

1290(1,II); 1452(4b,II); 1570(8,II); 1731 : 7 $\frac{1}{2}$ (4b); 2905(3,II); 2949(8b,III); 2984(8b,V); 3064(8,IV); 3138(5,IV).

11) 2.5-Endomethylen-hexahydro-benzoesäure-methylester, C₉H₁₄O₂ (vergl. Nr. 14 in Fig. 3): Die Darstellung dieses Körpers durch Veresterung der zugehörigen Säure mit Methanol und konz. Schwefelsäure wurde von Alder-Stein³¹⁾ allgemein, ohne nähere Angaben über Reinigung und Konstanten beschrieben. Das von uns angewandte Verfahren lieferte denselben Ester bei der Hydrierung des im vorangehenden beschriebenen ungesättigten Esters. 6 g desselben, gelöst in 75 ccm absol. Methanol, wurden in Gegenwart von 0.3 g Palladium-Bariumsulfat (5% Pd) in einer Wasserstoff-Atmosphäre geschüttelt. Die Wasserstoff-Aufnahme betrug 1000 ccm (ber. 985 ccm). Nach der Entfernung des Katalysators durch Filtration und nach dem Abdestillieren des Methanols erfolgte die Isolierung und Reinigung des Esters durch 3-malige Vakuum-Destillation. Ausbeute 4.5 g. Sdp.₁₂ 76.5⁰; n_D^{18.8} = 1.4657. Bisherige Beobachtung: Keine.

Pl. Nr. 1952, m. F., t = 14; Pl. Nr. 1954, o. F., verengerter Spalt, t = 20; Ugd. im zweiten Fall stark. n = 57. ω = 212(1); 236($\frac{1}{2}$, II); 338(4, II); 392(1, II); 442(0, II); 486(0); 555(1, II); 620(1, III); 762(2, III); 818(4, III); 877(3, II); 917(4); 925(5, II); 950(4, II); 990(2, II); 1033(3, II); 1075(3, II); 1114(4, II); 1145(2, II), 1179(2); 1206(2); 1237(2); 1307(3, II); 1450(6b, II); 1729(2b); 2875(4, II); 2932(4, II); 2952(6, V); 2968(8b, III).

141. Hans v. Euler, Holger Erdtman und Harry Hellström. Über das Alkaloid Gramin.

[Aus d. Institut für organ.-chem. Forschung d. Universität Stockholm.]
(Eingegangen am 24. Februar 1936.)

Das Gramin, C₁₁H₁₄N₂, wurde 1932 zuerst in einigen normal-grünen chlorophyll-mutierenden schwedischen Gersten-Sippen aufgefunden¹⁾, aus ihnen isoliert und durch die spektroskopischen Messungen von Hellström²⁾ als Indol-Abkömmling erkannt. Die Base wurde dann in einer größeren Anzahl von Gersten-Sippen nachgewiesen³⁾, und zwar scheint ihr Vorkommen in der Gerste eine erbliche Eigenschaft zu sein⁴⁾.

In anderen Pflanzen hatten wir Gramin nicht auffinden können. Erst im vergangenen Jahr teilten Orehoff und Norkina⁵⁾ mit, daß sie aus dem Mittelasien gesammelten Material einer Schilfart, *Arundo Donax*, ein Alkaloid gewonnen haben (von den russischen Forschern als Donaxin bezeichnet); nach der von ihnen angegebenen Formel und dem Schmelzpunkt der Base und ihrer Derivate ist die Schilfbase mit unserer Gersten-Base identisch. Die Base scheint auf Gramineen beschränkt zu sein, so daß der Name Gramin ihr Vorkommen decken dürfte.

Durch weitere spektroskopische Messungen wurde dann von Euler, Hellström und Löfgren³⁾ gezeigt, daß die 1- und 3-Stellungen des Indol-

¹⁾ Euler u. Hellström, *Ztschr. physiol. Chem.* **208**, 43 [1932].

²⁾ Euler u. Hellström, *Ztschr. physiol. Chem.* **217**, 23 [1933].

³⁾ Euler, Hellström u. Löfgren, *Ztschr. physiol. Chem.* **284**, 151 [1935].

⁴⁾ Brandt, Euler, Hellström u. Löfgren, *Ztschr. physiol. Chem.* **285**, 37 [1935].

