kombination von Säulenchromatographie an Cellulose-Polyamid und Trockensäulenchromatographie an Silicagel gelang die Abtrennung des hohen Anteiles an Begleitstoffen, wobei die Trennleistung der Trockensäulen durch Vorbelegung der stationären Phase mit dem jeweils verwendeten Fließmittel noch soweit erhöht werden konnte, daß sich die früher als einheitlich betrachtete fluoreszierende Hauptkomponente in zwei Substanzen (GF und GFa) auftrennen ließ; diese lagen in einem Verhältnis von etwa 20:1 vor. Nach Filtration über Sephadex LH 20 konnte schließlich kristallisiertes GF gewonnen werden. Die Reindarstellung der in geringer Menge vorliegenden Substanz GFa wurde durch präparative Dünnschichtchromatographie ermöglicht.

In Methanol war die kristallisierte Substanz GF wenig, in Säuren, Laugen bzw. Ammoniak jedoch sehr gut löslich. Die positive Reaktion mit *Gibbs*-Reagens wies auf ein Phenol mit freier *ortho*- und/oder *para*-

Stellung^{8,9}, die Entfärbung von neutraler Kaliumpermanganatlösung auf eine leicht oxidierbare Verbindung hin. Bei den Versuchen die Verbindung zu derivatisieren (Acetylierung, Methylierung) entstanden jeweils mehrere Produkte von geringer Stabilität. Die Reduktion mit Natriumborhydrid in Methanol lieferte eine ungefärbte, nicht fluoreszierende Verbindung, die bereits durch Einwirken von Luftsauerstoff binnen kurzem zur Ausgangsverbindung oxidiert wurde. *GFa* gab die gleichen Farbreaktionen wie *GF* und war ebenso leicht zu oxidieren und zu reduzieren.

Die in Abb. 1 wiedergegebenen Strukturen für Fluorodaturatin = 2,3,5,6-Tetrahydro-9-hydroxy-1*H*-pyrido[1,2,3-*l*, *m*]- β -carbolin-3-on und Homofluorodaturatin = 1,2,3,4,6,7-Hexahydro-10-hydroxy-azepino-[1,2,3-*l*, *m*]- β -carbolin-4-on konnten auf Grund der Interpretation spektroskopischer Daten erstellt werden.

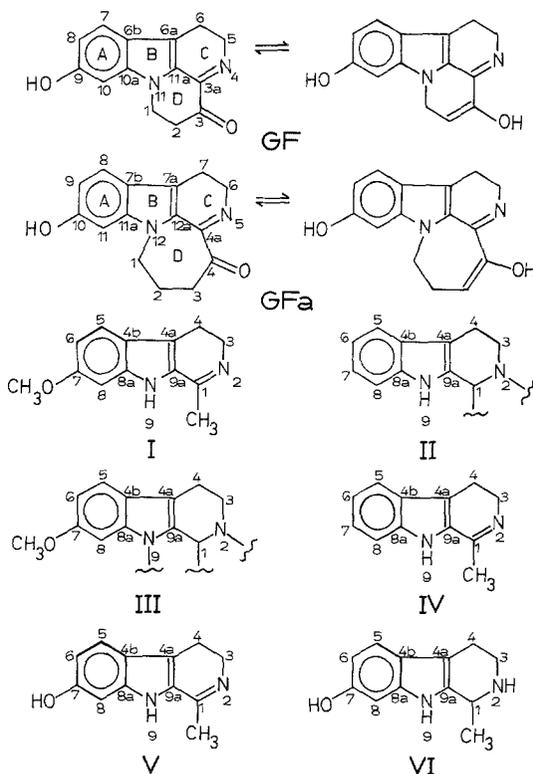


Abb. 1. Struktur von Fluorodaturatin (*GF*), Homofluorodaturatin (*GFa*) und den zum Vergleich herangezogenen Verbindungen Harmalin (**I**), Geissoschizin (**II**), Vincarodin (**III**), 1-Methyl-3,4-dihydro- β -carbolin (**IV**), Harmalol (**V**) und Tetrahydroharmol (**VI**)

Molekulargewicht und Elementarzusammensetzung der Verbindungen *GF* und *GFa* konnten auf massenspektrometrischem Weg eindeutig ermittelt werden. Neben dem 70 eV-Elektronenstoßspektrum (Abb. 2) wiesen vor allem die Aufnahmen bei niedriger Elektronenenergie (10 eV) und mit Felddesorption die Ionen bei m/z 240 bzw. 254 als Molekülionen aus. Durch Präzisionsmassenbestimmung wurde für sie die Summenformel $C_{14}H_{12}N_2O_2$ (theor. 240.0899, exp. 240.0892) bzw. $C_{15}H_{14}N_2O_2$ (theor. 254.1055, exp. 254.1048) gefunden.

