

Tafel 8. Oxydativer Umsatz von Coriester

Gefäß Nr.	1	2	3	4	5
$m/_{50}$ Coriester	+	+	-	+	-
$m/_{200}$ ATP	+	-	+	+	+
$m/_{2000}$ DPN	+	+	+	+	+
$m/_{300}$ Jodacetat	-	-	-	+	+
Zeit für 80% Entfärbung in Minuten	8.5	16	12	12	16

### 115. Alfred Bertho und Alois Stoll: Bärlapp-Alkaloide, I. Mitteil.: Zur Kenntnis der Alkaloide aus *Lycopodium annotinum* L\*) \*\*)

[Aus dem Chemischen Laboratorium der Universität München, Außenstelle Weilheim/Obb. und München]

(Eingegangen am 10. März 1952)

In einheimischem *Lycopodium annotinum* L. wurden sieben Alkaloide aufgefunden und durch Salze, UV-Absorptionsspektren usw. charakterisiert. Acrifolin  $C_{16}H_{23}O_2N$ , Annotinin  $C_{16}H_{21}O_3N$  und Lycopodin  $C_{16}H_{25}ON$  sind bereits bekannt; Annotin  $C_{16}H_{23}O_4N$ , Annotoxin  $C_{31}H_{42}O_5N_2$ , eine weitere mit Lycopodin isomere Base  $C_{16}H_{25}ON$  und eine Base  $C_{10}H_{19}[21]ON$  sind bisher nicht beobachtet worden. Es werden verschiedene Umsetzungen beschrieben, u.a. ein Abbau eines Umwandlungsproduktes des Acrifolins.

Die Bärlappgewächse (*Lycopodiaceen*<sup>1)</sup>) sind mit sechs Arten, *Lycopodium annotinum* L. (sprossender Bärlapp), *L. clavatum* L. (Kolbenbärlapp, Wolfsranke), *L. complanatum* L. (flacher Bärlapp), *L. inundatum* L. (Sumpfbärlapp), *L. alpinum* L. (Alpenbärlapp) und *L. selago* L. (Tannenbärlapp) nebst 44 Formen und Varietäten in Mitteleuropa heimisch, wovon die beiden ersten Arten, *L. annotinum* und *L. clavatum*, wegen ihrer meterlangen, immergrünen, weit über den Boden hinkriechenden Stengel unter der Bezeichnung Schlangenmoos am bekanntesten sind. Auf die Verwendung der Bärlappgewächse, vor allem von *L. clavatum* und dessen reifen Sporen (Hexenmehl), die sich in keulenförmigen Sporophyllständen befinden, in der Volksmedizin bei Hauterkrankungen, Blasenleiden usw. kann hier nur kurz hingewiesen werden. Bekannt ist die offizinelle Verwendung des Sporenpulvers als Pillenstreumittel und sein Gebrauch bei physikalischen Versuchen. In der exakten Medizin dürften indessen die Bärlappgewächse nur wenig verwendet werden, weil ihre arzneiliche Wirksamkeit zu wenig erforscht ist.

Immerhin sind schon im älteren Schrifttum ganz vereinzelt Arbeiten vorhanden, die in der berechtigten Vermutung, daß sich die Wirksamkeit auf Alkaloide zurückführen ließe, sich mit einigem Erfolg mit der Isolierung von Lycopodium-Alkaloiden befassen. Die dann nach einer langen Zeitspanne von rund einem halben Jahrhundert seit 1938 erschienenen Arbeiten über Lycopo-

\*) Diese Untersuchung ist Herrn Geheimrat Professor Dr. H. Wieland zum 75. Geburtstag gewidmet.

\*\*\*) Der Inhalt der vorliegenden Arbeit ist zum größeren Teil der Dissertat. von A. Stoll, Universität München, 1952, entnommen. Dies betrifft in der Hauptsache alle Befunde über Annotin, Acrifolin und Annotinin. Dort sind auch weitere Angaben zu entnehmen.

<sup>1)</sup> Erschöpfenden Aufschluß über diese Pflanzenfamilie gibt das Werk von H. Nessel, Die Bärlappgewächse (*Lycopodiaceae*) (Gustav Fischer, Jena 1939).

diaceen-Alkaloide, die man polnischen und vor allem kanadischen Forschern verdankt, haben zu dem überraschenden und in der Alkaloidchemie wohl einzig dastehenden Ergebnis geführt, daß, ganz abgesehen von prozentualen Schwankungen im Mengenverhältnis der isolierten Alkaloide, ebenso wie in voneinander verschiedenen auch in gleichen Arten bzw. Formen und Varietäten dieser Arten je nach dem Standort der Pflanzen völlig verschiedene Alkaloide enthalten sein können. Es erschien deshalb reizvoll, Vertreter der Gattung *Lycopodium* aus unserer engeren Heimat einer eingehenden Untersuchung zu unterziehen, zumal die einzige deutsche und älteste einschlägige Veröffentlichung überhaupt bereits aus dem Jahre 1881 stammt<sup>2)</sup>. In ihr beschreibt K. Boedeker ein aus dem einheimischen *Lycopodium complanatum* L. isoliertes Alkaloid Lycopodin vom Schmp. 114–115<sup>0</sup> und der Formel  $C_{32}H_{52}O_3N_2$ , die heute allerdings als unrichtig bezeichnet werden muß, nebst einigen Salzen. Es war dies das erste Alkaloid aus der Gruppe der Pteridophyten (Farnpflanzen), zu denen die Bärlappgewächse gehören, und das erste einigermaßen bekannte der an und für sich nicht eben zahlreichen Kryptogamen-Alkaloide.

Als weitere Arbeit des älteren Schrifttums ist auch jene von P. N. Arata und F. Canzoneri<sup>3)</sup> zu erwähnen, die aus dem südamerikanischen *Lycopodium saururus* Lam., dem sog. „Pillijan“, dessen Aufguß in Peru und Chile als Fiebermittel dient, das bereits von Ch. Capdeville<sup>4)</sup> beobachtete und benannte Pillijanin, ein bei 64–65<sup>0</sup> schmelzendes Alkaloid von coniinähnlichem Geruch und der angeblichen Formel  $C_{15}H_{24}ON_2$  näher untersuchten. V. Deulofeu und J. De Langhe<sup>5)</sup> kamen indessen bei Nacharbeitung der Angaben jener Autoren zu gänzlich anderen Ergebnissen. Sie fanden an Stelle des Pillijanins das sirupöse Saururin  $C_{10}H_{19}N$ , das als tertiäre Base ein Jodmethylat bildet, sowie in geringer Menge das bei 198<sup>0</sup> schmelzende Sauroxin  $C_{17}H_{26}ON_2$ .

J. Muszynski<sup>6, 7, 8)</sup> berichtete in neuerer Zeit in drei Arbeiten über Untersuchungen mit den mitteleuropäischen Lycopodiumarten (mit Ausnahme von *L. alpinum* L. und von *L. saururus* Lam.). Seine pharmakologischen Tests ergaben, daß eine 0,2 g *L. selago* entsprechende Abkochung schon genügt, um Mäuse und Frösche unter den Erscheinungen einer Curarin-Vergiftung zu töten<sup>7)</sup>. Analoge, wenn auch schwächere Wirkungen wurden auch bei *L. annotinum*, *L. clavatum*, *L. complanatum* und *L. inundatum* festgestellt. Die von Muszynski durchgeführten chemischen Arbeiten waren indessen weniger glücklich. In seiner letzten Arbeit<sup>8)</sup> vertritt er die Ansicht, daß es sich bei den von ihm aus den erwähnten Bärlapparten isolierten amorphen basischen Inhaltsstoffen nicht um einzelne Alkaloide, sondern um Alkaloid-Komplexe handle. Diese Auffassung erfuhr allerdings von keiner Seite eine Bestätigung; sie ist durch die noch zu besprechenden Arbeiten anderer Autoren und unsere eigenen Arbeiten unhaltbar geworden.

Erstmals Klärung in die unübersichtlichen Verhältnisse brachte eine andere polnische Arbeit von O. Achmatowicz und Wl. Uzieblo<sup>9)</sup>. Die eingehende Untersuchung von *L. clavatum* L. polnischen Ursprungs führte nach langwierigem Reinigungsprozeß des Rohbasengemisches (etwa 0,12% des Krautes) und fraktionierter Kristallisation zu den drei Basen Lycopodin  $C_{16}H_{25}ON$ , Schmp. 115–116<sup>0</sup> (83% des Kristallisats), Clavatrin  $C_{16}H_{25}O_2N$ , Schmp. 212

<sup>2)</sup> K. Boedeker, A. 208, 363 [1881].

<sup>3)</sup> Gazz. chim. Ital. 22 I, 146 [1892]; vergl. auch J. A. Dominguez, C. 1932 I, 3452.

<sup>4)</sup> Dissertat. Paris 1886; Adrian, Compt. rend. Acad. Sciences 102, 1322 [1886].

<sup>5)</sup> Journ. Amer. chem. Soc. 64, 968 [1942]. <sup>6)</sup> Arch. Pharmaz. 278, 452 [1935].

<sup>7)</sup> C. 1937 I, 2403; vergl. a. F. Oficjalaki, C. 1938 I, 1826. <sup>8)</sup> C. 1948 II, 100.

<sup>9)</sup> Roczniki Chem. 18, 88 [1935] (C. 1945 II, 1331).

bis 213°, und Clavatoxin  $C_{16}H_{27}O_2N$ , Schmp. 185–186°. Alle drei Alkaloide haben weder eine  $NCH_3$ - noch eine  $OCH_3$ - noch eine  $OH$ -Gruppe. Lycopodin, ebenso wie Clavatin eine tertiäre Base, ist katalytisch nicht hydrierbar, besitzt auch keinen aktiven Wasserstoff, während jedoch Clavatoxin zwei aktive Wasserstoffatome aufweist.

In umfassender Weise haben sich in bisher elf Veröffentlichungen aus den Jahren 1942–1950 die beiden kanadischen Forscher R. H. F. Manske und L. Marion<sup>10–20</sup>) mit den Alkaloiden aus Lycopodiaceen meistens kanadischer bzw. nordamerikanischer Herkunft befaßt.

Zur Untersuchung gelangten *L. complanatum* var. *flabellatum* (*L. flabelliforme* Fern.<sup>10</sup>), *L. annotinum* L.<sup>12</sup>), *L. tristachyum* Pursh<sup>13</sup>), *L. obscurum* L.<sup>14</sup>), *L. clavatum* L.<sup>15</sup>), *L. lucidulum* Michx. (*Urostachys lucidulus* Herter<sup>16</sup>), *L. sabinaefolium* Willd.<sup>17</sup>), *L. annotinum* var. *acrifolium* Fern.<sup>18</sup>), *L. cernuum* L.<sup>19</sup>). Das Ergebnis dieser Untersuchungen gipfelte u. a. in der Auffindung der unerwartet großen Zahl von 33 neuen Alkaloiden<sup>21</sup>), von denen jedoch nur fünf, deren Reinheit und Einheitlichkeit außer jedem Zweifel steht, mit Trivialnamen versehen wurden. Zur Charakterisierung der Basen, die in einer größeren Anzahl von Fällen als solche nicht isoliert wurden, benutzten Manske und Marion fast ausschließlich die Perchlorate. Die Darstellung kristallisierter Pikrate der Lycopodiumbasen gelang ihnen nicht<sup>10</sup>). Manske und Marion<sup>15</sup>) haben bei der Aufarbeitung von *L. clavatum* amerikanischen Ursprungs Clavatin und Clavatoxin nicht isolieren können. Sie fanden Lycopodin, dessen Summen-Formel  $C_{18}H_{25}ON$  sie bestätigten. Da diese Base in fast allen Lycopodiumarten aufgefunden wurde mit Ausnahme von *L. cernuum* und *L. saururus*, ist damit die Identität mit der Boedekerschen Base erwiesen und deren Formel richtiggestellt. Außer Lycopodin fanden sich in *L. clavatum* drei neue Alkaloide, so daß Manske und Marion die Möglichkeit in Erwägung ziehen, es müsse sich um art- oder wenigstens um varietätverschiedene Pflanzen handeln. Jedenfalls belegt dieser Befund deutlich die Eigenart der Lycopodiaceen, in gleichen Arten je nach Standort oder in Varietäten ganz verschiedene Alkaloide zu führen.

*L. complanatum* var. *flabellatum* lieferte insgesamt acht Alkaloide, darunter Lycopodin als Hauptbase<sup>10</sup>). Die Summenformeln der Alkaloide L1 (Complanatin),  $C_{18}H_{31}ON$ , L2,  $C_{18}H_{29}O_2N$ , L3,  $C_{18}H_{31}O_2N$ , und L4,  $C_{16}H_{27}N$ , lassen eine Verwandtschaft mit Lycopodin vermuten, während L5,  $C_{18}H_{28}O_2N_2$ , und L6,  $C_{18}H_{28}ON_2$ , das von Manske und Marion zuerst aus *L. obscurum* isolierte Obscurin<sup>14</sup>), einem anderen Konstitutionstyp anzugehören scheinen. In diese beiden Typen, und zwar hauptsächlich in die erste, ordnen sich auch alle anderen Alkaloide ein. Bemerkenswert ist das Vorkommen von Nicotin in geringer Menge, das späterhin auch aus vielen anderen Lycopodium-Arten (*L. sabinaefolium*, *L. lucidulum*, *L. clavatum*, *L. cernuum*, *L. tristachyum*) isoliert wurde, weil es das erstmals beobachtete Vorkommen bei den Pteridophyten ist.

<sup>10</sup>) R. H. F. Manske u. L. Marion, *Canad. Journ. Res.* **20**, 87 [1942].

<sup>11</sup>) L. Marion u. R. H. F. Manske, *Canad. Journ. Res.* **20**, 153 [1942].

<sup>12</sup>) R. H. F. Manske u. L. Marion, *Canad. Journ. Res.* **21**, 92 [1943].

