

190. Rudolf Tschesche und Akhil Chandra Roy: Über Kurchi-Alkaloide, II. Mitteil.¹⁾: Die Konstitution des Conessidins

[Aus der Biochemischen Abteilung des Chemischen Staatsinstituts der Universität Hamburg]

(Eingegangen am 6. Februar 1956)

Conessidin hat die Formel $C_{22}H_{34}N_2$ und ist ein *N*-Methyl-(C³)-konkurchin. Trimethyl-konkurchin wurde aus Kurchirinde neu isoliert und die Existenz von Conamin bestätigt. Die leichter hydrierbare Doppelbindung des Konkurchins nimmt die Stellung $\Delta^{17:20}$ ein, bei der Ozonolyse konnte Essigsäure erhalten werden. Dieser Befund gestattet, zu Gunsten des Konstitutionsvorschlages von Haworth für Conessin in Bezug auf den Ring E zu entscheiden, der Ring wird zwischen C¹⁸ und C²⁰ durch N geschlossen.

Vor zwei Jahren war über die Trennung der Alkaloide der Kurchirinde (*Holarrhena antidysenterica*) mit Hilfe chromatographischer Verfahren berichtet worden^{1,*)}. Dabei haben wir außer Conessin, Conessidin, Conessimin und Conimin ein bisher nicht beschriebenes Alkaloid, Holarrhessimin, isoliert. Von den genannten Alkaloiden ist außer der Konstitution des letzteren auch noch die von Conessidin ungeklärt; über seine Konstitution soll in dieser Arbeit berichtet werden.

Conessidin ist erstmalig von A. Bertho und Mitarbb.²⁾ beschrieben worden, die ihm die Summenformel $C_{21}H_{32}N_2$ zuerteilten, ferner fanden sie eine *N*-Methylgruppe in der Molekel. Dieser Befund war auffällig, da nach den Arbeiten von A. Bertho³⁾ sowie R. D. Haworth und Mitarbb.⁴⁾ den Kurchi-Alkaloiden das Ringsystem des Pregnans mit 21 C-Atomen zu Grunde liegt, Conessidin sollte daher wenigstens 22 C-Atome enthalten. Die Wiederholung der Analysen ergab jedoch Werte, die gut mit der von Bertho vorgeschlagenen Summenformel in Einklang standen. Als wir aber zu der Analyse des Hydrojodids übergingen, waren die Befunde besser mit $C_{22}H_{34}N_2$ vereinbar. Daß diese Zahlen richtig sein müssen, ergibt sich aus folgender Feststellung: Hydriert man Conessidin mit katalytisch erregtem Wasserstoff bis zur Aufnahme von 1 Mol., so ist das gebildete Dihydroconessidin mit Conimin $C_{22}H_{36}N_2$ identisch^{5,6)}. Bei der Methylierung mit Formaldehyd und Ameisensäure geht letzteres in Conessin über. Bei der Verbrennung des Conessi-

¹⁾ I. Mitteil.: R. Tschesche u. R. Petersen, Chem. Ber. 87, 1719 [1954].

^{*)} In dieser Arbeit ist auf S. 1722 in der Fußnote bei der Angabe des Schmelzpunktes von Holarrhimin-sulfat ein Irrtum unterlaufen, auf den uns Herr Prof. Bertho freundlichweise aufmerksam machte; es muß hier heißen 332° (korr.) und nicht 245°.

²⁾ A. Bertho, G. v. Schuckmann u. W. Schönberger, Ber. dtsh. chem. Ges. 66, 786 [1933]; A. Bertho, Arch. Pharmaz. Ber. dtsh. pharmaz. Ges. 277, 244 [1939].

³⁾ Liebigs Ann. Chem. 569, 1 [1950]; 573, 210 [1951].

⁴⁾ R. D. Haworth, J. McKenna u. N. Singh, J. chem. Soc. [London] 1949, 831; R. D. Haworth, J. McKenna u. G. H. Whitfield, ebenda 1949, 3127; R. D. Haworth, J. McKenna, R. G. Powell u. P. Woodward, ebenda 1951, 1736.

