

RAJENDRA MOHAN SRIVASTAVA und MAHESHWARI PRASAD KHARE

**Über wasserlösliche Alkaloide aus der Wurzelrinde von
Cissampelos pareira L.**

Aus dem Chemical Department, Lucknow University, Lucknow, Indien

(Eingegangen am 18. Januar 1964)

In der Wurzelrinde von *Cissampelos pareira* L. werden elf quartäre Alkaloide chromatographisch erkannt und drei davon erstmalig in kristallisierter Form isoliert. Eines zeigt curareähnliche Aktivität. — Neben den vier bereits bekannten tertiären Alkaloiden konnten fünf weitere in der Wurzelrinde nachgewiesen werden.

Cissampelos pareira (fam. Menispermaceae), eine in Indien weit verbreitete, perennierende Kletterpflanze, wird seit langem in der Medizin¹⁾ als Adstringens und Diureticum sowie gegen Diarrhoe, Fieber und Herzkrankheiten etc. verwendet. Bisher konnten aus ihr die in Wasser unlöslichen tertiären Basen *l*-Bebeerin²⁾, Hayatin³⁾, Hayatinin⁴⁾ und *d*-Isochondrodendrin⁵⁾ isoliert und in der pharmakologischen Wirkung⁶⁾ sowie Konstitution⁷⁾ erkannt werden. Über wasserlösliche quartäre Ammoniumverbindungen aus dieser Pflanze berichteten zuerst KUPCHAN und Mitarbb.^{6b)}, die bereits ein Hydrochloridgemisch isolierten, das curareähnliche Wirksamkeit besaß. In der vorliegenden Arbeit teilen wir den Nachweis und die Isolierung neuer Alkaloide aus *Cissampelos pareira* mit.

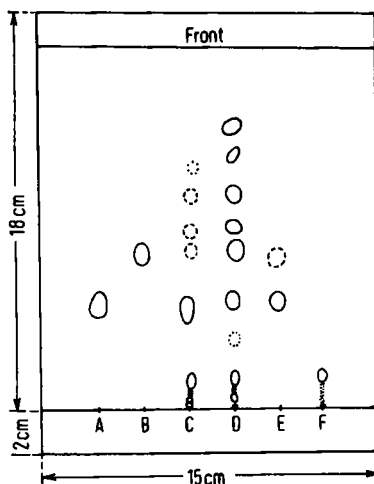
ISOLIERUNG DER ALKALOIDE

Erschöpfende Extraktion der getrockneten und gepulverten Wurzeln aus der Gegend von Lucknow mit Äthanol-Essigsäure führte zu einer wäßrigen Lösung, der die tertiären Basen durch Ausschütteln mit Chloroform bei verschiedenen pH-Werten entzogen wurden. In den Chloroformphasen ließen sich bei der Dünnschichtchromato-

- 1) R. N. CHOPRA, I. C. CHOPRA, K. L. HANDA und L. D. KAPUR, *Indigenous Drugs of India*, 2nd Edit., V. N. Dhur & Sons, Calcutta 1958.
- 2) A. WIGGERS, *Liebigs Ann. Chem.* **33**, 81 [1840]; M. SCHOLTZ, *Ber. dtsh. chem. Ges.* **29**, 2054 [1896].
- 3) S. BHATTACHARJI, V. N. SHARMA und M. L. DHAR, *J. sci. ind. Res. [New Delhi]*, Sect. B **11**, 81 [1952].
- 4) S. BHATTACHARJI, V. N. SHARMA und M. L. DHAR, *Bull. nat. Inst. Sci. [India]* **4**, 39 [1955], C. A. **50**, 2626^c [1956].
- 5) Prof. M. TOMITA, siehe l. c. 6b).
- 6) a) H. HILDEBRANDT, *Naunyn-Schmiedebergs Arch. exp. Pathol. Pharmacol.* **57**, 279 [1907], C. **1907** II, 1184; b) S. M. KUPCHAN, N. YOKOYAMA und J. L. BEAL, *J. Amer. pharmac. Assoc., sci. Edit.* **49**, 727 [1960]; c) S. N. PRADHAN und N. N. DE, *Arch. int. Pharmacodynam. Thérap.* **120**, 136 [1959].
- 7) a) H. KING, *J. chem. Soc. [London]* **1936**, 1276; b) F. FALTIS, K. KADIERA und F. DOBLHAMMER, *Ber. dtsh. chem. Ges.* **69**, 1296 [1936]; c) H. KING, *J. chem. Soc. [London]* **1939**, 1157; d) K. P. AGARWAL, S. RAKHIT, S. BHATTACHARJI und M. L. DHAR, *J. sci. ind. Res. [New Delhi]*, Sect. B **19**, 479 [1960]; e) S. BHATTACHARJI, A. C. ROY und M. L. DHAR, ebenda **21**, 428 [1962]; f) F. FALTIS und F. NEUMANN, *Mh. Chem.* **42**, 311 [1922]; g) F. FALTIS, S. WRANN und E. KÜHAS, *Liebigs Ann. Chem.* **497**, 69 [1932]; h) F. FALTIS und H. DIETREICH, *Ber. dtsh. chem. Ges.* **67**, 231 [1934].

