

JAPONIN, 1-METHYL-2-PHENYL-3,6-DIMETHOXY-CHINOLON-(4), EIN NEUES ALKALOID AUS *ORIXA JAPONICA*

HÄ-HUY-KÈ und M. LÜCKNER

Sektion Pharmazie, der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg (Halle/Saale), Germany

und

J. REISCH

Institut für pharmazeutische Chemie der Westfälischen Wilhelms-Universität Münster, Germany

(Received 3 November 1969, in revised form 25 January 1970)

Abstract—Seven compounds reacting with Dragendorff's reagent were detected in extracts from leaves of *Orixa japonica* Thunberg. Two of them were isolated. By means of chemical and spectral properties, one was shown to be kokusagin, a furoquinoline alkaloid previously isolated from this plant. The second alkaloid was new and called japonine. By spectral comparison with synthetic 2-phenyl- and 3-phenyl-4-quinolones, its structure was established as 1-methyl-2-phenyl-3,6-dimethoxy-4-quinolone. Its chemical behaviour and fragmentation pattern by mass spectrometry are in agreement with this formulation.

Zusammenfassung—In Laubblättern von *Orixa japonica* Thunberg wurden sieben Substanzen nachgewiesen, die eine positive Reaktion mit Dragendorffs Reagenz ergaben. Zwei der Verbindungen wurden isoliert. Die eine wurde auf Grund ihrer chemischen und spektralen Eigenschaften als Kokusagin identifiziert, das bereits früher aus *O. japonica* gewonnen worden war. Das zweite Alkaloid erwies sich als unbekannt. Es wurde als Japonin bezeichnet. Durch Vergleich mit synthetisch dargestellten 2-Phenyl- und 3-Phenylchinolon-(4)-Derivaten wurde es als 1-Methyl-2-phenyl-3,6-dimethoxy-chinolon-(4) identifiziert. Mit dieser Struktur stehen sein chemisches Verhalten und die massenspektrometrische Fragmentierung in Übereinstimmung.

EINLEITUNG

AUS DER Wurzelrinde von *Orixa japonica* Thunb. (Rutaceae), einem in den Gebirgswäldern Japans vorkommenden Strauch, sind bisher die Alkaloide Evolitrin,¹ Kokusaginin,^{2,3} Skimmianin,^{1,3,4} Kokusagin,^{1,3-5} Hydroxylunacridin,⁶ Orixin,^{1,3-6} Nororixin¹ und Kokusaginolin,² sowie einige nicht näher beschriebene Basen⁶ isoliert worden. Hydroxylunin konnte chromatographisch nachgewiesen werden.⁶ Kokusagin und Skimmianin wurden auch aus den Früchten⁷ und den Blättern³ der Pflanze dargestellt.

Bei der chromatographischen Untersuchung der Blätter eines im Botanischen Garten der Universität Halle kultivierten Exemplares von *Orixa japonica* fanden wir sieben Stoffe, die sich mit Dragendorffs-Reagenz anfärbten (*R*_f-Werte s. Tabelle 1). Von ihnen wurden Kokusagin und ein bisher nicht beschriebenes Alkaloid isoliert, für das wir die Bezeichnung Japonin vorschlagen.

¹ M. TERASAKA, K. NARAHASHI und Y. TOMIKAWA, *Chem. Pharm. Bull. Tokyo* **8**, 1142 (1960).

² M. TERASAKA, *J. Pharm. Soc. Japan* **53**, 219 (1933); ref. *Chem. Zentr.* **I**, 405 (1934).

³ M. TERASAKA, T. OHTA und K. NARAHASHI, *J. Pharm. Soc. Japan* **73**, 773 (1953).

⁴ M. TERASAKA, T. OHTA und K. NARAHASHI, *Pharm. Bull. Tokyo* **2**, 159 (1954).

⁵ M. TERASAKA, *J. Pharm. Soc. Japan* **51**, 99 (1931); ref. *Chem. Zentr.* **I**, 243 (1932).

⁶ K. YAMAMOTO und Y. KONNO, *Ann. Rep. Tokyo Coll. Pharm.* **16**, 45 (1966); ref. *Chem. Zentr.* **180**, 35 (1968).

⁷ T. OBATA, *J. Pharm. Soc. Japan* **59**, 136 (1939); ref. *C.A.* **34**, 5597.

TABELLE 1. ZUSAMMENSETZUNG DER FRAKTIONEN AUS DEM ALKALOIDGEMISCH DER BLÄTTER VON *Orixa japonica*

Bezeichnung der Alkaloidflecke	R_f -Wert	Äther- extrakt (pH 2) I	Äther- extrakt (pH 5) II	Chloroform- extrakt (pH 8) III	Chloroform- Methanol- extrakt (pH 10) IV
A	0	-	-	+	+++
B	0,15	++	-	-	-
C	0,20	Spur	+	-	-
D	0,24	-	++	+++	-
(Japonin)					
E	0,37	-	++++	++++	-
(Kokusagin)					
F	0,48	+	-	-	-
G	0,53	++	-	-	-

Die Anzahl der "+" ist ein ungefähres Maß für die vorhandene Menge des jeweiligen Alkaloids.

ERGEBNISSE UND DISKUSSION

Zur Grobfaktionierung der aus den Blättern mit Methanol isolierten Alkaloide wurde eine wässrige Lösung des Alkaloidgemisches bei verschiedenen pH-Werten mit organischen Lösungsmitteln extrahiert. Die Fraktionen, die die Hauptalkaloide D und E in größerer Menge enthielten (Tabelle 1) wurden vereinigt, die beiden Alkaloide durch Chromatographie an Aluminiumoxid von Begleitsubstanzen getrennt und durch fraktionierte Kristallisation rein dargestellt.

Alkaloid E wurde anhand seiner chemischen und physikalischen Eigenschaften (vgl. experimenteller Teil, Abschnitt 3) als Kokusagin identifiziert.

