

RUDOLF TSCHESCHE und KLAUS WIENSZ

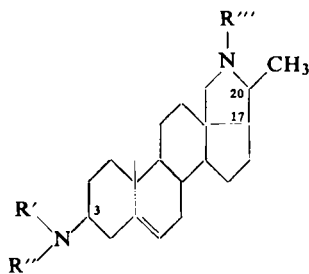
Über Kurchi-Alkaloide, III¹⁾

Neue Basen aus Kurchirinde

Aus der Biochemischen Abteilung des Chemischen Staatsinstituts der Universität Hamburg
(Eingegangen am 11. April 1958)

Es wird die Isolierung von zwei Monomethyl-holarrhminen und von Tetramethyl-holarrhmin aus der Rinde beschrieben sowie über ein neues Alkaloid Kurchamin berichtet, für das die Konstitution eines 5.6-Dihydro-(20)-*N*-methyl-conkurchins angenommen wird.

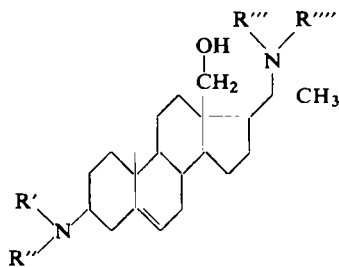
In der vorangegangenen Arbeit haben R. TSCHESCHE und A. CH. ROY¹⁾ eine Einteilung der zahlreichen Alkaloide der Kurchirinde (*Holarrhena antidysenterica*) nach drei Gruppen, dem Conarrhimin- (I), dem Konkurchin- (II) und dem Holarrhimin-Typ (III), vorgenommen. Während von I die 6 möglichen methylierten Verbindungen bekannt zu sein scheinen, sind von II bisher drei Vertreter beschrieben worden, während von III nur der Grundkörper aufgefunden werden konnte. Diese auffällige Lücke ließ sich teilweise nun durch die Isolierung von zwei Monomethyl-holarrhminen und dem permethylierten Tetramethyl-holarrhmin aus der Rinde schließen. Weiter wurde eine neue Base isoliert, der wir den Namen *Kurchamin* gegeben haben. Sie stellt vermutlich einen vierten Typ dar, bei dem die Doppelbindung Δ^5 des Konkurchins hydriert ist, möglicherweise gehört das Alkaloid Kurchin²⁾ ebenfalls zu diesem Typ. Wir geben unsere Befunde bekannt, da vor kurzem V. ČERNÝ, L. LÁBLER und F. ŠORM³⁾ ein weiteres Alkaloid der Rinde, *Holarrhidin*, beschrieben haben, das ein 3 α .20 α -Diamino-18-hydroxy- Δ^5 -pregnen darstellt. Dieses Alkaloid



I. Conarrhimin-Typ

II. mit Doppelbindung $\Delta^{17:20}$

= Konkurchin-Typ



III. Holarrhimin-Typ

¹⁾ II. Mitteil.: R. TSCHESCHE und A. CH. ROY, Chem. Ber. **89**, 1288 [1956].

²⁾ J. C. CHOWDHURY und D. H. PEACOCK, J. Indian chem. Soc. **14**, 486 [1937]; S. GHOSH und N. N. GHOSH, ebenda **5**, 477 [1928]; S. GHOSH und I. B. BOSE, Arch. Pharmaz. Ber. dtsch. pharmaz. Ges. **270**, 100 [1932]; A. BERTHO, ebenda **277**, 237 [1939].

³⁾ Chem. Listy **51**, 2344, 2351 [1957].

ist die erste 3 α -Verbindung aus der Rinde. Weiter berichteten kürzlich H. ROSTOCK und E. SEEBECK⁴⁾ über 2 Esteralkaloide, *Holafrin* und *Holarrhetin*, aus der Rinde von *Holarrhena africana* A.DC. (= *H. floribunda* G. Don), in denen die Hydroxylgruppe des 12 β -Hydroxy-conessimins bzw. Holarrhenins (12 β -Hydroxy-conessin) verestert ist.

