

Reduktion von Dinicotinsäure-dinitril (XI): Zur Darstellung des Nitrils wurden 50 g Dinicotinsäure<sup>8)</sup> mit 150 ccm Thionylchlorid 15 Stdn. gekocht. Nach Verdampfen des überschüssigen Thionylchlorids wurde in konz. Ammoniak eingetragen. Der Niederschlag wurde aus viel Wasser umkristallisiert. Das Diamid schmolz bei 302°; Ausb. 26 g.

26 g Diamid wurden in 130 ccm Pyridin suspendiert und unter Rühren (Wasserkühlung) mit 19 ccm Phosphoroxychlorid versetzt. Es wurde 3 Stdn. auf 60° erwärmt, auf Eis gegossen und mit Methylenchlorid extrahiert. Der Eindampfrückstand wurde aus wäßrigem Methanol umkristallisiert, Schmp. 113°; Ausb. 15 g. Zur Analyse wurde bei 70°/1 Torr sublimiert.

$C_7H_3N_3$  (129.1) Ber. C 65.26 H 2.35 Gef. C 65.31 H 2.51

1 g Dinitril in 20 ccm Äther wurde mit 300 mg Lithiumaluminiumhydrid in 10 ccm Äther reduziert. Gelbe Kristalle von 1.4-Dihydro-dinicotinsäure-dinitril (XIV) aus verd. Methanol, dann Benzol/Methanol; Schmp. 197°.  $\lambda_{max} = 360 \mu$  (in Methanol).

$C_7H_6N_3$  (131.1) Ber. C 64.11 H 3.84 Gef. C 64.02 H 3.93

Reduktion von 2.6-Lutidin-dicarbonensäure-(3.5)-dinitril (X): 0.43 g Dinitril<sup>5)</sup> in 20 ccm Äther wurden mit 110 mg Lithiumaluminiumhydrid in 10 ccm Äther reduziert. Gelbe Kristalle aus Methanol, Schmp. 225°, keine Schmp.-Erniedrigung mit einem authentischen Präparat von 1.4-Dihydro-2.6-lutidin-dicarbonensäure-(3.5)-dinitril (XV)<sup>12)</sup>.  $\lambda_{max} = 362.5 \mu$  (in Methanol).

Katalytische Hydrierung von Dinicotinsäure-dinitril (XI): 0.5 g Dinitril wurden in 20 ccm Methanol mit 50 mg Platinoxid bis zur Aufnahme von 45 ccm  $H_2$  (0.5 Mol.) hydriert (3 Stdn.). Die gelb gewordene Lösung zeigte ein UV-Max. bei 360  $\mu$  (in Methanol) und gab mit neutraler Silberatzlösung eine Silberabscheidung. Das gleiche Ergebnis wurde bei der Hydrierung in Eisessig und in 1-proz. methanolischer Salzsäure erzielt. Auf eine Isolierung der Reaktionsprodukte wurde verzichtet.

Reduktion von Nicotinsäure-methylester: Der Ester wurde über das Säurechlorid dargestellt. 46 g Ester in 300 ccm Äther wurden unter Rühren bei 0° innerhalb von 30 Min. mit 6.5 g Lithiumaluminiumhydrid in 300 ccm Äther versetzt. Nach weiteren 30 Min. bei 0° wurde der Überschuß an Hydrid mit Methanol zersetzt und dann mit gesättigter Ammoniumchloridlösung hydrolysiert. Der Niederschlag wurde abgesaugt und mit Äther gut ausgewaschen. Nach Verdampfen des Äthers wurde i. Vak. destilliert, Sdp.<sub>0.1</sub> 110°; Ausb. 31.3 g  $\beta$ -Pyridyl-carbinol. Bestimmung des aktiven Wasserstoffs nach Zerewitinoff ergab 0.97 akt. H. Das Pikrat schmolz bei 158–160° (vergl. <sup>13)</sup>).

## 237. Werner Deckers und Josef Maier: Über zwei neue Alkaloide aus *Duboisia leichhardtii*

[Aus der Alkaloid-Abteilung und dem Analytischen Zentrallaboratorium der Fa. C. H. Boehringer Sohn, Ingelheim a. Rhein]

(Eingegangen am 11. September 1953)

Aus *Duboisia leichhardtii* wurde ein bisher nicht beschriebenes Hydrobromid isoliert. Es wurde festgestellt, daß es sich um das Hydrobromid einer Mischung von 1.25 Tln. Isobutyryl-tropein mit einem Tl.  $\alpha$ -Methylbutyryl-tropein handelt.