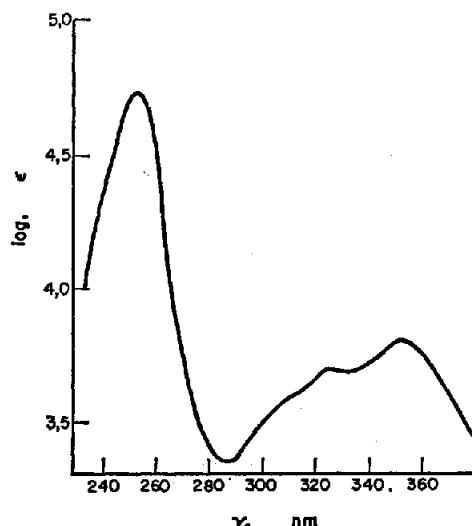


ABB. 1. U.V.-SPEKTRUM VON KOKUSAGIN IN METHANOL.

Das u.v.-Spektrum des Alkaloids (Abb. 1) bestitzt den für Furochinolinalkaloide typischen Verlauf.⁸ Das Massenspektrum stimmt mit dem des Alkaloids Maculin überein,⁹ das mit Kokusagin isomer ist. Die Fragmentierung (vgl. 9) erfolgt somit bei beiden Verbindungen wahrscheinlich in gleicher Weise. Das i.r.-Spektrum des Kokusagins steht in Übereinstimmung mit Angaben der Literatur.¹⁰

Das NMR-Spektrum entspricht dem eines Furochinolins der Dictamningruppe.^{11, 12} Es lässt bei τ 5,49 ppm (s) die Absorption der Protonen der *O*-Methylgruppe, bei τ 3,70 ppm (s) die der Methylendioxygruppe erkennen. Die vorhandenen aromatischen Protonen bilden zwei AB-Quartetts, die sich teilweise überlagern. Von ihnen entspricht eines den Wasserstoffatomen des Furanringes (τ H α : 2,38, H β : 2,90, J 2,5), das andere den H-Atomen in den Positionen 5 und 6 (τ H(5) 2,08, H(6) 2,80, J 8,5).

Alkaloid D (Japonin) erwies sich als unbekannt. Das Alkaloid besitzt einen Schmelzpunkt von 143° und ist deshalb möglicherweise mit einer von Yamamoto und Konno⁶ aus der Wurzelrinde von *Orixa japonica* isolierten, aber nicht näher untersuchten Base (f.p. 145°) identisch.

Durch Elementaranalyse und hochauflösende Massenspektroskopie wurde für das Japonin die Bruttoformel C₁₈H₁₇NO₃ ermittelt. Bei Einwirkung von diazotierter Sulfanilsäure¹³ bzw. Labats-Reagenz^{14, 15} oder Chromotropsäure/Schwefelsäure¹⁶ gab das Alkaloid keine Reaktion. Es besitzt somit weder Hydroxy- noch Methylendioxygruppen.

Das u.v.-Spektrum (Abb. 2) macht für das Japonin eine Chinolon-(4)-Struktur wahrscheinlich. Hierfür sprechen insbesondere folgende Befunde:

(a) Das Vorliegen eines Doppelmaximums bei 343 nm ($\log \epsilon$ 4,17) und 356 nm ($\log \epsilon$ 4,29), das bei Zusatz von Säure hypsochrom verschoben wird.^{8, 17, 18-20}

(b) Das Vorhandensein eines Extinktionsminimums bei 286 nm ($\log \epsilon$ 3,77).^{8, 19, 21-23}

(c) Die geringere Intensität des Extinktionsmaximums bei 254 nm bei Lösen des Japonins in Hexan ($\log \epsilon$ 4,45) im Vergleich mit der Lösung des Alkaloids in Methanol ($\log \epsilon$ 4,74).^{8, 19}

Das u.v.-Spektrum des Japonins ähnelt den Spektren von 1-Methyl-2-phenyl-6-methoxychinolon-(4) und 1-Methyl-2-phenyl-3-brom-6-methoxychinolon-(4) stark (vgl. Abb. 3). Dagegen ist bei dem des 1-Methyl-3-phenyl-6,7-dimethoxychinolon-(4) das bei den 2-Phenylchinolon-(4)-derivaten zwischen 250 und 260 nm liegende Maximum in gleicher Weise wie beim 1-Methyl-3-phenyl-7-methoxychinolon-(4)²⁴ bathochrom verschoben.

Das i.r.-Spektrum des Alkaloids lässt starke Banden bei 700 und 750 cm⁻¹ erkennen, die

⁸ A. W. SANGSTER und K. L. STUART, *Chem. Rev.* **65**, 69 (1965).

⁹ D. M. CLUGSTON und D. B. MACLEAN, *Can. J. Chem.* **43**, 2516 (1965).

¹⁰ S. GOODWIN, A. F. SMITH, A. A. VELASQUEZ und E. C. HORNING, *J. Am. Chem. Soc.* **81**, 6209 (1959).

¹¹ A. V. ROBERTSON, *Australian J. Chem.* **16**, 451 (1963).

¹² S. R. JOHNS, J. A. LAMBERTON und A. A. SIOMIS, *Australian J. Chem.* **20**, 1975 (1967).

¹³ E. STAHL (Hrsg.), *Dünnenschichtchromatographie—Ein Laboratoriumshandbuch*, Springer-Verlag, Berlin (1967).

¹⁴ A. LABAT, *Bull. Soc. Chim. France, Serie IV*, **5**, 745 (1909).

¹⁵ A. STAMBOULI, *Trav. Lab. Matière Med. Pharmac. Galénique Fac. Pharm. Paris* **45**, troisième partie, 98 (1960).

¹⁶ F. FEIGL, *Spot Tests in Organic Analysis*, S. 323, Elsevier, New York (1966).