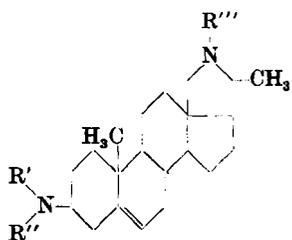
⁵⁾ S. Siddiqui, J. Indian chem. Soc. 11, 283 [1934]; Proc. Indian Acad. Sci., Sect. A 3, 249, 257 [1936].

⁶⁾ S. Siddiqui u. P. P. Pillay, J. Indian chem. Soc. 9, 553 [1937].

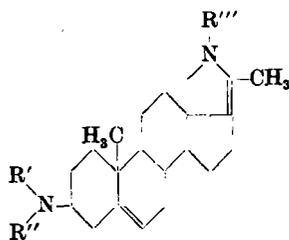
dins als freie Base müssen irgendwelche Umstände die C-Werte stets zu niedrig ausfallen lassen; wir vermuten, daß Spuren von Wasser oder Lösungsmittel sehr festgehalten und dadurch die Analysenergebnisse verfälscht werden.

Conessidin könnte nach diesen Befunden ein Monomethyl-conkurchin sein; wie dieses enthält es eine leichter hydrierbare Doppelbindung zusätzlich zu der zweiten, schwerer abzusättigenden des Conessins. Unter Zugrundelegung der Konstitutionsformel von Haworth⁷⁾ für Conessin (I) ergibt sich für Konkurchin die Formulierung II, wenn man die Befunde von Bertho an diesem Alkaloid verwendet. Bertho hat für die leichter hydrierbare Doppelbindung des Konkurchins angegeben, daß sie sich im N-haltigen Ring E befinden muß. Wir werden darüber hinaus zeigen, daß sie nur die in der Formel II angegebene Position einnehmen kann. Für Conimin ist die Stellung der Methylgruppe in der NH₂-Gruppe an C³ gesichert. Wir konnten ferner feststellen, daß das Ditosylat des Conessidins unlöslich in Alkali wie in Säuren ist, was ebenfalls nur mit einer Stellung der CH₃NH-Gruppe an C³ vereinbart werden kann. Überdies läßt sich nach G. Kainz und F. Schöller⁸⁾ keine primäre Aminogruppe im Conessidin nachweisen.

Methyliert man Conessidin oder Konkurchin mit Formaldehyd und Ameisensäure, so entsteht aus beiden das gleiche Trimethyl-conkurchin (IV), das wir inzwischen als natürlich vorkommendes Alkaloid isolieren konnten. Auch beim Trimethyl-conkurchin fielen die Analysenwerte stets zu niedrig aus, und erst das Dihydrojodid gab stimmende Analysen. Conessidin muß daher die Konstitution III haben mit gleicher Stellung der Doppelbindungen wie im Konkurchin.



I: R', R'', R''' = CH₃: Conessin



II: R', R'', R''' = H: Konkurchin

III: R' = CH₃; R'', R''' = H: Conessidin

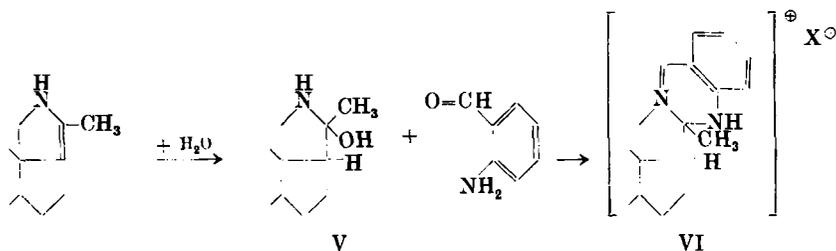
IV: R', R'', R''' = CH₃: Trimethyl-conkurchin

Auf die Lage der leichter hydrierbaren Doppelbindung im Ring E des Konkurchins hat Bertho³⁾ aus der Bildung eines Dihydro-chinazolinium-Derivates mit *o*-Aminobenzaldehyd geschlossen, dem nunmehr die Konstitution VI zukommen muß. Die Reaktion geht zurück auf eine Feststellung von Cl. Schöpf und F. Oechler⁹⁾ am Δ^1 -Pyrrolin, das sich in entsprechender

⁷⁾ R. D. Haworth, J. McKenna u. G. H. Whitfield, J. chem. Soc. [London] 1953, 1102. ⁸⁾ Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. 301, 259 [1955].

⁹⁾ Liebigs Ann. Chem. 523, 25 [1936].