graphie⁸⁾ an Kieselgel G im System Chloroform/Methanol (9 : 1) nach Besprühen mit DRAGENDORFFS Reagenz⁹⁾ die vier oben genannten Alkaloide und fünf neue Substanzen nachweisen (Abbild. 1). *l*-Bebeerin wurde über das Pikrat gereinigt und als Methojodid charakterisiert. Auch die farblos kristallisierende freie Base stimmte in den Spektren, der spezif. Drehung und im Misch-Schmp. mit einer authentischen Probe überein.

Abbild. 1
Dünnschichtchromatogramm
der bei verschiedenem pH
aus dem
Äthanol-Essigsäure-Extrakt
von *Cissampelos pareira* L. mit
Chloroform ausgeschüttelten
Basen.
A = *l*-Bebeerin,
B = Hayatinin,
C = pH-12-Extrakt,
D = pH-8-Extrakt,
E = Hayatin,
F = *d*-Isochondrodendrin



Aus der wäßrigen Phase fällt Reinecke-Salz die quartären Alkaloide¹⁰⁾, die, in die Hydrochloride¹¹⁾ übergeführt, papierchromatographisch aufgetrennt werden konnten. Im System Äther/Methyläthylketon (1 : 5), gesättigt mit 1-proz., wäßr. Salzsäure (System A), erkennt man elf Komponenten (Abbild. 2a–c), die zunächst mit α und A–J bezeichnet werden. Die langsam wandernden Chloride G, H, I und J konnten besser und schneller mit Methyläthylketon, gesättigt mit Wasser, getrennt werden (Abbild. 2d).

Während die Komponenten α , E und F nur in sehr geringer Menge nachzuweisen waren, lohnte sich eine Aufarbeitung der anderen. Bei der Verteilungschromatographie¹²⁾ des Hydrochloridgemisches an einer Cellulosesäule konnten A–E getrennt werden; F–J blieben in der Säule hängen und wurden gemeinsam herausgewaschen. Es gelang, die Alkaloide aus den Zonen A, B und C zu kristallisieren. Sie werden Menismin, Cissamin und Pareirin genannt. Ihre Eigenschaften und Farbreaktionen sind in Tab. 1 und 2 zusammengestellt.

8) E. STAHL, *Angew. Chem.* **73**, 646 [1961].

9) R. MUNIER und M. MACHEBOEUF, *Bull. Soc. Chim. biol.* **31**, 1144 [1949].

10) J. J. PANOUSE, *Bull. Soc. chim. France* **1949**, 594.

11) J. KAPFFHAMMER und C. BISCHOFF, *Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem.* **191**, 182 [1930].

12) E. BÄCHLI, C. VAMVACAS, H. SCHMID und P. KARRER, *Helv. chim. Acta* **40**, 1180 [1957].