<sup>13</sup>) L. Marion u. R. H. F. Manske, *Canad. Journ. Res.* **22**, 1 [1944].

<sup>14</sup>) R. H. F. Manske u. L. Marion, *Canad. Journ. Res.* **22**, 53 [1944].

<sup>15</sup>) L. Marion u. R. H. F. Manske, *Canad. Journ. Res.* **22**, 137 [1944].

<sup>16</sup>) R. H. F. Manske u. L. Marion, *Canad. Journ. Res.* **24**, 57 [1946].

<sup>17</sup>) L. Marion u. R. H. F. Manske, *Canad. Journ. Res.* **24**, 63 [1946].

<sup>18</sup>) R. H. F. Manske u. L. Marion, *Journ. Amer. chem. Soc.* **69**, 2126 [1947].

<sup>19</sup>) L. Marion u. R. H. F. Manske, *Canad. Journ. Res.* **26**, 1 [1948].

<sup>20</sup>) D. B. MacLean, R. H. F. Manske u. L. Marion, *Canad. Journ. Res.* **28**, 460

[1950].

<sup>21</sup>) Zusammenstellung bei H.-G. Boit, Fortschritte der Alkaloidchemie seit 1933, S. 342.

Außer Obscurin kommen nach Manske und Marion<sup>14)</sup> in *L. obscurum* u. a. zwei Alkaloide der Formel  $C_{16}H_{25}ON$  vor, die also mit Lycopodin isomer sein müssen. Eines von diesen, L13, war auch im amerikanischen *L. clavatum* sowie in verschiedenen anderen Arten enthalten. L32 (Cernuin),  $C_{16}H_{26}ON_2$ , erwies sich als Hauptalkaloid von *L. cernuum* L.<sup>19)</sup>

Im Hinblick auf unsere Arbeit interessierten uns in erster Linie die Ergebnisse von Manske und Marion hinsichtlich der Basen aus *L. annotinum* L.<sup>12)</sup> kanadischen Ursprungs. Die Anwesenheit von Alkaloiden in *L. annotinum* war schon von A. Orechhoff festgestellt worden<sup>22)</sup>. Die kanadischen Forscher isolierten acht Basen<sup>12)</sup>, darunter das schon bekannte Obscurin und in sehr kleiner Menge Lycopodin, das im vorliegenden Fall nicht Hauptalkaloid ist. Das Hauptalkaloid L7 ( $C_{16}H_{21}O_3N$ ) vom Schmp. 232° (korr.) erhielt den Namen Annotinin. Die anderen fünf in einer Ausbeute von weniger als 0.01% erhaltenen Basen sind die beiden miteinander isomeren Basen L8 und L9 ( $C_{16}H_{25}O_2N$ ), L10 ( $C_{16}H_{27}ON$ ), die mit Annotinin isomere Base L11 und die Base L12 ( $C_{18}H_{25}O_3N$ ).

In dem Bemühen, eine größere Menge Annotinin für die Konstitutionsermittlung zu beschaffen, wurde von Manske und Marion<sup>18)</sup> eine größere Menge pflanzlichen Materials verarbeitet. Abweichend von den ersten Ergebnissen traten jedoch neben Annotinin als Hauptalkaloid fünf neue Basen auf: L27 ( $C_{16}H_{23}O_2N$ ), L28 ( $C_{17}H_{27}O_2N$ ), L29 ( $C_{16}H_{23}O_2N$ ), isomer mit L27, L30 ( $C_{18}H_{25}O_2N$ ) und L31 ( $C_{20}H_{29}O_4N$ ), während die bei der ersten Aufarbeitung gefundenen Alkaloide Obscurin, L8, L9, L11 und L12 fehlten. Die Ursache für diese stark abweichenden chemischen Befunde war in der Tatsache zu suchen, daß das zuletzt verarbeitete Material von *L. annotinum* var. *acrifolium* stammte. Sie gaben Manske und Marion Veranlassung, die Varietät als Art zu bezeichnen<sup>18)</sup>, dies auch in Anbetracht morphologischer Eigenschaften. Die neue Base L27 ( $C_{16}H_{23}O_2N$ ) vom Schmp. 97°, die aus Hexan in farblosen Nadeln kristallisiert, erhielt den Namen Acrifolin. Sie wurde wie die übrigen Basen durch ihr Perchlorat charakterisiert. Lediglich diese Base und L30 konnten als freie Basen in kristallisierter Form gewonnen werden.

Da das Hauptalkaloid Annotinin am leichtesten in größerer Menge zugänglich war und die Aufspaltung seiner Lactongruppe mit alkoholischem Kali einen ersten Eingriff in das Molekülgefüge zu erlauben schien, haben Manske und Marion sich sehr eingehend mit dieser Base befaßt, umso mehr als die Konstitutionsermittlung mit übersichtlichen Methoden bei den meisten anderen Lycopodium-Alkaloiden wegen des Fehlens von funktionellen Gruppen auf Schwierigkeiten stieß.

Die von Manske und Marion<sup>18)</sup> mit Annotinin durchgeführten Reaktionen seien, weil sie direkt Bezug auf unsere Arbeit haben, in Kürze wiedergegeben. Annotinin,  $C_{16}H_{21}O_3N$ , läßt sich durch Erhitzen mit alkoholischer Kalilauge in ein wasserlösliches Salz überführen, aus dem nach Erhitzen der angesäuerten Lösung auf Zugabe von Ammoniak nicht die Ausgangsbase, sondern eine um ein Molekül Wasser reichere Base, das Annotinin-hydrat,  $C_{16}H_{23}O_4N$ , abgeschieden wird. Oxydation des Alkaloids durch langsame Zugabe von Permanganat liefert die Base  $C_{16}H_{19}O_4N$  mit intaktem Lactonring, die als Diketon anzusprechen ist, weil Clemmensen-Reduktion aus ihr die gesättigte Base  $C_{16}H_{23}O_2N$  liefert. Beim Versuch, Annotinin selbst der Clemmensen-Reduktion zu unterwerfen, wurden unerwartete Ergebnisse erhalten, indem

<sup>22)</sup> Arch. Pharmaz. 272, 673 [1934].

nämlich lediglich Salzsäure unter Bildung des Chlorhydrins  $C_{16}H_{22}O_3 \cdot NCl$  addiert wurde, das ebenso wie das entsprechende Bromhydrin in Form des schwer löslichen halogenwasserstoffsäuren Salzes anfällt. Mit alkoholischer Alkalilauge geht das Chlorhydrin in Annotinin-hydrat über, Reduktion mit Chrom(II)-chlorid liefert die chlorfreie ungesättigte Base  $C_{16}H_{21}O_2N$ , die sich leicht katalytisch zu der schon erwähnten Base  $C_{16}H_{23}O_2N$  reduzieren läßt.

Nach diesen Befunden darf angenommen werden, daß Annotinin eine Ätherbrücke enthält, die im Annotinin-hydrat zum Diol, im Salzsäure-Einwirkungsprodukt zum Chlorhydrin geöffnet ist. Bei dessen Reduktion mit Chrom(II)-chlorid entsteht zunächst ein Alkohol, der leicht Wasser abspaltet. Das Oxydationsprodukt des Annotinins,  $C_{16}H_{19}O_4N$ , wäre das dem diskundären Glykol entsprechende Diketon, das wegen seiner Farblosigkeit und Beständigkeit kein 1.2- oder 1.3-Diketon sein kann. Demnach muß der Ätherring fünf- oder sechsgliedrig sein. In Übereinstimmung damit läßt sich Annotinin-hydrat nicht wie 1.2-Diole mit Perjodsäure oxydieren. Nicht ohne weiteres verständlich bleibt nach dieser Auslegung die Leichtigkeit, mit der Alkali den großen Ätherring öffnet.

Bezüglich der Bindungsverhältnisse der beiden anderen Sauerstoffatome, die in einer Lactongruppe vorliegen sollen, ist durch die mitgeteilten Reaktionen nichts ausgesagt. Die Tatsache, daß Annotinin beim Erhitzen mit alkoholischer Kalilauge ein wasserlösliches Salz bildet, reicht unseres Erachtens nicht aus, um es als Lactonbase zu charakterisieren. Entscheidend jedoch ist das Auftreten einer Lactoncarbonyl-Bande bei  $1776 \text{ cm}^{-1}$  im Infrarot-Spektrum des Annotinins<sup>23)</sup>, wie sie ähnlich auch bei anderen Lactonen angetroffen wird.

Der geringeren Angreifbarkeit seines Moleküls entsprechend sind im Gegensatz zum Annotinin beim Lycopodin durch energische Abbaureaktionen Ergebnisse erzielt worden, die Schlüsse auf das Grundskelett zulassen<sup>11)</sup>. Diese Ergebnisse seien im Hinblick auf die zweifellos sehr enge Verwandtschaft der  $C_{16}$ - bzw.  $C_{18}$ -Basen untereinander ebenfalls erwähnt. Der Ketocarbonylsauerstoff des Lycopodins war zunächst nicht als solcher erkannt worden<sup>11)</sup>; die Carbonylgruppe ist offenbar die einzige funktionelle Gruppe des Moleküls. Zunächst gelang es lediglich, durch Dehydrierung mit Selen ein Gemisch von fünf Basen zu isolieren, von denen zwei sich als 7-Methyl-chinolin und 5.7-Dimethyl-chinolin erwiesen. Marion und Manske<sup>11)</sup> messen jedoch der Bildung von Chinolinen im Verlauf von Abbaureaktionen bei hohen Temperaturen unter Hinweis auf die Geschichte der Konstitutionsermittlung des Cytisins keine Beweiskraft bei. Nachdem aber 7-Methyl-chinolin aus Lycopodin auch auf zwei anderen Wegen erhalten werden konnte, nämlich durch Erhitzen der Base mit Palladium-Bariumsulfat auf  $250^{\circ}$  in der Stickstoffatmosphäre und mit Phthalsäureanhydrid im geschlossenen evakuierten Rohr auf die gleiche Temperatur, nehmen sie an, daß der vollkommen hydrierte Chinolin-Kern im Lycopodingerüst anwesend ist, weil die beiden verwendeten Reagenzien sich nicht in gleicher Weise bei der Öffnung und Neubildung von Ringen verhalten

<sup>23)</sup> L. Marion, D. A. Ramsay u. R. N. Jones, Journ. Amer. chem. Soc. **73**, 305 [1951].

dürften. Man muß außerdem mit Marion und Manske<sup>11)</sup> die Annahme machen, daß, nachdem der Stickstoff tertiär ist und kein *N*-Methyl trägt, er zwei Ringen angehört.

D. B. MacLean, R. H. F. Manske und L. Marion<sup>20)</sup> konnten acht Jahre später in ihrer letzten Arbeit auch die Natur des einzigen Sauerstoffs im Molekül aufklären, das sie ursprünglich als Sauerstoffbrücke eines cyclischen Äthers ansprachen, als es ihnen gelang, durch Bildung eines Hydrazons eine Ketocarbonylgruppe nachzuweisen. Als Keton läßt sich Lycopodin mit Lithiumaluminiumhydrid zum sek. Alkohol, mit Phenyllithium zum tert. Carbinol umsetzen. Schließlich ergibt sich die Anwesenheit der Ketocarbonylgruppe aus einer Bande des Infrarot-Spektrums bei  $1693\text{ cm}^{-1}$ <sup>23)</sup>.

Der Hofmannsche und der Emdesche Abbau verliefen beim Lycopodin ergebnislos<sup>20)</sup>, ebenso der Versuch, das Alkaloid über sein *N*-Oxyd abzubauen<sup>20,24)</sup>. Der Abbau nach v. Braun<sup>20)</sup> mit Bromcyan ergab jedoch zwei isomere nicht basische Verbindungen,  $\alpha$ - und  $\beta$ -Cyan-brom-lycopodin,  $C_{17}H_{26}ON_2Br$ , in denen zweifellos eine Kohlenstoff-Stickstoff-Bindung unter Addition der Elemente des Bromcyans gelöst war. Diese beiden Komponenten waren einer Reihe von Umsetzungen zugänglich, von denen hier nur die Umsetzung der  $\alpha$ -Komponente mit Trimethylamin zum quartären Salz erwähnt sei, dessen freie Base im Hofmann-Abbau einerseits unter Methanol-Abspaltung, andererseits zum gleichen neutralen Produkt  $C_{17}H_{24}ON_2$  reagiert, das auch aus  $\alpha$ -Cyan-bromlycopodin unter der Einwirkung von methanolischer Kalilauge entsteht.

Für unsere eigene Arbeit\*\*) standen uns zunächst 52 kg getrocknetes Lycopodium annotinum-Kraut, das im Herbst in der Umgebung von Weilheim (Obb.) gesammelt worden war, zur Verfügung (Extrakt I), außerdem 20 kg aus der Gegend von Zwiesel (Extrakt II) und schließlich 7.2 kg eines Postens aus der Umgebung von München (Forsthaus Oberdill) (Extrakt III). Diese Angaben sind notwendig, weil sich hinsichtlich des Alkaloid-Gehaltes regionale Unterschiede ergeben.

Zwecks schonender Behandlung der Alkaloide wählten wir 3-proz. Weinsäure zur Extraktion des zerkleinerten Krautes. Auch mit 1-proz. Schwefelsäure wurde ein günstiges Ergebnis erzielt, doch schienen uns deren Verwendung bei einer größeren Extraktion wegen der schließlich zu erwartenden hohen Säurekonzentration weniger geeignet. Die durch erschöpfende Percolation des getrockneten und auf 2 mm zerkleinerten Krautes mit 3-proz. Weinsäure gewonnenen Extrakte wurden jeweils i. Vak. bis zur Sirup-Konsistenz eingeengt<sup>25)</sup>. Beispielsweise wog Extrakt I 8.7 kg. Wie im Versuchsteil beschrieben wird, wurden die Extrakte in Anteilen von etwa 1500 g nach dem Verdünnen und Alkalischemachen in einer Rührapparatur langandauernd kontinuierlich mit Äther extrahiert. Dies ist wegen der erheblichen Wasserlöslichkeit der Alkaloide notwendig. Beim Einengen der Ätherauszüge scheidet sich öfters ein großer Teil der Alkaloide in kristallisierter Form ab. Die nach Abdestillieren des Äthers verbleibenden sirupösen Rückstände liefern beim Anrühren mit Aceton reichliche Kristallisationen.

