

Amino-11-cis-fluorènacène (X). On met en suspension à la température du bain-marie 0,1 g de l'amino-dione ci-dessus dans 8 ml de diéthylène-glycol, ajoute 0,3 g d'hydrate d'hydrazine et la solution de 1,24 g de KOH dans 5 ml de diéthylène-glycol. Le mélange est chauffé 10 min au bain-marie et 3 h au reflux à l'ébullition. La couleur passe du rouge au brun, puis au jaune brun. Une petite quantité de produit se dépose dans le réfrigérant; on le dissout dans un peu d'alcool et chauffe le mélange à nouveau quelques min. Après refroidissement, on ajoute 50 ml d'eau et 8 ml de HCl conc. et refroidit à la glace. Le produit de réaction est assoré, lavé et séché, et sa solution benzénique, filtrée sur Al_2O_3 . Par concentration du filtrat, se séparent des aiguilles brillantes jaune pâle qu'on recrystallise dans le benzène: 77 mg, soit 85%. Déc. à 258–259°. Le produit est soluble dans le benzène et l'acétone, peu dans la ligroïne. Sa solution dans H_2SO_4 conc. est jaune clair.

$\text{C}_{20}\text{H}_{15}\text{N}$	Calculé C 89,18	H 5,61	N 5,20%
(269,35)	Trouvé „ 89,05	„ 5,91	„ 5,30%

On peut obtenir le même produit en traitant de manière analogue la nitro-11-*cis*-fluorènacène-dione VIII. On chauffe p. ex. 8 h à 190° le mélange de 0,5 g de nitro-dione, 30 ml de diéthylène-glycol, 1,5 ml d'hydrate d'hydrazine et 3 g de NaOH. Le produit brut, de couleur foncée, n'est soluble que pour une petite partie dans le benzène; l'extrait benzénique est filtré sur Al_2O_3 et les aiguilles presque incolores qui s'en séparent par évaporation partielle du dissolvant sont recrystallisées dans le benzène. Le rendement n'est que de 40 à 50 mg.

Acétylamino-11-cis-fluorènacène. On dissout à chaud 100 mg d'amino-11-*cis*-fluorènacène (X) dans la quantité nécessaire de benzène, ajoute 12 ml d'anhydride acétique et chauffe 1 h à 50°. Après repos prolongé le dérivé acétylé se précipite cristallin: 81 mg (70%). On le purifie par deux cristallisations dans l'alcool. Aiguilles jaunes, F. 296–297°.

$\text{C}_{22}\text{H}_{17}\text{ON}$	Calculé C 84,86	H 5,50	N 4,50%
(311,38)	Trouvé „ 84,63	„ 5,72	„ 4,60%

RÉSUMÉ

On décrit la synthèse, en six étapes à partir de l'acide dibromo-4,6-isophtalique, de l'amino-11-*cis*-fluorènacène ou amino-4-[indéno-2',1':2,3-fluorène].

Institut de chimie de l'Université de Fribourg (Suisse)

138. Zur Kenntnis des C-Fluorocurarins

32. Mitteilung über Calebassen-Alkaloide¹⁾

von W. v. Philipsborn, H. Meyer, H. Schmid und P. Karrer

(2. VI. 58)

Das erstmalig von H. WIELAND, H. J. PISTOR & K. BÄHR²⁾³⁾⁴⁾⁵⁾⁶⁾ aus Calebassencurare isolierte, schwach gelb gefärbte, im UV. stark fluoreszierende C-Fluorocurarin (I) (C-Curarin-III) beansprucht besonderes Interesse, weil es auch aus Calebassin mit Ameisensäure/Essigsäureanhydrid (H. VOLZ &

¹⁾ 31. Mitteilung: Helv. 41, 1202 (1958).

²⁾ Liebigs Ann. Chem. 547, 140 (1941).

³⁾ H. WIELAND, B. WITKOP & K. BÄHR, Liebigs Ann. Chem. 558, 146 (1947).

⁴⁾ H. SCHMID, J. KEBRLE & P. KARRER, Helv. 35, 1865 (1952).

⁵⁾ J. KEBRLE, H. SCHMID & P. KARRER, Helv. 36, 102 (1953).

⁶⁾ J. KEBRLE, H. SCHMID & P. KARRER, Helv. 36, 345 (1953).