¹⁷ S. C. PAKRASHI und J. BHATTACHARYYA, *J. Sci. Ind. Res. India* **24**, 226, 293 (1965).

¹⁸ E. A. STECK, G. W. EWING und F. C. NACHOD, *J. Am. Chem. Soc.* **71**, 238 (1949).

¹⁹ H. RAPOPORT und K. G. HOLDEN, *J. Am. Chem. Soc.* **82**, 4395 (1960).

²⁰ G. W. EWING und E. A. STECK, *J. Am. Chem. Soc.* **68**, 2181 (1946).

²¹ R. D. BROWN und F. N. LAHEY, *Australian J. Sci. Res. A3*, 615 (1950).

²² M. F. GRUNDON und N. J. McCORKINDALE, *J. Chem. Soc.* 2177 (1957).

²³ B. WITKOP, J. B. PARSHICH und M. ROSENBLUM, *J. Am. Chem. Soc.* **73**, 2641 (1951).

²⁴ R. JOHNSTONE, J. R. PRICE und A. R. TODD, *Australian J. Chem.* **11**, 562 (1958).

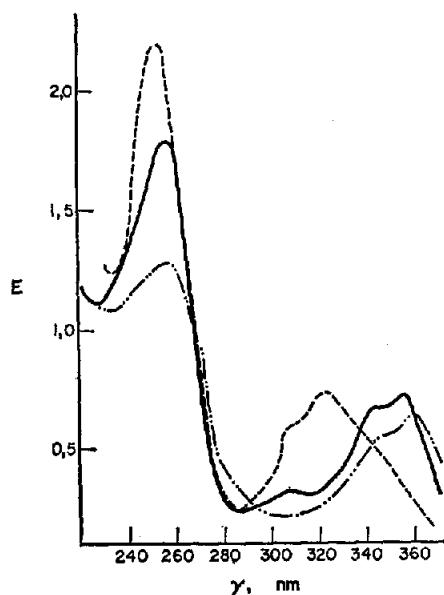


ABB. 2. U.V.-SPEKTRUM VON JAPONIN.

— in Methanol
 - - - in 0,1 N methanolischer Salzsäure
 ····· in Hexan

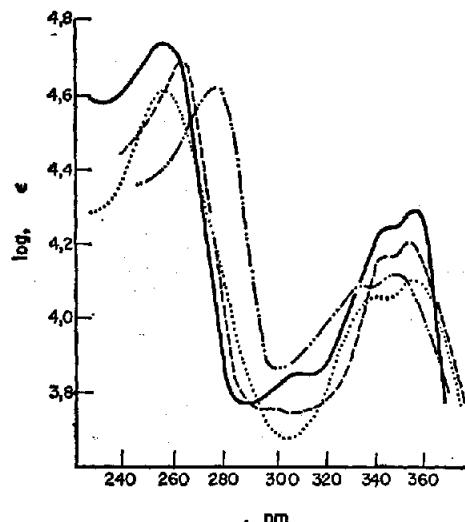


ABB. 3. U.V.-SPEKTRUM VERSCHIEDENER 1-METHYL-2-PHENYLCHINOLON-(4)-DERIVATE IN METHANOL.

— Japonin
 ····· 1-Methyl-2-phenyl-6-methoxychinolon-(4)
 - - - 1-Methyl-2-phenyl-3-brom-6-methoxychinolon-(4)
 ····· 1-Methyl-3-phenyl-6,7-dimethoxychinolon-(4)

auf das Vorliegen eines monosubstituierten Benzolrings hindeuten.²⁵ Die im Bereich von 1040–1250 cm⁻¹ vorhandenen Absorptionen sind zumindest z. T. den Valenzschwingungen der C—O—C Bindungen von CH₃—O-Gruppen zuzuordnen.²⁵

Die Absorptionsbanden im Bereich von 1500–1600 cm⁻¹ entsprechen den Schwingungen der aromatischen C=C- und C=N-Gruppen.^{25,26}

Auch die Absorptionsbande der C=O-Gruppe, die, wie die u.v.-, NMR- und Massenspektren ergaben, im Molekül vorhanden ist, liegt in diesem Bereich.^{27,28} Dagegen absorbiert diese Gruppierung bei den nicht vinylogen Chinolon-(2)-Derivaten gewöhnlich bei etwa 1650 cm⁻¹.^{26,28-30}

Das NMR-Spektrum des Japonins läßt acht aromatische Protonen erkennen. Ihre τ -Werte liegen bei 2,15 ppm (d) (1 Proton) und bei 2,50–2,85 ppm (m) (7 Protonen). Da für diese Wasserstoffatome nicht genügend Platz an dem aus den u.v.-Spektrum zu erschließenden Chinolon-(4)-Ringsystem ist, muß ein zusätzlicher aromatischer Ring im Molekül vorhanden sein. Das NMR-Spektrum weist zusammen mit dem u.v.-Spektrum, den i.r.-Spektren und dem Massenspektrum (s.u.) somit auf ein 2-Phenylchinolon-(4) als Grundstruktur des Japonins hin.

Wie die Angaben der Literatur und selbst aufgenommene Spektren erkennen lassen (vgl. Tabelle 2), hat bei in Position 2 substituierten Chinolon-(4)-Derivaten das aromatische Proton in Position 3 τ -Werte zwischen 3,74–4,34 ppm. Das Fehlen eines entsprechenden Signals im Spektrum des Japonins weist darauf hin, daß hier das C-Atom 3 kein Wasserstoffatom trägt sondern substituiert ist (bei dem als Vergleichssubstanz mit vermessenen 1-Methyl-3-phenyl-6,7-dimethoxychinolon-(4) absorbiert das Proton in Position 2 bei 3,25 ppm).