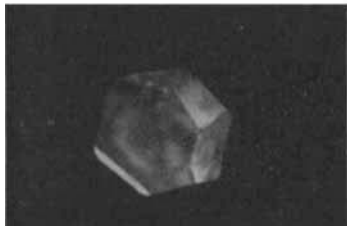
Aus 50 kg Kraut (Extrakt I) wurden so 76 g (0.15%) Gesamtalkaloid erhalten, von dem eben ein Drittel als Kristalliat vorlag (künftig als „Rohbase“ bezeichnet). Im Falle des Extraktes III ließ sich aber, wahrscheinlich auch, weil die Extraktion hier bestimmt bis zur restlosen Erschöpfung getrieben

<sup>24)</sup> Vergl. M. Polonovski u. M. Polonovski, Bull. Soc. chim. France [4] 41, 1190 [1927].

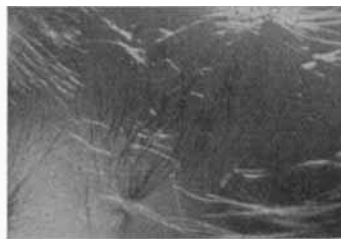
<sup>25)</sup> Die Anfertigung der Extrakte besorgte die Fa. Solvat-Chemie G.m.b.H., München 13.

wurde (Dauer 85 Stdn.), ein wesentlich höherer Prozentgehalt (0.41%) an basischer Substanz ermitteln, dem 0.095% festes Alkaloid entsprachen.

Die hellbraune kristalline „Rohbase“ konnte über die hervorragend kristallisierenden Nitrate in zwei Basen aufgeteilt werden, von denen die aus dem schwerer löslichen Nitrat gewonnene bei 172–173<sup>0</sup> 26) schmelzende sich als eine neue tertiäre Base der Zusammensetzung C<sub>16</sub>H<sub>23</sub>O<sub>4</sub>N erwies, die außerdem noch durch ihr Jodmethylat (Schmp. 236–237<sup>0</sup>) charakterisiert wurde. Sie soll mit Annotin bezeichnet werden (Abbild. 1). Die zweite Base, die aus



Abbild. 1. Annotin



Abbild. 2. Acrifolin

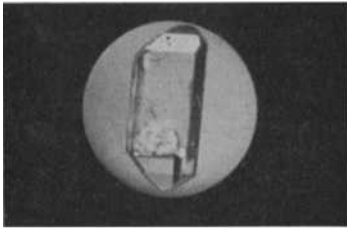
dem als zweite bzw. dritte Fraktion anfallenden leichter löslichen Nitrat in Freiheit gesetzt werden konnte, schmolz bei 103–104<sup>0</sup> und wurde auf Grund ihrer Zusammensetzung und derjenigen ihres Jodmethylates, ihres Hydrojodides und ihres Perchlorates als das bereits von Manske und Marion<sup>18)</sup> aus *L. annotinum* var. *acrifolium* isolierte tertiäre Acrifolin, C<sub>16</sub>H<sub>23</sub>O<sub>2</sub>N, erkannt (Abbild. 2). Die Identität ergab sich nachträglich schließlich noch durch den Misch-Schmelzpunkt mit einer authentischen Probe<sup>27)</sup>. Bemerkenswerterweise zeigen unsere Acrifolin-Proben in Chloroform-Lösung tiefe Violettfärbung, die an Aluminiumoxyd adsorbierbar ist.

Ein drittes Alkaloid schied sich häufig gegen Ende der Ätherextraktion als Kruste am Kolbenrand ab. Diese in Äther verhältnismäßig schwer lösliche Base war dann auch stets neben Annotin und Acrifolin in der „Rohbase“ anzutreffen und konnte nach Abtrennung dieser beiden Basen als Nitrate aus der verbleibenden Nitrat-Mutterlauge gewonnen und über das Perchlorat gereinigt werden. Sie erwies sich als das von Manske und Marion<sup>12, 18)</sup> aus *L. annotinum* amerikanischen Ursprungs und aus *L. annotinum* var. *acrifolium* gewonnene Annotinin (C<sub>16</sub>H<sub>21</sub>O<sub>3</sub>N) (Abbild. 3). Zur weiteren Identifizierung wurde das Nitrat, das von Manske und Marion beschriebene Annotininhydrat (C<sub>16</sub>H<sub>23</sub>O<sub>4</sub>N) (s. S. 666) und das ebenfalls von den beiden kanadischen Forschern beschriebene Hydrobromid des Annotininbromhydrins dargestellt. Die Identität unserer Base ergab sich schließlich noch aus der Mischprobe mit einem Originalpräparat<sup>27)</sup>. Annotinin liefert auch unter energischen Bedingun-

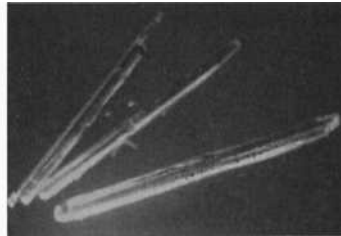
<sup>26)</sup> Die Schmelzpunkte sind unkorrigiert und, falls nicht anders angegeben, in der üblichen Weise mit amtlich geeichtem Thermometer bestimmt.

<sup>27)</sup> Wir danken Hrn. Prof. Manske für die freundliche Überlassung von kleinen Proben von Acrifolin und Annotinin bestens.

gen mit Methyljodid kein Jodmethylat. Da unsere Acetylierungs- und Methylierungsversuche mit Formaldehyd-Ameisensäure negativ ausfielen, darf man wohl annehmen, daß eine primäre oder sekundäre Base nicht vorliegt und die Jodmethylat-Bildung der tertiären Base aus sterischen Gründen erschwert ist.



Abbild. 3. Annotinin

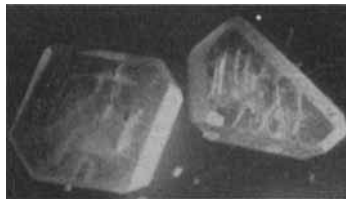


Abbild. 4. Annotinnitrat

Ebenso wie die beiden anderen Basen besitzt das Annotinin keine funktionellen Gruppen in Form von  $\text{OCH}_3$ ,  $\text{OH}$  und  $\text{NCH}_3$  und läßt sich ebensowenig wie jene hydrieren.

Aus 6.5 g kristallisierter „Rohbase“ des Extraktes I gelang es auf diese Weise 1.9 g Annotinnitrat (Abbild. 4), 2.1 g Acrifolinnitrat und (aus der Nitratmutterlauge) 0.27 g Annotinin zu gewinnen. Bei der Aufarbeitung des Extraktes II wurde indessen in der beschriebenen Weise hauptsächlich Annotinin, wenig Annotin, jedoch kein Acrifolin gefunden. Bezüglich des Extraktes III sind die Mengenverhältnisse der drei Basen noch nicht ermittelt.

Im bisher beschriebenen Trennungsgang war das in fast allen Lycopodiaceen vorkommende Lycopodin nicht aufgefunden worden. Es konnte möglicherweise in den sirupösen Mutterlaugen der kristallisierten „Rohbase“ vorhanden sein, was sich im weiteren auch bestätigte. Jedoch gelang es einmal, aus der „Rohbase“ des Extraktes I in sehr geringer Menge eine vierte Base abzutrennen, die in dicken kantigen Platten kristallisierte (Abbild. 5).



Abbild. 5. Annotoxin

Bei einer sehr gründlichen Fraktionierung des Extraktes III konnten die erwähnten beiden Basen dann in erheblicher Menge gewonnen werden. Da in diesem Fall das grüne Kraut unmittelbar nach dem Einsammeln rasch bei etwas erhöhter Temperatur getrocknet worden war, war sein Gehalt an Fetten, Lipoiden usw., der sonst zu vernachlässigen war, besonders hoch. Es erwies



sich daher als zweckmäßig, diese aus dem Ätherextrakt zu entfernen. Es geschah dies durch Ausziehen der Basen mit verd. Essigsäure. Aus der alkalisch gemachten Basen-Lösung wurden die Basen dann durch Ausäthern gewonnen. Als die ausgeätherte alkalische Fällungsflüssigkeit schließlich nach dem Einleiten von Kohlendioxyd einer sehr intensiven langandauernden Ätherextraktion unterzogen wurde, fiel die erwähnte, offenbar nur sehr schwer mit Äther extrahierbare vierte Base in etwas größerer Menge an und konnte schließlich aus dem in der üblichen Weise ausgerührten alkalischen Rohextrakt durch nochmalige 40stdg. Ätherextraktion vollständig isoliert werden, so daß aus 1.5 kg Extrakt (entspr. 7.2 kg Kraut) 29.5 g Gesamtalkaloid (0.41% des Krautes) und daraus schließlich insgesamt 2.45 g (0.034% des Krautes) der neuen Base erhalten werden konnten. Die bisher unbekannte Lycopodiumbase, die wir als Annotoxin bezeichnen, entspricht sehr genau der Formel  $C_{31}H_{42}O_5N_2$ , zeigt also gegenüber den Basen der  $C_{16}$ -Reihe eine abweichende Zusammensetzung, die voraussichtlich darauf zurückzuführen ist, daß das Grundgerüst dieser Reihe sich größtenteils im Molekül wiederholt. Die Base schmilzt scharf bei  $197^\circ$  und ist durch ein hervorragendes Kristallisationsvermögen ausgezeichnet. Sie konnte durch ihr verhältnismäßig leicht lösliches Dinitrat und ihr Diperchlorat charakterisiert werden. Sie liefert ein Dijodmethylat, das sich jedoch von der Desoxy- oder von der Anhydro-Base ableitet.

Bei der Verarbeitung des Extraktes III wurde auch die nicht mehr kristallisierende Mutterlauge der „Rohbase“ eingehend untersucht. Fällung mit Reinecke-Salz in wäßr.-acetonischer Lösung lieferte ein Reineckat-Gemisch, aus dem durch zweimaliges Umkristallisieren ein weitgehend einheitliches, gut kristallisiertes Salz gewonnen werden konnte, das sich als Reineckat des Lycopodins erwies. Die daraus in Freiheit gesetzte Base vom Schmp.  $120^\circ$  war mit dem Hauptalkaloid aus *L. clavatum* identisch, das aus einer kleinen Menge *L. clavatum*-Kraut über das ungewöhnlich schön kristallisierende und zur Abscheidung vorzüglich geeignete, bisher unbekannte Nitrat erhalten wurde. Nach früheren Angaben schmilzt Lycopodin bei  $114-115^{02)}$  bzw.  $115-116^{09)}$  bzw.  $116^{011)}$ . Zur weiteren Identifizierung diente auch das in beiden Fällen gewonnene Jodmethylat und das Pikrat, das von Manske und Marion nicht erhalten werden konnte<sup>11)</sup>.

Aus den Umkristallisations-Mutterlaugen der Reineckate wurden die Basen zurückgewonnen und aus absol. äther. Lösung mit absol. äther. Pikrinsäure gefällt. Aus dem in Alkohol leichter löslichen Anteil des anfallenden Pikratgemisches ließ sich ein Pikrat der Zusammensetzung  $C_{10}H_{19(21)}ON \cdot C_6H_3O_7N_3$  vom Schmp.  $121^\circ$  isolieren, das auch schon früher aus dem dem rohen Reineckat zugrunde liegenden Gesamtbasen-Gemisch direkt gewonnen worden war. Die diesem Pikrat zukommende Base ist nicht identisch mit Lupinin<sup>5, 28)</sup>, steht aber möglicherweise in enger Beziehung zu diesem und zum Sauroxin  $C_{10}H_{19}N$  von Deulofeu und De Langhe<sup>5)</sup>. Die Reingewinnung der Base, die, weil sie ein Jodmethylat bildet, tertiär sein muß, steht noch aus.

<sup>28)</sup> Eine Probe Lupinin wurde uns von Hrn. Prof. Winterfeld in dankenswerter Weise zur Verfügung gestellt.

Der in Alkohol schwerer lösliche Anteil der Pikrat-Fällung kristallisierte aus Alkohol in lockeren, hellgelben Rosetten vom Schmp. 241–241.5° (Zers.). Die diesem Pikrat zugrunde liegende Base  $C_{16}H_{25}ON$  ist tertiär, wie aus der Bildung eines Jodmethylates hervorgeht.

Sie besitzt also die Zusammensetzung des Lycopodins, ist aber, wie der Schmelzpunkt ihres Perchlorates (234°) zeigt, weder mit diesem noch mit einem der drei Lycopodin-Isomeren L13, L16, L24 identisch, deren Perchlorate nach Manske und Marion bei 274°, 221° und 278° (korr.) schmelzen, während Lycopodin-perchlorat bei 283° schmilzt. Diskutabel erscheint auch die Formel  $C_{16}H_{25}ON$ ; die Base selbst wurde noch nicht gefaßt.

Das nach erschöpfender Fällung mit Reinecke-Salz anfallende Filtrat wurde auf freie Basen verarbeitet. Es hinterließen 3 g einer blaßgelben, sirupösen Base, die der Destillation i. Hochvak. unterworfen werden soll.

In einer getrennten Aufarbeitung wurden auch die Fruchtständer von *L. annotinum* untersucht. Aus 1520 g gemahlenem Ausgangsmaterial wurden 10 g Gesamtbase bzw. 4.0 g Rohkristalliat erhalten, das zu 58 % aus Annotinin, im übrigen in der Hauptsache aus Annotin bestand, während Acrifolin nicht aufgefunden wurde.

