

Über Alkaloide, VI¹⁾

Inhaltsstoffe von *Lespedeza bicolor* var. *japonica*, II

von Hiroshi Morimoto und Norichika Matsumoto

Aus den Forschungslaboratorien der Takeda AG, Juso, Osaka, Japan

Eingegangen am 29. Juli 1965

Aus den Blättern von *Lespedeza bicolor* var. *japonica* wurde Bufotenin als Nebenalkaloid isoliert, ferner wurden in der Wurzelrinde N^{ω},N^{ω} -Dimethyl-tryptamin, Lespedamin, Bufotenin, 5-Methoxy- N^{ω},N^{ω} -dimethyl-tryptamin, N^{ω},N^{ω} -Dimethyl-tryptamin- N^{ω} -oxyd und 5-Methoxy- N^{ω},N^{ω} -dimethyl-tryptamin- N^{ω} -oxyd aufgefunden.

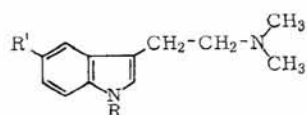
Vor kurzem¹⁾ wurde die Isolierung von N^{ω},N^{ω} -Dimethyl-tryptamin (1) und Lespedamin (2) aus den Blättern von *Lespedeza bicolor* var. *japonica* Nakai (Yamahagi) beschrieben. 2 wurde als 1-Methoxy- N,N -dimethyl-tryptamin erkannt. Dabei konnten wir noch geringe Mengen anderer Basen papierchromatographisch nachweisen, deren Isolierung nachstehend beschrieben wird.

Die schonend getrockneten Blätter (9.7 kg), die im Juli 1963 in derselben Gegend gesammelt und die auch gleich behandelt worden waren, wie in der vorhergehenden Mitteilung beschrieben, lieferten ein Basengemisch, in welchem papierchromatographisch mindestens drei Indolalkaloide nachweisbar waren. Bei der einen Substanz ($R_F=0.87$, violette Farbreaktion) handelte es sich um Dimethyltryptamin (1), bei der anderen (0.90, weinrot) um Lespedamin (2). Das Gemisch wurde an Aluminiumoxid (Merck) aufgetrennt (vgl. Tab. 2). Dabei wurden 1 und 2 in reiner Form isoliert und durch IR-Spektrum sowie Vergleich der Pikrate mit authentischen Proben charakterisiert. Das aus den Fraktionen 12–15 erhaltene Alkaloid (726 mg) war noch nicht rein genug, ließ sich aber weiter an Kieselgel G (Merck) dünnenschichtchromatographisch reinigen. Dieses verlustreiche Verfahren gab zwar kein kristallisiertes Produkt, zeigte aber schon ein für eine am C-5 oxydierte Indol-Verbindung charakteristisches UV-Spektrum. Ein Teil wurde in das Pikrat übergeführt. Das zuerst erhaltene rötliche Dipikrat sowie das daraus hergestellte gelbe Monopikrat stimmten mit der Literaturangabe²⁾ über Bufotenin (3) überein. Durch Mischschmelzpunkt mit einer authentischen Probe³⁾ wurde das Monopikrat identifiziert.

¹⁾ V. Mitteilung: H. Morimoto und H. Oshio, Liebigs Ann. Chem. **682**, 212 (1965).

²⁾ T. Hoshino und K. Shimodaira, Liebigs Ann. Chem. **520**, 19 (1935).

³⁾ Wir danken Herrn Prof. Dr. E. Ochiai des Itsuu Laboratoriums Tokyo, Japan, für die Überlassung des Vergleichspräparates.