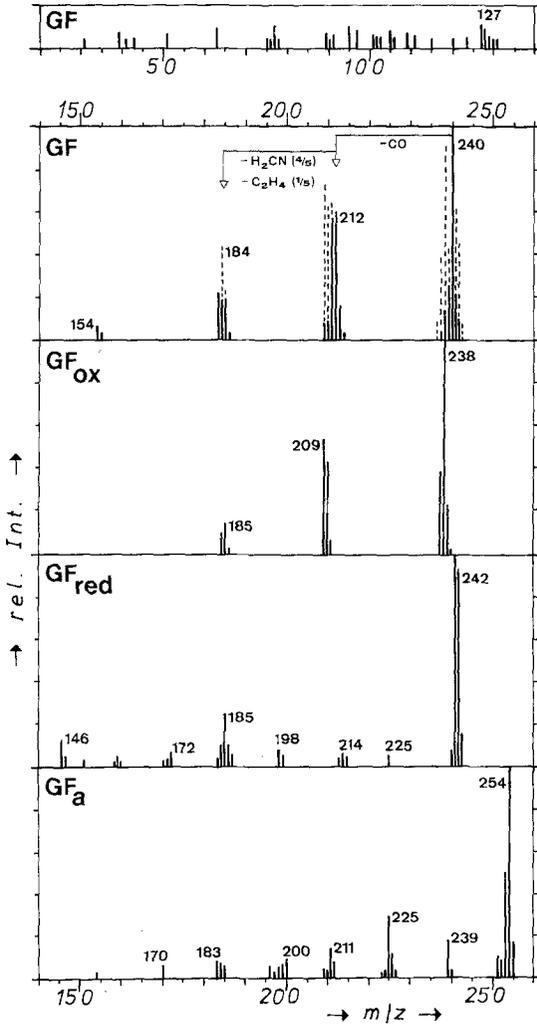


Abb. 2. 70 eV-Massenspektrum von *GF* und Teilspektren ($m/z \geq 140$) von *GF oxid.*, *GF red.* und *GFa*; — Intensität bei 180 °C Proben temperatur; — — — Intensität bei 220 °C Proben temperatur

Erhöhte Emittertemperatur führte im Falle von *GF*, nicht jedoch bei *GFa*, irreversibel zu thermischer Zersetzung (Disproportionierung) und zum Auftreten der oxidierten (*GF ox.*) und der reduzierten Form (*GF red.*) dieser Verbindung. Die entsprechenden Molekülionen (bei m/z 238 und 242) erschienen im 10 eV- und Felddesorptions-Spektrum mit etwa gleicher Intensität, wobei diese gegenüber dem unzersetzten *GF* (m/z 240) temperaturabhängig variierte. Bei größerer Elektronenenergie (70 eV) kam es dann, wie in Abb. 2 gezeigt, infolge unterschiedlichen Fragmentierungsverhaltens zu Linienclustern im Molekül- und Fragmentationsbereich.

Das auf Hochauflösungsdaten basierende Fragmentierungsschema von *GF* (Abb. 2) entspricht der kompakten, d. h. substituentenfreien Struktur dieser Verbindung und steht in voller Übereinstimmung mit dem Zerfallsbild vergleichbarer Alkaloide. Wie allgemein¹⁰ angenommen und am Beispiel des Indolo-[2,3-a]-chinolizidin eingehend untersucht¹¹, kommt es bei Alkaloiden mit Tetrahydro- β -carbolin-Gerüst bevorzugt zur H-Abgabe vom quartären Brücken-Kohlenstoff des Ringes C. Im Falle von *GF* erklärte sich das schwache M-1-Signal daher aus der Doppelbindung an C-3 a. Eine deutlich größere H-Eliminierungstendenz bei *GF red.* (Abb. 2) wies in Übereinstimmung damit auf die Hydrierung dieser Position hin. Die CO-Abspaltung konnte, da von der phenolischen Hydroxylgruppe (wie im Falle des Sarpagin¹²) kein nennenswerter Beitrag zu erwarten war, ausschließlich auf die durch die α -ständige —C=N -Funktion aktivierte Ketogruppe zurückgeführt werden. Dieses Strukturelement findet sich auch bei Tuboflavin-Alkaloiden¹³, doch liegen hier infolge der Alkylseitenketten und des aromatischen Charakters dieser Verbindungen andere Voraussetzungen für den Abbau des Ringes D vor. Im Falle von *GF red.* unterblieb die CO-Abspaltung fast ganz, was auf die geänderte Nachbarschaft der Ketogruppe und ihre — wie das Auftreten eines *M*-OH-Fragmentes (m/z 225) bewies — stärkere Tendenz zur Enolisierung zurückzuführen war. Für das entstandene Fragment m/z 212 von *GF* konnte, analog der für das Fragment m/z 192 von Tuboflavin angenommenen¹³, die in Abb. 3 gezeigte Struktur vorgeschlagen werden.

Wie am Beispiel verschiedener Eburnamin-Alkaloide gezeigt^{10,14,15}, neigen Tetrahydro- β -carbolin-Alkaloide, deren Indol-Stickstoff an einem weiteren Ring beteiligt ist, über eine retro-*Diels-Alder*-Umlagerung zum Abbau des Ringes C. Dieser Fragmentierung entsprach die (H + HCN)-Abspaltung von *GF*, deren Ablauf in Abb. 3 angedeutet ist. Daneben kam es in geringerem Ausmaß auch zur Eliminierung der Ethylenbrücke aus Ring D und damit zur Bildung eines für das substituierte Tetra- bzw. Dihydro- β -carbolin-Gerüst spezifischen^{12,16} Bruchstückes (m/z 184 = 168 + 16). Es sei hier darauf hingewiesen, daß auf Grund der beiden Schlüsselfragmente bei m/z 184 ($\text{C}_{12}\text{H}_{10}\text{NO}$ und

$C_{11}H_8N_2O$) bereits ein wichtiger Hinweis auf die Struktur von *GF* vorlag.

Die durch 1H -NMR-Daten (s. u.) belegte Erweiterung des Ringes D bewirkte ein verändertes massenspektrometrisches Verhalten der Analogverbindung *GFa* (Abb. 2). Wie ein Intensitätsvergleich mit dem