⁵⁾ Orehoff u. Norkina, *B.* **68**, 436 [1935].

Kernes mit großer Wahrscheinlichkeit im Gramin frei sind. Die Absorption des Gramins schließt sich am nächsten an die der in 2-Stellung substituierten Indol-Derivate an, z. B. 2-Methyl-indol. Ein Indol-Derivat, welches in 2-Stellung substituiert ist, und die gleiche empirische Zusammensetzung wie Gramin ($C_{11}H_{14}N_2$) hat, wurde deswegen vom einen von uns (H. Erdtman) synthetisiert⁶⁾, nämlich 2-(Dimethylamino-methyl)-indol. Diese Substanz erwies sich als nicht identisch mit Gramin, aber ihr Absorptionsspektrum stimmte fast vollständig mit demjenigen des Gramins überein. Dann wurde α -Methyl- β -dimethylamino-indol durch Methylierung von α -Methyl- β -amino-indol mittels Dimethylsulfat dargestellt (vergl. eine demnächst erscheinende Mitteilung von H. Erdtman); es zeigte sich, daß auch diese Substanz mit Gramin nicht identisch war. Ferner zeigte sich, daß die Absorptionsbande größter Wellenlänge für das α -Methyl- β -amino-indol bei 292 $m\mu$, also beträchtlich höher liegt als beim Gramin.

Unser Alkaloid wurde aus 1—1.2 g rohem krystallisiertem Produkt durch Umlösen aus heißem Aceton hergestellt, worin auch es in der Kälte ziemlich löslich ist. Nach häufigem Umkrystallisieren aus Aceton stieg der Schmelzpunkt auf 134—135°. Den von Orehoff und Norkina für Donaxin angegebenen Schmp. 139° haben wir nicht erreichen können (vergl. Beschreibung der Versuche).

Zinkstaub-Destillation. Die im experimentellen Teil beschriebene Isolierung von Skatol aus den Produkten, welche bei der Destillation von Gramin mit Zinkstaub entstehen, und zwar nach einer Modifikation der Köglschen Mikro-methode der Zinkstaub-Destillation, könnte man als eine Stütze für die in einer früheren Arbeit mitgeteilten Auffassung über den Bau des Gramins (Formel II) ansehen; da aber die Ausbeute an reinem Skatol gering ist (5—10%), und da sekundäre Reaktionen bei der Zinkstaub-Destillation eintreten können, so ist die Entstehung von Skatol für die Annahme einer Methylgruppe in β -Stellung im Gramin nicht beweisend. Gegen die Annahme einer Substitution in α - und β -Stellung stehen nun — abgesehen von der von uns früher betonten Schwierigkeit, diese Konstitution in Übereinstimmung mit den Tatsachen zu bringen, welche hinsichtlich der Ultraviolett-Absorption des Gramins und anderer Indol-Derivate bekannt sind — die folgenden Beobachtungen:

Die Ehrlichsche Reaktion, die schon bei früheren Versuchen von Hellström als sehr schwach angegeben wurde, bleibt nach dem Umkrystallisieren des Gramins aus Aceton überhaupt aus.

Das Gramin gibt, wie bereits in der vorhergehenden Mitteilung erwähnt wurde, eine positive (rote) Fichtenspan-Reaktion.

Wir finden weiter, daß das Gramin mit diazotierter Sulfanilsäure in alkalischer Lösung eine — allerdings schwache, aber doch deutliche — rote Farbenreaktion gibt. Obwohl hierin keineswegs ein Beweis liegt, so deutet diese Tatsache doch auf das Vorkommen von unbesetzten α - oder β -Stellungen. In Rücksicht auf die positive Kuppelungs-Reaktion mit diazotierter Sulfanilsäure ist möglicherweise die β -Stellung frei. Eine rote Farbenreaktion, welche stark an diejenige des Gramins erinnert, wird erhalten bei der Kuppelung von α -(Dimethylamino-methyl)-indol mit diazotierter Sulfanilsäure. Auch α -Methyl-indol kuppelt unter Bildung eines roten Azofarbstoffes.