	R	R'
1	H	H
2	CH ₃ O	H
3	H	OH
4	H	CH ₃ O

Die Wurzelrinden (1.735 kg) wurden mit Methanol extrahiert und der Extrakt mit verdünnter Salzsäure ausgezogen. Nach Alkalisieren versuchten wir, das Alkaloid mit Chloroform auszuschütteln, was wegen starker Emulsionsneigung auf Schwierigkeiten stieß. Deshalb wurde der ausfallende Niederschlag über Hyflo-Super-Cel abgenutscht und die Filterhilfe sowie die wäßrige Lösung mit Chloroform erschöpfend extrahiert. Im gesamten Chloroformauszug (Anteil A) waren papierchromatographisch drei Basen, 1, 3 und 4 nachzuweisen. Die zurückbleibende wäßrige Schicht wurde mit Essigester ausgeschüttelt und aus diesem Auszug ein weiterer Anteil (B) gewonnen, der größtenteils aus Bufotenin (3) bestand. Die beiden Anteile ließen sich an Aluminiumoxyd (Merck) chromatographieren (Tab. 3). Aus den Fraktionen 13–16 von B wurde Bufotenin kristallisiert erhalten. Der Hauptteil der Chromatographie vom Anteil A (Frakt. 2–8) wurde noch einmal chromatographiert (Tab. 4). Dabei wurden weitere geringe Mengen 1 und 2 gewonnen und aus den Fraktionen 14 und 15 das Alkaloid 4 erhalten. Es kristallisierte aus Petroläther in farblosen Prismen vom Schmp. 68°, zeigte die Zusammensetzung C₁₃H₁₈N₂O, gab eine positive Ehrlich-Reaktion (blau) und zeigte im UV-Spektrum die Maxima bei 278, 296 und 309 mμ, die auf 5-Methoxy-N^ω,N^ω-dimethyl-tryptamin hindeuteten. Ein Teil wurde in das Pikrat übergeführt und durch Vergleich mit einer authentischen Probe⁴⁾ charakterisiert.

In den Fraktionen 11–19 der Chromatographie des Alkaloidanteils A (Tab. 3) wurden zwei Indolbasen (5 und 6) papierchromatographisch beobachtet. Da aber zu wenig Substanz zur Verfügung stand, wurden beide durch Papierchromatographie in Fließmitteln, die sich zur Auftrennung der Tryptamin-Verbindungen als geeignet erwiesen hatten, untersucht (Tab. 1). Ihre R_F-Werte im alkalischen Fließmittel waren erheblich kleiner als die der bisher erwähnten Basen. Diese Ergebnisse deuteten nach Fish und Mitarbeitern⁵⁾ darauf hin, daß es sich bei 5 und 6 um die N-Oxyde handeln könnte. Die N-Oxyde wurden daher aus den Basen 1–4 durch Oxydation mit H₂O₂ in Äthanol hergestellt und mit 5 und 6 papierchromatographisch verglichen. Anhand der R_F-Werte wurden 5 und 6 als N^ω,N^ω-Dimethyl-tryptamin-N^ω-oxyd bzw. 5-Methoxy-N^ω,N^ω-dimethyl-tryptamin-N^ω-oxyd identifiziert.

Das Alkaloid 7 ergab bei der Ehrlich-Reaktion einen gelben Fleck und eine positive Diazofarbreaktion⁶⁾. Es scheint ein aromatisches Amin zu sein. Wegen zu geringer Substanzmenge wurde es nicht weiter untersucht.

⁴⁾ Wir danken Herrn Prof. Dr. T. Hoshino, Basic Research Laboratories, Toyo Rayon Comp., Kamakura, Kanagawa, Japan, für die Überlassung des Vergleichspräparates.

⁵⁾ M. S. Fish, N. M. Johnson und E. C. Horning, J. Amer. chem. Soc. 77, 5892 (1955).

⁶⁾ Mit 0.1-proz. Natriumnitrit-Lösung in 0.1 n HCl versprühen, kurz bei 50–80° trocknen, dann mit 0.2-proz. Äthanol. N-Naphthyl-Äthylendiamin-dihydrochlorid nachsprühen.

Tabelle 1. R_F -Werte der Alkaloide

Verbindung	Färbung	A	Fließmittel ^{a)}		
			B	C	D
1	violett	0.87	0.81	0.79	0.93
2	weinrot	0.90	0.87	0.85	0.93
3	blau	0.60	0.63	0.61	0.89
4	blau	0.78	0.71	0.74	0.90
5	violett	0.86	0.82	0.84	0.68
6	blau	0.81	0.80	0.81	0.64
7	gelb	0.74	0.75	0.75	—
1-N-Oxyd	violett	0.86	0.82	0.84	0.68
2-N-Oxyd	weinrot	0.89	0.87	0.89	0.76
3-N-Oxyd	blau	0.67	0.69	0.71	0.54
4-N-Oxyd	blau	0.81	0.80	0.81	0.64

^{a)} Papier Whatman Nr. 1, absteigend bei 21–22°. Die Anfärbung der Flecken auf dem Papier erfolgte mit Ehrlich-Reagens (*p*-Dimethylaminobenzaldehyd/HCl-Gas). Fließmittelsysteme: A = Essigsäure/Butanol/Wasser (1:4:5) obere Phase; B = tert.-Butanol/Wasser/Ameisensäure (21:9:0.6); C = tert.-Butanol/Wasser/Ameisensäure (21:3:0.6); D = Propanol/28-proz. Ammoniak (5:1).