Bei der Identifizierung der neuen Alkaloide hat sich die Pufferzonen-Chromatographie sehr bewährt. Zuerst benutzten J. E. CARLESS und J. G. WOODHEAD⁵⁾ einheitlich puffergetränkte Papiere zur Trennung der Solanaceen- und Mutterkornalkaloide. Dieses Verfahren haben A. BROSSI, O. HÄFLIGER und O. SCHNIDER⁶⁾ auf Morphinanderivate übertragen. Darauf aufbauend entwickelten M. SCHMALL, E. G. WOLLISH und E. G. E. SHAFER⁷⁾ eine Methodik, bei der das Papier mit Pufferzonen steigender Acidität präpariert wurde (s. experimenteller Teil). Über diese wird nach Trocknung des Papiers das in Chloroform gelöste Alkaloidgemisch chromatographiert. Daneben wurde auch die Papierchromatographie in Cyclohexan/Methyläthylketon/Benzol auf formamidimprägniertem Papier verwendet, wobei Zusätze von Morpholin, *N*-Methylmorpholin, Pyridin und Diäthylamin, einzeln oder in wechselnden Gemischen, mitunter brauchbare Ergebnisse bei nur geringer Schwanzbildung lieferten. Diese Anwendungsform ließ sich bisher leider nicht auf die Cellulosepulversäule übertragen. Bei einigen Gemischen von Kurchialkaloiden konnte damit auch auf Papierbögen keine Trennung erzielt werden. Zur Charakterisierung der Kurchialkaloide geben wir nachfolgend die Pufferzonenwerte (*PZ*-Werte) verschiedener Alkaloide wieder, sie geben den p_H des Puffers an, in dessen Zone das Alkaloid festgehalten wurde. Sie sind vorwiegend durch die Basizität der Alkaloide bedingt, doch dürften auch noch andere Faktoren, z. B. die Chloroform-Löslichkeit der Salze, von Einfluß sein.

PZ-Werte von Kurchialkaloiden

| Bekannte Basen | | Neue Basen | |
|----------------------|-----|--|-----|
| Cnessidin | 4.8 | Kurchessin (Methylierungsprodukt des Kurchamins) | 5.7 |
| Trimethyl-conkurchin | 5.6 | Tetramethyl-holarrhimin | 6.3 |
| Conessin | 5.9 | (3)- <i>N</i> -Methyl-holarrhimin | 7.0 |
| Holarrhenin *) | 7.0 | (20)- <i>N</i> -Methyl-holarrhimin | 7.2 |
| Holarrhimin | 7.2 | Kurchamin | 7.2 |

Zur Isolierung der neuen Alkaloide wurde nach dem Verfahren von R. TSCHESCHE und R. PETERSEN⁸⁾ zunächst eine Chromatographie der Rohalkaloide an Aluminiumoxyd der Aktivitätsstufe II vorgenommen. Die Untersuchung der einzelnen Fraktionen, die mit den verschiedenen Lösungsmitteln von der Säule erhalten wurden, mit Hilfe des Pufferzonen-Verfahrens zeigte, daß jede Fraktion zahlreiche Alkaloide (5–10) enthielt. Danach scheint ein erheblicher Teil der Kurchialkaloide bisher nicht bekannt zu sein.

Das neue Alkaloid *Kurchamin* (IV) wurde aus den Fraktionen 29–31 der Al₂O₃-Chromatographie gewonnen, wobei seine gute Kristallisationsfähigkeit in Aceton zur Abtrennung von Begleitstoffen ausgenutzt wurde. Es hat die Zusammensetzung C₂₂H₃₆N₂ und enthält nachweislich eine –NCH₃-Gruppe. Mit Salicylaldehyd ent-

4) Helv. chim. Acta **41**, 11 [1958].

5) Nature [London] **168**, 203 [1951].

6) Arzneimittel-Forsch. **5**, 62 [1955].

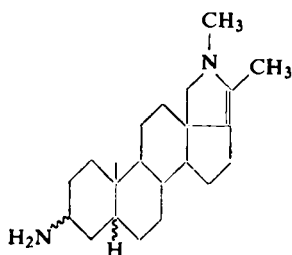
7) Analytic. Chem. **28**, 1373 [1956].

8) Chem. Ber. **87**, 1719 [1954].