Das im Spektrum des Japonins vorhandene Signal bei 2,15 ppm sollte dem aromatischen Proton in Position 5 entsprechen. Die Lage der Resonanz ist durch den Einfluß der Carbonylgruppe in Position 4 nach geringeren τ -Werten verschoben. Tabelle 2 läßt erkennen, daß die Absorption dieses Protons auch bei ähnlich gebauten Verbindungen in den Bereich von 1,6–2,3 ppm fällt. Das Signal bei 2,15 ppm ist in zwei Banden (dublett) mit einer Kopplungskonstante von etwa 1,5–2 Hz aufgespalten. Diese Aufspaltung entspricht einer Metakopplung dieses Protons (vgl. z.B. 31) und weist somit auf die Anwesenheit eines Substituenten in Position 6 des Chinolinrings hin.

Das Auftreten von drei je drei Protonen entsprechenden Singulets im Bereich 6,15–6,62 ppm zeigt das Vorhandensein von drei O- bzw. N-Methylgruppen an. Von ihnen kann das Signal bei 6,15 ppm einer O-Methylgruppe in Position 6 und das bei 6,45 ppm einer N-Methylgruppe zugeordnet werden. Da, wie oben beschrieben, aus dem Spektrum hervorgeht, daß das Japonin in Position 3 kein Wasserstoffatom enthält, muß hier eine weitere (das dritte Sauerstoffatom des Alkaloids enthaltende) Methoxygruppe lokalisiert sein.

Für das Japonin ergibt sich aus diesen Befunden die Struktur des 1-Methyl-2-phenyl-3,6-dimethoxychinolon-(4). Das NMR-Spektrum des Alkaloids ähnelt dem von synthetisch dargestellten 1-Methyl-2-phenyl-3-brom-6-methoxychinolon-(4) stark.

²⁵ L. J. BELLAMY, *Ultrarot-Spektrum und Chemische Konstitution*. 2. Aufl., Steinkopff Verlag, Darmstadt (1966).

²⁶ J. R. PRICE und J. B. WILLIS, *Australian J. Chem.* **12**, 589 (1959).

²⁷ A. R. KATRITZKY und R. A. JONES, *J. Chem. Soc.* 2947 (1960).

²⁸ L. J. BELLAMY und P. E. ROGASCH, *Spectrochim. Acta* **16**, 30 (1960).

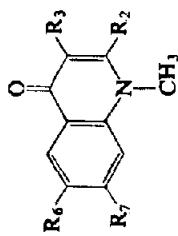
²⁹ N. J. McCORKINDALE, *Tetrahedron* **14**, 223 (1961).

³⁰ M. F. GRUNDON, N. J. McCORKINDALE und M. N. RODGER, *J. Chem. Soc.* 4284 (1955).

³¹ H. SUHR, *Anwendung der Kernmagnetischen Resonanz in der Organischen Chemie*, Springer-Verlag, Berlin (1965).

TABELLE 2. SIGNALLE DER NMR-SPEKTREN EINIGER CHINOLON-(4)-DERivate*

	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅
Japonin	-Phe	-OCH ₃	-H	
Edulin	-Phe	-H	-OCH ₃	-H
3-Bromedulin	-Phe	-Br	-H	-OCH ₃
Edulein	-Phe	-H	-OCH ₃	-OCH ₃
1-Methyl-2-phenyl-6,7-dimethoxy-chinolon-(4)	-Phe	-H	-OCH ₃	-OCH ₃
1,2-Dimethylchinolon-(4)	-CH ₃	-H	-H	-H
Evocarpin	-(CH ₃) ₂ -CH=CH-(CH ₃) ₂	-H	-H	-H
Bromdihydroevocarpin	-(CH ₃) ₂ -CH ₂	-H	-H	-H
Tribromevoçarpin	-(CH ₃) ₂ -(CHBr) ₂ -(CH ₃) ₂	-Br	-H	-H
1-Methyl-3-phenyl-6,7-dimethoxy-chinolon-(4)	-H	-Phe	-OCH ₃	-OCH ₃
H an C 6, 7, 8 —OCH ₃ in Stellung 6 bzw. 7				
Verbindung	H an C-3	H an C-5		
Japonin	—	d, 2,15 (1H)	m 2,50-2,85 (7H)	s 6,15 (3H)
Edulin	s 3,9 (1H)	d 2,30 (1H)	m 2,60-2,85 (7H)	s 6,15 (3H)
3-Bromedulin	—	d 2,00 (1H)	m 2,73-2,75 (6H)	s 5,98 (3H)
Edulein (s. auch) ³²	s 3,98 (1H)	~1,85 (1H)	m 2,65-3,30 (7H)	s 6,20 (3H)
1-Methyl-2-phenyl-6,7-dimethoxychinolon-(4)	s 3,90 (1H)	2,30 (1H)	m 2,65-3,35 (6H)	s 6,05 (6H)
1,2-Dimethylchinolon-(4) ³³	s 3,90 (1H)	m ~1,6 (1H)	m 2,17-2,92 (3H)	—
Evocarpin ³⁴	s 4,34 (1H)	d 1,88 (1H)	m 2,73 (3H)	s 6,53 (3H)
Bromdihydroevocarpin ³⁴	—	d 1,60 (1H)	m 2,50 (3H)	s 6,20 (3H)
Tribromevoçarpin ³⁴	—	d 1,79 (1H)	m 2,55 (3H)	s 6,25 (3H)
1-Methyl-3-phenyl-6,7-dimethoxychinolon-(4)	—	d 1,98 (1H)	m 2,20-2,75 (6H)	s 6,17 (3H)
—NCH ₃ in Stellung 3				

* Angabe der Verschiebung in τ -Werten.

Das Massenspektrum des Japonins (vgl. Abb. 4) ist komplexer als das der anderen bisher vermessenen in Position 2 durch einen Phenylrest substituierten Chinolon-(4)-Derivate (vgl. z.B. 32, 35, 36). Besonders interessant ist die Abspaltung von Wasser aus dem Molekularion (vgl. auch Tabelle 3), die innerhalb dieser Verbindungsklasse erstmalig beobachtet werden konnte (Zur Abspaltung von H_2O aus methoxylierten Carbonylverbindungen bei der Massenspektrometrie vgl. ⁴²).