Wir haben vor allem mit den drei Basen Annotin, Acrifolin und Annotinin in der Hoffnung, Hinweise auf die Natur des Grundskeletts zu erhalten, eine Anzahl von Farb- und Nachweisreaktionen durchgeführt. Es seien hier nur die positiven Ergebnisse aufgeführt.

Die drei Basen lassen sich sämtlich mit den bekannten Alkaloidfällungs-Reagenzien nachweisen bzw. abscheiden, wie Tannin, Bromwasser, Jod-Lösung, Dragendorffs Reagens (Kaliumwismutjodid-Lösung), Reinecke-Salz usw. Die Baeyersche Probe ist ebenso wie die Reaktion mit Tetranitromethan positiv, Befunde, die im Widerspruch mit der Nichthydrierbarkeit der Basen stehen. Mit diazotiertem Anilin (Pauly-Reaktion) kuppelt lediglich Acrifolin, das also voraussichtlich einen Benzolkern aufweist. Positiv war in allen drei Fällen die Reaktion mit dem sehr empfindlichen Reagens von O. Folin und W. Denis<sup>29)</sup> (Phosphormolybdänsäure + Phosphorsäure). Alle drei Basen fluorescieren unter der Quarzlampe, und zwar blau in Alkohol oder Aceton, grünblau in Essigsäure oder Salzsäure.

Es gelingt, wie an einem vorgereinigten Gemisch von Annotin, Acrifolin und Annotinin gezeigt werden konnte, diese Lycopodium-Alkaloide im zweidimensionalen Papierchromatogramm zu trennen. Derartige Trennungen sind in letzter Zeit verschiedentlich beschrieben worden. Z. B. haben H. Schmid und P. Karrer<sup>30)</sup> die zahlreichen Calceosourare-Alkaloide mit Hilfe von Dreikomponenten-Systemen trennen können. Die Sichtbarmachung der Flecken geschah hier durch UV-Licht oder durch Besprühen mit Cer(IV)-sulfat-Lösung.

Zur Ermittlung günstiger  $R_F$ -Werte wurden eine größere Anzahl von Dreikomponenten-Systemen und wassergesättigte Lösungsmittel geprüft. Wassergesättigtes Butanol erwies sich als am geeignetsten. Die Entwicklung der Flecken wurde mit stark verd. Dragendorffs Reagens bewerkstelligt. Die auftretende Orangefärbung ist wochenlang haltbar. In Einzelversuchen wurden die Flecken dann den einzelnen Basen zugeordnet. Mit Whatman-Papier Nr. 1 wurde für Annotin ein durchschnittlicher  $R_F$ -Wert von 0.35, für Acrifolin ein solcher von 0.44 und für Annotinin ein solcher von 0.60 gefunden.

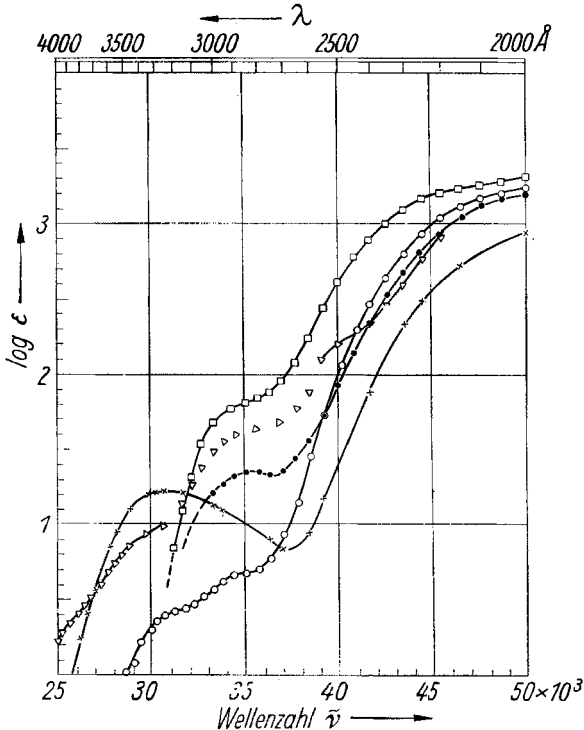
Erst nach Abschluß unserer diesbezüglichen Arbeiten wurde uns bekannt, daß R. Meunier und M. Macheboeuf<sup>31)</sup> zur papierchromatographischen Trennung von Alkaloiden ebenfalls Dragendorffs Reagens als Entwickler, Butanol im Gemisch mit organischen Säuren und Wasser als Lösungsmittel benutzen.

<sup>29)</sup> C. 1912 II, 1239.      <sup>30)</sup> Helv. chim. Acta 33, 512 [1950].

<sup>31)</sup> Bull. Soc. chim. biol. 32, 192 [1950] (C. 1951, I, 3400).

Von den fünf in kristallisierter Form erhaltenen Basen Annotin, Acrifolin, Annotinin, Annotoxin und Lycopodin wurden auch die UV-Absorptions-Spektren aufgenommen<sup>32)</sup> (Abbild. 6).

Das Spektrum (Abbild. 6) des Annotins zeigt nach zwei schwachen Banden bei 3250 und 2900 Å einen starken Anstieg der Kurve, welche bei etwa 2400 Å strukturlos in leichtem Bogen in den kurzwelligen Teil übergeht. Für Acrifolin konnten im langwelligen UV zwischen 3250 und 2570 Å auffallenderweise keine konstanten Kurvenwerte ermittelt werden, was vermutlich auf eine Zersetzlichkeit in diesem Wellenbereich hindeutet. Erst ab 2570 Å bleiben die Werte konstant und die Kurve verläuft fast parallel zu der von Annotin. Das Annotinin-Spektrum zeigt gegenüber den vier anderen starke Abweichungen, denn es weist im langwelligen UV ein breites Band mit einem Maximum



Abbild. 6. UV-Absorption von

Annotin  $m/_{1000}$  ○-○-○, Acrifolin  $m/_{1000}$  △-△-△,  
 Annotinin  $m/_{1000}$  ×-×-×, Lycopodin  $m/_{1000}$  □-□-□,  
 Annotoxin  $m/_{2000}$  •-•-• in absol. Äthanol

bei 3250 Å ( $\log \epsilon = 1.25$ ) auf, während der kürzerwellige Kurventeil parallel zu den beiden anderen entsprechenden Partien verläuft. Man könnte aus dem Maximum bei 3250 Å auf das Vorliegen einer Ketocarbonylgruppe schließen, wobei durch Substitution, analog wie etwa bei Hexamethylaceton, eine Rotverschiebung des Maximums, das normalerweise bei gesättigten Ketonen bei etwa 2800 Å liegt, eingetreten wäre<sup>33)</sup>. Da eine Keto-

<sup>32)</sup> Die Aufnahme der Spektren verdanken wir der Liebenswürdigkeit der Herren Prof. Dr. G. Scheibe u. Dipl.-Ing. R. Fauß.

<sup>33)</sup> Vergl. H. Mohler, Das Absorptions-Spektrum der chemischen Bindung (Gustav Fischer, Jena), S. 82.

carbonylgruppe aus chemischen Gründen und, wie sich aus dem Ultrarot-Spektrum, das zugunsten der Lactoncarbonylgruppe entscheidet<sup>23</sup>), ergibt, nicht vorhanden ist, und weil weiterhin Lactoncarbonyl, soweit sich das vorliegende Beobachtungsmaterial übersehen läßt, sich in den UV-Absorptionskurven nicht nachhaltig offenbart<sup>34</sup>), muß die Bande einer ungesättigten, unbekanntes, für das Annotinin typischen Gruppe zukommen.

Übersichtlicher sind die beiden einander sehr ähnlichen Kurven für Lycopodin und Annotoxin, die auf eine sehr nahe Verwandtschaft beider Alkaloide schließen lassen. Während auch hier die beiden Kurvenstücke im kurzwelligen Bereich des Spektrums parallel mit den anderen verlaufen, läßt sich aus den Maxima bei 2800 Å (Annotoxin:  $\log \epsilon = 1.35$ , Lycopodin:  $\log \epsilon = 1.8$ ) schließen, daß beide Substanzen eine Ketogruppe enthalten, die ja auch tatsächlich im Falle des Lycopodins einwandfrei nachgewiesen ist.

Die in größerer Anzahl mit Annotin, Acrifolin und Annotinin von uns durchgeführten Versuche erfolgten wegen der uns zur Verfügung stehenden kleinen Materialmengen meist nur in kleinsten Ansätzen von 50–100 mg. Sie besaßen gelegentlich nur orientierenden Charakter und müssen dann weiter verfolgt werden.

Selendioxyd das spezifisch  $\alpha$ -ständige Methylengruppen olefinischer Verbindungen oxydiert, ließ alle drei Basen unverändert. Man kann daraus eine gewisse Bestätigung für die gesättigte Natur der drei Basen ableiten. Acetopersäure konnte nicht zur Einwirkung auf Acrifolin gebracht werden. Unter Epoxyd-Bildung reagierende Doppelbindungen sind also in dieser Base nicht vorhanden. Kaliumpermanganat, das Manske und Marion<sup>18</sup>) als Oxydationsmittel mit Erfolg beim Annotinin angewandt haben, verbot sich aus dem eben erwähnten Grunde.

Mit besserem Ergebnis wurden die drei Basen mit metallorganischen Verbindungen umgesetzt. Mit Grignard-Reagens wurde in keinem Fall eine Einwirkung erzielt. Wie Manske und Marion beschreiben<sup>11</sup>), reagiert auch Lycopodin trotz des Vorhandenseins einer Ketogruppe nicht mit diesem Reagens, während sich letztere jedoch leicht mit Lithiumphenyl, das nach G. Wittig<sup>35</sup>) „das empfindlichste Reagens auf Carbonylgruppen“ ist, unter Bildung des Carbinols umsetzt<sup>20</sup>). Derartige Fälle sind verschiedentlich bekannt geworden<sup>36</sup>). Verantwortlich für diesen Unterschied ist das geringe Atomvolumen des Lithiums, das die zur Reaktion führende räumliche Annäherung gestattet. Tatsächlich konnte von uns Lithiumphenyl sowohl auf Annotin als auch auf Acrifolin, nicht aber auf Annotinin zur Einwirkung gebracht werden, wiewohl letzteres sich ähnlich wie bei der Einwirkung von Methyljodid der Reaktion verschloß. Während mit Acrifolin das zu erwartende Produkt  $C_{22}H_{29}O_2N$  entstand, das auch in Form eines gut kristallisierten Jodmethylates charakterisiert werden konnte, besaß das Umsetzungsprodukt mit Annotin nicht die erwartete Zusammensetzung  $C_{22}H_{29}O_4N$ , sondern eine solche, die der Formel  $C_{21}H_{27}O_3N$  entsprach, weshalb man annehmen muß, daß bei der Reaktion Formaldehyd abgespalten wird. Das Vorhandensein einer Carbonylgruppe dürfte jedenfalls in beiden Fällen damit als erwiesen gelten.

Nachdem Annotin sowie Acrifolin leicht Jodmethylate liefern, erschien es lohnend, an diesen beiden Basen den Abbau nach Hofmann zu versuchen. Drei Abbauversuche

<sup>34</sup>) Vergl. das UV-Absorptions-Spektrum der Ascorbinsäure; s. Fußn. <sup>33</sup>), S. 104–105.

<sup>35</sup>) Angew. Chem. **53**, 24 [1941]. <sup>36</sup>) G. Wittig u. H. Petri, B. **68**, 924 [1935].

mit Annotin, wobei in einem Fall 600 mg Jodmethylat eingesetzt wurden, lieferten keine befriedigenden Ergebnisse. Auf die gleichen Schwierigkeiten stießen MacLean, Manske und Marion<sup>20)</sup> beim Hofmannschen und ebenso beim Emdeschen Abbau des Lycopodins; auch dort waren alle Bemühungen erfolglos.

Man konnte jedoch mit der Möglichkeit rechnen, daß sich die beiden Basen aus der Umsetzung von Annotin und Acrifolin mit Lithiumphenyl infolge des neu eingetretenen Phenylrestes dem Hofmannschen Abbau zugänglicher erweisen würden als die Ausgangsbasen selbst. Diese Erwartung wurde durch das Ergebnis der thermischen Zersetzung der quartären Base aus der Umsetzung des Acrifolins mit Lithiumphenyl bestätigt, welche Reaktion zunächst allein geprüft werden konnte. Die in kantigen Prismen kristallisierende des-Base (Schmp. 192–193°) entspricht befriedigend der erwarteten Formel  $C_{23}H_{31}O_2N$ , was eindeutig beweist, daß unter Wasserabspaltung eine Ringöffnung stattgefunden hat. Der Hydrierungsversuch zum Nachweise der Doppelbindung in dieser des-Base soll ebenso wie die Untersuchung der weiteren Abbaustufen und der Abbau des Umsetzungsproduktes von Annotin mit Lithiumphenyl durchgeführt werden, sobald wieder Material zur Verfügung steht.

Entsprechende Angaben von Manske und Marion über einen Abbau des Reaktionsproduktes von Lycopodin mit Lithiumphenyl liegen nicht vor.

Beim Versuch, Annotin dem v. Braunschenschen Abbau mit Bromcyan zu unterwerfen, wurden vorläufig noch keine günstigen Ergebnisse erzielt, doch scheint es möglich, bei Einsatz größerer Materialmengen hier weiterzukommen. Wie auf S. 668 erwähnt, konnten MacLean, Manske und Marion<sup>20)</sup> bei der Anlagerung von Bromcyan an Lycopodin zwei miteinander isomere nicht basische Produkte,  $\alpha$ - und  $\beta$ -Cyan-brom-lycopodin,  $C_{17}H_{25}ON_2Br$ , isolieren, in denen zweifellos Lösung einer C–N-Bindung erfolgt war. Wie an der  $\alpha$ -Komponente gezeigt werden konnte, gelingt es, aus ihr sowohl Brom als auch die Cyangruppe unter Regeneration von Lycopodin abzuspalten.