Weise mit diesem Reagens zu einem orangefelben Kondensationsprodukt umgesetzt. Die für Conessidin vorgeschlagene Konstitution erfordert in Analogie zum Konkurchin, daß diese Reaktion auch bei ihm durchführbar sei, was in der Tat der Fall ist. Die UV-Spektren des Umsetzungsproduktes von Konkurchin, Conessidin und des sich ebenso verhaltenden α -Tripperideins¹⁰⁾ sind außerordentlich ähnlich (s. d.). Nun enthalten aber Δ^1 -Pyrrolin und α -Tripperidein eine $-C=N$ -Bindung, was im Konkurchin und Conessidin nach unserer Formulierung nicht der Fall ist. Damit steht die Beobachtung in Einklang, daß die Reaktion mit *o*-Aminobenzaldehyd erst dann abläuft, wenn im Reaktionsmedium Wasser vorhanden ist, wie in mehreren Versuchen immer wieder bestätigt werden konnte. Wir nehmen an, daß in Gegenwart von Säure zunächst eine Anlagerung von Wasser an die Doppelbindung erfolgt und daß diese Hydroxy-Verbindung (V) oder aber ihr Dehydratisierungsprodukt mit Δ^1 -Stellung der Doppelbindung zum N mit dem Reagens in Umsetzung tritt.



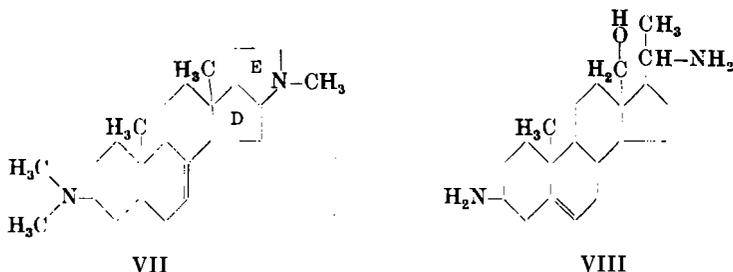
Daß die leichter hydrierbare Doppelbindung im Konkurchin und Conessidin die Stellung $\Delta^{17:20}$ einnimmt, ergibt sich aus der Ozonspaltung dieser Verbindungen*). Dabei ließ sich mit Conessidin und Trimethyl-konkurchin nach alkalischer Hydrolyse Essigsäure in einer Menge von 85 % der theoretischen nachweisen. Das ist nur bei dieser Lage der Doppelbindung möglich. Allerdings muß man vor der Hydrolyse eine Reduktion der gleichfalls entstehenden Ketogruppe an C¹⁷ mit Natriumborhydrid vornehmen, um eine Kondensation dieser Gruppe mit der Acetylgruppe im alkalischen Milieu zu vermeiden. In saurer Lösung verläuft die Abspaltung der Essigsäure relativ langsam, sie kann aber auch dann festgestellt werden. Conessin, dem diese Doppelbindung fehlt, gibt hingegen nur Spuren flüchtiger Säuren. Die Auffindung von Essigsäure bei der Ozonspaltung macht eine Entscheidung zwischen den Conessinformeln von Bertho**) (VII) und von Haworth (I)

¹⁰⁾ Cl. Schöpf, H.-K. Blödorn, D. Klein u. G. Seitz, Chem. Ber. **83**, 378 [1950]; vergl. auch Samandarin: Cl. Schöpf u. D. Klein, Chem. Ber. **87**, 1639 [1954].

*) Daß die ditertiäre Doppelbindung $\Delta^{17:20}$ leichter hydriert wird als die tertiäresekundäre Δ^6 , kann vielleicht mit einer Verschiebung in eine andere Position durch den Katalysator vor der Hydrierung erklärt werden.

) A. Bertho hat auf der Tagung der Gesellschaft Deutscher Chemiker in München 1955 darauf hingewiesen, daß nach seiner Meinung die Haworthsche Conessinformel in Bezug auf die Lage der Doppelbindung und die Angliederung des heterocyclischen Ringes E noch nicht völlig gesichert sei (Angew. Chem. **67, 716 [1955]).

möglich. Wie man auch eine Doppelbindung in den Ring D oder E der Berthoschen Formel legen will, niemals ist die Bildung von Essigsäure bei der Ozonspaltung möglich. Wir sehen darin einen Beweis, daß nur die Haworthsche Formel (I) in Bezug auf den Ring E richtig sein kann.