Am Entstehen des Ions M-30 sollte eine McLafferty-Umlagerung beteiligt sein, bei der ein Wasserstoffatom der Methoxygruppe in Position 3 auf die Carbonylgruppe übertragen und CH₂O abgespalten wird.

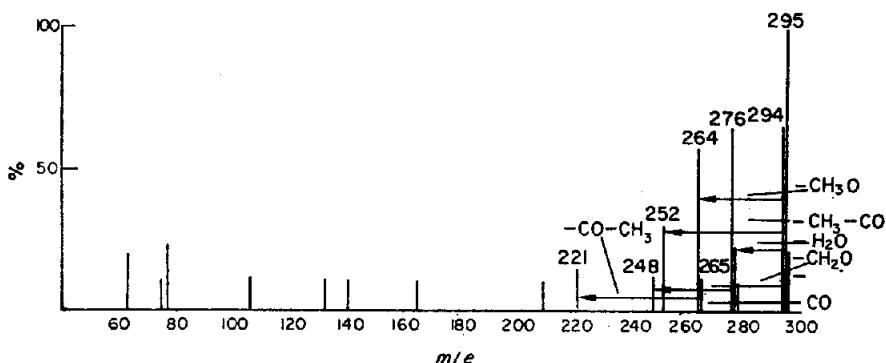


ABB. 4. MASSENSPEKTRUM DES JAPONINS.

TABELLE 3. WICHTIGSTE PEAKS IM HOCHAUFGELÖSTEN MASSENSPEKTRUM DES JAPONINS

Rel. Int. (%)	Massenzahlen (<i>m/e</i>)		Möglicherweise abgespaltene Fragmente
	Gefunden	Berechnet für	
100	295,1202	295,1208 C ₁₈ H ₁₇ NO ₃	M ⁺
58	294,1121	294,1130 C ₁₈ H ₁₆ NO ₃	M-1 (H ⁺)
49	276,1029	276,1024 C ₁₈ H ₁₄ NO ₂	M-19 (H ⁺ , H ₂ O)
52	264,1022	264,1024 C ₁₇ H ₁₄ NO ₂	M-31 (CH ₃ O ⁺)
23	252,1038	252,1024 C ₁₆ H ₁₄ NO ₂	M-43 (CH ₃ ⁺ , CO)
8	248,1089	248,1075 C ₁₇ H ₁₄ NO	M-47 (H ⁺ , H ₂ O, CO)
4	218,0839	218,0817 C ₁₂ H ₁₂ NO ₃	M-77 (C ₆ H ₅ ⁺)

Es sind heute mehrere Alkaloide bekannt, die ein 2-Phenylchinolinringsystem als Grundkörper enthalten. Bei *Orixa japonica* waren Verbindungen dieses Typs bisher jedoch nicht aufgefunden worden. Darüber hinaus ist das Japonin der erste Vertreter einer Alkaloidgruppe, bei der das 2-Phenylchinolinringsystem in Position 3 substituiert ist.

³² T. P. TOUBE, J. W. MURPHY und A. D. CROSS, *Tetrahedron* **23**, 2061 (1967).

³³ J. A. LAMBERTON, *Australian J. Chem.*, **19**, 1995 (1966).

³⁴ R. TSCHESCHE und W. WERNER, *Tetrahedron* **23**, 1873 (1967).

³⁵ J. REISCH, R. PAGNUCCO und N. JANTOS, *Phytochem.* 7, 997 (1968).

³⁶ D. M. CLUGSTON und D. B. MACLEAN, *Can. J. Chem.* **44**, 781 (1966).

EXPERIMENTELLER TEIL

Allgemeines

Die Schmelzpunkte wurden mit dem Heiztischgerät nach Boetius ermittelt. Sie sind korrigiert. Die elementaranalytischen Bestimmungen wurden von den Sektionen Chemie bzw. Pharmazie der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg ausgeführt. Zur Aufnahme der Massenspektren diente ein Hitachi-Perkin-Elmer Massenspektrometer RMU 6 A. Es wurde mit einer Elektronenenergie von 80 eV bei Direkt-einführung der Proben gearbeitet. Das Massenspektrum des Japonins wurde darüber hinaus auch mit einem hochauflösenden Spektrometer (CEC 21-110B) unter Benutzung der "peak matching"-Technik aufgenommen.* Die NMR-Spektren wurden mit einem Varian A 60-Spektrometer erhalten (Lösungsmittel: CDCl_3 , innerer Standard: Tetramethylsilan). Das Spektrum des Japonins wurde darüber hinaus auch mit einem Varian HA 100-Spektrometer aufgenommen.*

Chromatographie

Trennschicht: Kieselgel G; Laufmittel: Toluol-EtOAc- HCO_2H (5:4:1);³⁷ Detektion: Besprühen mit Dragendorffs Reagenz nach Munier.¹³ Herstellung des Extraktes aus den Blättern: 5 g getrocknetes, gepulvertes Material wurde mit Methanol erschöpfend extrahiert. Das Methanol wurde abgedampft und der Rückstand dreimal mit je 10 ml 0,5 N HCl-Lösung auf dem Wasserbad erhitzt. Die vereinigten salzauren Auszüge wurden filtriert, mit 25%igem NH_4OH auf pH 8 gebracht und dreimal mit je 25 ml CHCl_3 ausgeschüttelt. Die vereinigten CHCl_3 -lösungen wurden getrocknet und filtriert. Nach dem Abdampfen des Lösungsmittels wurde der Rückstand mit 1 ml CHCl_3 aufgenommen. Diese Lösung wurde dünnenschichtchromatographisch untersucht. Aufgetragene Menge 5–10 µl (entsprechend 25–50 mg Droge).

