

Commentaires et remarques. On constate à première vue, un léger défaut des résultats obtenus par acétylation pyridinée, comparativement à ceux de la méthode classique. Cet écart varie selon l'alcool dosé. On remarque, d'autre part, que les valeurs sont parfaitement reproductibles, à la limite d'erreur près. Ces faits permettent d'ajuster les résultats par voie mathématique, par l'introduction d'un facteur à déterminer pour chaque alcool.

Comme ces alcools sont sensibles à la déshydratation, il est indiqué de les en préserver dans la mesure du possible: ainsi, on chauffe de préférence sur treillis muni d'une plaque métallique centrale, afin d'atténuer l'effet de la flamme nue.

Un manchon cylindrique en tôle, entourant le ballon, contribue à une ébullition régulière.

En employant de l'eau salée pour les lavages, on obtient des décantations plus rapides.

Comme agent de séchage, l'hydrogénocarbonate de sodium peut remplacer le sulfate de sodium. Il est suffisamment hygroscopique, et en plus de cela, neutre et neutralisant.

RÉSUMÉ.

Description d'une méthode pratique pour l'évaluation d'alcools tertiaires en parfumerie. Il s'agit d'acétylation par l'anhydride acétique en présence de pyridine. On opère par voie indirecte.

Le dosage, ou son principe, peut être étendu à la détermination du titre d'autres alcools que ceux mentionnés.

Laboratoire de chimie analytique,
L. Givaudan & Cie S.A., Vernier-Genève.

97. Trennung von Corynanthein und Dihydro-corynanthein

von A. Blumenthal, C. H. Eugster und P. Karrer.

(11. III. 54.)

Vor einiger Zeit wurde nachgewiesen, dass natürliches Corynanthein stets eine Mischung von Corynanthein und ca. 40–60% Dihydro-corynanthein ist¹⁾. *Goutarel, Janot, Mirza & Prelog* bestätigten dieses Versuchsergebnis²⁾. Es brachte auch die Erklärung für die von uns bewiesene³⁾ und von anderer Seite früher bestrittene⁴⁾ Tatsache, dass Rohcorynanthein C-Methylgruppen enthält und bei der katalytischen Hydrierung nicht 1 Mol⁵⁾, sondern nur ca. 0,35–0,5 Mol H₂ aufnimmt⁶⁾. Noch bevor wir eine Methode zur Trennung von Corynanthein und Dihydro-corynanthein entwickelt hatten, haben *Goutarel,*

¹⁾ *P. Karrer, R. Schwyzer & A. Flam, Helv. 35, 851 (1952).*

²⁾ *R. Goutarel, M. M. Janot, R. Mirza & V. Prelog, Helv. 36, 337 (1953).*

³⁾ *P. Karrer, R. Schwyzer & A. Flam, Helv. 34, 993 (1951); 35, 851 (1952).*

⁴⁾ *V. Prelog, M. M. Janot & R. Goutarel, C. r. 232, 1305 (1951); Helv. 34, 1207 (1951); Bl. 1951, 588.*

⁵⁾ *M. M. Janot & R. Goutarel, Bl. 1951, 588.*

⁶⁾ *P. Karrer & P. Enslin, Helv. 32, 1396 (1949); P. Karrer, R. Schwyzer & A. Flam, Helv. 35, 851 (1952).*

Janot, Mirza & Prelog¹⁾ eine solche beschrieben, welche auf dem Craig'schen²⁾ Verteilungsverfahren zwischen einer Pufferlösung und einem lipophilen Lösungsmittel beruht; Anwendung fanden Citratpuffer vom pH 4,0–4,4 und Äther. Zur Trennung der beiden Alkaloide waren ca. 40 Ausschüttlungsoperationen notwendig.

Wir haben eine Methode ausgearbeitet, welche die Trennung von Corynanthein und Dihydro-corynanthein – wenigstens in kleineren Mengen – etwas rascher und einfacher gestaltet.