Tab. 1. Eigenschaften der drei isolierten quartären Alkaloide

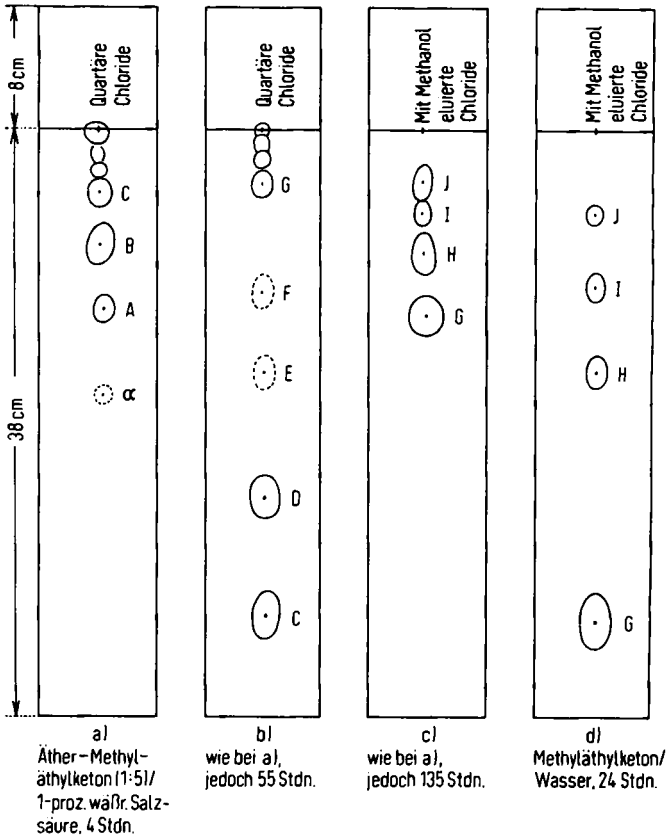
Verbindung	isoliert als (% Ausb.)	Summenformel	$[\alpha]_D$	Schmp.	λ_{max} $m\mu$	Lösungsmittel
A Menismin	Chlorid (0.039)			amorph		
	Jodid	$C_{21}H_{28}NO_4J$	+24°	140—142°	281 (3.65) 242 (4.26) 295 (3.87)	96-proz. Äthanol 0.1 <i>n</i> NaOH
	Pikrat	$C_{21}H_{28}NO_4[C_6H_2N_3O_7 \cdot 3/4 H_2O]$		116—117°		
B Cissamin	Chlorid (0.229)	$C_{20}H_{26}NO_3[Cl \cdot 1/4 H_2O]$	—129°	215—220°	235 (4.11) 290 (3.84) 284 (3.81)	96-proz. Äthanol 0.1 <i>n</i> HCl 0.1 <i>n</i> KOH
	Jodid	$C_{20}H_{26}NO_3J \cdot 1 1/2 H_2O$	—92°	178°	218 (4.52) 248 (4.15) 299 (4.04)	
	Pikrat	$C_{20}H_{26}NO_3[C_6H_2N_3O_7]$		157—158°		
C Pareirin	Chlorid (0.153)	$C_{21}H_{28}NO_4[Cl \cdot H_2O]$	+120°	100—105°	283 (3.91) 281 (3.83) 239 (4.20) 289 (3.98)	96-proz. Äthanol 0.1 <i>n</i> HCl 0.1 <i>n</i> NaOH
	Perchlorat	$C_{21}H_{28}NO_4[ClO_4 \cdot 1 1/2 H_2O]$	+112°	110—120°	283 (3.80)	96-proz. Äthanol
	Pikrat	$C_{21}H_{28}NO_4[C_6H_2N_3O_7]$		169—171°		
1.2.3.4-Tetrahydro- carbazol						282 (3.81) Äthanol ¹³⁾

13) R. J. S. BEER, L. McGRATH und A. ROBERTSON, J. chem. Soc. [London] 1950, 2118.

Tab. 2. Papierchromatographie und Farbreaktionen der isolierten Alkaloide

Verbindung	R _B -Wert *)	l-Bebeerin	Substanz A- Jodid	Substanz B- Chlorid	Substanz B- Jodid	Substanz C- Perchlorat
Zimtaldehyd/HCl-Reaktion (auf Papier)	sofort 2 Stdn.	verbleibt am Start	1.70	1.00	1.00	0.54
1 Tropfen konz. Schwefelsäure (Tüpfelplatte)	sofort 5 Min. 15 Min. 1 Stde. 15 Stdn.	negativ negativ farblos farblos braun braun gelbbraun	negativ negativ violett hellviolett hellgrün gelb farblos	negativ negativ rosa hellrosa farblos dunkelbraun gelblichbraun	negativ negativ violett violett grün gelbbraun gelblichbraun	negativ negativ hellbraun farblos violettgrün braun hellbraun
1 Tropfen konz. Schwefelsäure + 1 Tropfen 1-proz. Cersulfat (Tüpfelplatte)	sofort 5 Min. 15 Min. 1 Stde. 15 Stdn.	hellviolett hellviolett braun hellbraun gelblichbraun	violett hellgrün bläßgrün gelb farblos	schwach rosa farblos farblos hellgelb gelblichbraun	orangebraun hellgrün gelb gelb gelblichbraun	hellviolett violett violettrot hellbraun gelblichbraun
konz. Salpetersäure (Tüpfelplatte)	sofort 5 Min. 15 Min. 1 Stde. 15 Stdn.	braun hellbraun orange hellgelb braun	gelb gelb gelb gelb hellbraun	orange orange — orange rotbraun	gelb gelb bläßorange orange braun	gelblichbraun orange hellorange orange orangebraun
1 Tropfen der Lösung von p-Dimethylamino-benzaldehyd/65-proz. Schwefelsäure 1:1 (v/v) mit FeCl ₃ (Tüpfelplatte)	sofort 5 Min. 15 Min. 1 Stde. 15 Stdn.	farblos hellviolett hellbraun gelblichbraun gelb	orange violett gelb gelblichbraun	farblos hellviolett — schwach gelb gelbbraun	orangebraun grün bläßgrün gelb gelblichbraun	farblos violett violettrot hellbraun gelb

*) R_B = Wanderungsstrecke des Alkaloids/Wanderungsstrecke von Substanz B im System A.