TH. WIELAND⁷⁾) und aus C-Curarin unter der Einwirkung von kalter Salzsäure (A. ZÜRCHER, O. CEDER & V. BOEKELHEIDE⁸⁾, H. FRITZ & TH. WIELAND⁹⁾) erhalten wird. Dem Calebassin¹⁰⁾¹¹⁾ und dem Curarin¹⁰⁾ kommen C₄₀-Formeln zu, während für C-Fluorocurarin auf Grund seiner geringen Toxizität und seines grossen R_c-Wertes⁴⁾ (2,25, C-Gemisch) eher eine C₂₀-Formel in Frage kommt¹⁰⁾⁸⁾. Auch mit heisser Salzsäure entstehen aus Curarin eine Reihe fluoreszierender Substanzen, von denen wir zwei in kristallisierter Form abscheiden konnten. Sie sind in ihrem UV.-Spektrum dem Fluorocurarin ähnlich, unterscheiden sich aber von ihm u. a. durch kleine R_c-Werte (< 1). Über diese Verbindungen wird später berichtet werden.

Wie unten gezeigt wird, enthält C-Fluorocurarin (I) nur ein basisches (das quartäre) Stickstoffatom. Auf Grund der Analysen des β -Anthrachinon-sulfonates²⁾ und des Jodides kommt ihm daher die Summenformel C₂₀H₂₃ON₂⁺ zu. Das gleichfalls kristallisierte Chlorid⁵⁾ und das Perchlorat sind nicht völlig wasserfrei zu erhalten. Die Summenformel C₂₀H₂₃ON₂⁺ findet durch Analysen der nachfolgend beschriebenen Derivate des Fluorocurarins (I) ihre Bestätigung.

C-Fluorocurarin (I) enthält je eine N-Methyl- und C-Methyl-Gruppe. Letztere liegt wie bei anderen Calebassen-Alkaloiden in einer Äthyliden-Seitenkette vor, da beim Ozonisieren Acetaldehyd (kein Formaldehyd!) erhalten wird.

Das recht charakteristische UV.-Spektrum des Fluorocurarins (I)³⁾⁵⁾, welches auf Zusatz von Alkali eine starke, reversible Rotverschiebung erfährt (Fig. 1), konnte bis heute noch nicht gedeutet werden. Die folgenden Versuche lösen diese Frage.

Methylierung von I mit Dimethylsulfat und Alkali in der Kälte liefert ein, wie aus dem Rf-Wert hervorgeht, monoquartäres N-Methylfluorocurarin (II) C₂₁H₂₅ON₂⁺, das als Chlorid und Pikrat kristallisiert. Das UV.-Spektrum des Chlorids (Fig. 1) ist praktisch identisch mit demjenigen des Fluorocurarins, erleidet aber auf Zusatz von Alkali keine Rotverschiebung. Da ferner der eingeführte Methylrest als schwer abspaltbare N-Methylgruppe vorliegt, handelt es sich um Methylierung am nicht basischen N_(a)-Atom. Die Natur eines sekundären Amins dieses Atoms in I wird durch die Bildung eines N_(a)-Acetylfluorocurarin-chlorids (III) C₂₂H₂₅O₂N₂⁺ aus I und Essigsäureanhydrid (Pyridin) erhärtet. Ozonisierung von II liefert wiederum Acetaldehyd, aber keinen Formaldehyd.

Reduktion einer 5,6 · 10⁻⁴-m. Lösung von II in Phosphatpuffer pH = 8 mit überschüssigem Natriumborhydrid bei 20° gibt eine Substanz (V), die ein reines α -Methylenindolin-Chromophor besitzt (Fig. 2). Das so gebildete α -Methylenindolin lagert sich in saurer Lösung (pH = 3-4) sehr rasch irreversibel in eine Verbindung mit typischem Indolinchromophor um (Fig. 2). Bei der prä-

⁷⁾ Liebigs Ann. Chem. **604**, 1 (1957).

⁸⁾ J. Amer. chem. Soc. **80**, 1500 (1958).

⁹⁾ Liebigs Ann. Chem. **611**, 277 (1958).

¹⁰⁾ W. v. PHILIPSBORN, H. SCHMID & P. KARRER, Helv. **39**, 913 (1956).