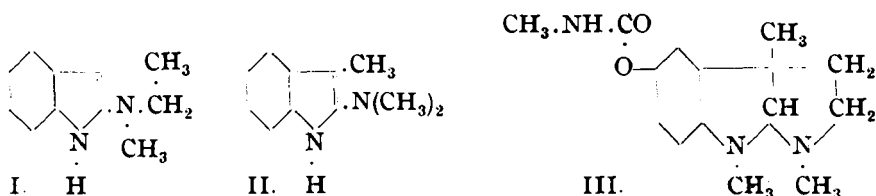
⁶⁾ Euler u. Erdtman, A. 520, 1 [1935].

Skatol, Indol oder α,β -disubstituierte Indol-Derivate lassen hingegen bei der Kuppelung, wenn überhaupt, jedoch keine roten Azofarbstoffe entstehen.

Nach dem in der vorhergehenden Arbeit in Erwägung gezogenen Formelbild für Gramin, α -Dimethylamino- β -methyl-indol (II), sollte man erwarten, daß Gramin durch Säuren hydrolysiert wird in Dimethylamin und 3-Methyl-2-oxindol (Atroxindol). Daß Säuren tatsächlich Gramin angreifen, ist durch die spektroskopischen Versuche von Hellström und Löfgren⁷⁾ gezeigt worden. Bei dieser Reaktion entsteht ein bis jetzt nicht isoliertes Produkt, vorläufig als „Phenyl X“ bezeichnet⁸⁾, dessen Ultraviolett-Absorptionsspektrum eine gewisse Ähnlichkeit, allerdings keine Identität, mit dem Spektrum des Atroxindols zeigt.

Bemerkenswert ist, daß das Gramin bei der Oxydation mit Chromsäure nach Kuhn-Roth keine Essigsäure liefert — wir verdanken die Ausführung dieses Versuchs Hrn. Prof. Dr. P. Karrer in Zürich —, während Skatol Essigsäure in einer Menge ergab, welche etwa einer Gruppe C.CH₃ entspricht. Nach diesen Ergebnissen muß es als sehr unwahrscheinlich betrachtet werden, daß das Gramin eine Methylgruppe in β -Stellung enthält.

Berücksichtigt man alle bis jetzt über das Gramin ermittelten Tatsachen, die allerdings nicht leicht miteinander zu vereinbaren sind, so ergibt sich, daß sie sich wohl am ehesten durch Formel I ausdrücken lassen.



Gegen diese Formulierung spricht allerdings die beobachtete Bildung von Skatol, ferner das Ausbleiben der Ehrlichschen Reaktion. Letztere ist jedoch auch beim 2-(Dimethylamino-methyl)-indol sehr schwach, obwohl dort die β -Stellung sicher frei ist. Ferner sollte die Äthylgruppe nach Kuhn-Roth Essigsäure liefern, was nicht der Fall ist⁹⁾.

Die Formulierung des Gramins als 2-(Methyl-äthyl-amino)-indol kann sich kaum auf Analogien oder den bekannten Alkaloiden stützen. Eine gewisse bemerkenswerte Verwandtschaft zum Eserin (Physostigmin), dessen Formel durch die Arbeiten von Robinson, sowie von Julian und Pikel, sowie Max und Polonowski aufgeklärt worden ist¹⁰⁾, scheint zu bestehen. Gramin selbst hat aber nicht oder nur in geringem Grad die typischen Wirkungen auf die Verengerung der Pupille. Nach Versuchen von Dr. U. S. von Euler wird beim Kaninchen der Blutdruck durch 0.4—0.8 mg mäßig herabgesetzt, etwa wie durch Physostigmin.

⁷⁾ Euler, Hellström u. Löfgren, Ztschr. physiol. Chem. **234**, 160 [1935].

⁸⁾ Euler, Hellström u. Hagen, Arkiv Kemi **11** B, Nr. 36 [1934].

⁹⁾ vergl. aber die negativen Befunde bei ähnlichen Verbb. (Diäthylamin und Triäthylamin) Kuhn u. L'Orsa, Ztschr. angew. Chem. **44**, 853 [1931].

¹⁰⁾ vergl. Stedman u. Barger, Journ. chem. Soc. London **127**, 247 [1925]. — King u. Robinson, Journ. chem. Soc. London **1935**, 755. — Julian u. Pikel, Journ. Amer. chem. Soc. **57**, 755 [1935].