Die in Australien und Neuseeland beheimateten Solanaceenarten *Duboisia leichhardtii* und *Duboisia myoporoides* sind wegen ihres Gehalts an Tropaalkaloiden von Interesse. Die Gattung *leichhardtii* enthält als Hauptalkaloide Hyoscyamin und Scopolamin, wobei

<sup>12)</sup> W. Koenigs u. G. Happe, Ber. dtsch. chem. Ges. **35**, 1343 [1902].

<sup>13)</sup> L. Panizzon, Helv. chim. Acta **24** E, 24 [1941].

das Hyoscyamin überwiegt. Als Nebenalkaloid wurde Norhyoscyamin nachgewiesen<sup>1)</sup>. In *Duboisia myoporoides* überwiegt der Gehalt an Scopolamin. Als Nebenalkaloide sind Hyoscyamin und Norhyoscyamin sowie Tigloidin und Valeroidin gefunden worden. Weiter wurde von Barger und Mitarbb. ein Alkaloidgemisch aus *Duboisia myoporoides* isoliert und unter dem Namen „Base Z“ beschrieben<sup>1)</sup>. Es handelt sich wahrscheinlich um eine Mischung von 10 Tln. Isovaleryl-nortropein (Poroidin) mit einem Teil *d*- $\alpha$ -Methylbutyryl-nortropein (Isoporoidin). Eine Auftrennung des Gemisches in seine Komponenten gelang den Autoren nicht.

Mitchell beschrieb die Isolierung einer sogenannten „Base D“<sup>2)</sup>, ebenfalls aus *Duboisia myoporoides*, als öliges, nicht weiter aufgetrenntes Basengemisch. Eine Komponente der Base D soll angeblich Isovaleryl-tropein sein. Synthetisch hergestelltes Isovaleryltropein-Hydrobromid war jedoch mit dem Naturprodukt nicht identisch.

Wir konnten aus Extrakten von *Duboisia leichardtii* nach dem Abtrennen der Hauptalkaloide ein gut kristallisierendes Hydrobromid isolieren, das auch bei mehrfacher Umkristallisation aus Alkohol/Äther oder Aceton sich wie eine einheitliche Substanz verhielt. Der Schmelzpunkt des schwach rechts drehenden Hydrobromids liegt bei 218° C, stimmt also etwa mit dem für das Hydrobromid der „Base Z“ angegebenen Schmelzpunkt überein, so daß wir zuerst annahmen, die von Barger beschriebene Substanz in Händen zu haben. Das Pikrat unseres Produktes schmolz allerdings wesentlich höher (Schmp. 233° C) als das Pikrat der „Base Z“ (Schmp. 172° C). Weiterhin erhielten wir bei der Hydrolyse ausschließlich Tropin als Spaltbase, das als Mandelat und durch das UR-Spektrum identifiziert wurde. Unsere Verbindung konnte also mit der Base Z nicht identisch sein.

Bei der papierchromatographischen Untersuchung zeigte sich, daß das neue Alkaloid aus zwei Komponenten besteht, die mit Butanol-Ameisensäure-Wasser als Entwickler gut auftrennbar sind (Komponente A,  $R_F$  0.61, und Komponente B,  $R_F$  0.71). Eine präparative Trennung war möglich durch Verteilungschromatographie der Basen an einer gepufferten Silikagelsäule nach der Methode von W. C. Evans und M. W. Partridge<sup>3)</sup>. Wir erhielten in quantitativer Ausbeute zwei Alkaloidbasen im Äquivalentverhältnis 1:1.25. Die Alkaloide wurden durch die Schmelzpunkte der Hydrobromide, Pikrate und Chloraurate charakterisiert. Die leicht eluierbare Komponente A ist schwach rechts drehend, während die Komponente B optisch inaktiv ist.

Bei der Verseifung des Alkaloidgemisches wurde als Säurekomponente ein destillierbares Säuregemisch isoliert, das einen charakteristischen Geruch nach Buttersäure oder Valeriansäure hatte. Das durch potentiometrische Titration bestimmte Mol.-Gew. 96.0–96.5 machte es wahrscheinlich, daß ein Gemisch einer  $C_4$ - und einer  $C_5$ -Fettsäure vorlag. Durch mikrochemischen Nachweis konnte das Vorhandensein von Isobuttersäure als  $C_4$ -Säure sichergestellt werden. Da das Säuregemisch optisch aktiv war ( $[\alpha]_D^{20}$ : +3.75°), konnte es sich bei der  $C_5$ -Carbonsäure nur um *d*- $\alpha$ -Methylbuttersäure handeln, wofür auch

<sup>1)</sup> G. Barger, Wm. F. Martin u. Wm. Mitchell, J. chem. Soc. [London] 1937, 1820, 1938, 1685.