In weiteren Versuchen unterzogen wir Annotin und Annotinin der Reduktion mit Lithiumaluminiumhydrid in äther. Lösung. Während es stets gelang, aus der äther. Reaktions-Lösung des Annotins ein bei 162–163° schmelzendes Produkt der Zusammensetzung  $C_{16}H_{23}O_2N$  zu isolieren, das offenbar unter Addition von 2 H und Abspaltung von Wasser entstanden war, bleibt Annotinin, das übrigens auch bei der Zinkstaub-Destillation größtenteils unzersetzt sublimierte, unangegriffen. Beim Lycopodin glückte, wie auf S. 668 erwähnt, mit Lithiumaluminiumhydrid die Reduktion zum sekundären Alkohol, dessen Oxygruppe mit Hilfe des Infrarot-Spektrums nachgewiesen werden konnte<sup>20)</sup>.

Von weiteren Versuchen sei noch die Einwirkung von Hydrazin auf Annotin erwähnt, die nicht zur Hydrazid-Bildung führte, wie sie bei Vorhandensein einer Ester- oder Lacton-gruppierung zu erwarten gewesen wäre. Es war auch keine Hydrazon-Bildung eingetreten. Acrifolin und Annotinin reagieren auch nicht mit 2,4-Dinitro-phenylhydrazin. Im Verein mit den ebenfalls stets negativen Ergebnissen bei der Umsetzung des Annotinins mit Lithiumphenyl und Lithiumaluminiumhydrid darf jedenfalls bei dieser Base auf die Abwesenheit von Ketocarbonyl geschlossen werden, was in Übereinstimmung mit den Feststellungen von Manske und Marion<sup>20)</sup> steht, wonach die drei Sauerstoffatome des Annotinins auf einen Lacton- und einen Ätherring verteilt sind. Die Anwesenheit des Lactoncarbonyls ergibt sich zudem auch aus dem Ultrarot-Spektrum<sup>20)</sup>.

Unsere drei Basen reagieren auch nicht mit Benzaldehyd bei Gegenwart von Natriumäthylat, besitzen also jedenfalls keine reaktionsfähigen Methylengruppen. Alkoholische Salzsäure in der Hitze führt beim Annotin nicht zu einem definierten Produkt, während sie Annotin lediglich in das bereits erwähnte Chlorhydrin überführt.

Die Bayerische Akademie der Wissenschaften hat unsere Untersuchungen durch die Zuwendung von Geldmitteln, die Deutsche Forschungsgemeinschaft durch die leihweise Überlassung von Apparaturen unterstützt. Beiden Körperschaften danken wir ergebenst.

### Beschreibung der Versuche

#### Gewinnung des Rohextraktes I und der „Rohbase“

Das an der Luft getrocknete und auf 2 mm zerkleinerte Kraut (50 kg) wurde mehrere Tage erschöpfend mit 100 l 3-proz. Weinsäure-Lösung percoliert und die erhaltene braune Extrakt-Lösung i. Vak. bei 50–60° bis zur Sirupkonsistenz eingedampft<sup>25)</sup>: 8700 g Rohextrakt. Seine weitere Verarbeitung erfolgte in Anteilen von etwa 2 kg, die jeweils in 10 l Wasser gelöst wurden, wobei von etwa ungelöst gebliebenen Weinsäuremengen abdekantiert wurde. Die verhältnismäßig starke Verdünnung hat sich als unbedingt notwendig erwiesen, um bei der anschließenden Extraktion mit Äther aus alkal. Lösung ein stärkeres Emulgieren zu verhindern.

Da, wie sich aus einem Vorversuch ergab, der Rohextrakt I nur geringe Mengen von Fetten, Pflanzenfarbstoffen und anderen unerwünschten Begleitstoffen enthielt, konnte hier auf die Extraktion mit Äther aus saurer Lösung verzichtet werden. Jeweils 10 l Extrakt-Lösung wurden sodann mit einer Auflösung von 500 g Natriumhydroxyd in 750 ccm Wasser versetzt und diese alkal. Lösung in Anteilen von 8 l in einer kontinuierlich arbeitenden Extraktionsapparatur unter kräftigem Turbinieren mit Äther extrahiert, wobei sich etwa 1 l Äther im Siedekolben befand. Das Annotin begann sich in diesem Fall nach 30–35 Stdn. als gelbbraune Kruste am Kolbenrand abzuschneiden. Die Extraktion wurde nach 45 Stdn. abgebrochen, die Äther-Lösung des Siedekolbens von der Kruste abgegossen, über Kaliumcarbonat getrocknet und auf etwa 100 ccm eingeeengt, wobei sich beim Abkühlen ein großer Teil des Alkaloidgemisches in gut kristallisierter Form abschied. Das Kristalliat wurde abgetrennt und mit 30–40 ccm absol. Äther ausgewaschen. Die Äthermutterlauge hinterließ einen zähen Rückstand, der im Exsiccator von Ätherresten befreit und dann in wenig Aceton aufgenommen wurde. Nach 2- bis 3tägig. Stehen dieser Lösung im Eisschrank entstand eine weitere Kristallisation, die abgesaugt wurde.

Die Gesamtausbeute an Rohalkaloid aus 50 kg Kraut betrug 76 g (entspr. 0.15% des Krautes), von denen 26 g (einschl. 2.5 g des bei der Perforation abgeschiedenen Annotinins) in kristallisierter Form („Rohbase“) erhalten wurden.

#### Fraktionierung des Rohkristallisats („Rohbase“) in Annotin, Acrifolin und Annotinin

Die Fraktionierung erfolgte durch Überführung in die Nitrate und deren fraktionierte Kristallisation. 6.5 g des Rohkristallisates wurden in 17 ccm 10-proz. Essigsäure durch mäßiges Erwärmen auf dem Wasserbad gelöst und noch warm von ungelöst gebliebenen schmierigen Rückständen abfiltriert. Die klare, braune Lösung versetzte man nach dem Erkalten mit 10 ccm konz. Natriumnitrat-Lösung und beschleunigte anschließend die Kristallisation durch Anreiben. Fast schlagartig erfolgte die Abscheidung des in stäbchenförmigen Prismen kristallisierenden Annotinnitrats, das nach 2stdg. Stehenlassen abgesaugt wurde; Ausb. 1.5 g (Abbild. 4).

Die im Exsiccator über Schwefelsäure und Kaliumhydroxyd um ein Viertel ihres Volumens eingeengte Mutterlauge ergab ein zweites Kristalliat, das größtenteils aus den kleinen, gedrunghenen Prismen des Acrifolinnitrats bestand; Ausb. 1.6 g.

Konzentrieren der Mutterlauge um ein weiteres Viertel des ursprünglichen Volumens erbrachte ein drittes Kristalliat, das aus 0.51 g Acrifolinnitrat und 0.4 g Annotinnitrat bestand, das, weil es sich in derben, großen Prismen abschied, durch Auslese mit der Hand abzutrennen war.

Die Mutterlauge wurde noch etwas weiter eingeeengt, von amorphen, teilweise auch schmierigen Substanzen und u. U. von Natriumnitrat abfiltriert und mit 2n NaOH stark

alkalisch gemacht. Die dabei auftretende, sich zusammenballende Fällung erstarrte nach 3 Stdn. völlig. Sie wurde hierauf abgetrennt, in 8 ccm 10-proz. Essigsäure gelöst und die Lösung nach Zugabe einer Spatelspitze Tierkohle kurze Zeit auf dem Wasserbad erhitzt. Die abfiltrierte, merklich aufgehellte Lösung wurde mit Natriumhydrogencarbonat versetzt und 3 Stdn. mit Äther perforiert. Der mit Kaliumcarbonat getrocknete Ätherextrakt ergab 0.27 g gut kristallisiertes noch unreines Annotinin.

#### Gewinnung der Basen aus den Fruchtständen

1520 g getrocknete und fein gemahlene Blütenähren von *L. annotinum* L. wurden teilweise im Heißextraktor mit Äthylalkohol im Verlauf von jeweils 8 Stdn. erschöpfend extrahiert. Die vereinigten braungrünen Extrakte (1.5 l) hinterließen nach weitgehendem Einengen auf dem Wasserbad und schließlich i. Vak. einen dicken, zähen Rückstand, der zwecks Beseitigung der bei dieser Art von Aufarbeitung in beträchtlicher Menge anfallenden Fette, Farbstoffe usw. mit 500 ccm 2*n*-H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> angerührt und dreimal mit je 500 ccm Äther ausgezogen wurde. Die filtrierte grüngefärbte, schwefelsaure Lösung wurde mit einer Auflösung von 80 g Natriumhydroxyd alkalisch gemacht und auf 3 l mit Wasser verdünnt. Diese Lösung wurde erschöpfend mit Äther extrahiert, der orangebraune Ätherextrakt mit Kaliumcarbonat getrocknet und auf 100 ccm eingengt. Das sich nunmehr abscheidende kristalline Basengemisch wurde entfernt und die Äthermutterlauge wie oben zwecks Gewinnung eines zweiten Kristallisats verarbeitet. Ausb. 10 g Gesamtalkaloid (0.65% des Materials), davon 4 g krist. Rohbasen-Gemisch.

Die hellbraune, kristalline Rohbase (4 g) löste man in 20 ccm 2*n*-CH<sub>3</sub>CO<sub>2</sub>H und fügte nach dem Filtrieren 5 ccm konz. Natriumnitrat-Lösung hinzu. Im Gegensatz zu den Fraktionierungsversuchen mit den Rohkristallisaten aus *L. annotinum*-Kraut bildete sich hier als erste Kristallfraktion, und zwar erst nach etwa 2 tägig. Stehen, ein Kristallisat der dicken, kantigen Prismen des Annotinnitrats. Die Mutterlauge wurde auf vier Fünftel ihres Volumens eingengt, wobei eine zweite Kristallisation des gleichen Nitrates auftrat; Gesamtmenge 1.45 g.

Bei weiterer Konzentrieren auf die Hälfte des ursprünglichen Volumens erfolgte in der Mutterlauge eine Abscheidung, die vorwiegend aus den stäbchenförmigen Prismen des Annotinnitrats bestand. Abermaliges Einengen lieferte nochmals eine kleine Menge dieses Nitrats, insgesamt 1.05 g. Die Aufarbeitung der Mutterlauge führte zu keinem Ergebnis.

#### Aufarbeitung des Rohextraktes III

Gewinnung von Annotoxin: Die Gewinnung der anderen vier Basen sei an der Aufarbeitung einer Charge (1.5 kg entspr. 7.2 kg Kraut) des Rohextraktes III, der in der üblichen Weise gewonnen war, beschrieben. Die 8 l betragende, mit 400 g techn. Natriumhydroxyd alkalisch gemachte Lösung wurde wie üblich 45 Stdn. in der Rührapparatur unter sehr starkem Rühren mit Äther extrahiert. Man erhielt 23.35 g Extraktückstand. Offenbar weil es sich um unmittelbar nach dem Einsammeln in der Wärme getrocknetes grünes Kraut handelte, war der nichtbasische Anteil erheblich. Er wurde nach Aufnehmen des Extraktückstandes in Essigsäure in der Wärme durch Ausäthern entfernt (4.15 g) und das Basengemisch wieder nach dem Alkalisigmachen durch dreimaliges Ausschütteln in Äther gelöst. Nach Abdestillieren des Äthers wurden aus dem sirupösen Rückstand beim Überschichten mit 30 ccm Aceton bzw. nach Einengen der Mutterlauge 3.73 g Rohkristallisat der drei Basen Annotin, Acrifolin und Annotinin erhalten. Die ausgeätherte alkal. Lösung wurde schließlich durch Einleiten von Kohlendioxyd natriumhydrogencarbonat-alkalisch gemacht und im Flüssigkeits-Extraktor 4 Stdn. erschöpfend mit Äther ausgezogen. Es blieben 1.35 g Rückstand, der beim Überschichten mit ganz wenig Aceton bzw. nach Einengen der Mutterlauge 0.45 g Annotoxin in derben Platten abschied, die sich leicht aus Aceton umkristallisieren ließen.

Die Vermutung, daß der größere Teil des Annotoxins wegen dessen schwerer Ausziehbarkeit mit Äther sich noch im alkalisch gemachten Rohextrakt befände, wurde bestätigt, als erneut nochmals 40 Stdn. in der Rührapparatur mit Äther extrahiert wurde.

Hier hinterblieben 9.2 g leuchtend brauner Sirup, wobei sich bereits beim Einengen der Äther-Lösung auf ein kleines Volumen Kristalle des Annotoxins abschieden, die auch nach Aufnehmen in 35 ccm Aceton größtenteils ungelöst blieben; Ausb. 0.87 g. Aus der Aceton-Lösung kristallisierten nach Einengen auf 10 ccm weitere 1.07 g; Gesamtmenge 1.94 g.

Zur Kontrolle wurde der Inhalt der Rührapparatur durch Einleiten von Kohlendioxyd auf  $pH$  7.5 gebracht und erneut 50 Stdn. mit Äther extrahiert. Aus dem Extraktückstand ließen sich schließlich noch 0.06 g reines Annotoxin abscheiden.

Fällung mit Reinecke-Salz: Die nicht mehr kristallisierende Mutterlauge, die das kristalline Rohbasengemisch aus Annotin, Acrifolin und Annotinin geliefert hatte, wurde nach Entfernung des Acetons in 250 ccm  $2n$   $CH_3CO_2H$  aufgenommen und mit 1000 ccm einer konz. Auflösung von Reinecke-Salz in  $2n$   $CH_3CO_2H$  erschöpfend gefällt. Die Lösung war durch Schütteln auf der Schüttelmaschine hergestellt worden. 10 g Salz gingen dabei in 300 ccm Essigsäure nicht ganz in Lösung. Nach Absaugen und Trocknen erhielt man 11.7 g Reineckate, beim Einengen des Filtrates auf 400 ccm weitere 0.68 g; weiteres Konzentrieren ergab nichts. Daher wurde das Filtrat mit 40 g Kaliumhydroxyd in wenig Wasser alkalisch gemacht und 20 Stdn. in der Apparatur mit Äther extrahiert. Man erhielt so schließlich 3.08 g blaßgelbe, sirupöse Base, die noch zu untersuchen ist.