Beschreibung der Versuche.

Extraktion des Gramins.

Aus 10—12 kg frischer Keimblätter der Gersten-Sippe *Primus I* (Keimungs-Dauer 5—7 Tage) wurde Roh-gramin dargestellt. Gegenüber unserem früheren Verfahren der direkten Extraktion wurden Abänderungen getroffen, welche sich aus folgendem ergeben: Die frischen Blätter wurden im schwach erwärmten Luftstrom getrocknet, das Material auf der Maschine fein geschnitten und in Portionen von etwa 1 kg des trocknen Materials mit 50 ccm konz. Ammoniak angefeuchtet; nach 2—3 Tagen wurde die Masse mit Äther im Perkolator extrahiert. Die Extrakte wurden mit kleinen Mengen 5-proz. Salzsäure ausgeschüttelt. Die Gramin-Lösungen wurden durch angefeuchtete Tierkohle filtriert und die klaren Säure-Filtrate mit 40-proz. Natronlauge alkalisch gemacht, wobei das Gramin sofort auskristallisierte. Aus 1 kg getrockneten Blattmaterials (entspr. 10—12 kg frischer Pflanzen) wurde etwa 1—1.2 g Roh-gramin erhalten.

Zinkstaub-Destillation.

Da nur kleine Mengen Gramin zu diesen Versuchen zur Verfügung standen, verwendeten wir die von Kögl¹¹⁾ ausgearbeitete Mikro-Zinkstaub-Destillation. Die große Flüchtigkeit des Gramins bei höherer Temperatur machte jedoch eine Modifikation des ursprünglichen chemischen Verfahrens notwendig.

Als Destillations-Gefäße wurden Knieröhre von 5—6 mm Innen-durchmesser verwendet: Etwa 1 cm vom geschlossenen Ende des Rohres befindet sich eine schwache Verengung. Die hierdurch gebildete Kammer wird mit einer Mischung von 4—5 mg Gramin und elektrolytischem Zinkstaub gefüllt, wonach ein Propfen aus geglühtem Asbest lose eingesetzt wurde. Man füllt nun 1 cm elektrolytischen Zinkstaubs ein und schließt mit einem zweiten Asbest-Propfen. Etwa 2.5 cm vom geschlossenen Ende ist die Röhre umgebogen wie beim Kögl'schen Modell; unmittelbar oberhalb des Knies ist eine Ansatzröhre angeschmolzen zum Einleiten von Wasserstoff. Das offene Ende des Knierohres wird an einen geeigneten Absorptions-Apparat angeschlossen, welcher mit 5-proz. Salzsäure beschickt ist; die Luft wird aus dem Apparat durch Wasserstoff verdrängt. Nachdem der Wasserstoffstrom unterbrochen ist, wird der Zinkstaub mit einer kleinen Flamme in der Richtung vom Knie bis zum geschlossenen Ende der Röhre erhitzt. Die gramin-freie Schicht muß sich in ganz schwacher, kaum bemerkbarer Rotglut befinden, wenn man anfängt, die gramin-haltige zu erhitzen.

Bei zu starkem Erhitzen werden sehr kleine Mengen Destillat erhalten, bei zu schwachem Erhitzen gehen basische Produkte, vermutlich unverändertes Gramin, über. Bei richtig durchgeführter Destillation setzt sich das Destillat unmittelbar nach dem Knie als schwach gelblicher Tropfen ab, der beim Abkühlen erstarrt. Man leitet nun einen schwachen Wasserstoffstrom durch den Apparat, um basische Dämpfe in den Absorptions-Apparat überzuführen. Unmittelbar oberhalb bzw. unterhalb des Destillates wird die Röhre abgeschnitten, und die Stücke werden mit etwas Äther extrahiert. Der Extrakt von mehreren Destillationen wird mit 1-proz. Salzsäure geschüttelt, filtriert und eingedunstet. Das zurückbleibende, stark nach Skatol riechende Öl wird mit Wasserdampf destilliert, wobei eine in perlmutterglänzenden Blättchen kristallisierende Substanz im Destillat suspendiert erhalten wird. Diese Substanz bestand nicht aus reinem Skatol; ihr U.-V.-Absorptionsspektrum stimmte nahezu überein mit einer Mischung (1 : 1) von Skatol und Indol.