Trimethyl-conkurchin, das wir neu in der Rinde auffanden, ist vermutlich auf Grund seiner großen Ähnlichkeit mit Conessin bisher übersehen worden. Bei der Chromatographie an Aluminiumoxyd erschien es nach dem Conessin. Während dieses schon mit Benzol abgelöst wurde, kam Trimethyl-conkurchin erst mit Benzol/Chloroform (9:1); auf Grund seiner zusätzlichen Doppelbindung wurde es vom Al_2O_3 fester adsorbiert. Es ist neben Conessin ein Hauptalkaloid der Rinde. Trimethyl-conkurehin hatte einen Schmp. von 125–128°, $[\alpha]_D^{18}$: +12.0° (Conessin 123–127°, $[\alpha]_D^{18}$: -1.9°), der Misch-Schmelzpunkt zeigte eine sehr geringe Depression (120–125°); Conessin-hydrojodid, Schmp. 306–308°, Pikrat, Schmp. 222–224°; Trimethyl-conkurchin-hydrojodid, Schmp. 328–330°, Pikrat, Schmp. 198–200°. Bei der Papierchromatographie wurde im Lösungsmittelgemisch *n*-Butanol/Eisessig/Wasser 4:1:5 nur ein geringer Unterschied im R_F -Wert aufgefunden (0.53 gegen 0.51). Dagegen erwiesen sich bei Conessin und Trimethyl-conkurchin die IR-Spektren deutlich verschieden; das IR-Spektrum des natürlichen Trimethyl-conkurchins war mit dem Spektrum der aus Conessidin durch Methylierung gewonnenen Verbindung identisch. Trimethyl-conkurchin hat bei 1625–1665 cm^{-1} eine ziemlich breite Bande mittlerer Intensität, die der Doppelbindung $\Delta^{17:20}$ in Conjugation zum Ringstickstoff zugeordnet werden dürfte und die bei Conessin nur schwach ausgebildet ist. Conessin, das nicht sorgfältig durch Chromatographie gereinigt worden ist, enthält stets gewisse Mengen Trimethyl-conkurchin, worauf die Literaturangabe zurückgeht^{4b}), daß dem Conessin eine ausgeprägte Bande bei 1665 cm^{-1} zukäme.

Durch die Konstitutionsermittlung des Conessidins ist nunmehr eine systematische Einteilung der zahlreichen Alkaloide der Kurchirinde möglich. Den Typ 1 hat schon Siddiqui⁵) erkannt und nach dem nicht methylierten Grundkörper als Conarrhimintyp bezeichnet. Von den in der Tafel 1 genannten Verbindungen sind allein Conarrhimin und Conamin bisher nicht mit Conessin verknüpft worden. Conamin konnten wir inzwischen nochmals aus Kurchirinde isolieren, so daß an der Existenz dieses Alkaloids kein Zweifel sein kann. Es scheinen also alle möglichen Methylierungsformen des Conarrhimins vorzukommen. Als Typ 2 möchten wir den mit dem Grundkörper Conkurchin vorschlagen; von ihm sind bisher insgesamt zwei Methylderivate aufgefunden worden (Tafel 2), drei mögliche Formen fehlen noch. Schließlich sei als dritter Typ Holarrhimin erwähnt (Formel VIII), dessen Konstitution von Haworth¹¹) und von L. Lábler, V. Černý und F. Šorm¹²)

¹¹) H. Favre, R. D. Haworth, J. McKenna, R. G. Powell u. G. H. Whitfield, J. chem. Soc. [London] 1953, 1115.

¹²) Chem. Listy 49, 1389 [1955].

bestimmt wurde. Von Holarrhimin sind merkwürdigerweise bisher keine Methylierungsstufen als natürlich vorkommende Alkaloide beschrieben worden. Darüber hinaus sind auch noch Kurchin, Holarrhin, Holarrhenin und Holarrhessimin in ihrer Konstitution zu klären.