¹¹⁾ K. BERNAUER, H. SCHMID & P. KARRER, Helv. **41**, 26 (1958).

parativen Ausführung muss aus experimentellen Gründen in viel konzentrierter Lösung gearbeitet werden, so dass nach Zugabe des Borhydrids das pH über 9 steigt. Das Reduktionsprodukt stellt in diesem Falle, wie aus dem Absorptionsspektrum der Reaktionslösung hervorgeht, ein Gemisch aus dem α -

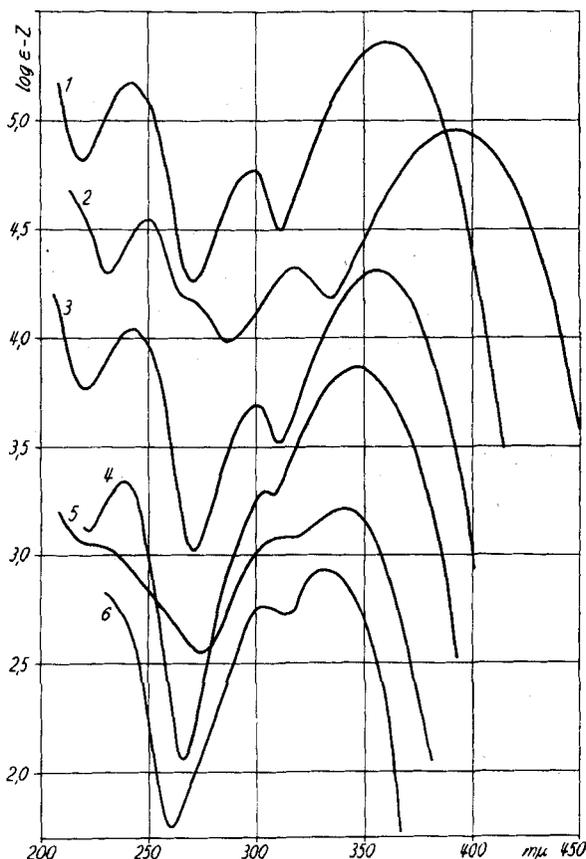


Fig. 1

- Kurve Nr. 1: Fluorocurarinchlorid (I), $M = 342,9$, $c = 5,91 \cdot 10^{-5}$ in 95-proz. Äthanol, $Z = -1,13$.
 2: Fluorocurarinchlorid in 0,01-n. äthylalkoholischer NaOH (Ia), $Z = -0,63$.
 3: $N_{(a)}$ -Methylfluorocurarinchlorid (II), $M = 356,9$, $c = 6,362 \cdot 10^{-5}$ in 95-proz. Äthanol, $Z = 0$.
 4: β -1-Anilino-but-1-en-3-on, $M = 161,2$, $c = 4,73 \cdot 10^{-5}$ (Minimum: $c = 1,99 \cdot 10^{-4}$) in 95-proz. Äthanol, $Z = 0,60$; vgl. ¹⁸).
 5: $N_{(a)}$ -Methylfluorocurarinoxim-chlorid (IV), $M = 371,9$, $c = 7,53 \cdot 10^{-5}$ in Phosphatpuffer pH = 8, $Z = 1,00$.
 6: Akuammicin (XII) in Alkohol, vgl. ²⁰), $Z = 1,30$.

Methylenindolin und einem Indolinkörper dar (Fig. 2). Nach der Säureumlagerung isolierte man aus diesem Ansatz durch Verteilungschromatographie die drei folgenden Indoline mit lachsroter Cer(IV)-sulfat-Farbreaktion:

Isodihydro- $N_{(a)}$ -methylfluorocurarin (VI) $C_{21}H_{27}ON_2^+$ als kristallisiertes Chlorid und Pikrat,

Tetrahydro- $N_{(a)}$ -methylfluorocurarin (VIII) $C_{21}H_{29}ON_2^+$ als kristallisiertes Chlorid und Jodid,

Desoxy-isodihydro- $N_{(a)}$ -methylfluorocurarin (X) $C_{21}H_{27}N_2^+$ in kleiner Menge als kristallisiertes Chlorid und Pikrat.