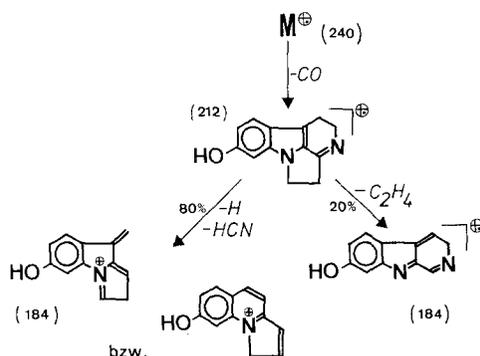


Abb. 3. Hauptzerfallswege im Massenspektrum von *GF*

Spektrum von *GF* zeigte, gewann das Molekül, vermutlich infolge verminderter Spannung in Ring D, an Stabilität. Außerdem war der größere Ring D nunmehr zu einem zusätzlichen Abbauweg, der CH_3 -Abspaltung, befähigt, wie sie auch bei cyclischen Ketonen je nach Ringgröße in vergleichbarem Ausmaß beobachtet wurde^{17,18}. Obwohl ohne Hochauflösungsdaten und Markierungsexperimenten keine genauen Angaben möglich waren, ließen sich auf dieser Basis zwei parallel verlaufende, *GF*-ähnliche Abbauwege von M^+ (m/z 254 \rightarrow 225/6 \rightarrow 198...200) und von $[M^+-15]$ (m/z 239 \rightarrow 211/2 \rightarrow 183...185) erkennen. Als stabile Endprodukte der beiden Zerfallsreihen traten neben den bereits diskutierten Fragmenten um m/z 184 nunmehr auch die CH_2 -Analoge (um m/z 198) auf. Für ihre Struktur konnte, je nach Ionentyp (s. o.) ein 6gliedriger Ring D bzw. ein methylen-substituierter Indolstickstoff angenommen werden.

Wegen des Löslichkeitsverhaltens von *GF* wurden die 1H -NMR- und ^{13}C -NMR-Messungen in deuteriertem Ammoniak durchgeführt. Ein zu Vergleichszwecken in CD_3OD aufgenommenes 1H -NMR-Spektrum ergab nur geringfügige Lösungsmiteleinflüsse, jedoch waren die Signale des in ND_3 aufgenommenen Spektrums besser aufgelöst, weshalb dieses zur Interpretation herangezogen wurde (Abb. 4). Es zeigte im Bereich von 7 ppm Signale, die einem *meta*-trisubstituierten Benzol-

kern zugeordnet werden mußten (7,27 ppm, d, 8 Hz; 6,58 ppm, d, d, 8 Hz, 2 Hz; 6,44 ppm, d, 2 Hz). Berücksichtigte man die positive *Gibbs*-Reaktion so waren prinzipiell drei Substitutionsmuster möglich (Abb. 5).

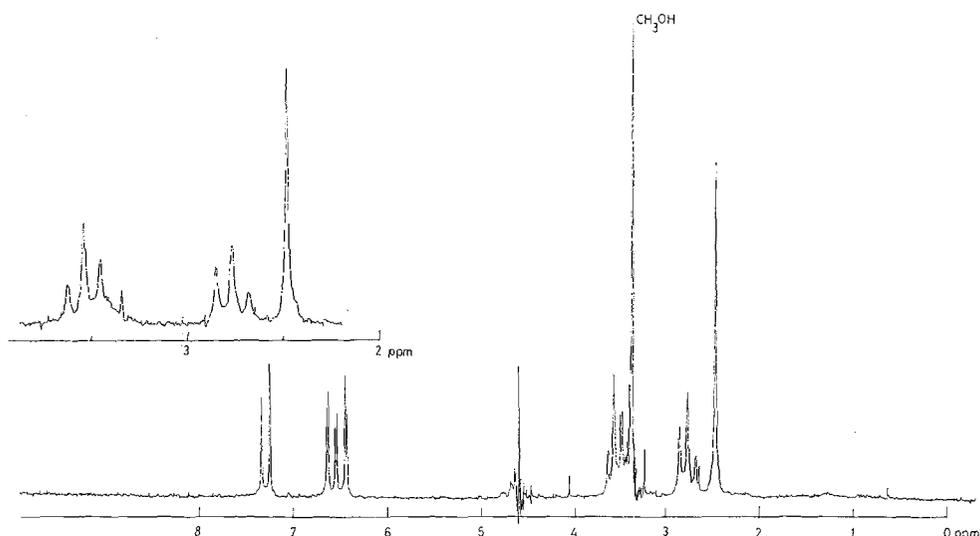


Abb. 4. ^1H -NMR-Spektrum von *GF* (100 MHz); Lösungsmittel: ND_3 (20% in D_2O); Bezugssubstanz: CH_3OH ; Gerät: Varian XL 100

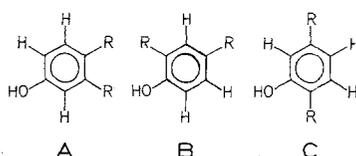


Abb. 5. Mögliche Substitutionsmuster des phenolischen Teiles von *GF*

Die Formeln B und C waren jedoch unwahrscheinlich, da die aus der Bruttoformel resultierenden zehn Doppelbindungsäquivalente auf ein anelliertes Ringsystem schließen ließen. Weiters traten bei 2,77 ppm und 3,54 ppm ($J \sim 10$ Hz) zwei miteinander koppelnde Triplets auf, die auf eine Ethylengruppe hinwiesen; eine CH_2 -Funktion (C-6) mußte einem aromatischen System benachbart sein, während die starke Verschiebung der anderen (C-5) auf die Nachbarschaft eines Stickstoffes mit einem zusätzlichen, starken elektronegativen Einfluß zu-

rückzuführen war. Die Protonen an C-1 traten bei 2,47 ppm als Singulett auf, da die benachbarte Methylengruppe (C-2) durch die Keto—Enol-Tautomerie acide Wasserstoffe trägt, die im verwendeten Lösungsmittel gegen Deuterium ausgetauscht wurden¹⁹. Den entsprechenden Beweis lieferte ein in Pyridin-*d*₅ — in dem *GF* geringfügig löslich war — aufgenommenes Protonenresonanzspektrum (Abb. 6). An