Tafel 1. Alkaloide vom Conarrhimintyp (Δ^5)

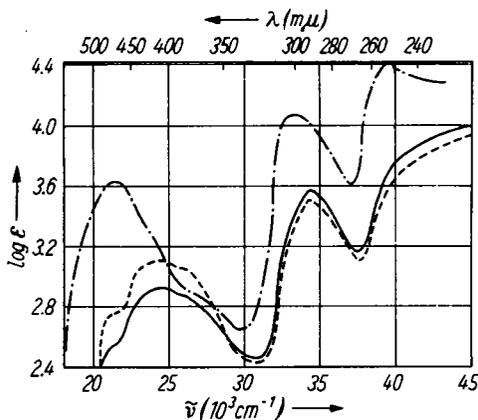
R'	R''	R'''	
H	H	H	Conarrhimin
CH ₃	H	H	Conimin
CH ₃	CH ₃	H	Conessimin
H	H	CH ₃	Conamin
CH ₃	H	CH ₃	Isoconessimin
CH ₃	CH ₃	CH ₃	Conessin

(vergl. Formel I)

Tafel 2. Alkaloide vom Konkurchintyp (Δ^5 , $\Delta^{17:20}$)

R'	R''	R'''	
H	H	H	Konkurchin (II)
CH ₃	H	H	Conessidin (III)
CH ₃	CH ₃	CH ₃	Trimethyl-konkurchin (IV)

Wir danken der Deutschen Forschungsgemeinschaft für die finanzielle Unterstützung dieser Arbeit. Ferner sei Herrn Prof. Dr. Ehrhart, Farbwerke Hoechst, für das Ausgangsmaterial und seine mannigfache Hilfe gedankt. Dr. Akhil Chandra Roy erhielt ein Stipendium im Rahmen des Indo-German Industrial Cooperation Scheme, wofür er auch hier danken möchte.



Abbild. 1. UV-Spektren der Dihydro-chinazolinium-Derivate aus: ----- Conessidin; ——— Konkurchin; - - - - Δ^1 -Piperidein (nach Cl. Schöpf und Mitarbb. l. c.¹⁰)

Beschreibung der Versuche

Die UV-Spektren wurden mit einem Beckman-Apparat, Modell DU, aufgenommen, die Elementaranalysen stammen von Dr. Ing. A. Schoeller, Kronach, und die NH_2 -Bestimmung von Dr. G. Kainz, Wien.

Conessidin-hydrojodid: 31 mg Conessidin wurden in 1 ccm Wasser mit einem Tropfen Eisessig gelöst, und die Mischung wurde mit einer Lösung von 30 mg Kaliumjodid in 1 ccm Wasser versetzt. Beim Stehenlassen der Lösung erschienen farblose Kristalle, die, aus Wasser umkristallisiert, Stäbchen vom Schmp. 223–225° ergaben. Bei 175° begannen sie sich zu verfärben.

$C_{22}H_{34}N_2 \cdot HJ + 1H_2O$ (372.5) Ber. C 55.93 H 7.89 N 5.92
Gef. C 56.20, 56.18 H 8.04, 8.01 N 5.69

Für Conessidin (freie Base) wurde in Äthanol $[\alpha]_D^{25}$: $-49.0^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 1.0$) gefunden. Bei der Hydrierung in Eisessig mit Platinoxid als Katalysator wurden 2 Moll. H_2 verbraucht.

Conimin durch Hydrierung von Conessidin: 100 mg Platinoxid in 10 ccm Methanol wurden in einer Wasserstoffatmosphäre reduziert. Dann wurden 108 mg Conessidin in 5 ccm Methanol hinzugegeben und die Mischung unter Wasserstoff geschüttelt. Innerhalb von 4 Stdn. waren 2.5 ccm aufgenommen worden. Da die Hydrierung sistierte, wurde das Platin abgesaugt, die Lösung zur Trockne eingedampft und die Hydrierung des in 10 ccm neuem Methanol aufgenommenen Trockenrückstandes mit 100 mg frisch reduziertem Platinoxid wieder aufgenommen. In 6 Stdn. wurden weitere 2.8 ccm verbraucht. Da die Hydrierung dann wieder aufhörte, wurde in gleicher Weise wie oben noch 3mal verfahren. Insgesamt wurden so noch 6.5 ccm Wasserstoff entspr. etwa 75% der theoret. Menge aufgenommen. Alsdann war auch nach Zusatz neuen Platins kein Wasserstoffverbrauch mehr zu erreichen.