Wir möchten Herrn Dr. T. Matsuoka vom botanischen Garten unseres Werkes für die Beschaffung der Pflanzen und Herrn H. Oshio für seine experimentelle Mitarbeit unseren besten Dank aussprechen.

Beschreibung der Versuche

Die *Schmelzpunkte* wurden im Flüssigkeitsbad bestimmt und sind nicht korrigiert. Zur *Elementaranalyse* wurden die Proben bei Raumtemperatur i. Hochvak. über P_2O_5 ca. 16 Stdn. getrocknet. Die *UV-Spektren* wurden mit einem Beckman-Spektrophotometer, Modell DU (in Methanol) aufgenommen. Farbreaktion auf den Papierchromatogrammen mit Ehrlich-Reagens.

Aufarbeitung der Blätter

Isolierung des Rohalkaloids: 9.7 kg schonend getrocknete *Blätter*, die im Juli 1963 gesammelt worden waren, wurden mit 220 l Methanol bei Raumtemperatur 2 Wochen extrahiert. Der methanol. Extrakt wurde i. Vak. (Bad < 50°) auf 8 l eingengt und dann mit 4 l Wasser und 10 l Ligroin versetzt. Nach vorsichtigem Schütteln ließ sich die wäbr. Schicht abtrennen. Sie wurde i. Vak. auf 3 l eingengt und mit 2.3 l Salzsäure (4.6-proz.) versetzt. Die Salzsäurelösung wurde 3 mal mit je 2 l Essigester gewaschen, mit Ammoniak alkalisiert und 3 mal mit je 2 l Chloroform ausgeschüttelt. Die Auszüge wurden vereinigt, mit Wasser gewaschen und über Natriumsulfat getrocknet. Nach Abdampfen hinterblieben 10.276 g Rohalkaloid als braunes Öl. Es zeigte im Papierchromatogramm hauptsächlich die Flecken vom R_F (Fließmittel A; vgl. Tab. 1) 0.60 (blau), 0.87 (violett) und 0.90 (weinrot).

Trennung der Alkaloide: Das Rohalkaloidgemisch (10.276 g) wurde mit den in Tab. 2 (S. 197) verzeichneten Lösungsmitteln an 1 kg Al_2O_3 (Merck, Säule 4.5 × 60 cm) chromatographiert und jede Fraktion papierchromatographisch geprüft.

Tabelle 2. Chromatographie des Extraktes aus den Blättern

Fraktion	Fließmittel ^{a)}	Eluat	Ausbeute	Alkaloid
1	Bzl	6.3 l	—	—
2	Bzl/Chl (95:5)	1.8	—	—
3	Bzl/Chl (10:1)	6.8	—	—
4	Bzl/Chl (2:1)	7.8	—	—
5	Bzl/Chl (2:1)	4.3	1900 mg	2
6	Bzl/Chl (2:1)	1.5	359	1 + 2
7	Bzl/Chl (1:1)	15.5	2333	1
8	Bzl/Chl (1:1)	7.8	118	1 (roh)
9	Chl	8.6	134	1 (roh)
10	Chl	1.6	24	1 + 3
11	Chl	1.6	340	3 (roh)
12	Chl	0.8	726	3
13	Chl/M (95:5)	2.2		
14	Chl/M (4:1)	1.6		
15	M	1.6		
16	M	0.8	485	3 (roh)

^{a)} Abkürzungen vgl. Tab. 4.

N^ω,N^ω-Dimethyl-tryptamin (1). — Die Fraktion 7, die sich papierchromatographisch als einheitlich erwies, kristallisierte aus Petroläther in farblosen Prismen vom Schmp. 49°.

Pikrat: Aus Methanol gelbe Prismen vom Schmp. 169°.

$C_{12}H_{16}N_2 \cdot C_6H_3N_3O_7$ (417.4) Ber. C 51.80 H 4.59 N 16.78 Gef. C 51.59 H 4.35 N 16.73

Oxalat: Aus Methanol farblose Nadeln vom Schmp. 147°.

$C_{12}H_{16}N_2 \cdot C_2H_2O_4$ (278.3) Ber. C 60.42 H 6.52 N 10.07 Gef. C 60.61 H 6.54 N 10.06

Jodmethylat: Aus Aceton/Methanol/Äther farblose Nadeln vom Schmp. 207°.