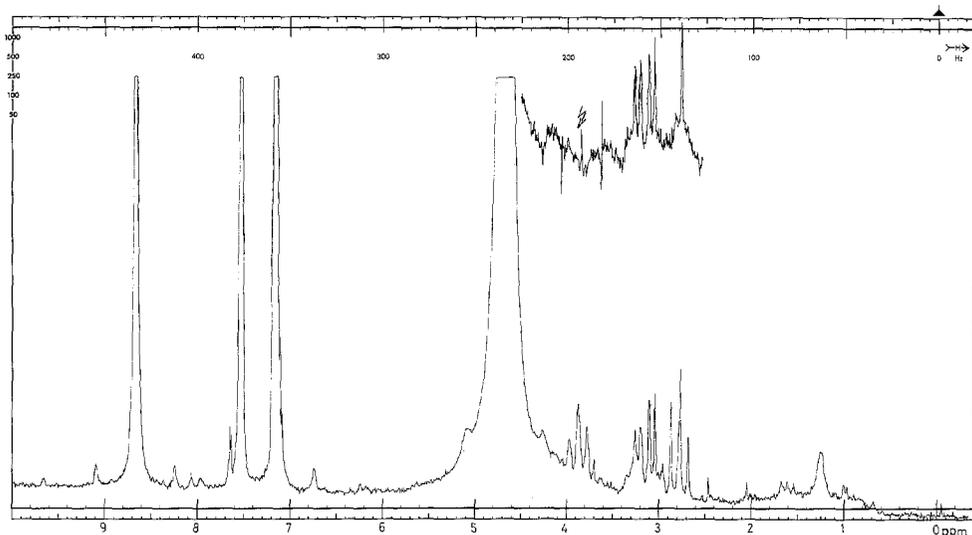


Abb. 6. ¹H-NMR-Spektrum von *GF* (90 MHz); Lösungsmittel: Pyridin-*d*₅; Bezugssubstanz: *TMS*; Gerät: Bruker WH 90

Stelle des Singulett trat in diesem Spektrum ein AA'BB'-System (3,1 ppm und 3,25 ppm); die Bestimmung der Kopplungspartner erfolgte durch eine Spin-Entkopplung mittels Doppelresonanz. Das damit bewiesene Vorliegen einer Keto—Enol-Tautomerie schloß eine Verknüpfung der CO-Funktion mit dem Indol-Stickstoff aus, da Laktame, wie die Beispiele Strychnin und Brucin bestätigen²⁰, im allgemeinen keine Tendenz zur Enolisierung zeigen. Die aus dem in Pyridin-*d*₅ aufgenommenen ¹H-NMR-Spektrum von *GF* hervorgehenden chemischen Verschiebungen der Protonen an C-5 und C-6 (3,95 ppm bzw. 2,8 ppm) stimmten gut mit den entsprechenden Daten (3,88 ppm bzw. 2,78 ppm) von Harmalin (**I**)²¹ überein und manifestierten damit eine 3,4-Dihydro-β-carbolin-Grundstruktur.

Das ebenfalls in ND₃ aufgenommene ¹H-NMR-Spektrum der Substanz *GFa* bestätigte, daß diese Verbindung ein Analogon von *GF*

darstellt (Abb. 7). Es zeigte identische Signale für die im 3,4-Dihydro- β -carbolinsystem vorliegenden Protonen und anstatt des bei *GF* auftretenden Singulets bei 2,47 ppm zwei miteinander koppelnde Triplets (1,82 ppm und 2,26 ppm; $J = 8$ Hz), woraus folgte, daß an Stelle der am Indolstickstoff von *GF* befindlichen Ethylengruppe bei *GFa* eine Propylengruppierung vorlag; infolge eines Deuteriumaustausches gaben die an der Keto—Enol-Tautomerie beteiligten Protonen an C-3 keine Signale. Aus dem entsprechenden in Pyridin- d_5 aufgenommenen

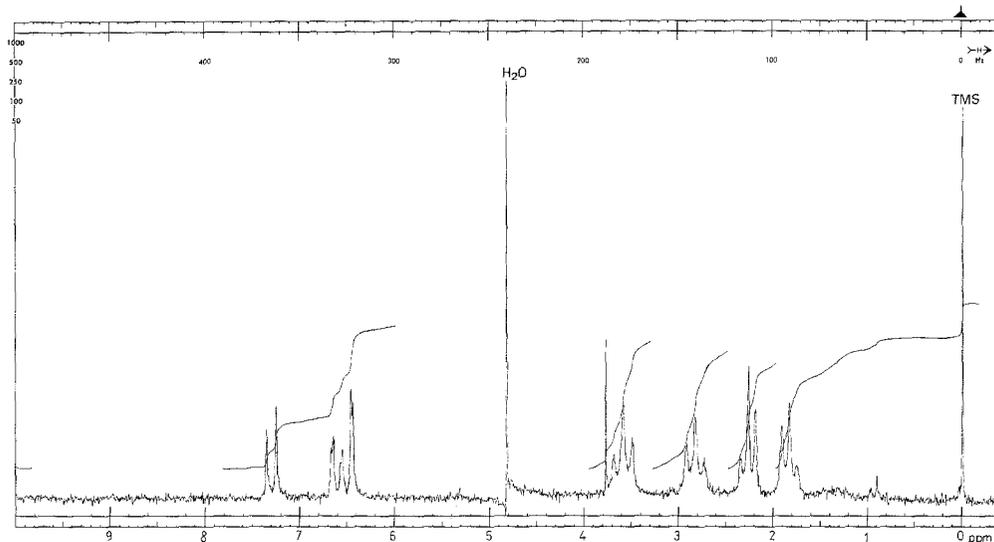


Abb. 7. ^1H -NMR-Spektrum von *GFa*; Lösungsmittel: ND_3 (20% in D_2O); Bezugssubstanz: *TMS*; Gerät: Bruker WH 90

^1H -NMR-Spektrum von *GFa* war trotz schlechter Auflösung zu entnehmen, daß zusätzliche Signale von Protonen auftraten, welche die Multiplizität der bereits beschriebenen noch erhöhten.

Für die ^{13}C -NMR-Spektroskopie stand nur von *GF* genügend Substanz zur Verfügung und als Lösungsmittel mußte, wie schon erwähnt, Ammoniak verwendet werden (Abb. 8). Auf Grund der Präzisionsmassenbestimmung waren die Signale von 14 C-Atomen zu erwarten, die Messung ergab jedoch nur dreizehn deutliche Signale und einen breiten Peak von geringer Intensität, der auf ein C-Atom, dessen Protonen gegen Deuterium austauschbar sind, hinwies; dies traf für das der Ketofunktion benachbarte C-2 zu. Das Spektrum zeigte außerdem für drei weitere Methylengruppen Signale, deren chemische Verschie-

bungen für die aus den $^1\text{H-NMR}$ -Spektren abgeleiteten Strukturelemente sprachen.