*Isolierung von Japonin und Kokusagin aus den Blättern von *Orixa japonica**

1 kg getrocknete, fein gepulverte Blätter wurde in einem Perkolator mit Methanol extrahiert. Der Methanolextrakt wurde auf dem Wasserbad unter verminderter Druck auf etwa 800 ml eingeengt und 48 hr bei 0° aufbewahrt. Nach der Abtrennung von den ausgeschiedenen harzigen Massen wurde der methanolische Auszug auf dem Wasserbad weiter auf etwa 200 ml eingeengt. Dieser verbleibende sirupartige Rückstand wurde bei 100° so oft mit je 50 ml 2 N HCl extrahiert, bis eine Probe nach Zusatz von Mayers-Reagenz nur noch eine ganz geringe Trübung ergab. Die erhaltenen salzauren Lösungen wurden vereinigt und filtriert. Nach Entfernen des Lösungsmittels verblieben 6,2 g Rohbasengemisch (0,62% der eingesetzten Drogenmenge).

Das Basengemisch wurde in 2 N HCl gelöst und die Lösung nach Versetzen mit entsprechenden Mengen 25%iger Ammoniaklösung bei pH 2 und pH 5 zweimal mit je 300 ml Äther, bei pH 8 viermal mit je 300 ml CHCl_3 und bei pH 10 viermal mit je 300 ml CHCl_3 -Methanol (3:1) ausgeschüttelt. Nach dem Abdampfen der Lösungsmittel verblieben bei den erhaltenen Extrakten folgende Mengen als Rückstand:

$$\begin{array}{ll} \text{Extrakt I (pH 2)} = 0,8 \text{ g} & \text{Extrakt II (pH 5)} = 0,6 \text{ g;} \\ \text{Extrakt III (pH 8)} = 1,2 \text{ g} & \text{Extrakt IV (pH 10)} = 1,8 \text{ g.} \end{array}$$

Die Rückstände der Extrakte wurden in CHCl_3 gelöst und dünnenschichtchromatographisch untersucht. Der Extrakt I und der Extrakt IV wurden nicht weiter bearbeitet, da sie nur geringe Mengen an Alkaloiden enthielten.

Die Extrakte II und III, die die Alkaloide D (Japonin) und E (Kokusagin) sowie geringe Mengen der Alkaloide A und C enthielten, wurden in CHCl_3 gelöst und auf einer Al_2O_3 -Säule chromatographiert. Mit 400 ml Et₂O- CHCl_3 (9:1) als Elutionsmittel wurden zunächst das Alkaloid C und danach mit 800 ml Et₂O- CHCl_3 (5:5) die Alkaloide D und E eluiert. Alkaloid A verbleibt auf der Säule.

Die die Alkaloide D und E enthaltenden Extrakte wurden eingedampft. Der Rückstand wurde in einer gerade ausreichenden Menge von Methanol (ca. 5 ml) gelöst und zur Kristallisation bei etwa +5° stehen gelassen. Nach 24 hr hatte sich Alkaloid E (Kokusagin) in Kristallnadeln abgeschieden. Ausbeute nach Umtrennung aus Methanol 0,028 g, entsprechend etwa 0,28%. Nadeln aus Methanol, Schmp. 196° (Lit.⁴: 196°; 201°); Pikrat: Schmp. 178° (Lit.⁴: 171–172°; 178°); Isoverbindung: Schmp. 245° (Lit.¹: 247°); Reaktion mit Labats-Reagenz und Chromotropsäure/Schwefelsäure: positiv; Reaktion mit diazotierter Sulfanilsäure: negativ; Summenformel: C₁₃H₉NO₄ ber.: C 64,14, H 3,70, N 5,76%; gef.: C 63,94, H 3,63, N 5,82%. Molekulargewicht: ber.: 243; gef. durch Massenspektrometrie: 243.

* Herrn Dr. D. M. Clugston, McMaster University, Hamilton College, Hamilton, Ontario, Canada, danken wir für die Anfertigung der Massenspektren von Kokusagin und Japonin sowie für die Aufnahme des NMR-Spektrums des Japonins mit dem Varian HA 100.

³⁷ I. Novák, G. Buzás, E. MINKER, M. KOLTAI und K. SZENDREI, *Pharmazie* **20**, 654 (1965).

Die Mutterlauge wurde eingengt und mit 2 ml Äther versetzt. Nach der Aufbewahrung bei etwa +5° kristallisierte aus dieser Lösung Alkaloid D (Japonin) in prismatischen Nadeln. Ausbeute nach Umkristallisieren aus Äther-Methanol 0,086 g entsprechend etwa 0,0086 %. Prismen aus Äther-Methanol, Schmp. 143°; Summenformel: C₁₈H₁₇O₃N ber.: C 73,20, H 5,76, N 4,74%; gef.: C 72,94, H 5,81, N 4,52%. Molekulargewicht: ber.: 295, 1208; gef. durch hochauflösende Massenspektrometrie: 295, 1202.

Synthese von Vergleichssubstanzen

(A) *2-Phenyl-6,7-dimethoxychinolon-(4)*.^{34,38} 5,1 g 3,4-Dimethoxyanilin (0,033 Mol) und 6,4 g Benzoylessigsäureäthylester (0,033 Mol) wurden unter Zusatz von einer Spatelspitze *p*-Toluolsulfinsäure unter Verwendung eines Wasserabscheiders in 50 ml abs. Benzol 48 hr zum Sieden erhitzt. Dann wurde das Benzol im Vakuum abdestilliert und das zurückbleibende Kondensationsprodukt in 10 ml Diphenyläther 10 min auf 250° erhitzt. Die abgekühlte Lösung wurde mit 5 ml Äther verdünnt und über Nacht stehengelassen. Die abgeschiedenen Kristalle des Chinolonderivates wurden abgesaugt und mit Äther gewaschen. Die Verbindung wurde durch Umkristallisieren aus Methanol gereinigt. Schmp.: 278°; DC: R_f 0,25; Ausbeute 2,63 g (28% d. Th.) C₁₁H₁₅NO₃ (281,3); Ber. C 72,58, H 5,38, N 4,98%; Gef. C 72,87, H 5,33, N 5,09.