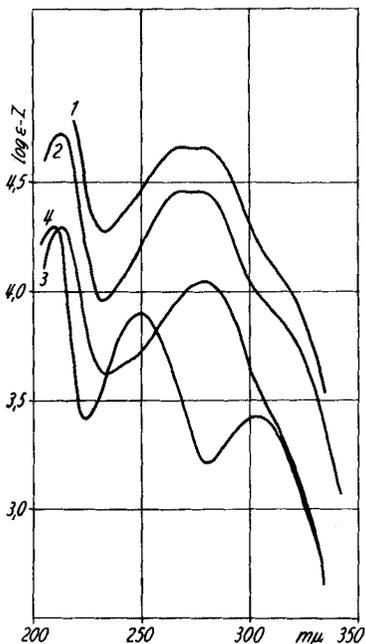


Fig. 2

Kurve Nr. 1: Additionsspektrum von Methylenindolin (V) (80%) und Indolin (VIII) (20%), $Z = -0,70$.

2: Qualitatives UV.-Spektrum des präparativen $NaBH_4$ -Reduktionsansatzes von II, 95-proz. Alkohol, $pH \approx 8$, ϵ nicht bekannt.

3: Quantitatives UV.-Spektrum des Mikro- $NaBH_4$ -Reduktionsansatzes von II in Phosphatpuffer $pH \approx 8$, $c = 1,123 \cdot 10^{-4}$ (Methylenindolin V), $Z = 0$.

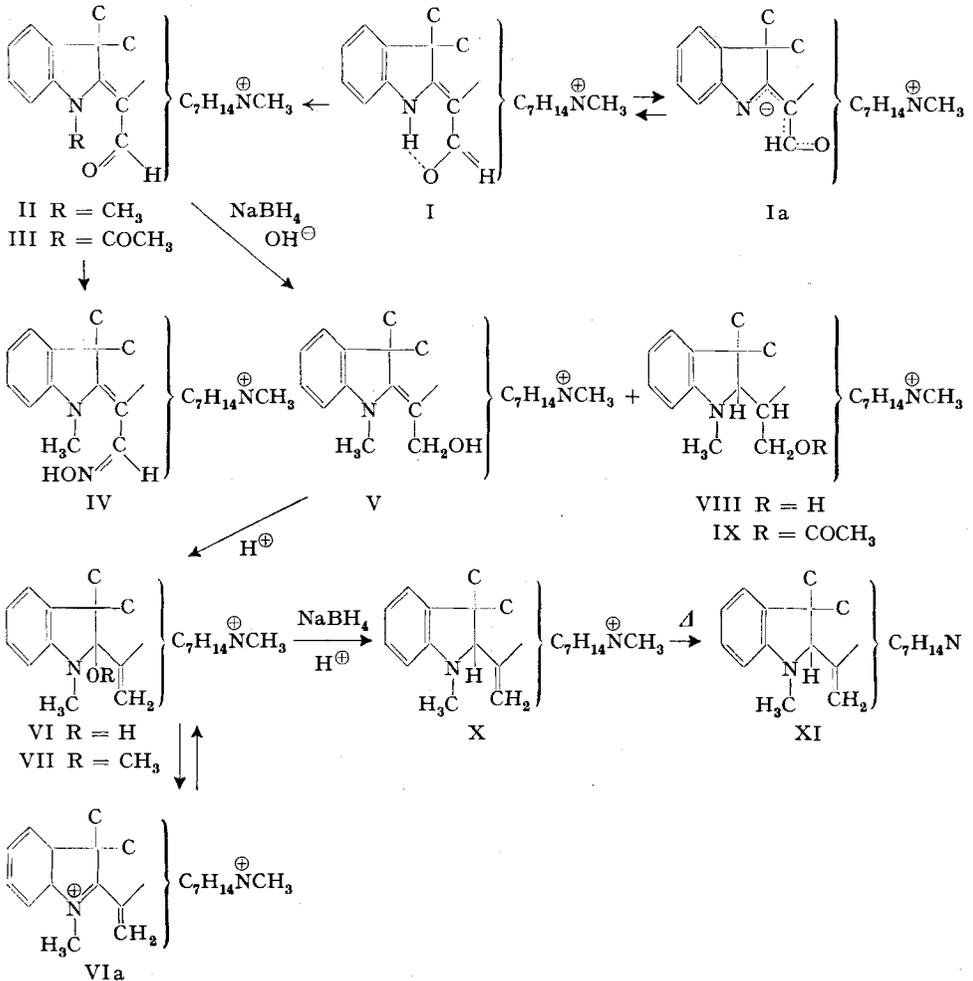
4: Die gleiche Lösung wie bei 3, aber bei $pH \approx 3$, $c = 1,1 \cdot 10^{-4}$, $Z = 0$.