Gewinnung von Lycopodin: Die erste Reineckat-Ausbeute wurde zweimal aus Aceton-Wasser umkristallisiert, wobei 3.25 g eines in Nadeln kristallisierenden Reineckates erhalten wurden, von dem eine Probe nach nochmaligem Umkristallisieren aus Aceton genau in seiner Zusammensetzung dem Reineckat des Lycopodins entsprach. 3.0 g des zweimal umkristallisierten Salzes wurden in 150 ccm Aceton gelöst, 60 ccm Wasser hinzugegeben und dann mit 325 ccm 0.8-proz. Silbersulfat-Lösung gefällt. Der Niederschlag von Silberreineckat wurde abgesaugt und das Filtrat mit Bariumchlorid-Lösung erschöpfend gefällt. Vom entstandenen Niederschlag filtrierte man durch ein doppeltes gehärtetes Filter. Das Filtrat wurde mit Ammoniak alkalisch gemacht und dreimal mit insgesamt 300 ccm Äther ausgeschüttelt. Nach 2-tägigem Trocknen über festem Kaliumhydroxyd hinterblieben nach dem Eindampfen 0.93 g sirupöser Base, die aus wenig absol. Äther in langen Prismen vom Schmp.  $120^\circ$  kristallisierte und sich auch in ihren Salzen als identisch mit Lycopodin aus *L. clavatum* erwies.

Gewinnung der Basen  $C_{10}H_{19(21)}ON$  und  $C_{16}H_{25}ON$  als Pikrate: Die beiden Mutterlauen der Reineckat-Umkristallisation wurden auf dem Wasserbad von Aceton befreit, mit  $2n$  NaOH alkalisch gemacht und 17 Stdn. mit Äther extrahiert. Nach 1-tägig. Trocknen über Kaliumhydroxyd wurde die 250 ccm betragende Äther-Lösung mit 250 ccm absol. äther. Pikrinsäure zu 3.8 g hellgelbem Pikrat gefällt, das sich durch kurzes Auskochen mit 120 ccm Äthylalkohol in zwei Fraktionen, die Lösung I und den Rückstand II, aufteilen ließ. Durch wiederholtes Einengen der Lösung I wurden vier amorphe Bodensätze erhalten, die, da sie beim Übersichten mit wenig Alkohol nicht kristallisierten, zusammen in üblicher Weise auf freie Base verarbeitet wurden; die 500 ccm betragende Äther-Lösung wurde nach scharfem Trocknen mit Kaliumhydroxyd neuerdings in zwei Fraktionen mit je 100 ccm absol. äther. Pikrinsäure gefällt. Nur aus der ersten größeren Pikrat-Fällung ließen sich nach Auflösen in 120 ccm Alkohol beim Einengen bis auf schließlich 20 ccm Bodensätze gewinnen, die beim Übersichten mit Alkohol sich in gelbe Kristallknöpfe bzw. -rosetten verwandelten. Sie wurden zusammen zweimal aus Alkohol umkristallisiert und dann in lockeren, gelben Rosetten aus wulstigen Kriställchen erhalten, die sich nach längerem Sintern ab  $110^\circ$  bei  $121^\circ$  restlos zersetzen.

Einfacher und in besonders schöner Form läßt sich das gleiche Pikrat erhalten, wenn man die aus der rohen Fällung des gesamten Reineckates abgeschiedene Base aus viel absol. Äther mit absol. äther. Pikrinsäure fraktioniert fällt und die ersten Fällungen aus Alkohol umkristallisiert (s. S. 682). Die Zusammensetzung des Pikrates ist  $C_{10}H_{19(21)}ON \cdot C_6H_5O_7N_3$ ; die ihm zugrunde liegende, wahrscheinlich sehr niedrig schmelzende Base ist tertiär, da sie ein Jodmethylat liefert.

Der Rückstand II wurde durch längeres Aufkochen mit 150 ccm Alkohol fast ganz in Lösung gebracht. Bei langsamem Abkühlen erschien über Nacht leuchtend gelbe,



geweihartig gefiederte, zu lockeren Rosetten vereinigte Kriställchen, die bei 241–241.5° unter Dunkelfärbung und Zersetzung schmelzen (0.41 g). Sie entsprechen der Zusammensetzung  $C_{16}H_{25}ON \cdot C_6H_5O_7N_3$ . Die Mutterlauge lieferte weitere 0.05 g dieses Pikrates, das sich in kleiner Menge außerdem aus der eingeeengten Hauptfällungs-Mutterlauge isolieren ließ. Die dem Salze zugrunde liegende Base, die bisher noch nicht isoliert wurde, ist, wie sich aus der Bildung eines Jodmethylates ergab, tertiär. Sie wurde außerdem noch durch ihr Perchlorat charakterisiert.

Gewinnung von Lycopodin aus *Lycopodium clavatum* L.: 950 g in der Wärme getrocknetes Kraut samt Fruchtständen wurde in grob zerkleinertem Zustande mit 7 l 1-proz. Schwefelsäure drei Wochen stehengelassen. Abgießen durch ein Coliertuch lieferte 4.3 l Extrakt. Das feuchte Material wurde nochmals mit 4.3 l 1-proz. Schwefelsäure über-gossen und nach wenigen Tagen ein zweiter Auszug gleicher Größe gewonnen. Auf diese Weise werden nur 85 % des Alkaloidgehaltes erfaßt. Die beiden Auszüge wurden i. Vak. auf insgesamt 250 ccm eingeeengt und unter guter Kühlung mit einer Auflösung von 100 g Natriumhydroxyd alkalisch gemacht, wobei zur Beseitigung des Salzniederschlages auf 2 l verdünnt werden mußte. Die alkalische Lösung wurde 55 Stdn. im Flüssigkeitsextraktor mit Äther extrahiert, die erhaltene Äther-Lösung zweimal mit verd. Salzsäure und zweimal mit Wasser ausgeschüttelt, worauf die aus der salzsauren Lösung mit Kaliumhydroxyd als Emulsion abgeschiedene Base viermal mit Äther ausgezogen wurde. Nach Trocknen über Kaliumcarbonat wurden 1.08 g klarer Sirup erhalten (unter Berücksichtigung einer 85-proz. Erfassung 0.134 % des Krautes), die in 8 ccm 2n  $CH_3CO_2H$  aufgenommen und mit dem gleichen Volumen kalt konz. Natriumnitrat-Lösung gefällt wurden. Nach einigem Stehen ließen sich 0.67 g krist. Nitrat absaugen. Die Fällungs-mutterlauge lieferte beim Einengen auf die Hälfte weitere 0.06 g. Gesamtmenge 0.73 g, die ausschließlich aus Lycopodinnitrat bestand. Durch Umkristallisieren aus 2n  $CH_3CO_2H$  wurden glashelle Pyramiden des reinen Salzes erhalten. Die daraus gewonnene und aus Äther umkristallisierte Base vom Schmp. 120° war identisch mit Lycopodin.

### Die Basen

Annotin (Abbild. 1): Dieses hier erstmals beschriebene recht beständige Alkaloid wurde aus der bei der fraktionierten Kristallisation der Rohbasennitrate erhaltenen ersten Fraktion gewonnen. Wird das Nitrat in der eben zureichenden Menge 2n  $CH_3CO_2H$  gelöst, so scheidet sich die Base nach dem Alkalischemachen mit Natronlauge oder Ammoniak sofort in schneeflockenartigen Kristallbüscheln (Prismen) ab. Nach zweimaligem Umkristallisieren aus Äthanol, aus welchem sie in Polyedern erscheint, hatte die Base einen scharfen Schmelzpunkt von 172–173° (175–176° korr.);  $[\alpha]_D^{25}$ : –114.0° (Chloroform, 1-proz. Lsg.). Leicht löslich in Aceton, Äther, Äthanol, Methanol, Essigester, Chloroform, mäßig löslich in Äther, schwer in Wasser. Sie besitzt keine *N*-Methyl-, *O*-Methyl- und OH-Gruppen.

$C_{16}H_{23}O_4N$  (293.4) Ber. C 65.51 H 7.90 N 4.77 Gef. C 65.30 H 7.73 N 5.06<sup>37)</sup>

Als tertiäre Base bildet das Alkaloid ein Jodmethylat.

Jodmethylat: 40 mg Base in 1 ccm absol. Methanol werden mit 1 ccm Methyljodid 3 Stdn. auf dem Wasserbad unter Rückfluß erhitzt. Nach dem Verdunsten des Lösungsmittels i. Vak. hinterbleibt ein hellgelber, öliges Rückstand, der alsbald erstarrt. Ausb. 50 mg; aus Wasser farblose Prismen vom Schmp. 236–237° (Zers.).

Sehr rasch erfolgt die Bildung des Jodmethylates nach der beim Acrifolin gegebenen Vorschrift.

$C_{17}H_{26}O_4NJ$  (435.3) Ber. C 46.90 H 6.02 N 3.21 Gef. C 47.01 H 5.76 N 3.89

Nitrat: Es scheidet sich wegen seiner Schwerlöslichkeit beim Versetzen der nicht zu verdünnten essigsäuren Lösung der Base mit konz. Natriumnitrat-Lösung nach dem Anreiben meist schlagartig in stäbchen- oder nadelförmigen vierkantigen Prismen ab (Ab-

<sup>37)</sup> Die Mikroanalysen wurden in bewährter Weise wiederum von Hrn. H. Geyer und Frln. D. Graf ausgeführt.

bild. 4), die bei längerem Stehen in größere Prismen übergehen. Zur Analyse wurde zwei- bis dreimal aus Wasser umkristallisiert. Bis 380° war im Berl-Block lediglich Schwarzfärbung zu beobachten.

$C_{16}H_{23}O_4N \cdot HNO_3$  (356.4) Ber. C 53.92 H 6.78 N 7.86  
Gef. C 54.11, 53.64 H 6.99, 6.82 N 7.74

**Acrifolin** (Abbild. 2): Wir geben hier ergänzende Angaben über dieses von Manske und Marion<sup>18)</sup> isolierte Alkaloid, von dem diese Autoren lediglich das Perchlorat (Schmp. 266°) beschreiben. Wegen seiner größeren Löslichkeit schied sich das Nitrat der Base bei der fraktionierten Kristallisation der Nitrats als zweite Fraktion ab. Im Gegensatz zu Annotin fällt das Alkaloid bei der tropfenweisen Zugabe von Alkalilauge oder Ammoniak-Lösung zu der essigsäuren Lösung ihrer Salze zuerst als milchige Trübung aus und ist so nicht zur Kristallisation zu bringen. Durch Ausziehen mit Äther läßt es sich in strahligen Nadelbüscheln gewinnen, die sehr rasch verbacken. Die so aus dem Nitrat gewonnene Base schmolz nach einigem Sintern bei 95°. Durch öfteres Umkristallisieren aus Äther und nach mehreren Heißextraktionen mit Petroläther (Sdp. 30 bis 50°), woraus sie in kleinen Pilzen kristallisiert, schmolz sie nach Sintern ab 96° bei 103–104°. Manske und Marion<sup>18)</sup> geben als Schmp. 97° (korr.) an. Ein von den kanadischen Forschern uns überlassenes Präparat schmolz ebenfalls bei 103–104° (unkorr.) und zeigte im Misch-Schmelzpunkt mit unserer Base keinerlei Erniedrigung<sup>27)</sup>;  $[\alpha]_D^{20}$ : –250° (Essigester, 1-proz. Lösg.). Das Alkaloid ist leicht löslich in Äther, Methanol, Äthanol, Aceton, Essigester und Chloroform, dagegen nur mäßig in Wasser. Die Chloroform-Lösung der Base nimmt nach kurzem Stehen tiefe Violettfärbung an. Das Alkaloid ist frei von *N*-Methyl-, *O*-Methyl- und OH-Gruppen.

$C_{16}H_{23}O_2N$  (261.4) Ber. C 73.52 H 8.87 N 5.36 Gef. C 73.67 H 8.81 N 5.43

Die Base bildet ein Jodmethylat, ist also tertiär.

**Jodmethylat**: 40 mg Acrifolin in 1.5 ccm absol. Aceton werden mit 0.5 ccm Methyljodid auf dem Wasserbad unter Rückfluß erhitzt. Die Abscheidung des Salzes erfolgt bereits nach 2 Minuten. Man erhitzt noch weitere 5 Min., saugt das Kristallisat nach dem Erkalten ab und kristallisiert es aus Wasser um. Kleine Prismen vom Schmp. 249 bis 250° (Zers.); Ausb. 25 mg.

$C_{17}H_{26}O_2NJ$  (403.3) Ber. C 50.63 H 6.49 N 3.47 Gef. C 50.53 H 6.64 N 3.85

**Nitrat**: Zur möglichst konzentrierten essigsäuren Lösung der Base wird konz. Natriumnitrat-Lösung hinzugegeben, worauf nach Anreiben und Stehen unter Kühlung das Nitrat in Form kleiner kantiger Prismen auskristallisiert. Zur Analyse wurde zwei- bis dreimal aus Wasser umkristallisiert; Schmp. 236° (Zers.).

$C_{16}H_{23}O_2N \cdot HNO_3$  (324.4) Ber. C 59.24 H 7.45 N 8.63  
Gef. C 59.30, 59.35 H 7.43, 7.46 N 8.90

**Hydrojodid**: 40 mg Base in 1 ccm 2*n*  $CH_3CO_2H$  werden mit 5 Tropfen gesätt. Kaliumjodid-Lösung versetzt. Das Salz fällt sofort in Kristallbüscheln aus und schmilzt nach nochmaligem Umkristallisieren bei 258–259° (Zers.).