Abbild. 2. Papierchromatogramme der mit Reinecke-Salz gefällten quartären Alkaloide α und A–J

Substanz A, $C_{21}H_{28}NO_4^{\oplus}X^{\ominus}$, kristallisiert als Jodid und Pikrat und enthält zwei $O-CH_3$ -, aber keine $C-CH_3$ -Gruppen. Da das UV-Spektrum dem des 1.2.3.4-Tetrahydro-carbazols (λ_{max} 282 $m\mu$ ($\log \epsilon = 3.81$) in Äthanol), C-Mavacurins, Tetrahydro-norharmans, der C-Alkaloide J und L sowie dem des Melinonins B¹⁴⁾ sehr ähnlich ist, kann man annehmen, daß A ebenfalls ein Tetrahydrocarbazolskelett¹³⁾ enthält. Die UV-Bande des Jodids bei 281 $m\mu$ in Äthanol verschiebt sich in 0.1 *n* NaOH nach 295 $m\mu$. Das IR-Spektrum zeigt Indolbanden bei 1595 und 1610/cm.

Substanz B erhielten wir als kristallisiertes Chlorid, Jodid und Pikrat mit der Summenformel $C_{20}H_{26}NO_5^{\oplus}X^{\ominus}$. Sie enthält eine $N-CH_3$ -Gruppe, zwei $O-CH_3$ -Gruppen, aber keine $C-CH_3$ -Gruppen und keinen aktiven Wasserstoff. Die Verbindung kann nicht hydriert werden. Daraus folgt die Abwesenheit von Hydroxylgruppen und Doppelbindungen. Das Jodid hat ein UV-Maximum bei 287 $m\mu$. Das Spektrum des

¹⁴⁾ J. KEHRLE, H. SCHMID, P. WASER und P. KARRER, *Helv. chim. Acta* **36**, 102 [1953].

Chlorids (λ_{\max} 290 und 235 m μ in Äthanol) zeigt in 0.1 n KOH (λ_{\max} 299, 248 und 218 m μ) eine bathochrome, in 0.1 n HCl dagegen eine hypsochrome Verschiebung (λ_{\max} 284 m μ). Die UV-Spektren der Salze sind ebenfalls dem des Tetrahydrocarbazols ähnlich. Das IR-Spektrum zeigt die typischen Indolbanden bei 1597 und 1613/cm, aber keine Hydroxylgruppen.

Im kristallisierten Chlorid, Perchlorat und Pikrat hat die *Verbindung C* die Zusammensetzung $C_{21}H_{28}NO_4 \cdot X^\ominus$ und enthält zwei *O*-CH₃-Gruppen, eine *N*(CH₃)₂-Gruppe, jedoch keine *C*-CH₃-Gruppen. Das Absorptionsmaximum bei 283 m μ im UV-Spektrum des Chlorids (in Äthanol) verschiebt sich in 0.1 n HCl um 2 m μ nach kürzeren Wellenlängen, liegt dagegen in 0.1 n NaOH bei 289 m μ . Das Spektrum ähnelt wiederum dem des Tetrahydrocarbazols, und im IR-Spektrum des Perchlorates finden sich Banden bei 1597 und 1617/cm (Indol).

BIOLOGISCHE AKTIVITÄT VON CISSAMIN-CHLORID ¹⁵⁾

An der Maus zeigt Substanz B curareähnliche Wirkung mit einer Letaldosis von 100 mg/kg Körpergewicht (intraperitoneal). Geringere Mengen verursachen Krämpfe und Muskelschwäche. Die Letaldosis bewirkt curareähnliche Symptome: geduckte Körperhaltung, Atemnot, Keuchen, Tremor, Erstickungskrämpfe und schließlicher Tod 1–5 Minuten nach Injektion. Insgesamt erwies sich Substanz B 200mal weniger wirksam als *d*-Tubocurarin.

An der anästhesierten Katze zeigte B intravenös ebenfalls curareähnliche Wirkung. 2.5 mg/kg Körpergewicht verursachten vorübergehenden Atemstillstand und eine anhaltende Blutdrucksenkung, wonach der Noradrenalin- und Dimethylphenylpiperazinium (DMPP)-Gehalt des Blutes erhöht und Furfuryl-trimethyl-ammonium-jodide (FTM) sowie Histamin leicht gehemmt waren. 5 mg/kg wirkten letal, weil Herz und Atmung aussetzten.

Die Wirkung von Verbindung B auf das autonome Nervensystem unterscheidet sich etwas von der des *d*-Tubocurarin.

Wir danken Herrn Dr. D. D. AWASTHI, Botany Department der Universität Lucknow, für die Identifizierung, den Herren A. K. SRIVASTAVA und P. N. SRIVASTAVA für die freundliche Überlassung des Pflanzenmaterials. Ebenso danken wir Herrn Dr. M. BARBIER, Institut de Chimie des Substances Naturelles, Paris, und Dr. A. WETTSTEIN, Ciba, Basel, für ihre Hilfe bei der Mikroanalyse und IR-Spektroskopie. Für wertvolle Anregungen danken wir Herrn Prof. P. KARRER, Zürich.