Nach Entfernung des Platins konnten aus der eingedampften methanol. Lösung beim Stehenlassen über Nacht nadelförmige Kristalle erhalten werden. Sie wurden in Aceton aufgenommen, die Lösung wurde vom Ungelösten befreit und eingedampft. Nach mehrfachem Umkristallisieren aus Aceton wurden 20 mg stäbchenförmige Kristalle erhalten, die bei 133–135.5° schmolzen, $[\alpha]_D^{25}$: $-27^\circ \pm 2^\circ$ (Äthanol). Für Conimin wurde in der Literatur^{5,6}) als Schmp. 131–134° bzw. 130° und eine Drehung von $[\alpha]_D^{25}$: $-26^\circ \pm 3^\circ$ bzw. $[\alpha]_D$: -30° (Äthanol) angegeben.

$C_{22}H_{36}N_2$ (328.5) Ber. C 80.43 H 11.05 N 8.53 Gef. C 80.19 H 10.92 N 8.73

Überführung von Dihydro-conessidin (Conimin) in Conessin: 100 mg Dihydro-conessidin, 1.1 ccm 40-proz. Formaldehyd-Lösung und 1 ccm frisch dest. Ameisensäure wurden 1 Stde. unter Rückfluß zum Sieden erhitzt. Nach der üblichen Aufarbeitung wurden aus Aceton Kristalle erhalten, die einen Schmp. von 123–127° zeigten und mit authentischem Conessin keine Schmelzpunktsdepression ergaben; $[\alpha]_D^{25}$: $+21^\circ \pm 2^\circ$ (Äthanol). Auch bei der Papierchromatographie in zwei verschiedenen Lösungsmittelgemischen und im IR-Spektrum erwiesen sich die Kristalle als mit Conessin identisch.

Conessidin-ditosylat: 32 mg Conessidin wurden mit 48 mg *p*-Toluolsulfochlorid in 3.0 ccm Pyridin unter Schütteln gelöst. Die zunächst farblose Lösung wurde gelb, sie wurde bei Raumtemperatur über Nacht stehengelassen. Am anderen Morgen hatte sie sich entfärbt und wurde i. Vak. zur Trockne eingedampft. Die übliche Aufarbeitung lieferte aus Aceton Kristalle, die aus einer Mischung von Methanol/Aceton umkristallisierbar waren. Es wurden so 15 mg feine Stäbchen vom Schmp. 225–227° erhalten, die sich als unlöslich in Säuren wie in Alkali erwiesen.

$C_{36}H_{46}O_4N_2S_2 + 1H_2O$ (652.5) Ber. C 66.20 H 7.40 N 4.39 Gef. C 66.42 H 7.50 N 4.90

Chinazolium-Derivate aus Conessidin und Konkurchin mit *o*-Aminobenzaldehyd: Je eine Probe Conessidin (6.5 mg) und Konkurchin (6.2 mg) wurden mit 2.4 mg *o*-Aminobenzaldehyd gemischt. Jede der Mischungen wurden in 2 ccm reinem Methanol gelöst, 1 Äquiv. methanol. Salzsäure hinzugefügt und die Lösung auf 5 ccm aufgefüllt. Innerhalb von 24 Stdn. war keine Färbung zu beobachten. Wurden nunmehr 5 ccm Wasser hinzugefügt, so entwickelte sich alsbald bei Raumtemperatur eine orangefarbene Färbung. Nach 24 Stdn. wurde die Lösung auf das 100fache verdünnt, so daß sie $m/10000$ wurde, und die Absorption im Beckman-Spektrophotometer bestimmt.

Dimethyl-conessidin (Trimethyl-konkurchin): 100 mg Conessidin wurden mit 3 ccm 40-proz. Formaldehyd-Lösung und 0.8 ccm Ameisensäure 1 Stde. unter

Rückfluß erhitzt. Danach wurden noch einmal 2 ccm Formaldehyd-Lösung und 0.4 ccm Ameisensäure nachgegeben und eine weitere Stunde gekocht. Die übliche Aufarbeitung ergab aus Aceton farblose Platten vom Schmp. 125–127°, $[\alpha]_D^{25} : +12.0^\circ \pm 3^\circ$ (Chlf.), Ausb. 30 mg.