$C_{16}H_{23}O_2N \cdot HJ$  (389.3) Ber. C 49.36 H 6.21 N 3.59 Gef. C 49.49 H 6.25 N 3.51

**Perchlorat**: Dieses von Manske und Marion<sup>18)</sup> schon beschriebene Salz scheidet sich sofort in gut kristallisierter Form ab, wenn man eine konz. essigsäure Lösung der Base mit konz. Natriumperchlorat-Lösung versetzt. Zur Analyse wurde zweimal aus Wasser umkristallisiert. Dicke, scharfkantige Prismen, die bei 100° Kristallwasser verlieren und bei 260° (nach Manske und Marion 266° korr., Zers.) schmelzen.

$C_{16}H_{23}O_2N \cdot HClO_4 + H_2O$  (379.8) Ber. C 50.59 H 6.90 N 3.68 Gef. C 50.47 H 7.07 N 3.68

**Annotinin** (Abbild. 3): Auch über diese von Manske und Marion<sup>12)</sup> bereits aufgefundene Base machen wir ergänzende Angaben. Die Base erscheint, wie erwähnt, häufig als Kruste im Ätherextraktions-Kolben. In der Nitrat-Endlauge findet sie sich dann nur noch in kleinerer Menge. Durch Heißextraktion mit Petroläther (Sdp. 50–80°), Reinigung über das Nitrat und schließlich über das von Manske und Marion<sup>12)</sup> schon beschriebene Perchlorat ließ sich die reine Base vom Schmp. 230.5° unter Meniskusbildung (unkorr.) gewinnen. Ein von Hrn. Prof. Manske überlassenes Präparat schmolz

bei 231° (unkorr.). In der Mischprobe ergab sich keine Schmp.-Erniedrigung;  $[\alpha]_D^{25}$ : -27.5° (Chloroform, 1-proz. Lösg.). Die Base ist voraussichtlich tertiär, doch gelang es nicht, von ihr ein Jodmethylat zu gewinnen (s. S. 669/670). Sie enthält ebenfalls kein N-Methyl, kein O-Methyl und keine OH-Gruppen.

$C_{16}H_{21}O_3N$  (275.3) Ber. C 69.79 H 7.68 N 5.08  
Gef. C 70.03, 69.58 H 7.63, 7.13 N 5.00, 4.81

Nitrat: Die Lösung von 50 mg Base in 1 ccm 2*n*  $CH_3CO_2H$  wird mit 3 Tropfen konz. Natriumnitrat-Lösung versetzt. Es tritt nach Anreiben schlagartig Kristallisation des Salzes ein, die im Eisschrank vervollständigt wird. Aus Wasser lange, weiße Nadeln vom Schmp. 222–223° (Zers.).

$C_{16}H_{21}O_3N \cdot HNO_3$  (338.4) Ber. C 56.80 H 6.55 N 8.28 Gef. C 56.88 H 6.42 N 7.86

Außer dem bisher nicht bekannten Nitrat haben wir zwecks weiterer Identifizierung das von Manske und Marion<sup>12)</sup> beschriebene Perchlorat des Annotinins in Anlehnung an unsere für das Acrifolinperchlorat gegebene Vorschritt sowie nach der Vorschrift dieser Autoren<sup>18)</sup> Annotinin-hydrat, das Hydrobromid des Annotinin-bromhydrins und das Bromhydrin selbst dargestellt und ihre Angaben bestätigt gefunden.

Annotoxin (Abbild. 5): Diese Base ist wegen ihrer verhältnismäßig großen Wasserlöslichkeit nur durch lang andauernde Extraktion mit Äther aus den alkalischen bzw. hydrogencarbonat-alkalischen Lösungen zu gewinnen, wegen ihres ausgezeichneten Kristallisationsvermögens aber durch Umkristallisieren aus Aceton oder Heißextraktion aus niedrigsiedendem Petroläther sehr leicht rein zu erhalten. Im ersten Falle erhält man kleinere raufenförmige oder klare rhombische Kristalle, im letzteren mehrere Millimeter große Platten (s. Abbild. 5). Der Schmelzpunkt reiner Proben liegt bei 197°.  $[\alpha]_D^{25}$ : -179° (Chloroform, 1-proz. Lösg.). Annotoxin enthält weder  $OCH_3$ - noch  $NCH_3$ -Gruppen.

Die Base löst sich in Aceton, Methanol, Äthanol gut, in Äther und Wasser mäßig, in niedrigsiedendem Petroläther nur ganz wenig, so daß bei der Reinigung des Alkaloids mit Hilfe dieses Lösungsmittels sehr lange extrahiert werden muß.

$C_{31}H_{42}O_5N_2$  (522.7) Ber. C 71.24 H 8.10 N 5.36  
Gef. C 71.43, 71.47 H 8.11, 8.02 N 5.37

Dinitrat: 100 mg der Base werden in 2 ccm 2*n*  $CH_3CO_2H$  gelöst und mit dem gleichen Volumen gesätt. Natriumnitrat-Lösung versetzt. Bei weitgehendem Einengen kristallisiert das leicht lösliche Salz in kurzen Säulen aus, die nach dem Umkristallisieren aus wenig Wasser bei 215–217° zu dunkelrotbrauner Flüssigkeit schmelzen.

$C_{31}H_{42}O_5N_2 \cdot 2HNO_3$  (648.7) Ber. C 57.39 H 6.84 N 8.64 Gef. C 57.07 H 7.11 N 8.35

Diperchlorat: 100 mg der Base in 5 ccm 2*n*  $CH_3CO_2H$  werden mit 2 ccm gesätt. Natriumperchlorat-Lösung versetzt. Im Eisschrank erscheinen derbe, kurze Nadeln. Aus sehr verd. Essigsäure kompakte Kristalldrusen. Schmp. 227–228° unter Dunkelfärbung und unvollkommener Zersetzung. Aus dem Filtrat der Fällung läßt sich ein weiterer Anteil gewinnen.

$C_{31}H_{42}O_5N_2 \cdot 2HClO_4 + H_2O$  (741.6) Ber. C 50.20 H 6.25 N 3.78  
Gef. C 50.20 H 5.80 N 3.77

Einwirkung von Methyljodid: 100 mg Base wurden in 2 ccm reinem Aceton gelöst und mit 0.5 ccm Methyljodid 1 Stde. auf dem Wasserbad unter Rückfluß erhitzt. Die alsbald einsetzende Kristallisation wird im Eisschrank vervollständigt. Aus 2–3 ccm Alkohol lockere Rosetten von kurzen, flachen, teilweise gefiederten Nadeln oder kleine Prismen. Zur Analyse diente die zweimal umkristallisierte Substanz. Sie schmilzt bei 261° unter vollkommener Zers., Schwarzfärbung und Hochsteigen. Die Zusammensetzung des Salzes entspricht derjenigen des Dijodmethylates der Desoxy- bzw. Anhydro-Base.

$C_{33}H_{48}O_4N_2J_2$  (790.6) Ber. C 50.13 H 6.12 N 3.54 2  $NCH_3$  7.35  
 $C_{33}H_{46}O_4N_2J_2$  (788.6) Ber. C 50.26 H 5.88 N 3.55 2  $NCH_3$  7.37  
Gef. C 50.21, 50.69, 50.75 H 6.42, 6.38, 6.20 N 3.03  $NCH_3$  8.12

Lycopodin: Unsere ergänzenden Angaben zu diesem am längsten bekannten Lycopodiumalkaloid betreffen in erster Linie eine Anzahl bisher nicht beschriebener Salze.

Die von uns sowohl aus *L. annotinum* L. über das Reineckat als auch aus *L. clavatum* L. über das Nitrat isolierte Base kristallisierte aus Äther in langen, scharfkantigen sechseckigen Säulen oder gedrungenen Polyedern und schmolz in den reinsten Proben im Gegensatz zu früheren Angaben bei 120° (Schmp. 114–115°<sup>2</sup>); Schmp. 115–116°<sup>9</sup>); Schmp. 116°<sup>11</sup>),  $[\alpha]_D^{18}$ : –20.8° Aceton (2-proz. Lösg.; nach d. Lit.<sup>9</sup>) beträgt  $[\alpha]_D^{18}$ : –9.01° in Aceton).

$C_{16}H_{25}ON$  (247.4) Ber. C 77.68 H 10.18 N 5.66 Gef. C 77.50 H 10.10 N 5.65

Außer den beiden zur Isolierung benutzten, bisher nicht beschriebenen Salzen wurde das bisher nicht erhältliche Pikrat und das von Achmatowicz und Uzieblo<sup>9</sup>) mit dem Schmp. 335–337° beschriebene Jodmethylat des Lycopodins dargestellt, das jedoch abweichend von dieser Angabe bei 294–295° schmolz.

**Jodmethylat:** 0.31 g der aus dem zweimal umkristallisierten Reineckat hergestellten Base und 1 ccm Methyljodid wurden in 5 ccm absol. Aceton 5 Min. auf dem Wasserbad erwärmt, nachdem sich das Jodmethylat sofort kristallin abgeschieden hatte. Die Reaktionsmischung wurde auf 3 ccm eingengt und nach dem Stehen über Nacht im Eisschrank abgesaugt; Ausb. 0.37 g. Aus 60 ccm gewöhnl. Äthanol kristallisierte das Salz in typischen durchsichtigen Platten, oft von Benzolringform; Schmp. 295–296° (Zers., Hochsteigen, Braunfärbung). Die Mutterlauge liefert ein weiteres Kristallinat. Ein über das Lycopodinnitrat (s. u.) aus *L. clavatum* hergestelltes Jodmethylat war in jeder Hinsicht identisch.

$C_{17}H_{26}ONJ$  (389.3) Ber. C 52.44 H 7.25 N 3.60  
Gef. C 52.27, 52.55 H 7.08, 7.16 N 3.57, 3.55

**Reineckat:** Das im Gange der Aufarbeitung gewonnene rohe Salz (S. 678) wurde zur Analyse insgesamt dreimal aus Aceton-Wasser umkristallisiert. Es schmolz dann bei 247 bis 248° unter Dunkelfärbung; blaustichig-rote Nadeln.

$C_{20}H_{32}ON_7S_4Cr$  (566.8) Ber. C 42.38 H 5.69 N 17.30 Cr 9.18  
Gef. C 42.28 H 5.52 N 17.34 Cr 9.45

**Nitrat:** Das nach S. 679 gewonnene rohe Salz (0.67 g) wurde unter Verwendung von Tierkohle aus 8 ccm verd. Essigsäure umkristallisiert. Glasklare große Pyramiden und Doppelpyramiden, die ab 250° sich verfärben und bei 268–270° sich unter Schwarzfärbung vollkommen zersetzen; das Salz ist sehr typisch.

$C_{16}H_{25}ON \cdot HNO_3$  (310.4) Ber. C 61.77 H 8.44 N 9.03 Gef. C 61.72 H 8.27 N 8.97

**Pikrat:** 0.15 g der aus dem zweimal umkristallisierten Reineckat (s. S. 678) hergestellten Base wurden in 50 ccm absol. Äther gelöst und 50 ccm absol. äther. Pikrinsäure zugegeben; Ausb. 0.23 g. Beim Einengen der Äther-Lösung tritt eine weitere Fällung auf. Aus wenig Alkohol Rosetten klarer gelber Prismen vom Schmp. 205–207°.

$C_{16}H_{25}ON \cdot C_6H_3O_7N_3$  (476.5) Ber. C 55.48 H 5.92 N 11.76  
Gef. C 55.47 H 5.75 N 11.59

**Base  $C_{10}H_{19}(21)ON$ :** Diese schwache tertiäre Base wurde bisher lediglich in Form ihres Jodmethylates und ihres Pikrates charakterisiert, das, wie auf S. 678 beschrieben, nach der Isolierung des Lycopodins aus den mit Reinecke-Salz abscheidbaren Basen gewonnen werden kann. Vorteilhafter ist es indessen, falls lediglich nur dieses Pikrat gewonnen werden soll, es unmittelbar aus der äther. Lösung dieses Basengemisches mit äther. Pikrinsäure zu fällen.

**Beispiel:** 0.5 g rohes Reineckat in 25 ccm Aceton werden mit 10 ccm Wasser und dann mit 65 ccm einer Silbersulfat-Lösung versetzt, die aus 1.5 g Silbersulfat und 225 ccm Wasser hergestellt worden war. Im weiteren verfährt man wie auf S. 678 beschrieben. Die ammoniakal. Basen-Lösung wird dreimal mit Äther ausgezogen, die Äther-Lösung mit Kaliumcarbonat getrocknet und abdestilliert. Es hinterbleibt ein dunkelgelbes Öl, das in absol. Äther gelöst und mit äther. Pikrinsäure-Lösung gefällt wird. Nach dreimaligem Umkristallisieren aus wenig Alkohol erhält man moosbäumchenartige, zu Rosetten vereinigte gefiederte Kristalle von hellgelber Farbe, die bei 121° nach Sintern ab etwa 110° schmelzen. Die dem Pikrat zugrunde liegende Base ist nicht identisch mit Lupinin,  $C_{10}H_{19}ON$ , das unter analogen Bedingungen kein charakteristisches Pikrat liefert. Mit mindestens der gleichen Berechtigung wäre die Zusammensetzung  $C_{10}H_{21}ON$  in Erwägung zu ziehen.

Die Base dürfte flüssig bzw. sehr niedrig schmelzend sein. Es gelang nicht, aus dem Pikrat ein Perchlorat bzw. ein Nitrat zu gewinnen.

$C_{10}H_{19}ON \cdot C_6H_3O_7N_3$ (398.4)	Ber. C 48.23	H 5.57	N 14.06
$C_{10}H_{21}ON \cdot C_6H_3O_7N_3$ (400.4)	Ber. C 47.99	H 6.04	N 14.00
	Gef. C 47.74, 47.47, 47.59	H 5.58, 5.85, 5.56	N 14.26, 13.81, 14.25

Jodmethylat: Die aus 50 mg reinem Pikrat in Freiheit gesetzte Base wurde aus der getrockneten äther. Lösung als Öl isoliert, das mit 1 ccm Methyljodid und 2 ccm Aceton 1 Stde. auf dem Wasserbad erhitzt wurde. Der alsbald entstehende weiße Niederschlag wurde nach Einengen abgesaugt und aus 3 ccm Äthanol umkristallisiert. Im Eisschrank schied die Lösung weiße Kristallrosetten ab, die im Berl-Block gegen 290° zu einer gelben Masse schmolzen.