<sup>2)</sup> Wm. Mitchell, J. chem. Soc. [London] 1944, 480.

<sup>3)</sup> Quart. J. Pharmac. Pharmakol. 21, 126 [1948]; J. Pharmacy Pharmacol. 1, 593 [1949], 4, 769 [1952].

der mikrochemische Befund bei dem Silbersalz sprach. Das gefundene Mol.-Gewicht des Säuregemisches stimmt mit dem aus der Verteilungschromatographie bestimmten Verhältnis der Alkaloidbasen gut überein, wenn angenommen wird, daß es sich bei der Komponente A um *d*- $\alpha$ -Methylbutyryl-tropein, bei der inaktiven Komponente B um Isobutyryl-tropein handelt.

Zur Prüfung der analytischen Befunde wurden die vermutlichen Komponenten Isobutyryl-tropein und  $\alpha$ -Methylisobutyryl-tropein, letzteres in der racemischen Form, synthetisiert und mit den natürlichen Alkaloiden verglichen. Die Schmelzpunkte der Hydrobromide und Pikrate stimmen gut überein. Die Misch-Schmelzpunkte\*) zeigen keine Erniedrigung und die UR-Spektren sind identisch. Ein aus den synthetischen Komponenten im Äquivalentverhältnis 1.25:1 durch Auflösen in Aceton und Abdampfen des Lösungsmittels erhaltenes Gemisch zeigt allerdings einen etwas niedrigeren Schmelzpunkt als das natürliche Gemisch, möglicherweise wegen der optischen Aktivität des natürlichen Alkaloids. Der Misch-Schmelzpunkt der Gemische ist nicht erniedrigt.

### Beschreibung der Versuche

#### Isolierung des Alkaloidgemisches

Die nach Abtrennung von Hyoscyamin und Scopolamin erhaltenen Mutterlaugen aus der Extraktion von *Duboisia leichhardtii* wurden mit alkoholischer Bromwasserstoffsäure genau neutralisiert. Beim Aufbewahren kristallisierte ein Hydrobromid aus, das aus Aceton oder Alkohol/Äther-Gemisch bis zum konstanten Schmelzpunkt von 218–220° umkristallisiert wurde.  $[\alpha]_D^{20}$ : +2.87° (2-proz. wäbr. Lösung). Die Analyse ergab:

C 50.44 H 7.86 N 4.72 Br 28.0

Pikrat, Schmp. 233°\*\*).

#### Verseifung des Alkaloidgemisches

a) Mit Bariumhydroxyd: 100 mg Alkaloid-Hydrobromid wurden mit 25 ccm gesätt. Bariumhydroxydlösung 36 Stdn. unter Rückfluß gekocht, das Gemisch nach dem Erkalten erschöpfend mit Äther extrahiert und der Äther auf dem Wasserbad vertrieben. Nach dem Umkristallisieren aus Äther wurden 30 mg in Nadeln kristallisierendes Tropin vom Schmp. 63° erhalten. Das mandelsaure Salz, das in wenig Aceton dargestellt wurde, schmolz bei 158–160°; keine Erniedrigung mit authentischem Tropin-mandelat. Das UR-Spektrum war völlig identisch mit dem Spektrum von authentischem Tropin.

b) Mit äthanolischer Kalilauge: 6 g Hydrobromid wurden in 10 ccm 90-proz. Alkohol gelöst und mit 3.6 g Kalilauge 20 Stdn. in einer Druckbirne im siedenden Wasserbad verseift. Dann wurde der Alkohol abgetrieben, der Rückstand in wenig Wasser gelöst und erschöpfend mit Äther extrahiert. Aus dem Äther kristallisierte nach dem Einengen Tropin in Nadeln aus, das durch Schmelzpunkt, Mischschmelzpunkt und UR-Spektrum identifiziert wurde. Die wäßrige Lösung wurde mit verd. Schwefelsäure angesäuert und mit Äther die Säure extrahiert. Ausb. 1.5 g rohes Säuregemisch, Sdp.<sub>13</sub> 67–70°,  $[\alpha]_D^{20}$ : +3.75° (2-proz. wäbr. Lösg.).