$C_{24}H_{38}N_2$ (354.6) Ber. C 81.30 H 10.80 N 7.90 Gef. C 80.76 H 11.35 N 7.74

Trimethyl-conkurchin-dihydrojodid: 35.4 mg Trimethyl-conkurchin wurden in 1 ccm verd. Essigsäure gelöst und 100 mg Kaliumjodid, in wenig Wasser gelöst, hinzugefügt. Nach einigem Stehenlassen kristallisierte das Dihydrojodid aus und wurde mehrmals aus Wasser umkristallisiert. Es wurden farblose Aggregate von Nadeln erhalten, die einen Schmp. von 328–330° nach vorherigem Sintern und Braunwerden zeigten.

$C_{24}H_{38}N_2 \cdot 2HJ$ (610.4) Ber. C 47.17 H 6.60 N 4.58 Gef. C 47.11 H 6.87 N 4.50

Trimethyl-conkurchin aus Konkurchin: Bei der Methylierung des Konkurchins (80 mg) in der oben beschriebenen Weise wurde Trimethyl-conkurchin vom Schmp. 124–126° erhalten, das mit Dimethyl-conessidin keine Schmelzpunktsdepression lieferte und sich auch im IR-Spektrum mit diesem als identisch erwies.

Isolierung von Trimethyl-conkurchin aus Kurchirinde: 10 kg Kurchirinde wurden in der früher beschriebenen Weise¹⁾ verarbeitet. Bei der Chromatographie von 80 g Alkaloid-Konzentrat an 2500 g Aluminiumoxyd (Aktivitätsstufe I) wurde zunächst mit Benzol vorwiegend Conessin (4 g) von der Säule erhalten. In den folgenden Fraktionen mit Benzol/Chloroform (9:1) fand sich vorwiegend Trimethyl-conkurchin, teilweise schon im Gemisch mit anderen Alkaloiden. Die 39.–45. Fraktion war jedoch einheitlich (350 mg) und konnte leicht durch Kristallisation aus Aceton gereinigt werden; sie erwies sich in allen Eigenschaften mit dem Material aus Conessidin und Konkurchin nach der Methylierung als identisch.

Auffindung von Essigsäure bei der Ozonspaltung nach alkalischer Hydrolyse: Jeweils 70 mg Trimethyl-conkurchin bzw. Conessidin wurden in 20 ccm reinem trockenem Chloroform gelöst, und trockenes Ozon wurde bei –80° durch die Lösung geleitet. Sobald sich nach ca. 10 Min. eine tiefblaue Färbung entwickelt hatte, wurde das Einleiten von Ozon unterbrochen, die Lösung nach Erwärmen auf 0° i. Vak. zur Trockne eingedampft. Der Rückstand wurde in 5 ccm Methanol aufgenommen und 1 g Natriumborhydrid langsam und unter Umschütteln bei 0° zugegeben. Es wurde über Nacht stehengelassen. Anschließend wurde das reduzierte Material 8 Stdn. mit 2*n* NaOH in 50 ccm Methanol zum Sieden erhitzt. Dann wurde das Methanol i. Vak. entfernt und 5 ccm sirupöse Phosphorsäure zum Rückstand hinzugegeben. Die in Freiheit gesetzte Essigsäure wurde im Stickstoffstrom abdestilliert, wobei das übergehende Wasser im Destillationskolben von Zeit zu Zeit durch neues ersetzt wurde. Es wurden so insgesamt 30 ccm Destillat erhalten.

Das Destillat wurde mit 1 g Calciumcarbonat versetzt, die Lösung nach einiger Zeit zur Trockne eingedampft. Der Nachweis der Essigsäure erfolgte nach dem Verfahren von F. Feigl¹³⁾. Durch starkes Erhitzen des Calciumsalzes wurde Aceton bereitet, das gegen einen mit alkalischer *o*-Nitrobenzaldehyd-Lösung getränkten Papierstreifen destilliert wurde. Beim Behandeln des Papierstreifens mit einem Tropfen Salzsäure färbte sich das Papier durch Indigo-Bildung blau. Positive Ergebnisse wurden auf diese Weise mit Konkurchin, Conessidin und Trimethyl-conkurchin erhalten, nicht mit Conessin oder ohne Alkaloid bei einer Blindprobe.