*) Wir danken Herrn A. UFFER, Ciba A. G., Basel, sehr für die Überlassung einer Probe Holarrhenin.

stand eine leuchtend rote kristallisierte Salicyliden-Verbindung als Hinweis auf eine primäre NH_2 -Gruppe, die auch durch die übliche quantitative Gruppenanalyse nachgewiesen werden konnte. Bei der Methylierung mit Formaldehyd/Ameisensäure entstand unter Aufnahme von 2 CH_3 -Gruppen eine neue Base der Zusammensetzung $\text{C}_{24}\text{H}_{40}\text{N}_2$, die wir als *Kurchessin* bezeichnen möchten. Sie dürfte sich vielleicht auch in der Rinde auffinden lassen. Aus der Aufnahme von nur 2 CH_3 -Gruppen ist zu schließen, daß Kurchamin ein cyclisch gebundenes N-Atom enthält. Aus der Analyse ergibt sich bei der Annahme von 5 Ringen in der Molekel ein Defizit von 2 H-Atomen, so daß eine Doppelbindung anzunehmen ist.

Der Versuch, diese im Kurchamin (IV) durch Hydrierung nachzuweisen, schlug jedoch fehl. Nun ist die Doppelbindung Δ^5 im Conessin in Eisessig durch katalytisch erregten Wasserstoff abzusättigen, so daß diese Position auszuschließen ist. Eine andere



IV Kurchamin

Möglichkeit wäre die Stellung $\Delta^{17:20}$. In dieser Lage ist eine Hydrierung, wie wir feststellen konnten, nur dann möglich, wenn der heterocyclische Stickstoff an C-20 nicht methyliert ist. Im Conessin ist die $\Delta^{17:20}$ -Stellung allerdings leichter zu hydrieren als die Δ^5 -Doppelbindung, doch dürfte dies vermutlich folgendermaßen zu erklären sein: In Wirklichkeit wird eine geringe Menge des im Gleichgewicht vorhandenen $-\text{N}=\text{C}$ -Isomeren angegriffen; die Hydrierung schreitet dann unter ständiger Nachlieferung des durch Umlagerung entstehenden hydrierbaren Isomeren fort. Schon A. BERTHO⁹⁾ hatte ein solches Gleichgewicht in Erwägung gezogen, das aber nach den Ergebnissen der Ozonisierung auf der Seite der $\Delta^{17:20}$ -Form liegen muß. Trimethyl-conkurchin ist mit seiner ditertiären Doppelbindung an dieser Stelle nicht katalytisch abzusättigen.

Kurchessin ist etwa in gleichem Maße stärker basisch als Conessin im Vergleich zu Trimethyl-conkurchin (unter Zugrundelegung der *PZ*-Werte). Offenbar beeinflusst die benachbarte Doppelbindung die Basizität des heterocyclischen Stickstoffs. Für die Lage der angenommenen Doppelbindung spricht auch das IR-Spektrum des Kurchamins im Vergleich zu denjenigen des Konkurchins, Conessidins und Trimethyl-conkurchins. Kurchamin zeigt eine scharfe, an der Basis durch Schultern verbreiterte Bande bei 1675 cm^{-1} , die der freien primären Aminogruppe zuzuschreiben ist und die beim Konkurchin bei 1678 cm^{-1} liegt. Eine solche Bande fehlt dem Conessin. Dafür besitzt dieses eine Bande bei 1618 cm^{-1} , die sich in gleicher Intensität im Konkurchin bei 1622 cm^{-1} findet und vermutlich der sekundären Enamin-Gruppierung zukommt. Im Trimethyl-conkurchin verschwindet wiederum diese Bande, da hier der heterocyclische Stickstoff eine Methylgruppe trägt. Im Kurchamin fehlt diese Bande bei 1620 cm^{-1} ebenfalls, in Übereinstimmung mit der Annahme einer Methylierung an dieser Stelle. Die Banden bei 1675 cm^{-1} im Kurchamin und Konkurchin verschwinden bei der Methylierung gleichfalls, im Kurchessin und Trimethyl-conkurchin ist nur die verbreiterte Basis dieser Banden als schwache Absorption erkennbar. Über die sterische Anordnung der NH_2 -Gruppe des Kurchamins und die Verknüpfung der Ringe A und B an C-5 können wir noch keine Aussagen machen.

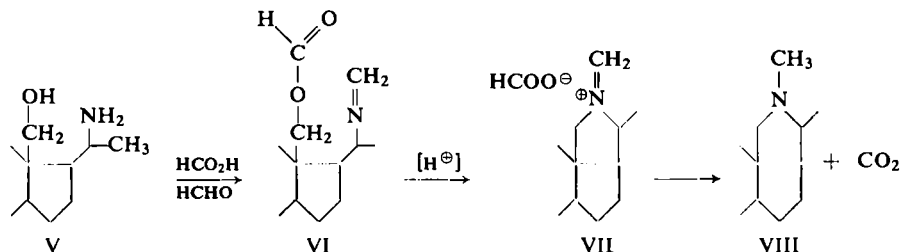
⁹⁾ Chem. Ber. 80, 316 [1947].