Das Signal bei 35,50 ppm (C-1) lag für eine $\text{CH}_2\text{-N}$ -Gruppe bei relativ hohem Feld, lieferte aber indirekt eine weitere Bestätigung für die Struktur von *GF*, da für die am Stickstoff methylierten Indolderivate ähnliche chemische Verschiebungen für das entsprechende C-Atom beschrieben werden²². Von den zu tieferem Feld verschobenen Signalen waren die drei Dubletts bei 123,23, 120,37 und 97,73 ppm den nicht substituierten C-Atomen des Benzolkernes

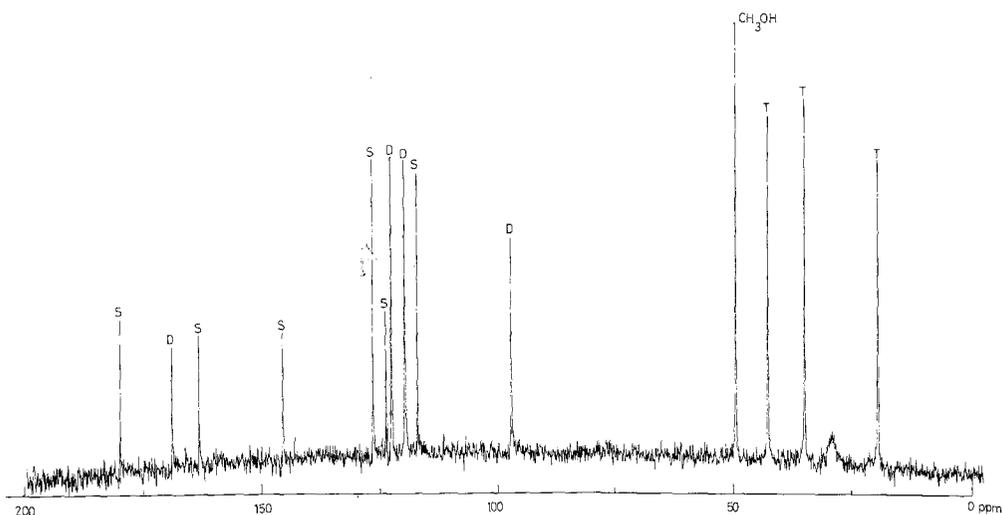


Abb. 8. $^{13}\text{C-NMR}$ -Spektrum von *GF*; Lösungsmittel: $\text{NH}_3/\text{D}_2\text{O}$; Bezugs-substanz; CH_3OH ; Gerät: Varian XL 100; *S* Singulett, *D* Dublett, *T* Triplett

zuzuordnen. Das Signal bei 169,72 ppm zeigte im Protonen-off-resonance-entkoppelten Spektrum eine geringe dublettische Aufspaltung und wies auf eine transoide Kopplung zu einem Proton in einem aromatischen Ring hin; damit entsprach es der Verknüpfungsstelle mit der phenolischen Hydroxylgruppe. Weiters waren vier Singulett bei 146,27, 127,16, 124,42 und 117,67 ppm festzustellen, welche substituierte aromatische C-Atome anzeigten, wobei vor allem die chemische Verschiebung der bei 146,27 und 127,16 ppm liegenden Signale auf den Einfluß des Indol-Stickstoffes zurückzuführen war. Das Singulett bei 163,93 ppm stammte von C-3 a, während das Signal bei 180,62 ppm das Vorliegen einer Ketofunktion bestätigte. Ein Vergleich mit den Daten bereits bekannter Stoffe ergab, daß das bei relativ hohem Feld erscheinende Signal bei 97,73 ppm und die chemischen Verschiebungen der übrigen aromatischen C-Atome nur mit einem Indolgerüst zu erklären waren (Tab. 1). So ergibt C_8 im Geissoschizin (**II**)²³ die geringste chemische Verschiebung im aromatischen Bereich, was nur mit einem Einfluß des in der Nähe stehenden Indolstickstoffes erklärt werden kann. Ist der Ring an C_7 durch eine Methoxylgruppe substituiert (Vincarodin = **III**)²⁴, so verschiebt sich das Signal für C_8 zu noch höherem Feld (96,2 ppm). Im Molekül von *GF* liegt am

äquivalenten C-Atom eine phenolische Hydroxylgruppe vor, welche auf die zur Verknüpfungsstelle *ortho*-ständigen C-Atome einen ähnlich starken Einfluß besitzt²⁵; bei Berücksichtigung dieser Hydroxylfunktion stimmen auch die Daten der restlichen aromatischen C-Atome gut mit denen von *GF* überein, was sich zusätzlich durch die Aufnahme eines ¹³C-NMR-Spektrums von Harmalol (V; Tab. 1) bestätigen ließ. Die Daten der im Ring C befindlichen C-Atome sprachen für das Vorliegen einer 3,4-Dihydro- β -carbolinstruktur.

Tabelle 1. *Chemische Verschiebungen der C-Atome der Alkaloide Geissoschizinin (II)²³, Vincarodin (III)²⁴ und Harmalol (V) im Vergleich mit denen von GF*

C-Atom Nr.		δ -Werte (in ppm, relativ zu TMS)			
II, III	<i>GF</i>	II	III ^a	V ^b	<i>GF</i> ^c
V					
1	3 a	53,6	56,5	161,2	163,9
3	5	50,5	50,1	47,5	43,2
4	6	20,4	18,4	19,7	20,0
4 a	6 a	108,1	110,9	117,5	117,7
4 b	6 b	126,4	125,3	123,3	124,4
5	7	118,2	118,6	121,3	123,2
6	8	119,6	109,6	116,5	120,4
7	9	121,9	156,3	167,2	169,7
8	10	110,9	96,2	99,0	97,8
8 a	10 a	136,5	137,8	142,1	146,3
9 a	11 a	132,8	133,2	127,6	127,2

^a Lösungsmittel = Bezugssubstanz = CHCl₃.