$C_{11}H_{22}ONJ$ (311.2)	Ber. C 42.45	H 7.13	N 4.50	
$C_{11}H_{24}ONJ$ (313.2)	Ber. C 42.18	H 7.72	N 4.47	Gef. C 42.70 H 7.20 N 5.08

Base  $C_{16}H_{25}ON$ : Diese Base, die selbst noch nicht in reiner Form gewonnen werden konnte, fällt in Form ihres Pikrates gleichzeitig mit dem Pikrat der Base  $C_{10}H_{19(21)}ON$  an, von dem es sich infolge seiner geringeren Löslichkeit in Alkohol abtrennen läßt (s. S. 678/679). Das in der beschriebenen Weise gewonnene Salz ist bereits praktisch analysenrein. Die Analyse wurde auch mit einer nochmals aus Alkohol umkristallisierten Substanz durchgeführt, die in Form flacher Kristallkörner erhalten wurde. Schmp. 241–241.5° (Zers., Hochsteigen u. Dunkelfärbung).

Zum Vergleich werden auch die Analysenwerte für die Salze der um 2 H ärmeren Base angegeben, die weniger wahrscheinlich ist.

$C_{16}H_{25}ON \cdot C_6H_3O_7N_3$ (476.5)	Ber. C 55.48	H 5.92	N 11.76	
$C_{16}H_{23}ON \cdot C_6H_3O_7N_3$ (474.5)	Ber. C 55.69	H 5.52	N 11.81	Gef. C 55.67 H 5.71 N 11.29

Jodmethylat: 100 mg des obigen Pikrates wurden durch Schütteln mit Natronlauge und Äther zu einer äther. Lösung der Base verarbeitet, die einen Tag über Kaliumhydroxyd getrocknet wurde. Nach dem Abdestillieren des Äthers hinterblieb ein Sirup, der nicht zur Kristallisation gebracht werden konnte. Er wurde in 2 ccm absol. Aceton aufgenommen und mit 0.5 ccm Methyljodid auf dem Wasserbad erhitzt. Es schieden sich alsbald kurze Kriställchen ab. Das Kristallisat wird nach Einengen auf 1 ccm abgesaugt und aus Alkohol umkristallisiert. Kompakte Kristalle vom Schmp. 261° (Zers.).

$C_{17}H_{28}ONJ$ (389.3)	Ber. C 52.44	H 7.25	N 3.60	
$C_{17}H_{26}ONJ$ (387.3)	Ber. C 52.72	H 6.77	N 3.62	Gef. C 52.58 H 7.05 N 4.48

Perchlorat: 100 mg des Pikrates werden in der angegebenen Weise auf freie Base verarbeitet, die in der eben zureichenden Menge 2n  $CH_3CO_2H$  gelöst werden. Bei Zugabe einer konz. Natriumperchlorat-Lösung kristallisiert das Salz alsbald in langen Lamellen aus, die nach dem Umkristallisieren aus Wasser scharf bei 234° (Zers.) schmelzen.

$C_{16}H_{25}ON \cdot HClO_4$ (347.8)	Ber. C 55.25	H 7.53		
$C_{16}H_{23}ON \cdot HClO_4$ (345.8)	Ber. C 55.57	H 6.99		Gef. C 54.95 H 7.16

#### UV-Spektren der Basen

Für die Aufnahme der UV-Absorptions-Spektren wurden  $m/1000$  absol. äthylalkohol. Lösungen der Basen hergestellt; die verwendete Annotoxin-Lösung war  $m/2000$ . Als Aufnahmeapparatur diente ein Unicam S.P.500 photoelektrisches Quarz-Spektrophotometer der Firma Unicam Instruments (Cambridge) Ltd., Arbury Works, Cambridge, England.

#### Papierchromatographische Trennung

Als Entwicklungsreagens für die Chromatogramme hat sich Dragendorff-Reagens<sup>38)</sup> als sehr brauchbar erwiesen. Von der Vorrats-Lösung werden 4 Tropfen in 10 ccm Wasser, das eine Spatelspitze Kaliumjodid gelöst enthält, gegeben. Die Sprühflüssigkeit wird immer frisch bereitet.

<sup>38)</sup> Siehe B a m a n n - U l l m a n n, Chemische Untersuchung von Arzneimischungen, Arzneispezialitäten und Giftstoffen, München 1951, S. 23.

3 bis 4 kleine Tropfen der Aceton-Lösung des Basengemisches (2 mg in 3 ccm absol. Aceton) wurden in üblicher Weise in einer Ecke des Bogens (Whatman-Papier Nr. 1) aufgetragen. Als Lösungsmittel diente wassergesätt. Butanol. Die cylindrisch zusammengehefteten Bogen standen innerhalb eines großen bedeckten Akkumulatorenglases in einer Petrischale mit Lösungsmittel. Im Standglas befand sich außerdem noch ein Schälchen mit Kaliumcyanid-Lösung. Nach 8 Stdn. wurde der Bogen herausgenommen, die Steigfront markiert und getrocknet. In gleicher Weise wurde mit dem um 90° gedrehten Bogen verfahren. Nach nochmaligem Trocknen wurde das so erhaltene zweidimensionale Chromatogramm mit Sprühreagens besprüht, wobei die Basen als orangefarbene Flecke hervortraten. Als  $R_F$ -Werte ergaben sich folgende: Annotin 0.35, Acrifolin 0.44, Annotinin 0.60.

#### Farbreaktionen

Es wurden zunächst nur die eben genannten drei Basen geprüft.

**Baeyersche Probe:** Bei allen drei Basen war die Reaktion, die in reinem gegen Permanganat beständigem Eisessig ausgeführt wurde, positiv.

**Reaktion mit Tetranitromethan:** Werden die Basen in wenig Chloroform gelöst und je 2 Tropfen Tetranitromethan zugefügt, so entsteht in allen drei Fällen eine deutliche Gelbfärbung.

**Pauly-Reaktion:** Fügt man zu Benzoldiazoniumchlorid-Lösung jeweils einige Tropfen der salzsauren Basen-Lösungen und macht alkalisch, so entsteht lediglich beim Acrifolin eine Rotfärbung, die sich nach kurzem Stehen noch vertieft.

**Folin-Denis-Reaktion:** 5 mg der drei Basen wurden in je 1 ccm 2*n* HCl gelöst und mit 2 ccm Reagens versetzt. Auf Zugabe von je 5 ccm gesätt. Natriumcarbonat-Lösung tritt nach kurzem Stehen eine sich mehr und mehr vertiefende Blaufärbung auf. Die Reaktion war bei allen drei Basen positiv.

#### Einwirkung von Lithiumphenyl auf Annotin

Zu einer aus 165 mg Brombenzol und 14 mg Lithium in 4 ccm absol. Äther (etwa 3faches d. Th.) frisch hergestellten Lithiumphenyl-Lösung, die sich in einem mit Quecksilberührer, Gaseinleitungsrohr, Rückflußkühler und Tropftrichter versehenen Dreihalskolben befindet, läßt man, nachdem die Luft durch Stickstoff verdrängt ist, langsam unter Rühren und weiterem Einleiten von Stickstoff eine Lösung von 100 mg Annotin in 30 ccm absol. Äther zutropfen. Es ist dabei keine Erwärmung zu beobachten. Anschließend wird die Reaktions-Lösung noch eine Stunde auf dem Wasserbad erhitzt. Nach dem Erkalten wird mit eisgekühlter 2*n* CH<sub>3</sub>CO<sub>2</sub>H zersetzt und zweimal mit Äther ausgezogen. Die essigsäure, das Umsetzungsprodukt enthaltende Lösung macht man mit Natronlauge alkalisch, wobei ein weißer, amorpher Niederschlag entsteht, der abgesaugt wird; Ausb. 90 mg (entspr. 71% d. Th.). Das amorphe, getrocknete Produkt wird in 25 ccm absol. Aceton durch Erhitzen unter Rückfluß gelöst und auf  $\frac{1}{5}$  des Volumens eingengt. Hierbei kristallisiert das Umsetzungsprodukt in glänzenden, weißen Nadelchen vom Schmp. 215–216° nach kurzem Sintern und Braunfärbung. In Wasser ist die Verbindung schwer löslich. Nochmaliges Umkristallisieren der Substanz aus Aceton ergibt unveränderte Analysenwerte, die, anders als erwartet, einer um CH<sub>2</sub>O ärmeren Verbindung zukommen.

$C_{21}H_{27}O_3N$ (341.4)	Ber. C 73.87	H 7.97	N 4.10
	Gef. C 73.38, 73.31	H 7.70, 7.93	N 4.05

#### Einwirkung von Lithiumphenyl auf Acrifolin

Auf die gleiche Weise wurden 100 mg Acrifolin, die in 12 ccm absol. Äther gelöst waren, mit einer aus 180 mg Brombenzol und 16 mg Lithium in 5 ccm Äther bereiteten Lithiumphenyl-Lösung (3faches d. Th.) umgesetzt. Wie im obigen Versuch schied sich auch hier die phenylierte Base beim Alkalischemachen der nach dem Zersetzen erhaltenen essigsäuren Lösung als amorpher, weißer Niederschlag ab; Ausb. 80 mg (entspr. 61% d. Th.). Die Substanz wurde in 20 ccm absol. Aceton durch Erhitzen unter Rückfluß

gelöst und ebenfalls auf  $\frac{1}{5}$  des Volumens eingeeengt, wobei das Umsetzungsprodukt in weißen Nadeln kristallisierte. Diese schmelzen nach kurzem Sintern bei 230–231° unter Braunfärbung.

$C_{22}H_{29}O_2N$  (339.5) Ber. C 77.83 H 8.61 N 4.12 Gef. C 78.01 H 8.66 N 4.19

Jodmethylat: 20 mg der vorstehenden Verbindung werden in 3.5 ccm absol. Aceton auf dem Wasserbad unter Rückfluß warm gelöst. Nach Zufügen von 0.5 ccm Methyljodid erhitzt man zum Sieden. Bereits nach 1 Min. scheidet sich das Jodmethylat spontan in Form blaßgelber Nadelchen ab. Sie werden aus Wasser, worin sie schwer löslich sind, umkristallisiert; farblose Nadeln vom Schmp. 282° (Zers.).

$C_{23}H_{32}O_2NJ$  (481.4) Ber. C 57.38 H 6.70 Gef. C 57.36 H 6.83

#### Hofmannscher Abbau der Lithiumphenylbase des Acrifolins

390 mg obigen Jodmethylates werden in 350 ccm Wasser heiß gelöst und nach dem Erkalten durch Schütteln mit Silberoxyd aus 0.21 g Silbernitrat (1.5taches d.Th.) in die quartäre Base übergeführt. Die über einer Glasritze abgesaugte Lösung wurde tropfenweise in einen auf dem kräftig erhitzten Wasserbad befindlichen evakuierten Claisen-Kolben eingetragen, an den sich ein mit wenig  $nHCl$  gefülltes Peligot-Rohr als Vorlage anschloß. Der Kolbenrückstand wurde in Wasser und Äther aufgenommen und der wäbr. Anteil erneut in den Kolben eingetragen. Dies wiederholte man in gleicher Weise noch ein zweites Mal.

Aus den vereinigten Ätherauszügen (etwa 100 ccm) kristallisierte nach dem Trocknen über Kaliumcarbonat und Einengen die des-Base in kleinen, glasklaren Prismen vom Schmp. 192–193°; Ausb. 65 mg (entspr. 22% d.Th.). Zur Analyse wurde die in Wasser schwer lösliche Substanz aus wenig Alkohol umkristallisiert.

$C_{23}H_{31}O_2N$  (353.5) Ber. C 78.14 H 8.84 Gef. C 77.67 H 8.86

Vom letzten wäbr. Anteil (14 ccm), der noch alkalisch reagierte, wurden 4 ccm abgetrennt und mit 2 Tropfen Überchlorsäure versetzt, wobei sich das Methylperchlorat sofort in kristallisierter Form abschied. Es wurde nicht näher untersucht. Der Rest der Flüssigkeit lieferte bei Zugabe von 3 Tropfen Jodwasserstoffsäure sofort das Jodmethylat zurück; 110 mg vom Schmp. 280°. Die Salzsäure der Vorlage hinterließ keinen wesentlichen Rückstand.

#### Reduktion des Annotins mit Lithiumaluminiumhydrid

100 mg Annotin in 30 ccm absol. Äther wurden, nachdem die Luft in der Apparatur durch Stickstoff verdrängt worden war, tropfenweise und unter Rühren mit 2.2 ccm einer 1.6-proz. äther. Lithiumaluminiumhydrid-Lösung (entspr. 35 mg  $LiAlH_4$ , etwa 3fachem d.Th.) in 8 ccm Äther versetzt. Es schied sich dabei sofort ein weißer, amorpher Niederschlag ab. Schließlich wurde noch  $\frac{1}{2}$  Stde. auf dem Wasserbad unter Rückfluß erhitzt und nach dem Erkalten mit 10 ccm Eiswasser zersetzt. Der abgetrennte und über Kaliumcarbonat getrocknete Äther hinterließ nach dem Abdestillieren einen gelben, harzigen Rückstand, welcher nach einigem Stehen im Eisschrank kristallisierte; Ausb. 60 mg. Aus wenig Alkohol dicke Prismen vom Schmp. 162–163° nach Sintern ab 159°. Misch-Schmp. mit Annotin 153–154°. Der Versuch wurde mit dem gleichen Ergebnis wiederholt.

$C_{16}H_{23}O_3N$  (277.4) Ber. C 69.28 H 8.36 Gef. C 69.41 H 7.97