Tetramethyl-holarrhimin war bisher nur synthetisch durch Methylierung von Holarrhimin bekannt geworden^{10,11,12}. Wir konnten es aus den Fraktionen 71–89 der Al₂O₃-Chromatographie unter Ausnutzung seiner Schwerlöslichkeit in Aceton gewinnen. Seine Identität mit authent. Tetramethyl-holarrhimin wurde durch die Konstanten, den PZ-Wert, den Misch-Schmelzpunkt und das IR-Spektrum sichergestellt.

Aus den Fraktionen 103–117 der Al₂O₃-Chromatographie (Chloroform + 2% Methanol) konnte über das schwer lösliche Sulfat *Holarrhimin* in 0.05-proz. Ausbeute gewonnen werden. S. SIDDIQUI¹⁰ erhielt 0.12% aus frischer und 0.03% aus gelagerter Rinde. Aus den Mutterlaugen des Holarrhimins konnte mit 3-proz. Salzsäure in sehr kleiner Menge ein Hydrochlorid isoliert werden, dessen Base die Zusammensetzung C₂₂H₃₈N₂O haben muß und so ein *Monomethyl-holarrhimin* sein dürfte. Bei der Methylierung mit Formaldehyd/Ameisensäure lieferte es Tetramethyl-holarrhimin, neben kleinen Mengen Conessin, das seine Entstehung vermutlich einem Ringschluß bei der Methylierung verdankt. Das Pikrat dieser Base schmilzt 35° höher als dasjenige des weiter unten beschriebenen Monomethyl-holarrhimins II. Das über das Hydrochlorid isolierte Monomethyl-holarrhimin soll weiterhin die Zusatzbezeichnung I führen.

Monomethyl-holarrhimin II wurde nicht durch Al₂O₃-Chromatographie, sondern unter Verwendung der Phosphatmethode von A. BERTHO¹³ isoliert. Durch fraktionierte Fällung der Alkaloide mit 20-proz. alkohol. Phosphorsäure wurden mehrere Fraktionen erhalten, die zweite lieferte einen Anteil in Wasser schwer löslicher Phosphate. Aus ihm konnte nach Entfernung von reichlichen Mengen Holarrhimin in Form des Sulfates über die Salicyliden-Verbindung eine neue Base isoliert werden, die ebenfalls ein Monomethyl-holarrhimin C₂₂H₃₈N₂O darstellt. Es ging bei der Methylierung mit Formaldehyd/Ameisensäure ebenfalls in Tetramethyl-holarrhimin über; daneben entstand hier kein Conessin.

Wir nehmen an, daß es sich bei dem Monomethyl-holarrhimin II um die (20)-*N*-Methyl-Verbindung handelt und stützen uns dabei auf folgende Feststellungen: Holarrhimin gibt bei der Methylierung mit Formaldehyd/Ameisensäure neben hauptsächlich Tetramethyl-holarrhimin kleine Mengen von Conessin. Man darf ver-



¹⁰) S. SIDDIQUI, Proc. Indian Acad. Sci. III, 3. A, 249 [1936].

¹¹) H. FAVRE, R. D. HAWORTH, J. MCKENNA, R. G. POWELL und G. H. WHITFIELD, J. chem. Soc. [London] 1953, 1129.

¹²) L. LÁBLER, V. ČERNÝ und F. ŠORM, Chem. Listy 49, 1389 [1955].

¹³) Arch. Pharmaz. Ber. dtsh. pharmaz. Ges. 277, 237 [1939]; Angew. Chem., Abt. A 59, 278 [1947].

muten, daß dieses seine Entstehung einem Ringschluß mit Ameisensäure über die Zwischenstufe des Azomethins verdankt (vgl. V—VIII). Die Salicyliden-Verbindung des Holarrhimins sollte dann mit Ameisensäure, anschließendes Verseifen und Methylieren in sehr viel höherer Ausbeute in Conessin übergehen, was durch den Versuch bestätigt werden konnte. Da Monomethyl-holarrhimin II unter den Bedingungen der Methylierung kein Conessin lieferte, ist zu vermuten, daß die CH_3 -Gruppe in ihm am heterocyclischen Stickstoff an C-20 ihren Platz hat.