^b Lösungsmittel = NaOH; Bezugssubstanz = Dioxan.

^c Lösungsmittel = NH₃/D₂O; Bezugssubstanz = CH₃OH.

Die Elektronenanregungsspektren im UV/VIS-Bereich wiesen ebenso wie die Ergebnisse der anderen spektroskopischen Untersuchungen auf ein Indolgerüst mit einem anellierten stickstoffhaltigen Ring hin²⁶; in Tab. 2 sind die Banden von *GF* denen von 1-Methyl-3,4-dihydro- β -carbolin (IV) und von Harmalol (V) gegenübergestellt. Die für *GF* charakteristische Absorptionskurve ist demnach nur möglich, wenn zusätzlich zum Indolgrundkörper die Konjugation zu einem doppelt gebundenen Stickstoff vorhanden ist; diese C=N-Gruppe wurde bereits auf Grund der Lage von zwei Protonen bei 3,54 ppm im ¹H-NMR-Spektrum angenommen. Eine weitere Bestätigung dieser Grundstruktur lieferte die Absorptionskurve der Substanz „*GF-red*“. Offensichtlich wurde durch die Reduktion mit Natriumborhydrid die Konjugation des Chromophores unterbrochen und die erhaltene Verbindung

zeigte nun das UV-Spektrum eines 1,2,3,4-Tetrahydro- β -carbolin-derivates²⁶; die Banden von *GF red.* sind denen von Tetrahydroharmol (VI)²⁷ in Tab. 2 gegenübergestellt. Weiters war zu untersuchen, inwieweit sich die durch Zusatz eines alkalischen Lösungsmittels hervorgerufene Farbvertiefung der an sich gelben Lösung von *GF* in der Absorptionskurve manifestiert; es wurden daher die Messungen auch in Ammoniak und Natronlauge vorgenommen.

Tabelle 2. Die Absorptionsmaxima von *GF* und *GF red.* im Vergleich zu den Banden von 1-Methyl-3,4-dihydro- β -carbolin (IV)²⁶, Harmalol (V) und Tetrahydroharmol (VI)²⁷; gemessen in Methanol

Verbindung	Bande I nm (ϵ mol)	Bande II nm (ϵ mol)	Bande III nm (ϵ mol)
<i>GF</i>	217 (22 200)	261 (6 780)	387 (20 700)
IV	218 (18 760)	260 (7 980)	376 (10 500)
V	216 (16 000)	262 (6 400)	383 (11 100)
<i>GF red.</i>	226 (35 800)	270 (5 800)	299 (6 800)
VI	229 (37 100)	270 (5 900)	299 (7 100)

Der Zusatz von Ammoniak zu einer Lösung von *GF* bewirkte ein zusätzliches Maximum bei 455 nm bei gleichzeitiger hypsochromer Verschiebung der Bande bei 387 nm nach 368 nm. Außerdem wurde die Bande bei 261 nm etwas ins rote Feld verschoben. Der Extinktionskoeffizient des zusätzlichen Maximums bei 455 nm war stark abhängig vom *pH*-Wert; er war am größten in 1 *n*-NH₃ und nahm im stärker alkalischen Bereich wieder ab. Aus diesem Grund zeigten auch die in Natronlauge gemessenen Spektren das zusätzliche Maximum am deutlichsten in 0,0025 *n*-NaOH, während mit zunehmender Stärke der Lauge diese Bande nur sehr schwach bis gar nicht zu sehen war. Die Vergleichssubstanz V und deren Reduktionsprodukt zeigten bei analogen Messungen das gleiche Verhalten. Die λ_{\max} -Werte von *Gfa* waren nahezu identisch mit jenen von *GF*, auch die Kurven der Messungen in Ammoniak und Lauge zeigten die analogen Verschiebungen und ihre zusätzlichen Maxima.

Die auf Grund der spektroskopischen Daten für *GF* (Fluorodaturatin) und *Gfa* (Homofluorodaturatin) erstellten Strukturen (Abb. 1) erklären auch die gelbe Eigenfarbe der Substanzen und deren intensiv gelbgrüne Fluoreszenz im UV-Licht (365 nm), die allgemein für 3,4-Dihydro- β -carbolinderivate beschrieben werden. Verbindungen mit einem 1,2,3,4-Tetrahydro- β -carbolingerüst zeigen diese Eigenschaft erst nach Einwirken von Luftsauerstoff, für Substanzen mit einem vollaromatischen β -Carbolinkern hingegen ist eine violette Fluoreszenz charakteristisch^{28, 29}.

Dank

Das Varian XL 100 und das MS 902-Gerät wurden vom Fonds zur Förderung der wissenschaftlichen Forschung in Österreich bereitgestellt (Projekte 3574 und 2522). Das Spektralphotometer Hitachi 200 wurde mit Hilfe von Sondermitteln des Bundesministeriums für Wissenschaft und Forschung angeschafft.

Für die Aufnahme der Felddesorptionsspektren sowie für wertvolle Anregungen danken wir Herrn Dr. *W. J. Richter*, Ciba-Geigy AG, Basel, Schweiz.

Experimenteller Teil

Extraktion: 2330 g grob gepulverte Samen von *Datura stramonium* L. var. *stramonium*, welche von im Arzneipflanzengarten des Institutes für Pharmakognosie der Universität Wien kultivierten Pflanzen stammten, wurden zur Entfernung der lipophilen Stoffe zunächst mit 131 Petrolether perkoliert. Die Extraktion der fluoreszierenden Verbindungen aus den entfetteten Samen erfolgte sodann durch erschöpfende Perkolation mit insgesamt 20 l Methanol-Wasser (3 + 1, V/V). Das Gewicht des Eindampfrückstandes betrug 190 g.