#### Charakterisierung des Säuregemisches

Das Mol.-Gewicht wurde durch potentiometrische Titration mit  $n_{10}$  Natronlauge unter Benutzung einer hochohmigen Glaselektrode zu 98–98.5 bestimmt.

\*) Die Misch-Schmelzpunkte bei den Fettsäureestern des Tropins sind nicht sehr charakteristisch, weil sich bei den sehr ähnlichen Substanzen keine ausgesprochenen Eutektika mit stark erniedrigtem Schmelzpunkt bilden.

\*\*\*) Alle Schmelzpunkte wurden mit der Mikroschmelzpunkts-Apparatur nach Kofler bestimmt und korrigiert.

Die papierchromatographische Auftrennung des Säuregemisches wurde mit Hilfe verschiedener Lösungsmittelsysteme (Butanol-Ameisensäure-Wasser, sek. Butanol-Ameisensäure-Wasser, u.a.) versucht, ohne eine deutliche Auftrennung in die Komponenten zu erzielen. Ebensovienig konnten wir das Säuregemisch durch Verteilungschromatographie an mit Salzsäure desaktiviertem Silikagel unter Benutzung von Chloroform-Butanol als Elutionsmittel auftrennen<sup>4</sup>).

Zum mikrochemischen Nachweis wurden einige Tropfen Säure in der gleichen Menge Wasser gelöst und mit Calciumcarbonat neutralisiert. Die auf etwa 60° erwärmte Lösung wurde vom überschüssigen Carbonat dekantiert und 2 Tropfen der Lösung auf einem Objektträger mit der gleichen Menge gesättigter Calciumacetatlösung versetzt. Nach kurzer Zeit kristallisierte Calciumisobutyrat in feinen charakteristischen Nadeln aus. Ein anderer Teil der Lösung wurde auf dem Objektträger mit einem Tropfen Silbernitratlösung versetzt. Es kristallisierten langsam sechseckige, flache Einzelkristalle von der charakteristischen Form des Silberisobutyrates aus. Daneben schieden sich Nadeln in federförmiger Anordnung ab von der gleichen charakteristischen Form, wie man sie aus  $\alpha$ -Methylbuttersäure erhält.

Beim Versetzen eines Tropfens der verdünnten Lösung der Säure mit Kupferacetatlösung kristallisierte das Kupfersalz in derben, sternförmig angeordneten Prismen aus.

Die papierchromatographische Trennung des Alkaloidgemisches wurde nach der aufsteigenden Methode ausgeführt unter Verwendung eines Gemisches von Butanol, Wasser und Ameisensäure (15:20:10) als Entwickler.

Der Nachweis der Alkaloide auf dem Papier (Schleicher & Schüll 2043b) erfolgte mit modifiziertem Dragendorff-Reagens nach Macheboeuf<sup>5</sup>), wobei die Alkaloide als orangefarbene Flecke auf gelbem Grund erschienen.

Komponente A:  $R_F$  0.61

Komponente B:  $R_F$  0.71

#### Verteilungschromatographische Auftrennung

Im Prinzip wurde die Arbeitsweise von Evans und Partridge<sup>3</sup>) benutzt. Verwendet wurde Silikagel der Fa. Gebrüder Hermann, Köln-Ehrenfeld, speziell für chromatographische Zwecke.

Die Chromatographier-Einrichtung bestand aus einem Glasrohr von 30 cm Länge und 14 mm Durchmesser, das mit einem Vorratsgefäß und einer Überdruckvorrichtung mit Manometer verbunden war. Zur Vorbereitung der Säule wurden 20 g rein weiße Kieselgur mit 10 ccm  $m/2$  Phosphatpuffer,  $p_H$  7.2, in einer Reibschale intensiv verrieben. Die Säule wurde mit dem Träger bis zu einer Höhe von etwa 20 cm gefüllt und dann reiner Äther auf den Kopf der Kolonne gegeben. Mit Hilfe von Überdruck wurde der Äther in die Säule eingedrückt und der Druck dann so eingestellt, daß etwa 2 Tropfen/Sek. abließen.