Diese Annahme wird durch die IR-Spektren gestützt. Beim Vergleich der Spektren von Holarrhimin mit denjenigen von Monomethyl-holarrhimin II fällt auf, daß die Aminbande des letzteren scharf ausgeprägt ist, entsprechend scharf sind auch die Banden für die primäre OH-Gruppe an C-18, sowohl bei 1058 cm^{-1} wie auch im Gebiet von $3200\text{—}3500\text{ cm}^{-1}$. Im Spektrum des Holarrhimins sind sowohl OH- als auch NH_2 -Banden breit und „verschmiert“, offenbar durch bestehende Assoziationen. Da die Banden im Methyl-holarrhimin II diese Eigenschaft nicht zeigen, scheint eine Assoziation zwischen dem N an C-20 und der OH-Gruppe an C-18 nicht vorzuliegen; eine Erklärung hierfür wäre eine Methylierung am N. Wenn die Formulierung des Monomethyl-holarrhimins II als (20)-*N*-Methyl-Verbindung richtig ist, muß das Monomethyl-holarrhimin I die entsprechende (3)-*N*-Methyl-Verbindung sein.

Zusammenstellung der neuen Alkaloide

| Name | Schmp. | $[\alpha]_D$ |
|------------------------------------|--------------|------------------------------|
| Kurchamin | 115—117° | $-16 \pm 2^\circ$ (Chlf.) |
| Perchlorat | über 335° | |
| Pikrat | 194—195° | |
| Salicyliden-Verb. | 133—135° | |
| Kurchessin | 132—133° | $-36 \pm 1^\circ$ (Chlf.) |
| Perchlorat | 277—279° | |
| Pikrat | 228—230° | |
| (3)- <i>N</i> -Methyl-holarrhimin | | |
| Hydrochlorid | über 360° | $-28 \pm 2^\circ$ (Methanol) |
| Pikrat | 133—135° | |
| (20)- <i>N</i> -Methyl-holarrhimin | 163—164° | $-19 \pm 2^\circ$ (Chlf.) |
| Hydrochlorid | 293—294° | |
| Pikrat | 98—99° | |
| Salicyliden-Verb. | 264° (Zers.) | |

Wir danken der DEUTSCHEN FORSCHUNGSGEMEINSCHAFT und dem FONDS DER CHEMIE für die finanzielle Unterstützung dieser Arbeit. Weiter sind wir den FARBWERKEN HOECHST für die Beschaffung der Kurchirinde und für anderweitige Unterstützung zu großem Dank verpflichtet.

¹⁴⁾ S. SIDDIQUI und R. H. SIDDIQUI, Proc. Indian Acad. Sci. III, 3, A, 257 [1936].

¹⁵⁾ S. SIDDIQUI und P. P. PILLAY, J. Indian chem. Soc. 9, 553 [1932].

BESCHREIBUNG DER VERSUCHE

Pufferzonen-Verfahren: Dieses Verfahren wurde im wesentlichen unverändert übernommen⁷⁾ und wie folgt durchgeführt: 5.5 cm breite und etwa 50 cm lange Papierstreifen Whatman I tragen 8 cm vom oberen Rande die Startlinie, auf die eine 2 cm breite pufferfreie Zone folgt. Dahinter befindet sich die erste der 2 cm breiten puffergetränkten Zonen, die mit 1 cm Abstand aufeinander folgen. Die Auswahl und Anzahl der aufzutragenden Pufferlösungen richtet sich nach den speziellen Erfordernissen. Zur Trennung der permethylierten Basen wurden 10 Pufferzonen des p_H -Bereiches 7.2 bis 5.4 in kontinuierlicher Reihe steigender Acidität aufgetragen. Zur Trennung von Rohalkaloidgemischen wurden auch diskontinuierliche Reihen des Bereiches 7.2 bis 4.4 mit einer „Fangzone“ von 4.0 aufgetragen. Die Verwendung stärker basischer Puffer (bis p_H 8.0) führte bei der vorliegenden Stoffklasse zu keiner weiteren Auftrennung der schwach basischen, bei 7.2 fixierten Alkaloide. Die verwendete Streifenbreite ist ausreichend für die Trennung von 3 Gemischen nebeneinander.