Das Kunstharz Duolite C 10 mit der funktionellen Gruppe $-\text{SO}_3\text{H}$ hat sich für die Gewinnung von Alkaloiden aus Pflanzenextrakten als geeignet erwiesen³⁾. Die Alkaloide haften sehr fest an diesem Austauschharz und lassen sich durch ammoniakalischen Alkohol wieder von diesem ablösen. Auf dieser Eigenschaft des Kationenaustausches beruht das neue Verfahren zur Trennung von Corynanthein und Dihydro-corynanthein. Diese unterscheiden sich durch ihre Basizität¹⁾ (Corynanthein $\text{pK}_a = 6,65$, Dihydrocorynanthein $\text{pK}_a = 7,17$ in 80-proz. Methylcellosolve¹⁾). Wenn man die Kunstharzkolonnie mit einer Lösung, die die beiden Alkaloide als Salze enthält, beschickt, so werden die Kationen adsorbiert. Durch Eluieren mit ammoniakhaltigem Alkohol können die Basen wieder aus der Kolonne entfernt werden. Da Corynanthein die schwächere Base ist, wird es vor dem Dihydro-corynanthein vom Kunstharz abgelöst und findet sich angereichert in der Spitzenfraktion. Eine einmalige Trennung in der Säule führt zu Spitzenfraktionen mit 92–93% Corynantheingehalt, eine Wiederholung der Trennung zur reinen Substanz. Ungefähr im gleichen Reinheitsgrad kann aus den letzten Ammoniakeluaten Dihydro-corynanthein gewonnen werden.

Da Corynanthein und Dihydro-corynanthein verschiedene Basizität besitzen, zeigen sie auf gepuffertem Papier etwas verschiedene Rf-Werte. Die Papierstreifen wurden in Citratpufferlösungen getränkt, dann zwischen Fliesspapier gepresst und an der Luft getrocknet. Die Versuche haben wir in Standkolben nach der aufsteigenden Methode ausgeführt, und zwar mit Benzol-Methanol-Gemisch 9:2, das mit 5 cm³ Pufferlösung gesättigt war.

Corynanthein Rf bei pH = 3,9 0,24 bei pH = 4,2 0,34

Dihydro-corynanthein Rf bei pH = 3,9 0,20 bei pH = 4,2 0,29

Als Entwickler kann Jod-Lösung oder Bromkresolgrün dienen.

Bei Verwendung eines Gemisches von Corynanthein und Dihydro-corynanthein liessen sich aber im Chromatogramm nicht zwei getrennte Flecke, sondern ein einziger, in die Länge gezogener, nachweisen, eine Folge der zu geringen Verschiedenheit der Rf-Werte der beiden Alkaloide.

¹⁾ R. Goutarel, M. M. Janot, R. Mirza & V. Prelog, *Helv.* **36**, 337 (1953).

²⁾ L. C. Craig et al., *J. Biol. Chem.* **161**, 321 (1945).

³⁾ J. Büchi & F. Furrer, *Arzneimittelforschg.* **3**, 1 (1953).

Experimenteller Teil.

Vorbereitung des Kunstharzes Duolite C 10¹⁾. Das grobkörnige käufliche Austauschharz, das in der Na-Form vorliegt, wird im Mörser zerkleinert, gesiebt und die zu feinen Partikeln durch mehrmaliges Dekantieren mit destilliertem Wasser entfernt. Für die Kolonne mit einem Volumen von 10 ml werden 3,3 g trockenes, zerkleinertes Na-Harz über Nacht in 10-proz. NH₄Cl-Lösung stehengelassen, wobei das Harz ungefähr um 100% seines Volumens quillt. Nachdem das Harz in das Rohr gespült worden ist, werden noch 200 ml 10-proz. NH₄Cl-Lösung durch die Kolonne fließengelassen, und darauf wird mit destilliertem Wasser nachgewaschen.