Etwa 100 mg des Alkaloidgemisches wurden in Wasser gelöst, mit Ammoniak alkalisiert und mit Äther ausgeschüttelt. Die ätherische Lösung der Basen wurde auf den Kopf der vorbereiteten Chromatographiersäule gegeben und langsam eingedrückt. Dann wurde mit Äther eluiert, wobei jeweils 10 ccm des ablaufenden Lösungsmittels getrennt abgenommen wurden. Die einzelnen Fraktionen wurden jeweils mit 10 ccm Wasser versetzt, der Äther im Luftstrom abgeblasen und die Alkaloidbasen nach Zusatz von 2 Tropfen Universalindikator „Merck“ mit  $n/100$  Schwefelsäure auf  $p_H$  4.6 titriert. Die ersten Alkaloidanteile erschienen nach etwa 70 ccm und die Elution der Komponente A war nach etwa 200 ccm beendet. Die Komponente B erschien nach etwa 250–300 ccm im ablaufenden Äther und benötigte im ganzen etwa 600–700 ccm Äther zur vollständigen Elution. Den Titrationsverlauf eines typischen Chromatogramms zeigt Abbild. 1.

Die zusammengehörenden Fraktionen wurden vereinigt, mit Ammoniak alkalisiert und mit Äther ausgeschüttelt. Aus der getrockneten ätherischen Lösung der Basen erhielt

<sup>4</sup>) Methods of Analysis, A.O.A.C., S. 300ff., Washington 1950; K. O. Donaldson, V. J. Tulane u. L. M. Marshall, Analytic. Chem. 24, 185 [1952].

<sup>3</sup>) R. Munier u. M. Macheboeuf, Bull. Soc. Chim. biol. 31, 1144–1162 [1949].

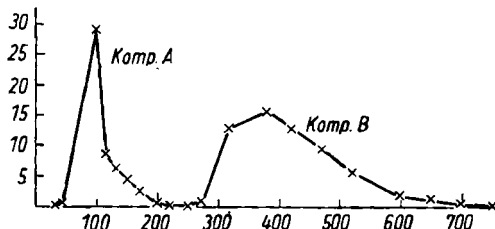
man nach Neutralisieren mit alkoholischer Bromwasserstoffsäure die krist. Hydrobromide der beiden Komponenten. Die Pikrate und Chloraurate wurden in der üblichen Weise dargestellt. Komponente A: Hydrobromid, Schmp. 206–207°.

$C_{13}H_{23}O_2N \cdot HBr$  (306.4) Ber. C 50.96 H 7.84 N 4.57 Gef. C 50.85 H 7.72 N 4.82

Pikrat, Schmp. 219–220°; Chloraurat, Schmp. 98–100°.

$C_{12}H_{21}O_2N \cdot HBr$  (292.2) Ber. C 49.32 H 7.55 N 4.78 Gef. C 49.54 H 7.46 N 4.68

Pikrat, Schmp. 211°; Chloraurat, Schmp. 129°.



Abbild. 1. Titrationsverlauf bei der Verteilungschromatographie des Alkaloidgemisches  
Ordinate: ccm  $n/100$  Schwefelsäure. Abszisse: ccm Eluat.

#### Vergleich der natürlichen Alkaloide mit synthetischen Produkten

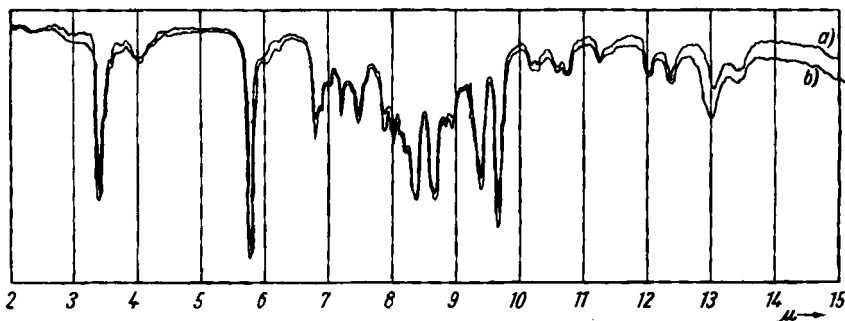
a) Isobutyryl-tropein: In eine Lösung von 16 g Tropin und 12 g Isobuttersäure wurde bei Zimmertemperatur 5 Stdn. trockener Chlorwasserstoff eingeleitet. Nach dem Erkalten wurde mit 10-proz. Ammoniak alkalisch gemacht und mit Benzol extrahiert. Der Extrakt wurde getrocknet, das Benzol abgetrieben, der ölige Rückstand in wenig Alkohol gelöst und mit alkoholischer Bromwasserstoffsäure genau neutralisiert. Beim Stehenlassen kristallisierten 15 g Isobutyryl-tropein-Hydrobromid vom Schmp. 234 bis 235° aus.