Als Pufferlösung wurden doppelt starke McIlvaine-Puffergemische (Citronensäure/ Na_2HPO_4) in einer Menge von etwa 0.1 cm je Zone aufgetragen. Die getrockneten Streifen werden vor dem Gebrauch 12 Stdn. in Wasserdampf-atmosphäre bei 20° (oder ca. 3 Stdn. bei 30°) gebracht. Die Auftrennung erfolgt absteigend mit Chloroform, das 1 Vol.-% Äthanol enthält, in Gegenwart von Wasserdampf. Die Trennung dauert bei 50 cm langen Streifen etwa 2 $\frac{1}{2}$ Stdn. Man unterbricht, wenn die Lösungsmittelfront sich etwa 5 cm unterhalb der letzten Zone befindet, und trocknet an der Luft oder kurzzeitig bei 100°. Die Sichtbarmachung der Alkaloide erfolgt mit Dragendorffs Reagenz.

Die Gewinnung der Rohalkaloide aus der gemahlene Rinde wurde nach den Angaben von R. TSCHESCHE und R. PETERSEN⁸⁾ durchgeführt.

Chromatographie an Aluminiumoxyd: 81 g Rohalkaloide wurden in 100 cm Methanol gelöst, die Lösung mit 200 g Aluminiumoxyd (standardisiert nach BROCKMANN) versetzt

| Nr. der Fraktion | Lösungsmittel | Rückstand (mg) | Anzahl der Alkaloide |
|------------------|---------------------|----------------|--------------------------------------|
| 1-2 | Benzol | 40 | keine |
| 3-4 | Benzol | 3980 | fast reines Conessin |
| 5-15 | Benzol | 14037 | 10 Alkaloide |
| 16-22 | Benzol | 995 | 13 Alkaloide |
| 23-28 | Benzol/Chlf. 9:1 | 780 | 7 Alkaloide |
| 29-31 | Benzol/Chlf. 9:1 | 4782 | 11 Alkaloide (Kurchamin) |
| 32-45 | Benzol/Chlf. 9:1 | 4500 | mehr als 9 Alkaloide |
| 46-48 | Benzol/Chlf. 7:3 | 430 | (Mischfraktion) |
| 49-50 | Benzol/Chlf. 7:3 | 2070 | 5 Alkaloide |
| 51-55 | Benzol/Chlf. 7:3 | 5030 | 5 Alkaloide |
| 56-70 | Benzol/Chlf. 7:3 | 1900 | mehr als 6 Alkaloide |
| 71-72 | Benzol/Chlf. 4:6 | 266 | (Mischfraktion) |
| 73-89 | Benzol/Chlf. 4:6 | 3961 | 6 Alkaloide (Tetramethylholarrhimin) |
| 90-91 | Chloroform | 190 | (Mischfraktion) |
| 92-100 | Chloroform | 4691 | 5 Alkaloide |
| 101-102 | Chlf./Methanol 98:2 | 260 | (Mischfraktion) |
| 103-117 | Chlf./Methanol 98:2 | 10480 | mehr als 4 Alkaloide (Holarrhimin) |
| 118-125 | Chlf./Methanol 1:1 | 7110 | mehr als 6 Alkaloide |
| 126-140 | Methanol | 4500 | ? (keine Auftrennung) |
| 141-145 | 5-proz. Essigsäure | 4770*) | mehr als 4 Alkaloide |
| | | <u>74772</u> | |

*) + NaOH-Chlf.-Extrakt

und die Mischung bei 50° i. Vak. sorgfältig getrocknet. Dieses Material wurde auf eine mit 2.5 kg Al₂O₃ beschickte Säule oben aufgebracht und die Alkaloide in üblicher Weise eluiert (Fraktionsgröße 1000 ccm).

Kurchamin: Die Fraktionen 29–31 der Al₂O₃-Chromatographie wurden in 30 ccm heißem Aceton gelöst und der unlösliche Anteil im Soxhlet-Apparat noch mit Aceton extrahiert. Aus dem Acetonextrakt wurden beim Einengen glänzende Blättchen vom Schmp. 110–114° erhalten. Sie wurden mit verd. Perchlorsäure in das in Wasser schwer lösliche Perchlorat übergeführt, das zweimal aus Wasser umkristallisiert wurde. Die aus ihm hergestellte freie Base schmolz nunmehr bei 115–117°. Ausb. 450 mg. *R_F*-Wert im Gemisch n-Butanol/Eisessig/Wasser (4:1:5) (Butanolgemisch) 0.65. Zur Analyse wurde i. Hochvak. bei 60° getrocknet.