Die Autoren danken ferner Herrn Dr. S. BHATTACHARJI (C. D. R. I., Lucknow) für authentisches *l*-Bebeerin, Hayatinin, Hayatin und *d*-Isochondrodendrin sowie für die Überlassung von Pflanzenextrakten.

Der eine von uns (R. M. S.) dankt dem COUNCIL OF SCIENTIFIC AND INDUSTRIAL RESEARCH, New Delhi (Indien), bestens für ein Stipendium, das ihm die Ausführung dieser Arbeit ermöglichte.

¹⁵⁾ Wir danken Herrn Prof. S. M. KUPCHAN, Universität Wisconsin, Madison, USA, für seine Hilfe bei der Ermittlung der biologischen Aktivität.

BESCHREIBUNG DER VERSUCHE

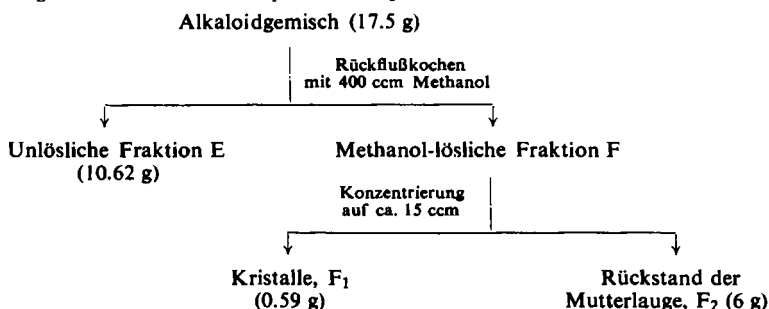
Die Schmp. wurden im Gallenkamp-Schmelzpunktsapparat bestimmt. Die UV-Spektren nahm man mit dem Hilger-and-Watts-Spektrophotometer auf und ermittelte die spezif. Drehungen im Polarimeter von Schmid und Haensch.

Dünnschichtchromatographie: Die Platte mit Kieselgel G (E. Merck) wurde 1 Stde. bei 120° getrocknet und dann über Nacht bei Raumtemperatur an der Luft deaktiviert. Man entwickelte mit Chloroform/Methanol (9 : 1) und ließ 2 mal aufwärts wandern.

Papierchromatographie: Das Papier wurde mit 1-proz. Salzsäure imprägniert. Man chromatographierte absteigend mit Äther/Methyläthylketon (1 : 5), gesättigt mit 1-proz., wäbr. Salzsäure (System A). Zum Sichtbarmachen der Flecke wurde DRAGENDORFFS Reagenz verwendet.

Extraktion der Pflanze: 900 g getrocknete und pulverisierte Wurzeln wurden bei Raumtemperatur wiederholt mit Äthanol sowie 2- und 3-proz. Essigsäure (in Äthanol) geschüttelt. Die vereinigten Extrakte (ca. 8 l) konzentrierte man bei 50° auf 300 ccm, fügte 60 ccm 3-proz. wäbr. Essigsäure hinzu und ließ über Nacht im Kühlschrank stehen. Dann wurde durch „Hyflsuperpel“ filtriert, mit 250 ccm 40-proz. wäbr. Äthanol nachgewaschen und das Filtrat nach vollständigem Entfernen des Äthanol mit Chloroform bei pH 8 und 12 (eingestellt mit Wasser/Ammoniak 1 : 2) extrahiert. Ausb. an Alkaloiden 17.5 bzw. 1 g.

Aufarbeitung der Alkaloide aus dem pH-8-Chloroformextrakt:



***l*-Bebeerin:** Die Lösung von 270 mg der Fraktion F₁ in möglichst wenig Methanol wurde mit methanol. Pikrinsäure versetzt, leicht erwärmt und verdampft. Gründliches Waschen des Rückstandes mit Wasser gab 370 mg (98.9%) rohes Pikrat, das aus Aceton/Methanol (4 : 1) mit etwas Wasser in 3–4 Tagen bei Raumtemperatur kristallisierte. 325 mg vom Schmp. 214–215°. Die Lösung des Pikrates in Aceton/Wasser (1 : 1) ließ man durch 33 ccm IRA-400 (Chlorid-Form) laufen, verdampfte das Aceton i. Vak., neutralisierte den Rückstand mit Ammoniak und extrahierte mit Äther/Chloroform (5 : 1). Der Rückstand des Extraktes gab nach mehrfacher Kristallisation aus Methanol farblose, körnige Kristalle, Schmp. 214°, $[\alpha]_D^{25}$: -320° ($c = 1$, in Pyridin) (Lit.¹⁶); $[\alpha]_D^{18}$: -328° , in Pyridin), identisch mit authent. Probe von *l*-Bebeerin.