¹¹⁾ Kögl, A. 515, 14 [1935]; s. dort das Schrifttum.

Der Schmelzpunkt lag unscharf bei etwa 70—73°; bei Mischung mit Skatol stieg er auf 80—83°.

In einem Versuch gaben 50 mg aus 20 Knierohren destilliertes Gramin ein Roh-pikrat vom Schmp. 124—156° (die Destillation war bei tiefer Temp. ausgeführt worden, wobei der Zinkstaub kaum glühte. Beim Ausschütteln der Äther-Lösung des Destillates mit Salzsäure, sowie Neutralisation der letzteren mit 40-proz. Natronlauge fiel in erheblicher Menge eine unreine Substanz aus, die nicht weiter untersucht wurde). Nach einmaligem Umlösen des Roh-pikrates aus Methylalkohol war der Schmp. 170—172° (Misch-Schmp. 170—174°). Nach einer weiteren Umkrystallisation aus Methylalkohol wurden 9 mg Pikrat vom Schmp. 172—174° erhalten und der gleiche Misch-Schmp. mit authentischem Skatolpikrat.

3.434 mg Sbst.: 6.235 mg CO₂, 1.080 mg H₂O. — 2.456 mg Sbst.: 0.341 ccm N (25°, 753 mm).

C₁₅H₁₂N₄O₇. Ber. C 50.0, H 3.3, N 15.6.

Gef. „ 49.5, „ 3.5, „ 15.8.

Bei einem anderen Versuch (50 mg Gramin; 10 Knierohre), bei dem der Zinkstaub während der Destillation in heller Rotglut gehalten wurde, ergaben sich nach Aufarbeitung wie oben nur 10 mg Roh-pikrat vom Schmp. 130—136°.

Zur Untersuchung der ammoniakalisch riechenden Gase, welche sich bei der Zinkstaub-Destillation bilden, wurde die Salzsäure im Absorptionsgefäß zuerst mit Äther ausgeschüttelt und dann im Vakuum über Kali eingedunstet. Es blieb nur ein sehr unbedeutender Rest, der in destilliertem Wasser gelöst und mit Natronlauge neutralisiert wurde. Nach Destillation und Auffangen der übergegangenen ammoniakalisch riechenden Dämpfe in verd. Salzsäure und Eindunsten im Vakuum über Kali wurde mit Goldchlorid in geringer Menge eine gelbe schwerlösliche Substanz erhalten. Die Ausbeute war indes stets zu gering, um eine nähere Charakterisierung zu gestatten. Alkyl-amine sind bekanntlich bei höherer Temperatur nicht stabil.

Farbreaktion mit diazotierter Sulfanilsäure: Eine stark verdünnte Lösung von Gramin in Methylalkohol wurde mit einer sauren Lösung von diazotierter Sulfanilsäure (frei von nitrosen Gasen), die einen großen Überschuß von Natriumacetat enthielt, versetzt. Eine schwach gelbe Färbung wurde wahrgenommen, die bei Zusatz von 2-n. Soda nicht verändert wurde, nach Zusatz von 2-n. NaOH schlug die Farbe nach Rot um. In gleicher Weise verhielten sich α -(Dimethylamino-methyl)-indol und α -Methyl-indol. Das Indol gab dabei gelbbraune Farbe unter Trübung, das Skatol eine gelbbraune Lösung.

Auch Farbreaktionen, die an unserem über das Pikrat gereinigten Destillationsprodukt vergleichend mit reinem Skatol in entsprechenden Mengen ausgeführt wurden, zeigten vollständige Übereinstimmung sowohl im Farbton wie in der Farbstärke: Violettfärbung mit Nitroprusidnatrium und Natronlauge und darauffolgendem Kochen mit Essigsäure; blauviolette Färbung mit dem Ehrlichschen Reagens, die bei Zusatz von Nitrit in Blau übergeht; bräunliche Färbung mit Formaldehyd und konz. Schwefelsäure; violettrote Färbung bei Unterschichtung von mit Methylalkohol versetzter Lösung mit ferrisulfat-haltiger konz. Schwefelsäure (Sasakis-Reaktion). Auch das Absorptionsspektrum war identisch mit dem des Skatols.