$C_{12}H_{16}N_2 \cdot CH_3J$ (330.2) Ber. C 47.29 H 5.80 N 8.48 Gef. C 47.58 H 5.63 N 8.30

Lespedamin (2). — Die Fraktion 5, die papierchromatographisch einheitlich war, lieferte 2 als farbloses Öl.

Pikrat: Aus Methanol gelbe Prismen vom Schmp. 163°.

$C_{13}H_{18}N_2O \cdot C_6H_3N_3O_7$ (447.4) Ber. C 51.00 H 4.73 N 15.65 Gef. C 51.19 H 4.77 N 15.65

Styphnat: Aus Methanol gelbe Nadeln vom Schmp. 169–170°.

$C_{13}H_{18}N_2O \cdot C_6H_3N_3O_8$ (463.4) Ber. C 49.24 H 4.57 N 15.11 Gef. C 49.14 H 4.49 N 14.88

Jodmethylat: Aus Aceton/Äther farblose Blättchen vom Schmp. 196°.

$C_{13}H_{18}N_2O \cdot CH_3J$ (360.2) Ber. C 46.66 H 5.88 N 7.78 Gef. C 46.64 H 5.70 N 8.06

Bufotenin (3). — Da das aus den Fraktionen 12–15 erhaltene *Alkaloid* noch nicht rein genug war, wurde es auf einer Kieselgel-G-Platte (40 × 36 cm, Schichtdicke 0.5 mm) bandförmig aufgetragen und mit Essigester/Isopropanol/25-proz. Ammoniak (11:8:1) entwickelt. Der bei Bestrahlung unter der UV-Lampe (365 mμ) dunkelblau fluoreszierende Anteil wurde abgelöst und mit Methanol erschöpfend extrahiert. Der Rückstand des Extraktes zeigte *R_F* (Fließmittel A) 0.60 (blau). — *UV-Spektrum*: $\lambda_{\max}$ (log ε) = 277.5 (3.76) und 299 mμ (3.60).

Dipikrat: 36 mg Öl in wenig Methanol wurden mit überschüssiger wäßr. *Pikrinsäure* versetzt. Rote Nadeln vom Schmp. 175° (aus Methanol). Ausbeute 28 mg.

$C_{12}H_{16}N_2O_7 \cdot 2C_6H_3N_3O_7$ (662.5) Ber. C 43.52 H 3.35 N 16.92 Gef. C 43.46 H 3.45 N 17.11

Monopikrat: Das Dipikrat wurde durch Umkristallisieren aus Methanol in das Monopikrat (gelbe Prismen vom Schmp. 178°) übergeführt.

$C_{12}H_{16}N_2O_7 \cdot C_6H_3N_3O_7$ (433.4) Ber. N 16.16 Gef. N 15.98

Aufarbeitung der Wurzelrinde

Isolierung des Rohalkaloids. — 1.735 kg schonend getrocknete, gemahlene Wurzelrinde wurden mit 5 l Methanol bei Raumtemperatur 16 Tage extrahiert. Der methanol. Extrakt wurde i. Vak. (Bad < 50°) auf 300 ccm eingedunstet und dann mit 300 ccm 3-proz. Salzsäure + 3 l Benzol vorsichtig geschüttelt. Die organische Schicht wurde 6mal mit je 200 ccm 3-proz. Salzsäure ausgeschüttelt. Nach dem Waschen mit 300 ccm Benzol wurden die HCl-Auszüge mit Ammoniak alkalisiert und die dabei ausgefallenen Niederschläge unter Zusatz von Hyflo-Super-Cel abgenutscht. Die wäßr. Lösung wurde 12mal mit je 200 ccm Chloroform ausgezogen. Der auf der Nutsche befindliche Rückstand wurde 4mal mit je 600 ccm der oben erhaltenen Chloroformlösung und ferner 4mal mit je 600 ccm frischem Chloroform extrahiert. Die vereinigten Auszüge wurden mit Wasser gewaschen und über Natriumsulfat getrocknet. Nach Abdestillieren hinterblieben 3.583 g Alkaloidgemisch A als ein zähes braunes Öl. Es zeigte im Papierchromatogramm drei Flecken vom R_F (Fließmittel A) 0.60 (blau), 0.78 (blau) und 0.87 (violett).

Die wäßr. Phase (1.8 l) wurde 13mal mit je 200 ccm Essigester ausgeschüttelt. Nach dem Waschen mit Wasser und anschließendem Trocknen mit Natriumsulfat lieferte die Essigester-Lösung 2.115 g Alkaloidgemisch B. Dieses enthielt zwei Basen vom R_F 0.60 (blau) und 0.78 (blau).