(B) *1-Methyl-2-phenyl-6,7-dimethoxychinolon-(4)*. 1,5 g 2-Phenyl-6,7-dimethoxychinolon-(4) wurden in 10 ml einer mit Ca(OH)₂ gesättigten Methanolösung aufgelöst und mit 10 ml MeI versetzt. Das Gemisch wurde in einem Bombenrohr 4 hr auf 110° erhitzt. Nach dem Eindampfen zur Trockne wurde der Rückstand in CHCl₃ aufgenommen und das entstandene Jod mit schwefriger Säure entfernt. Die CHCl₃-Lösung wurde mit 2%iger H₂SO₄ geschüttelt und die wäßrige Phase mit 10%igem NH₄OH alkalisiert. Das ausfallende 1-Methyl-2-phenyl-6,7-dimethoxychinolon-(4) wurde nach Waschen mit Wasser aus Methanol-CHCl₃ (9:1) umkristallisiert. Schmp.: 262–263°; DC: R_f 0,17; Ausbeute 0,98 g (62,5% d. Th.). C₁₈H₁₇NO₃ (295,3); Ber. C 73,20, H 5,80, N 4,74%; Gef. C 73,01, H 5,69, N 4,85.

2-Phenyl-8-methoxychinolon-(4). Die Substanz wurde aus 12,3 g *o*-Anisidin (0,1 Mol) und 19,2 g Benzoylessigsäureäthylester nach der unter Abschnitt A beschriebenen Arbeitsweise dargestellt. Schmp.: 225°; DC: R_f 0,39; Ausbeute: 8,78 g. C₁₆H₁₃NO₂ (251,3); Ber. C 76,48, H 5,22, N 5,57; Gef. C 76,18, H 5,31, N 5,52.

1-Methyl-2-phenyl-8-methoxychinolon-(4). Nach der unter Abschnitt B beschriebenen Arbeitsweise wurden aus 1,50 g 2-Phenyl-8-methoxychinolon-(4) 1,15 g 1-Methyl-2-phenyl-8-methoxychinolon-(4) erhalten. Schmp.: 125°; DC: R_f 0,10; Ausbeute: 73% d. Th. C₁₇H₁₅NO₂ (265,3); Ber. C 76,97, H 5,69, N 5,28; Gef. C 77,50, H 5,74, N 5,08.

2-Phenyl-6-methoxychinolon-(4).^{39,40} Benzoyl-*p*-anisidin: 12,3 g (0,1 Mol) *p*-Anisidin wurden in 300 ml Et₂O gelöst. Die Lösung wurde mit 5,3 g Na₂CO₃ versetzt und unter Rückflußkühlung auf dem Wasserbad erhitzt. Zu dieser Lösung wurde in kleinen Portionen die Lösung von 14,06 g (0,10 Mol) Benzoylchlorid in 300 ml Et₂O zugesetzt. Nach dem Zutropfen wurde noch 1 hr weiter erhitzt. Der Et₂O wurde abgedampft, der Rückstand mit destilliertem Wasser gewaschen und das so erhaltene Rohprodukt durch Umkristallisation aus Äthanol gereinigt. Das reine Präparat wurde 1 hr bei 100°, dann 24 hr im Exsikkator über P₂O₅ getrocknet. Schmp.: 152–155°; Ausbeute 11,85 g (53% d. Th.). C₁₄H₁₃NO₂ (227,3); Ber. C 73,98, H 5,76, N 6,16; Gef. C 74,57, H 5,88, N 6,21.

Benzoyl-p-anisidinchlorimid. 10,0 g (0,37 Mol) Benzoyl-*p*-anisidin und 7,72 g (0,37 Mol) PCl₅ wurden innig miteinander vermischt. Die Mischung wurde auf dem Wasserbad auf etwa 75° erwärmt, wobei unter heftiger Chlorwasserstoffentwicklung Verflüssigung der Masse eintrat. Das Erwärmen wurde bis zum Aufhören der Chlorwasserstoffentwicklung fortgesetzt. Das gebildete POCl₃ wurde im Vakuum abdestilliert. Zurück blieb Benzoyl-*p*-anisidinchlorimid. Schmp.: 60°; Ausbeute: 9,82 g (90% d. Th.). C₁₄H₁₂NOCl (245,7); Ber. C 68,43, H 4,92, N 5,70; Gef. 68,91, H 5,70, N 5,54.

2-Phenyl-4-hydroxy-6-methoxychinolin-3-carbonsäureäthylester. Eine Lösung von 8 g frisch destilliertem Malonsäureäthylester (0,05 Mol) in 50 ml Toluol wurde mit 1,2 g kleingeschnittenem Natrium versetzt. Nachdem alles Natrium umgesetzt war, wurden 8,2 g (0,033 Mol) Benzoyl-*p*-anisidinchlorimid in 200 ml absolutem Toluol zugegeben. Dann wurde das Gemisch auf dem Ölbad 24 hr auf 120° erhitzt. Nach dem Abdestillieren des Toluols wurde der Rückstand mit 50 ml Wasser versetzt und dreimal mit je 100 ml Äther extrahiert. Die Ätherlösung wurde abgedampft und der Rückstand 1 hr im Vakuum auf 170° erhitzt. Nach dem Erkalten wurde der Rückstand mit Äther gewaschen und aus Äthanol umkristallisiert. Schmp.: 247–249°; Ausbeute: 3,45 g (32% d. Th.). C₁₉H₁₇NO₄ (323,4); Ber. C 70,56, H 5,30, N 4,33; Gef. C 70,32, H 5,24, N 4,31.