Für die quantitative Bestimmung der gebildeten Essigsäure wurde das Destillat von der Ozonolyse des Conessidins in 10-ccm-Fractionen mit je 2 ccm 2-proz. Kaliumjodid-Lösung und 2 ccm 0.4-proz. Kaliumjodat-Lösung versetzt. Das ausgeschiedene Jod wurde in Gegenwart von Stärke mit Thiosulfat bestimmt. Es wurde ein Verbrauch von 4.28 ccm $n/100$ Thiosulfatlösung bei einer Einwaage von 16.3 mg Conessidin erhalten, das entspricht 85% der theoret. Menge an Essigsäure.

¹³⁾ Spot Tests, Vol. II, Elsevier Publishing Corporation, New York 1954, S. 248.

Isolierung von Conamin: In der 1. Arbeit¹⁾ war die Untersuchung des Methanol-Eluates von der Aluminiumoxyd-Säule unterblieben. 2 g dieser Fraktion aus 20 g Rinde wurden in 100 ccm Chloroform gelöst, und die Lösung wurde einige Male mit 1-proz. Überchlorsäure-Lösung ausgeschüttelt (1000 ccm). Die wäßrige Lösung wurde mit etwas Tierkohle entfärbt und i. Vak. auf ein kleines Volumen eingeeengt. Dann wurde die saure Lösung mit Ammoniak alkalisch gemacht und das Alkaloid mit Chloroform extrahiert. Der Extrakt wurde zur Trockne eingedampft und der Rückstand mit verd. Salzsäure ausgezogen. Dabei zeigte sich, daß das Hydrochlorid des Conamins in Wasser löslich war, jedoch nicht bei Raumtemperatur in höher konzentrierter Salzsäure. Es wurde daher eine wäßrige Lösung des Hydrochlorids (800 mg in 500 ccm Wasser) mit 15 ccm konz. Salzsäure versetzt. Der entstandene Niederschlag (240 mg) wurde 6mal aus verd. Salzsäure umkristallisiert, bis sich im Papierchromatogramm nur noch der R_F -Wert 0.54 zeigte. Schließlich wurde die Lösung des Salzes mit Natriumhydroxyd alkalisch gemacht und die Base mit Chloroform ausgeschüttelt. Nach mehrfachem Umkristallisieren ergab sich ein Schmp. von 97.5–101.5°, $[\alpha]_D^{25}$: -21° (Chlf.). Siddiqui⁵⁾ fand 130° und $[\alpha]_D^{25}$: -19° (Äthanol). Der zu hohe Schmp. von Siddiqui dürfte durch eine starke Verunreinigung des Conamins durch ein anderes Alkaloid bedingt sein, siehe unten.

$C_{22}H_{36}N_2$ (328.5) Ber. C 80.43 H 11.05 N 8.53 Gef. C 80.26 H 11.53 N 8.07

In den Mutterlauge des Conamin-hydrochlorids fand sich ein weiteres Alkaloid (R_F -Wert 0.46), das vermutlich Holarrhimin oder ein Derivat davon ist, da es bei der Methylierung mit Formaldehyd und Ameisensäure Tetramethyl-holarrhimin ergab. Aus Äthanol umkristallisiert, zeigte es einen Schmp. von 224–227°; Siddiqui⁵⁾ fand 233–235°, Haworth¹¹⁾ 227–228°.

$C_{25}H_{44}ON_2$ (388.6) Ber. C 77.26 H 11.41 N 7.21 $N-CH_3$ 15.5
Gef. C 77.30 H 11.44 N 7.14 $N-CH_3$ 14.4

Tafel 3. R_F -Werte

R_F	Conessin	Conkurchin	Conessidin	Conimin	Conamin	Trimethyl-conkurchin
1)	0.51	0.62	0.66	0.54	0.55	0.53
2)	0.07	0.31	0.33	—	—	0.07

1) Lösungsmittelgemisch: *n*-Butanol/Essigsäure/Wasser (4:1:5), leichte Phase, Farbfleck-Entwicklung vergl. I. c.¹⁾.

2) Lösungsmittelgemisch: Octanol/Pentanol/Wasser/Formamid/Essigsäure (4:4:7:4:1). Die leichte Phase wurde zum Entwickeln des Chromatogramms benutzt, die schwere diente vorher zum Einsprühen des Papiers. Farbentwicklung mit einem modifizierten Dragendorff-Reagens¹⁴⁾.

¹⁴⁾ H. Thies u. F. W. Reuther, Naturwissenschaften 41, 230 [1954].