C₂₂H₃₆N₂ (328.5) Ber. C 80.43 H 11.05 N 8.53 CH₃ 4.58 NH₂-N 4.27
Gef. C 80.30 H 11.17 N 8.21 CH₃ 4.49 NH₂-N 4.22

[α]_D²⁵: -16 ± 2° (c = 0.767, in Chlf.); [α]_D¹⁹: -15 ± 2° (c = 0.900, in 96-proz. Äthanol).

Das Perchlorat bildete Nadeln mit einem Schmp. über 335°, das Hydrojodid schmolz bei 275–276°, das Pikrat bei 194–195°; die Salicyliden-Verbindung bildete rote Kristalle vom Schmp. 133–135°.

Kurchessin (Dimethyl-kurchamin): 70 mg *Kurchamin* wurden mit 0.8 ccm *Ameisensäure* und 3.2 ccm *Formalin* 1 Stde. und nach Zugabe von weiteren 0.4 ccm *Ameisensäure* und 2 ccm *Formalin* eine weitere Stde. unter Rückfluß erhitzt. Es wurde bis auf 1 ccm eingengt und das Gemisch nach Alkalischemachen durch 20-proz. Natronlauge mit Äther extrahiert. Das Methylierungsprodukt kristallisierte aus Aceton beim Abkühlen auf -15° in Nadeln, die bei 132–133° schmolzen. *R_F*-Wert im Butanolgemisch 0.60. Zur Analyse wurde i. Hochvak. bei 60° getrocknet.

C₂₄H₄₀N₂ (256.6) Ber. N 7.88 3CH₃ 12.63 Gef. N 7.56 CH₃ 11.76

[α]_D²²: -36 ± 1° (c = 1.112, in Chlf.); [α]_D²²: -17 ± 2° (c = 1.050, in Methanol).

Das Perchlorat bildete kubische Kristalle, die sich bei 277–279° nach vorherigem Sintern zersetzten. Das Pikrat (Nadeln) schmolz bei 228–230°.

Tetramethyl-holarrhimin: Der Rückstand der Fraktionen 71–89 der Al₂O₃-Chromatographie wurde in 50 ccm Aceton gelöst. Aus der Lösung fielen nach einiger Zeit 150 mg Kristalle aus, die in 20 ccm siedendem Äthanol wieder in Lösung gebracht wurden. Beim Erkalten bildeten sich Nadeln vom Schmp. 218–225°. Zur Reinigung wurde das Benzoyl-derivat in üblicher Weise gewonnen, Schmp. 175° (Lit.: 174–175°¹¹, 176°¹⁴). Durch Verseifung wurde die Base zurückerhalten, die nunmehr bei 227–229° schmolz (Lit.: 227 bis 228°¹¹, 233–235°¹⁴).

[α]_D²¹: -35 ± 2° (c = 1.009, in Chlf.); (Lit.: [α]_D: -32°). Die Ausbeute betrug 30 mg, der *R_F*-Wert im Butanolgemisch wurde zu 0.52 gefunden.

Holarrhimin: Aus den Fraktionen 103–117 der Al₂O₃-Chromatographie wurden ca. 3 g *Holarrhimin-sulfat* vom Schmp. 333–335° gewonnen (Lit.: 332–333°⁹, bzw. 337°¹⁵). Die aus ihm erhaltene freie Base schmolz bei 184° (Lit.^{9,15}: 185°). [α]_D²⁰: -15 ± 3° (c = 0.500, in Chlf.) (Lit.¹⁵): -14.2°. Das Pikrat zeigte einen Schmp. von 109–111° (Lit.¹⁵): 109°, die Salicyliden-Verbindung von 247–249° (Lit.²): 247–248°, die Benzyliden-Verbindung von 183°.

Methyl-holarrhimin I: Aus den Mutterlauge der Fraktionen, welche *Holarrhimin* ergeben hatten, lieferte 3-proz. Salzsäure beim Stehenlassen 60 mg farblose Blättchen vom Schmp.

über 360°. Nach Umkristallisieren aus Wasser wurde die Substanz nach Trocknung i. Hochvak. bei 100° analysiert.

$C_{22}H_{38}N_2O \cdot 2HCl$ (419.5) Ber. C 62.99 H 9.62 N 6.68 Gef. C 63.00 H 9.73 N 7.05

$[\alpha]_D^{25}$: $-28 \pm 2^\circ$ ($c = 1.275$, in Methanol). Die freie Base zeigte einen R_F -Wert von 0.66 (Butanolgemisch). Das Pikrat schmolz bei 133–135°.