Das Auftragen der Substanz. Wir haben die freie Base in einem Gemisch Alkohol-Wasser 1:1 gelöst, verdünnte Essigsäure zugetropft, bis die Lösung schwach sauer reagierte und hierauf noch soviel Wasser zugesetzt, dass das Verhältnis Alkohol-Wasser 1:2 betrug. Die Kolonne wurde jetzt mit Alkohol-Wasser 1:2 vorgespült und nachher die alkaloidhaltige Lösung langsam durch die Kolonne filtriert. Schliesslich hat man letztere nochmals mit Alkohol-Wasser und zweimal mit destilliertem Wasser nachgewaschen.

Das Eluieren und Aufarbeiten. Zuerst verdrängte man das in der Kolonne vorhandene Wasser mit reinem Alkohol. Das eigentliche Eluieren der Substanz erfolgte mit ammoniakhaltigem Alkohol, wobei die aufgefangenen Fraktionen 5 oder 10 ml betragen. Die einzelnen Fraktionen wurden dann stark eingeengt und durch Zusetzen von Wasser bei 60° die Alkaloide zum Auskristallisieren gebracht. Den Gehalt der Präparate an Corynanthein bestimmten wir durch Mikrohydrierungen, die in reinem Äthanol mit Palladiumkohle (30% Pd) ausgeführt wurden.

Vorversuche. 1. 3,3 g Harz wurden nach der beschriebenen Methode vorbehandelt und ergaben eine Kolonne von 13 cm Höhe und 1 cm Durchmesser. Wir trugen 100 mg Rohcorynanthein (Base) auf und eluierten mit 1/10-proz. alkoholischem Ammoniak. Die Fließgeschwindigkeit betrug 0,5 ml/Min. Die Substanz fand sich in 7 Fraktionen zu 5 ml und war folgendermassen verteilt (in mg):

5 12 20 20 20 16 6 mg.

Hydrierung der Spitzenfraktion: 4,78 mg verbrauchten 0,32 ml H₂ (735 mm, 21°) Doppelbindungszahl 0,92²⁾. Hydrierung der Endfraktion: keine H₂-Aufnahme.

2. Mit der gleichen Kolonne und mit gleich viel Substanz wurde obiger Versuch wiederholt, die Elution erfolgte aber mit 1/50-proz. alkoholischem Ammoniak. Die Substanz befand sich in 13 Fraktionen zu 5 ml und war folgendermassen verteilt:

4 7 8 8 9 9 10 12 9 7 7 4 (in mg).

Hydrierung der Spitzenfraktion: 4,05 mg nahmen 0,275 ml H₂ auf (728 mm, 21°), Doppelbindungszahl 0,93. Hydrierung der Endfraktion: keine H₂-Aufnahme.

Präparative Trennung. Für die präparative Trennung wurde eine Kolonne von 22 cm Höhe und 4 cm Durchmesser benützt und mit 3 g rohem Corynanthein beschickt. Wir eluierten mit 1/50-proz. ammoniakalischem Alkohol bei einer Fließgeschwindigkeit von 1 ml/Min. Die erhaltenen Fraktionen wurden in 10 gleiche Teile geteilt. Den ersten

¹⁾ Nach J. Büchi & F. Furrer, *Arzneimittelforschg.* **3**, 1 (1953).

²⁾ Alle Mikrohydrierungen wurden in der Apparatur von N. Clauson-Kaas & F. Limborg (*Acta Chim. Scand.* **1**, 884 (1947)) bei konstanter Temperatur ausgeführt. Zu einer genauen Bestimmung der Hydrierungszahl und damit des Gehaltes an Corynanthein ist es notwendig, bei der Berechnung der H₂-Aufnahme auch den Dampfdruck des Lösungsmittels (Alkohol) zu berücksichtigen. Wir haben dies in unserer früheren Mitteilung (*Helv.* **35**, 851 (1952)) nicht getan und dies ist auch in der Mitteilung von R. Goutarel, M. M. Janot, R. Mirza & V. Prelog (*Helv.* **36**, 337 (1953)) nicht geschehen. Für die l. c. beschriebenen 100-proz. Corynanthein-Präparate würde sich unter Rücksichtnahme auf den Lösungsmitteldampfdruck nur ein Gehalt von ca. 94% berechnen. Beim genauen Nacharbeiten der Versuche von R. Goutarel et al. (40 Ausschüttlungen) erhielten wir ebenfalls Corynanthein-Präparate mit 94% Corynanthein-Gehalt.