Trennung der Alkaloide: Das Alkaloidgemisch A (3.583 g) wurde an 300 g Al_2O_3 (Merck) chromatographiert (Säulen-Ø 3 cm); gleichermaßen wurde das Gemisch B (2.115 g) aufgetrennt (vgl. Tab. 3).

1000 mg Gemisch aus den Fraktionen 2–8 des Alkaloidgemisches A wurden nochmals an 120 g Al_2O_3 (Säule 3 × 18.5 cm) chromatographiert (Tab. 4).

N^{ω}, N^{ω} -Dimethyl-tryptamin (1). — Die Fraktion 12 (Tab. 4) lieferte farblose Prismen vom Schmp. 49°.

Lespedamin (2). — Die Fraktionen 10 und 11 (Tab. 4) lieferten ein farbloses Öl.

Bufotenin (3). — Die Fraktionen 13–16 der Chromatographie des Alkaloidanteils B (Tab. 3) lieferten die rohe Base.

5-Methoxy- N^{ω}, N^{ω} -dimethyl-tryptamin (4). — Die Fraktionen 14 und 15 (Tab. 4) lieferten nach Umkristallisieren aus Petroläther farblose Prismen vom Schmp. 68°. R_F (Fließmittel A) 0.78 (blau). — *UV-Spektrum* (in Methanol): λ_{max} (log ϵ) = 278 (3.76), 296 (3.66) und 309 m μ (3.54).

$C_{13}H_{18}N_2O$ (218.3) Ber. C 71.52 H 8.31 N 12.83 Gef. C 71.53 H 8.49 N 12.66

Pikrat: Aus Methanol gelbe Nadeln vom Schmp. 175–176°.

Tabelle 3. Säulenchromatographische Auftrennung der Alkaloidgemische A und B aus der Wurzelrinde

Frakt.	Fließmittel ^{a)}	Alkaloidgemisch A		Gemisch B	
		Eluat	Ausb. Alkaloid ^{b)}	Eluat	Ausb. Alkaloid
1	Bzl	4.3 l	1764 mg	1.2 l	
2	Bzl/Chl (10:1)	1.0		—	
3	Bzl/Chl (5:1)	1.2		1.2	1212 mg
4	Bzl/Chl (3:1)	1.2		1.2	
5	Bzl/Chl (2:1)	—	1041 1, 4	0.4	
6	Bzl/Chl (2:1)	—		1.7	52
7	Bzl/Chl (1:1)	1.6		1.0	
8	Chl	2.0		2.0	
9	Chl/E (1:1)	1.0		1.0	
10	E	0.8	68 1	1.0	53 1, 4
11	E/M (95:5)	0.7		1.0	
12	E/M (10:1)	1.1		0.55	
13	E/M (10:1)	—	132 (1), (3) (5), (6)	1.7	66 3
14	E/M (5:1)	2.1		1.2	
15	E/M (5:1)	2.7		2.4	65 3
16	E/M (3:1)	1.2		2.0	
17	E/M (1:1)	1.0	92 5, 6	1.2	
18	M	1.0		1.0	
19	M/28-proz. NH ₃ (95:5)	0.6		0.6	249 7
20	M/28-proz. NH ₃ (5:1)	—		0.6	

^{a)} Abkürzungen vgl. Tab. 4.^{b)} Nebenkomponten in Klammern.

Tabelle 4. Chromatographie der bei der Vortrennung des Gemisches A erhaltenen Fraktionen 2–8 (Tab. 3)

Fraktion	Fließmittel ^{a)}	Eluat	Ausbeute	Alkaloid
1	Bzl	200 ccm	93 mg	
2	Bzl	200	138	
3	Bzl	400		
4	Bzl/Chl (99:1)	400		
5	Bzl/Chl (98:2)	300	39	
6	Bzl/Chl (95:5)	700		
7	Bzl/Chl (95:5)	100		
8	Bzl/Chl (9:1)	400	3	
9	Bzl/Chl (4:1)	200		
10	Bzl/Chl (4:1)	100	10	2
11	Bzl/Chl (3:1)	200		
12	Bzl/Chl (3:1)	600	252	1
13	Bzl/Chl (3:1)	600	136	1 + 4
14	Bzl/Chl (3:1)	1500	183	4
15	Bzl/Chl (2:1)	500		
16	Bzl/Chl (1:1)	400	28	4
17	Chl	400		
18	M	200	107	

^{a)} Abk.: Bzl = Benzol, Chl = Chloroform, E = Essigester, M = Methanol.

[142/65]