***l*-Bebeerin-methojodid:** Die Lösung von 10 mg gereinigtem *l*-Bebeerin und 0.5 ccm Methyljodid in Methanol wurde wenige Min. auf dem Wasserbad erwärmt und 2 Tage stehengelassen. Nach Eindampfen kristallisierte man 2 mal aus Methanol/Äther um. Schmp. 248–250° (Zers.), identisch mit dem Methojodid aus authent. *l*-Bebeerin.

Aufarbeitung der wasserlöslichen Alkaloidfraktion: Aus der wäbr. Schicht (Chloroformextraktion) fällte man nach Ansäuern mit verd. Salzsäure auf pH 2 die Reineckate der Alka-

¹⁶ E. SPÄTH, W. LEITHE und F. LADECK, Ber. dtsh. chem. Ges. 61, 1698 [1928].

loide, die neutral gewaschen und im Vakuumexsikkator getrocknet wurden (26 g). 18.85 g lösten sich durch erschöpfende Extraktion mit Aceton und lieferten an 25 g Al_2O_3 (neutral, nach BROCKMANN, Akt. I) mit 400 ccm Aceton 13.91 g Reineckat. Man erwärmte in 200 ccm Aceton auf 40° , fügte 70 ccm Wasser hinzu, dann innerhalb von 4 Stdn. unter kräftigem Rühren tropfenweise 629 ccm einer heißen Lösung von 6.72 g Silbersulfat und schließlich 5.22 g BaCl_2 in 125 ccm Wasser. Am andern Morgen wurden nach Eindampfen ($<50^\circ$) des klaren Filtrats die viskosen Chloride erhalten, die man 3 mal mit Methanol extrahierte (150 ccm). Man dampfte vollständig ein, extrahierte erneut mit absol. Äthanol, gab auf säuregewaschenes $\text{Al}_2\text{O}_3^{12)}$ und eluierte zuerst mit Methanol, dann mit Äthanol zusammen 9.33 g Chloridgemisch. 1 kg Wurzelrinde (aus Kashmir) lieferte analog 14.88 g Chloride, die mit den ersten vereinigt wurden.

Chromatographische Trennung der Chloride

Verteilungschromatographie I: 600 g Cellulosepulver (Merck) wurden mit System A in eine 5.5×120 cm-Säule geschlämmt und 2 Tage mit dem Lösungsmittelgemisch gewaschen. 9.0 g Chloride wurden mit 20 g Cellulosepulver in Methanol gemischt, getrocknet, die Mischung auf die Säule gegeben und mit System A eluiert (ca. 40 ccm/Stde.). Im Laufe eines Monats wurden insgesamt 143 Fraktionen (alle 5 Stdn. 1 Fraktion) aufgefangen (Tab. 3). Die nichteluierten Alkaloide wurden mit Methanol ausgewaschen.

Tab. 3. Fraktionen und Substanzen aus der Säulenchromatographie

Verteilungschromatographie I Fraktionen		mg	Verteilungschromatographie II Fraktionen		mg	Papierchromatographische Kontrolle
I ₁	1—25	751	II ₁	1—12	1100	Dragendorff negativ (nicht weiter untersucht)
I ₂	26—27	39	II ₂	—	—	α
I ₃	28—30	103	II ₃	13—14	116	A (α)
I ₄	31	56	II ₄	15—17	478	A
I ₅	32—37	450	II ₅	18	134	A, B
I ₆	38—53	2113	II ₆	19—24	1745	B
I ₇	54—62	659	II ₇	25—28	1746	B, C
I ₈	63—73	1049	II ₈	29—32	1802	C
I ₉	74—83	254	II ₉	33—36	246	C, D, (E)
I ₁₀	—	—	II ₁₀	37—39	61	D
I ₁₁	84—143	1055	II ₁₁	40—72	930	Dragendorff negativ
I ₁₂	—	—	II ₁₂	73—117	940	(F), G, H, I, J
I ₁₃	Methanol-eluiertes Anteil	2450	II ₁₃	Methanol-eluiertes Anteil	4500	(F), G, H, I, J

Verteilungschromatographie II: Wie vorstehend wurden 14.11 g Chloride mit Äther/Methyläthylketon (1 : 7), gesättigt mit 1-proz. Salzsäure, an 1 kg Cellulosepulver (1 Woche vorgewaschen) innerhalb von 58 Tagen in 117 Fraktionen (alle 12 Stdn. 1 Fraktion) (Tab. 3) getrennt. Die nichteluierten Alkaloide wurden wieder mit Methanol herausgewaschen.

Aufarbeitung der zusammengefaßten Fraktionen aus Chromatographie I und II (vgl. Tab. 3)

Fraktion I₂: Wegen der geringen Menge nicht weiter untersucht.

Fraktionen I₃, I₄, II₃ und II₄: Alle Versuche, die Substanzen als Chloride zu kristallisieren, schlugen fehl. Es konnten jedoch Pikrate und Jodide gewonnen und kristallisiert werden.