Methyl-holarrhimin II: 340 g Rohalkaloid aus 20 kg Rinde wurden in 1300 ccm 96-proz. Äthanol unter Erwärmen gelöst und unter Rühren und Rückfluß 400 ccm einer Mischung von 80 ccm 80-proz. Phosphorsäure und 320 ccm wasserfr. Äthanol tropfenweise zugegeben. Sodann wurde von der schmierigen Phosphatfällung abdekantiert, die Fällung mit etwas Äthanol gewaschen, mit 1000 ccm Wasser 1 Stde. geschüttelt und der ungelöste farblose Anteil I durch Filtration entfernt.

Aus der wäßrigen Lösung wurden die Alkaloide nach dem Alkalischemachen mit Natronlauge mit Chloroform extrahiert und der Chloroformphase durch Ausschütteln mit 5-proz. Salzsäure wieder entzogen. Aus der wäßrigen Phase wurden sie nach Zusatz von Natronlauge wieder in Chloroform aufgenommen. Der Chloroformextrakt wurde nach Trocknung eingedampft und der Rückstand in 1000 ccm Äthanol gelöst. Die Lösung wurde noch einmal entsprechend den obigen Angaben mit Phosphorsäure fraktioniert gefällt. Mit 100 ccm der alkohol. Phosphorsäurelösung wurden 103 g fast farblose, in Alkohol schwer lösliche Phosphate erhalten. Sie wurden mit 1000 ccm Wasser geschüttelt und ergaben schließlich 25 g in Wasser schwer lösliche Phosphate II.

Sie wurden in 200 ccm 2*N* HCl gelöst, die Lösung filtriert und mit Natronlauge alkalisch gemacht, anschließend wurden die Alkaloide in Chloroform aufgenommen. Der Chloroformextrakt wurde mit 3-proz. Perchlorsäure geschüttelt und die saure wäßrige Phase wieder mit Natronlauge alkalisch gemacht. Dabei fiel ein Niederschlag aus, aus dem über das Sulfat 3.2 g Holarrhimin gewonnen werden konnten.

Die Mutterlauge der Phosphatfällung II lieferte mit 30 ccm alkohol. Phosphorsäure 57.5 g bräunliche Phosphate III. Sie wurden mit 500 ccm Wasser behandelt und ergaben dann 15 g in Wasser schwer lösliche Phosphate. Sie wurden, wie bei der Phosphatfällung II beschrieben, zerlegt und der Chloroformextrakt der Alkaloide eingedampft. Es ergab sich ein Rückstand von 9.2 g. Er wurde in 50 ccm Aceton gelöst und in der Hitze mit 3 ccm Salicylaldehyd versetzt. Es schied sich 6.87 g Schiff'sche Base aus, die aus 500 ccm Dioxan umkristallisiert werden konnten. Es wurden so 1.73 g eines hellgelben Kristallisates vom Schmp. 262° gewonnen. Dieses wurde mit 50 ccm 2*N* HCl durch 1stdg. Erhitzen auf dem Wasserbad gespalten und nach dem Abkühlen und Alkalischemachen die Base mit 800 ccm Äther extrahiert. Der Ätherextrakt wurde nach dem Trocknen auf 200 ccm eingeengt und lieferte dann nach eintägigem Stehenlassen 0.6 g *Methyl-holarrhimin II* in Form langer flacher Nadeln. Aus Aceton/Äther Schmp. 163–164°. Ausb. 450 mg. R_F -Wert im Butanolgemisch 0.56. Zur Analyse wurde die Substanz i. Hochvak. bei 120° getrocknet.

$C_{22}H_{38}N_2O$ (346.5) Ber. C 76.25 H 11.06 N 8.09 $1CH_3$ 4.35
Gef. C 76.21 H 10.96 N 8.17 CH_3 3.36

$[\alpha]_D^{25}$: -19° ($c = 1.200$, in Chlf.); $[\alpha]_D^{25}$: -17° ($c = 0.933$, in 96-proz. Äthanol). Das Sulfat der Base ist in Wasser leicht löslich. Das Hydrochlorid bildete Nadeln vom Schmp. 293 bis 294°, das Pikrat zeigte einen Schmp. von 98–99°, die Salicyliden-Verbindung zersetzte sich bei 264°.