Vorreinigung: Das tiefbraun gefärbte, zähflüssige Trockenextrakt wurde auf Cellulosepulver Schleicher & Schüll Nr. 123 (3 + 1, G/G) aufgezogen und nochmals mit *n*-Hexan extrahiert, um eine weitgehende Entfernung von unpolaren Komponenten zu gewährleisten und Störungen bei den chromatographischen Trennungen zu vermeiden. Danach chromatographierten wir 140 g dieses nun pulverförmigen Extraktes in Anteilen zu 70 g mit Ethanol-Wasser (60 + 40, V/V) über Cellulosepulver Schleicher & Schüll Nr. 123-Polyamid Woelm (2 + 1, G/G: Säule 70 × 10 cm; die Füllung erfolgte durch Einschlämmen mit der mobilen Phase). Die Fraktionen wurden nach Sichtbarmachung der fluoreszierenden Säulenzonen mit UV-Licht (365 nm) gewonnen.

Abtrennung der fluoreszierenden Nebenprodukte: Durch wiederholte Chromatographie an Silica Woelm für Trockensäulenchromatographie, vorbelegt mit 20% des jeweiligen Fließmittels. Bei Verwendung von wassergesättigtem *n*-Butanol als mobiler Phase konnte *GF* von *GFa* abgetrennt werden. Die Entfernung der noch verbliebenen fluoreszierenden Nebenprodukte gelang mit Chloroform-Methanol-Wasser (70 + 40 + 10, V/V) als mobiler Phase. Je nach Gewicht des zu trennenden Substanzgemisches wurden Säulen mit einem Durchmesser von 3–10 cm und einer Länge von 70 cm verwendet; die Gemische wurden immer aus Silicagel aufgezogen und in fester Form an den Start gebracht. Nach Abtrennung von mitgelöstem Sorbens durch Filtration der entsprechenden Fraktionen über kurze Sephadex LH 20-Säulen, wobei das zuletzt verwendete Fließmittel eingesetzt wurde, konnten 410 mg *GF* (= 0,029% bezogen auf *Semen Stramonii*) in kristallisierter Form gewonnen werden. Unter dem *Kofler*-Heiztischmikroskop zeigte sich, daß das in gelben Tafeln kristallisierende *GF* sich ab 125 °C unter Verfärbung zu zersetzen beginnt. Ab 140 °C sind die Kristalle schwarz und verändern sich auch bis 360 °C nicht mehr.

Zur Reindarstellung von *GFa* eignete sich die präparative Dünnschichtchromatographie an Kieselgel 60 F₂₅₄ Fertigplatten Merck, 0,25 mm, mit wassergesättigtem *n*-Butanol als mobile Phase (Zweifachentwicklung). Die entsprechende Zone wurde abgekratzt, mit Methanol-Wasser (8 + 2, V/V) eluiert und das Eluat über eine kurze Sephadex LH 20-Säule filtriert. Es resultierten 20 mg amorphes *GFa*.

Überprüfung der Säulenfraktionen: Die einzelnen Fraktionen wurden durch Dünnschichtchromatographie an Kieselgel 60 F₂₅₄ Fertigplatten Merck, 0,25 mm, mit wassergesättigtem *n*-Butanol (R_f -Werte: $GF = 0,21$, $GFa = 0,17$) und mit Chloroform-Methanol-Wasser (70 + 40 + 10, V/V ; R_f -Werte: $GF = GFa = 0,43$) als mobiler Phase kontrolliert. Die Detektion erfolgte unter UV-Licht (365 nm).

Methylierung und Acetylierung von GF: Die Methylierung mit Diazomethan und die Acetylierung mit Essigsäureanhydrid/Pyridin bzw. Essigsäureanhydrid/Dimethylaminopyridin³⁰ lieferten zwar weniger polare Derivate, die sich jedoch bereits bei der Isolierung zersetzten. Dies ließ sich an Hand einer Grünfärbung der entsprechenden Lösungen feststellen.

Reduktion von GF: 5 mg GF wurden in wenig Methanol gelöst und 10 mg NaBH_4 in fester Form zugesetzt; die Reaktion war nach Verschwinden der für GF charakteristischen gelbgrünen Fluoreszenz abgeschlossen. Die Isolierung des Reduktionsproduktes ($GF \text{ red.}$) für die Absorptionsmessung im UV-Bereich erfolgte durch präparative Dünnschichtchromatographie (Kieselgel 60 F₂₅₄ Fertigplatten Merck, 0,25 mm, Chloroform-Methanol-Wasser = 70 + 40 + 10, V/V -Zweifachentwicklung). Die entsprechende Zone wurde abgekratzt, mit Methanol eluiert und sofort vermessen. Erst nach der Messung wurde die Lösung eingedampft und der Rückstand gewogen. Es resultierten 0,43 mg $GF \text{ red.}$

Massenspektren: Gerät: Doppelt fokussierendes Massenspektrometer MS 902 (Kratos-AEI, Manchester, GB). Meßbedingungen: Direkteinlaß, Proben-temperatur 180–220 °C, Quellentemperatur 220 °C, Auflösung 1000 (10% Tal), Elektronenstrahl 10 bzw. 70 eV, 20 μA , Quelldruck 10^{-6} Torr; Präzisionsmassenbestimmung: stat. Auflösung 18000 (10% Taldefinition). Referenzsubstanz: Heptacosafuorotributylamin.

Die Felddesorptionsspektren wurden an einem CH-5/DF-Gerät (Varian MAT, Bremen, BRD) aufgenommen; Emitterheizstrom 24 und 32 mA.

UV/VIS-Spektren: Gerät: Hitachi 200; $\lambda_{\text{max}}/\text{nm}$ (ϵ_{mol}).

GF : Methanol, 217 (22 200), 261 (6 780), 387 (20 700); 1 *n*-NH₃, 225 (16 900), 275 (6 200), 368 (10 300), 455 (5 200); 0,0025 *n*-NaOH, 268 (2 800), 368 (8 600), 455 (5 200).

$GF \text{ red.}$: Methanol, 226 (35 800), 270 (5 800), 299 (6 800).