$C_{12}H_{21}O_2N \cdot HBr$  (292.2) Ber. C 49.32 H 7.55 N 4.79 Gef. C 49.32 H 7.46 N 4.66

Pikrat, Schmp. 211–212°.

Keine Schmelzpunkts-Erniedrigung mit dem Hydrobromid und Pikrat der Komponente B.

Das UR-Spektrum wurde nach Aufbringen eines kleinen Tropfens der Base zwischen zwei Steinsalzplatten aufgenommen; es erwies sich mit demjenigen der natürlichen Komponente identisch (Abbild. 2).



Abbild. 2. UR-Spektrum von Isobutyryl-tropein, a) Spektrum des Naturprodukts, b) Spektrum der synthetischen Verbindung

b) *d,l*- $\alpha$ -Methylbutyryl-tropein: 2 g Tiglinsäure wurden in einer Schüttelbirne, in etwa 50 ccm Methanol gelöst, i. Ggw. von 0.5 g Palladium hydriert. Nach etwa 6 Stdn. war die berechnete Menge Wasserstoff aufgenommen. Das Lösungsmittel wurde

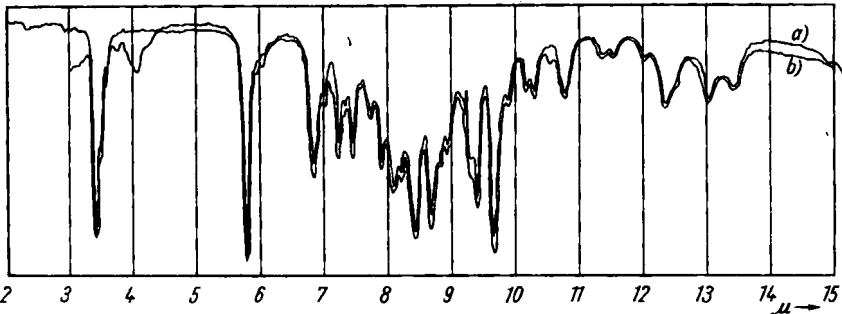
abgetrieben und der ölige Rückstand im Wasserstrahlvakuum destilliert. *d.l.*- $\alpha$ -Methylbuttersäure ging bei 75–80° über; Ausb. 1.5 g.

0.5 g Tropin wurden in 0.8 g *d.l.*- $\alpha$ -Methylbuttersäure gelöst und, wie bei Isobutyryl-tropein beschrieben, unter Einleiten von Chlorwasserstoff verestert. Die Isolierung der Alkaloide erfolgte wie bei Isobutyryl-tropein. Ausb. 0.9 g *d.l.*- $\alpha$ -Methylbutyryl-tropein-Hydrobromid; Schmp. 208–209°.

$C_{13}H_{23}O_2N \cdot HBr$  (306.4) Ber. C 50.96 H 7.84 N 4.57 Gef. C 51.6 H 7.75 N 4.65  
Pikrat, Schmp. 223–224°.

Mit Komponente A keine Schmelzpunkts-Erniedrigung.

Das UR-Spektrum stimmte mit demjenigen der natürlichen Komponente überein (Abbild 3).



Abbild. 3. UR-Spektrum von  $\alpha$ -Methylbutyryl-tropein, a) Spektrum des Naturprodukts, b) Spektrum der synthetischen Verbindung

(Die bei synthetischem  $\alpha$ -Methylbutyryl-tropein sichtbare schwache Bande bei 3.95  $\mu$  entspricht der NH-Schwingung des quartären Stickstoffs und rührt von geringen Mengen beigemischten Salzes her)

c) Zum Vergleich mit dem natürlichen Alkaloidgemisch wurden 1 Äquiv. *d.l.*- $\alpha$ -Methyl-tropein-HBr und 1.25 Äquiv. Isobutyryltropein-HBr in Aceton gelöst und das Lösungsmittel auf dem Wasserbad abgedampft. Der Rückstand wurde im Exsiccator getrocknet und dann im Achatmörser fein verrieben. Schmp. 215–216°, Misch-Schmp. des natürlichen und des synthetischen Gemisches 216–217°.