Die Jodide von I_3 und Frakt. 17 von II_4 wurden gewaschen und filtriert. Gesamtausbe. an *A-Jodid* 150 mg. Von II_3 und Frakt. 15 und 16 von II_4 erhielt man nach Kristallisation 513 mg reines *A-Pikrat*.

Fraktion I_5 und II_5 : Es wurde eine Mischung der Substanzen *A* und *B* erhalten, deren Trennung noch im Gange ist.

Fraktion I_6 und II_6 : Die Kristallisation aus Methanol/Äther (3 : 1) ergab 2.4 g *B-Chlorid*.

Fractionen I_7 und II_7 : Aus Frakt. 25 und 26 von II_7 erhielten wir nach Animpfen 509 mg *B-Chlorid*. Die anderen Fraktionen kristallisierten auch beim Animpfen nicht und wurden nicht weiter untersucht.

Fractionen I_8 und II_8 : Das viskose C-Chlorid ließ sich trotz Verwendung verschiedener Lösungsmittelgemische nicht kristallisieren. Mit Na-Pikrat erhielten wir daraus jedoch 1490 mg *C-Pikrat* (aus Methyläthylketon).

Fractionen I_9 und II_9 : I_9 bestand aus einer Mischung von *C-* und *D-Chlorid*, die nicht getrennt wurden. II_9 zeigte, frisch isoliert, papierchromatographisch Flecke von C und D. Da nach 3 Wochen kein D mehr nachweisbar war, schließen wir, daß sich Substanz D unter den angewandten Bedingungen zu C isomerisiert hat.

Fraktion II_{10} : Aus Frakt. 37–39 bekamen wir 61 mg chromatographisch reines *D-Chlorid*, das bis jetzt jedoch nicht kristallisierte.

Substanz A-Jodid = Menismin-Jodid: Aus der wäßr. Lösung von 187 mg amorphem *A-Chlorid* fällte gesätt. Kaliumjodid-Lösung das *A-Jodid*. Zur Entfernung von überschüss. KJ wurde es mit kaltem Wasser gewaschen, in Methanol mit A-Kohle behandelt und durch „Hyflosupercel“ filtriert. Das Jodid kristallisierte man zuerst aus feuchtem Isopropylalkohol/Äther, dann aus Isopropylalkohol/Wasser und schließlich aus Methanol/Äthylacetat. Schmp. 140–142°, $[\alpha]_D^{20}$: $+24 \pm 2^\circ$ ($c = 0.5$, in Methanol). Zur Analyse wurde 5 Stdn. i. Hochvak. bei 100° über P_4O_{10} getrocknet.

$C_{21}H_{28}NO_4J$ (485.4) Ber. C 51.96 H 5.81 J 26.15 N 2.88 O 13.19
Gef. C 51.44, 51.94 H 6.31, 6.02 J 25.57 N 3.23 O 13.77

Substanz A-Pikrat = Menismin-Pikrat: 397 mg des amorphen *A-Chlorides* wurden mit Na-Pikrat in das *Pikrat* übergeführt, das mit kaltem Wasser gewaschen wurde und nicht kristallisierte. Man ließ es mit Aceton/Wasser (9 : 1) durch IRA-400 (Chlorid-Form) laufen, wandelte das nicht kristallisierende A-Chlorid (300 mg) erneut in das *Pikrat* um, löste die getrocknete Verbindung in Methyläthylketon und erhielt nach mehreren Stdn. bei Raumtemperatur im offenen Gefäß Kristalle. Aus Methyläthylketon/Methylisobutylketon mit einer Spur Wasser 289 mg, Schmp. 116–117°. Zur Analyse wurde 3 Stdn. i. Hochvak. bei 100° über P_4O_{10} getrocknet.

$C_{21}H_{28}NO_4[C_6H_2N_3O_7 \cdot 3/4 H_2O]$ (600.1)
Ber. C 54.03 H 5.29 N 9.34 1 C-CH₃ 2.50 2 O-CH₃ 5.01
Gef. C 53.84 H 5.38 N 9.83 C-CH₃ 1.73, 1.51 O-CH₃ 6.17, 5.61

Substanz B-Chlorid = Cissamin-Chlorid: Aus Methanol/Äther schmolz das Chlorid bei 205–207°, nach weiteren Kristallisationen bei 215–220°. $[\alpha]_D^{20}$: $-129 \pm 2^\circ$ ($c = 1.0$, in Methanol). Eine Analysenprobe trocknete man 12 Stdn. bei 100°/0.05 Torr über P_4O_{10} .

$C_{20}H_{26}NO_5Cl \cdot 1/4 H_2O$ (400.4)
Ber. C 59.99 H 6.67 Cl 8.85 N 3.49 1 C-CH₃ 3.76 1 N-CH₃ 3.76 2 O-CH₃ 7.52
Gef. C 59.67 H 6.40 Cl 8.63 N 3.73 C-CH₃ 1.06 N-CH₃ 4.04 O-CH₃ 7.52
59.86 6.49 3.58 0.83 7.57

Die Verbindung enthält keinen aktiven Wasserstoff und nimmt mit PtO_2 /Eisessig keinen Wasserstoff auf. Da hygroskopisch (30 γ /Min. mg), konnte der Sauerstoffgehalt nicht bestimmt werden.