GFa : Methanol, 212 (19 800), 262 (4 900), 389 (14 200); 1 *n*-NH₃, 222 (17 700), 270 (Schulter, 6 700), 355 (7 700), 451 (10 000); 0,0025 *n*-NaOH, 222 (6 400), 275 (680), 360 (4 800), 451 (9 100).

Tetrahydroharmol (VI): Methanol, 229 (37 100), 270 (5 900), 299 (7 100).

Harmalol (V): Methanol, 216 (16 000), 262 (6 400), 383 (11 100); 1 *n*-NH₃, 223 (5 400), 273 (Schulter, 5 900), 357 (8 900), 448 (8 400).

IR-Spektren: Gerät: Perkin-Elmer 257, Referenzsubstanz: KBr, Geschwindigkeit: Medium, Spaltbreite: Normal; cm^{-1} .

GF : 1 mg/207 mg KBr; 3 100–3 500 (s), 2 930 (s), 1 640 (m), 1 580 (s), 1 570 (s), 1 410 (m), 1 390 (s), 1 345 (s), 1 320 (m), 1 265 (s), 1 230 (m).

GFa : 1 mg/200 mg KBr; 3 500–3 200 (s), 2 920 (m), 1 635 (m), 1 560–1 575 (s), 1 410 (m), 1 390 (m), 1 340 (m), 1 320 (m), 1 255 (m).

Literatur

- ¹ *Hegnauer R.*, Chemotaxonomie der Pflanzen, Band VI. Basel-Stuttgart: Birkhäuser. 1973.

- ² *Maier E.*, Dissertation, Universität Wien, 1971.
- ³ *Tschirch A.*, Handbuch der Pharmakognosie, III. Band, 1. Abtlg. Tauchnitz. Leipzig: Chr. Herm. 1923.
- ⁴ *Blažek Z., Kučera M.*, Casopis českého Lékárnictva **63**, 209 (1950); zit. nach Chem. Zentralbl. **123**, 731 (1952).
- ⁵ *Metzner P.*, Biochemische Zeitschrift **224**, 448 (1930).
- ⁶ *Kučera M.*, Ann. pharm. franç. **8**, 564 (1950).
- ⁷ *Hörhammer L., Wagner H., Hölzl J.*, Dtsch. Apotheker-Ztg. **108**, 1616 (1968).
- ⁸ *King F. E., King T. J., Manning L. C.*, J. Chem. Soc. **1957**, 563.
- ⁹ Report of the Joint Committee of the Pharmaceutic Soc. and the Soc. for Analyst. Chem., Analyst **89**, 377 (1964).
- ¹⁰ *Budzikiewicz H., Djerassi C., Williams D. H.*, Structure Elucidation of Natural Products by Mass Spectrometry, Vol. I, Alkaloids. San Francisco-London-Amsterdam: Holden-Day. 1964.
- ¹¹ *Gribble G. W., Nelson R. B.*, J. Org. Chem. **39**, 1845 (1974).
- ¹² *Spiteller G., Brunné C., Heyns K., Grützmacher H. F.*, Z. Naturforsch. **17 b**, 856 (1962).
- ¹³ *Achenbach H., Biemann K.*, J. Amer. Chem. Soc. **87**, 4177 (1965).
- ¹⁴ *Plat M., Manh D. D., Le Men J., Janot M. M., Budzikiewicz H., Wilson J. M., Durham L. J., Djerassi C.*, Bull. Soc. Chim. France **1962**, 1082.
- ¹⁵ *Schnoes H. K., Burlingame A. L., Biemann K.*, Tetrahedron Lett. **1962**, 993.
- ¹⁶ *Antonaccio L. D., Pereira N. A., Gilbert B., Vorbrüggen H., Budzikiewicz H., Wilson J. M., Durham L. J., Djerassi C.*, J. Amer. Chem. Soc. **84**, 2161 (1962).
- ¹⁷ *Beyon J. H.*, Mass Spectrometry and Its Application to Organic Chemistry, p. 358. Amsterdam: Elsevier. 1960.
- ¹⁸ *Lund E., Budzikiewicz H., Wilson J. M., Djerassi C.*, J. Amer. Chem. Soc. **85**, 941 (1963).
- ¹⁹ *Reimann E.*, Arch. Pharm. **312**, 240 (1979).
- ²⁰ *Srinivasan P. R., Lichter R. L.*, Organic Magnetic Resonance **8**, 198 (1976).
- ²¹ *Robinson B.*, Chem. and Ind. **1965**, 605.
- ²² *Parker R. G., Roberts J. D.*, J. Org. Chem. **35**, 996 (1970).
- ²³ *Damak M., Ahond A., Potier P., Janot M. M.*, Tetrahedron Lett. **1976**, 4731.
- ²⁴ *Neuss N., Boaz H. E., Oocolowitz J. L., Wenkert E., Schell F. M., Potier P., Kan Ch., Plat M. M., Plat M.*, Helv. Chim. Acta **56**, 2660 (1973).
- ²⁵ *Pretsch E., Clerc T., Seibl J., Simon W.*, Tabellen zur Strukturaufklärung organischer Verbindungen mit spektroskopischen Methoden. Berlin-Heidelberg-New York: Springer. 1976.
- ²⁶ *Scott A. I.*, Interpretation of the Ultraviolet Spectra of Natural Products, in: *Barton H. R., Doering W.*, International Series of Monographs on Organic Chemistry, Vol. 7. Oxford-London-Edinburgh-New York-Paris-Frankfurt: Pergamon Press. 1964.
- ²⁷ *Ayer W. A., Browne L. M.*, Canad. J. Chem. **48**, 1980 (1970).
- ²⁸ *Manske R. H. F.*, The Alkaloids, Vol. VIII. New York-London: Academic Press. 1965.
- ²⁹ *Ghosal S.*, Planta medica **21**, 200 (1972).
- ³⁰ *Höfle G., Steglich W., Vorbrüggen H.*, Angew. Chem. **90**, 602 (1978).