und zweiten Teil hat man getrennt aufbewahrt, während die Substanz des dritten bis achten Teiles wieder auf die mit destilliertem Wasser alkalifrei gewaschene Kolonne aufgetragen wurde. Mit den jetzt erhaltenen Fraktionen wurde gleich verfahren. Das erste und zweite Zehntel wurde mit den vorher erhaltenen vereint, während man die Fraktionen 3—8 nochmals durch die Kolonne schickte, um hierauf wieder das erste und zweite Zehntel abzutrennen. Bei der Aufarbeitung ergab sich folgendes:

Die vereinigten ersten Teile wogen 510 mg. 5,06 mg nahmen 0,31 ml H_2 auf (720 mm, 21°), Doppelbindungszahl 0,82.

Die vereinigten zweiten Teile wogen 570 mg. 3,46 mg nahmen 0,15 ml H_2 auf (720 mm, 20°), Doppelbindungszahl 0,59.

Diese beiden Teile zusammen enthielten somit rund $3/4$ des im Ausgangsmaterial enthaltenen Corynantheins.

Um zu reinem Corynanthein zu gelangen, wurden die 500 mg 82-proz. Corynanthein nochmals auf eine Kolonne von 18 cm Höhe und 2 cm Durchmesser aufgetragen und mit 1/50-proz. ammoniakalischem Alkohol eluiert. Fließgeschwindigkeit 0,5 ml/Min. Die erhaltenen Fraktionen wurden in 5 gleiche Teile geteilt und ergaben folgende Resultate:

1. Fünftel: 75 mg Doppelbindungszahl 1,00 [3,03 mg, H_2 : 0,223 ml (720 mm, 19°)];
 2. Fünftel: 100 mg Doppelbindungszahl 1,00 [4,66 mg, H_2 : 0,345 ml (719 mm, 20°)];
 3. Fünftel: 130 mg Doppelbindungszahl 0,87 [3,96 mg, H_2 : 0,255 ml (719 mm, 19°)];
 4. Fünftel: 105 mg Doppelbindungszahl 0,67 [4,59 mg, H_2 : 0,23 ml (717 mm, 21°)];
 5. Fünftel: 80 mg Doppelbindungszahl 0,50 [4,75 mg, H_2 : 0,18 ml (718 mm, 20°)].
- Der Smp. des reinen Corynantheins liegt bei 164° (korr.)

Zusammenfassung.

Es wird eine Methode zur Trennung von Corynanthein und Dihydro-corynanthein beschrieben.

Zürich, Chemisches Institut der Universität.

98. Über die Konstitution des Verbenalins

von M. Cohn, E. Vis und P. Karrer.

(11. III. 54.)

Im Jahre 1946 wurde aus unserem Institut eine Arbeit über Verbenalin, das Glucosid aus *Verbena officinalis*, veröffentlicht¹⁾. Dieselbe Abhandlung enthält eine Zusammenfassung älterer, von anderen Autoren stammenden Beobachtungen über diesen Stoff. Die wesentlichsten Ergebnisse unserer eigenen damaligen Untersuchungen lassen sich wie folgt zusammenfassen:

1. Verbenalin $C_{17}H_{24}O_{10}$ lässt sich durch Emulsin zum Aglucon $C_{11}H_{14}O_5$, dem Verbenalol aufspalten.

2. Bei der katalytischen Reduktion des Verbenalins mit Raney-Nickel unter Druck bildet sich Tetrahydro-verbenaolin $C_{17}H_{28}O_{10}$ und als Nebenprodukt das zuckerfreie Desoxy-verbenaolin $C_{10}H_{16}O_3$.

¹⁾ P. Karrer & H. Salomon, Helv. 29, 1544 (1946).