Substanz B-Pikrat = *Cissamin-Pikrat* wurde wie üblich (Na-Pikrat) aus dem Chlorid dargestellt und kristallisierte aus Aceton/Äther. Schmp. 157–158°. Zur Analyse wurde 3 Stdn. bei 100°/0.05 Torr über P_4O_{10} getrocknet.

$\text{C}_{20}\text{H}_{26}\text{NO}_5\text{C}_6\text{H}_2\text{N}_3\text{O}_7$ (588.5) Ber. C 53.06 H 4.79 N 9.52
Gef. C 53.72, 53.50 H 4.82, 4.90 N 9.70, 9.71

Substanz B-Jodid = *Cissamin-Jodid* erhielt man ebenfalls aus dem Chlorid. Aus Methanol/Äther Kristalle vom Schmp. 178°. $[\alpha]_D^{20}$: $-92 \pm 2^\circ$ ($c = 1.0$, in Methanol). Nach 3stdg. Trocknen bei 100°/0.05 Torr über P_4O_{10} wurde analysiert.

$\text{C}_{20}\text{H}_{26}\text{NO}_5\text{J} \cdot 1\frac{1}{2} \text{H}_2\text{O}$ (514.4) Ber. C 46.70 H 5.68 J 24.67 N 2.72 O 20.21
Gef. C 46.13 H 5.62 J 25.85 N 2.73 O 19.83

Substanz C-Pikrat = *Pareirin-Pikrat* bildete sich aus dem Chlorid mit Na-Pikrat in Wasser. Nach wiederholter Kristallisation aus Methyläthylketon Schmp. 169–171°. Man trocknete 12 Stdn. bei 100°/0.05 Torr über P_4O_{10} zur Analyse.

$\text{C}_{21}\text{H}_{28}\text{NO}_4\text{C}_6\text{H}_2\text{N}_3\text{O}_7$ (586.6)
Ber. C 55.29 H 5.15 N 9.55 2 *N*-CH₃ 5.12 2 *O*-CH₃ 5.12
Gef. C 55.62, 55.20 H 5.13, 5.05 N 9.38 *N*-CH₃ 5.49 *O*-CH₃ 6.11

Substanz C-Chlorid = *Pareirin-Chlorid*: Man schüttelte 320 mg *C-Pikrat* 4 Stdn. mit 45 ccm IRA-410 (*Chlorid*-Form) und 20 ccm Aceton/Wasser (2:1). Am anderen Morgen wurde das Filtrat i. Vak. eingedampft, der Rückstand mit 4 ccm Methanol extrahiert und der Extrakt mit Aktivkohle behandelt. Ausb. 200 mg Rohprodukt, von dem man den Isopropylalkohol-löslichen Teil zur Trockne eindampfte. Das außerordentlich hygroskopische *Chlorid* kristallisierte beim Anreiben mit Cyclohexan und schmolz (nach Sintern bei 88°) bei 100 bis 105° (im zugeschmolzenen Röhrchen). $[\alpha]_D^{25}$: $+120 \pm 4^\circ$ ($c = 0.25$, in Methanol). Zur Analyse wurde 14 Stdn. bei 56° i. Vak. über P_4O_{10} getrocknet.

$\text{C}_{21}\text{H}_{28}\text{NO}_4\text{Cl} \cdot \text{H}_2\text{O}$ (412.0) Ber. C 61.24 H 7.34 Gef. C 61.50 H 7.67

Substanz C-Perchlorat = *Pareirin-Perchlorat*: Das Gemisch aus 172 mg *C-Pikrat* in 12 ccm Aceton/Wasser (2:1) und 25 ccm IRA-410 (*Chlorid*-Form) wurde 6 Stdn. geschüttelt und die *Chlorid*-Lösung filtriert. Das wie üblich mit *Na-Perchlorat* erhaltene *C-Perchlorat* wusch man mit kaltem Wasser und Aceton und erhielt durch Anreiben mit Cyclohexan 100 mg hygroskopische Kristalle vom Schmp. 110–120°. $[\alpha]_D^{25}$: $+112 \pm 4^\circ$ ($c = 0.5$, in Methanol). Zur Analyse wurde 12 Stdn. bei 60° i. Hochvak. über P_4O_{10} getrocknet.

$\text{C}_{21}\text{H}_{28}\text{NO}_4\text{ClO}_4 \cdot 1\frac{1}{2} \text{H}_2\text{O}$ (485.0) Ber. C 52.01 H 5.82 Cl 7.32 N 2.88
Gef. C 52.14 H 6.03 Cl 7.94 N 2.70