2-Phenyl-4-hydroxy-6-methoxychinolin-3-carbonsäure. 3,23 g (0,01 Mol) 2-Phenyl-4-hydroxy-6-methoxychinolin-3-carbonsäureäthylester wurden mit 100 ml 20%iger KOH unter Rückflußkühlung 5 hr gekocht. Dann wurde die Lösung mit 20 ml Wasser verdünnt und filtriert. Das Filtrat wurde mit 10%iger Salzsäure

³⁸ C. R. HAUSER und G. A. REYNOLDS, *J. Am. Chem. Soc.* **70**, 2402 (1948).

³⁹ R. C. ELDERFIELD, W. J. GENSLER, T. H. BEMBRY, C. B. KREMER, J. D. HEAD, F. BRODY und R. FROHARDT, *J. Am. Chem. Soc.* **68**, 1272 (1946).

⁴⁰ R. SEKA und W. FUCHS, *Monatsh. Chem.* **57**, 52 (1931).

versetzt. Die hierbei ausfallende 2-Phenyl-4-hydroxy-6-methoxychinolin-3-carbonsäure wurde abfiltriert und an der Luft getrocknet. Sie wurde aus 70%igem Eisessig umkristallisiert. Schmp.: 235°; Ausbeute: 2,72 g (80% d. Th.). $C_{17}H_{13}NO_4$ (295,3); Ber. C 69,15, H 4,44, N 4,74; Gef. C 69,13, H 4,43, N 4,68.

2-Phenyl-6-methoxychinolon-(4). 2,72 g 2-Phenyl-4-hydroxy-6-methoxychinolin-3-carbonsäure wurden 4 hr im Vakuum auf 240° erhitzt. Der Rückstand wurde mit Äther gewaschen und aus Methanol umkristallisiert. Schmp.: 292–295°; DC: R_f 0,27; Ausbeute: 1,5 g (60,5% d. Th.). $C_{16}H_{13}NO_2$ (251,3); Ber. C 76,48, H 5,22, N 5,57; Gef. C 76,24, H 5,09, N 5,59.

1-Methyl-2-phenyl-6-methoxychinolon-(4). Nach der in Abschnitt B beschriebenen Arbeitsweise wurden aus 1,50 g 2-Phenyl-6-methoxychinolon-(4), 0,91 g 1-Methyl-2-phenyl-6-methoxychinolon-(4) erhalten. Schmp.: 184–185°; DC: R_f 0,31; Ausbeute: 58% d. Th. $C_{17}H_{15}NO_2$ (265,3); Ber. C 76,97, H 5,69, N 5,28; Gef. C 76,61, H 5,74, N 5,28.

1-Methyl-2-phenyl-3-brom-6-methoxychinolon-(4).⁴¹ Eine Lösung von 0,80 g 1-Methyl-2-phenyl-6-methoxychinolon-(4) in 10 ml Eisessig wurde auf dem Wasserbad 15 min auf 80° erhitzt. Dann wurde unter Rühren 0,7 g Brom in 2 ml Eisessig zugetropft und das Gemisch wiederum 1 hr auf 80° erhitzt. Das beim Abkühlen ausfallende 1-Methyl-2-phenyl-3-brom-6-methoxychinolon-(4)-hydrobromid wurde abfiltriert und in 15 ml 10%iger Natronlauge gelöst. Nach dem Filtrieren wurde CO₂ in die Lösung eingeleitet. Der Niederschlag von 1-Methyl-2-phenyl-3-brom-6-methoxychinolon-(4) wurde abgesaugt und aus Äthanol umkristallisiert. Schmp.: 198°; DC: R_f 0,60; Ausbeute: 0,62 g (60% d. Th.). $C_{17}H_{14}NO_2Br$ (344,2); Ber. C 59,33, H 4,10, N 4,07; Gef. C 59,72, H 4,15, N 4,02.

3-Phenyl-4-hydroxy-6,7-dimethoxychinolin. 5,1 g 3,4-Dimethoxyanilin (0,033 Mol) wurden mit 6,4 g Formylphenylessigsäureäthylester (0,033 Mol) und 10 ml absolutem Äthanol versetzt und 24 hr stehengelassen. Die trübe Flüssigkeit wurde dann 24 hr auf dem Wasserbad erhitzt. Nach dem Entfernen des Äthanols wurde der gebildete Dimethoxyanilinacrylsäureäthylester in 10 ml Diphenyläther 10 min auf 250° erhitzt. Danach wurde, wie in Abschnitt A beschrieben, weiter verfahren. Das erhaltene 3-Phenyl-4-hydroxy-6,7-dimethoxychinolin wurde durch Umkristallisieren aus MeOH–CHCl₃ (9:1) in Nadeln erhalten. Schmp.: 327°; Ausbeute 4,90 g (46% d. Th.). $C_{17}H_{15}NO_3$ (281,3); Ber. C 72,58, H 5,38, N 4,98; Gef. C 72,11, H 5,37, N 4,85.

1-Methyl-3-phenyl-6,7-dimethoxychinolon-(4). Nach der in Abschnitt B beschriebenen Arbeitsweise wurden aus 1,5 g 3-Phenyl-4-hydroxy-6,7-dimethoxychinolin 0,945 g 1-Methyl-3-phenyl-6,7-dimethoxychinolon-(4) hergestellt. Schmp.: 248°; DC: R_f 0,25; Ausbeute 60% d. Th. $C_{18}H_{17}NO_3$ (295,3); Ber. C 73,20, H 5,80, N 4,74; Gef. C 73,40, H 5,89, N 4,89.

⁴¹ B. RIEGEL, G. R. LAPPIN, C. J. ALBISSETTI, B. H. ADELSON, R. M. DODSON, L. G. GINGER und R. H. BAKER, *J. Am. Chem. Soc.* 68, 1229 (1946).

⁴² J. H. BOWIE und P. Y. WHITE, *J. Chem. Soc.* 89 (1969B).