Substanz VI besitzt ein typisches Indolin-UV.-Absorptionsspektrum, das in 0,1-n. Lauge eine reversible Rotverschiebung um 4–6 $m\mu$ erfährt, charakteristisch für substituierte 2-Hydroxyindoline¹²⁾¹³⁾. In 5-n. Salzsäure zeigt VI ein Spektrum, das dem α -Vinyl-indoleniniumsalz¹³⁾ VIa zugeschrieben werden kann. Beim Abstumpfen auf pH 5 zeigt die Lösung wieder das Spektrum des Indolins VI (Fig. 4). Im IR.-Spektrum (KBr) zeigt das VI-Chlorid Banden bei

¹²⁾ H. FRITZ, TH. WIELAND & E. BESCH, Liebigs Ann. Chem. **611**, 268 (1958).

¹³⁾ KARL BERNAUER, H. SCHMID & P. KARRER, Helv. **41**, 673 (1958).

3,10 μ (OH), 6,08 μ (C=C), 6,22 μ (Indolin), 13,53 μ (o-disubstituierter Benzolkern) und eine Vinylbande bei 10,98 μ ¹⁴).



Ozonisierung von VI liefert dementsprechend neben Acetaldehyd (aus der Äthyliden-Seitenkette) Formaldehyd, der als p-Nitrophenylhydrazon identifiziert wurde. Die Hydroxylgruppe lässt sich mit Pyridin/Essigsäureanhydrid nicht acetylieren, wird aber durch sehr verdünnte, absolut methanolische Salz-

¹⁴) Die CH_2 -wagging-Schwingung einer Vinylgruppe erfährt eine Verschiebung nach kleineren Wellenlängen, wenn das der Doppelbindung benachbarte C-Atom eine funktionelle Gruppe trägt. Bei Verbindungen des Typs $\text{CH}_2=\text{CH} \cdot \text{CR}_1\text{R}_2\text{X}$ (X = funktionelle Gruppe) liegt die Bande statt bei 10,95–11,02 μ bei 10,75–10,90 μ : D. BARNARD, L. BATEMAN, A. J. HARDING, H. P. KOCH, N. SHEPPARD & G. B. B. M. SUTHERLAND, J. chem. Soc. 1950, 915. Eine ähnliche Verschiebung tritt auch bei $\text{CH}_2=\text{CR}_1 \cdot \text{CR}_2\text{R}_3\text{X}$ auf: W. BRÜGEL, Angew. Chem. 68, 441 (1956). Vgl. die Bemerkung zum IR.-Spektrum der Verbindung X.

säure rasch gegen die Methoxygruppe ausgetauscht¹⁵⁾. Der Methyläther VII absorbiert im UV. etwas längerwellig als VI, zeigt aber auf Zusatz von Lauge keine Verschiebung des Spektrums (Fig. 5). Mit verdünnter wässriger Säure bildet sich VI rasch zurück. Das reaktive Verhalten der Verbindung VI entspricht somit weitgehend demjenigen des Calebassins, das sehr wahrscheinlich eine analoge Gruppierung enthält¹³⁾. Jedoch gibt VI mit starker Salzsäure keine der Isocalebassin-Umlagerung entsprechende Reaktion¹⁶⁾.

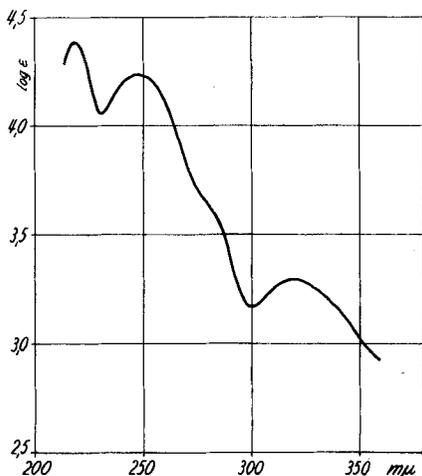


Fig. 3

$N_{(a)}$ -Acetylfluorocurarinchlorid (III) in 95-proz. Äthanol, $M = 384,9$, $c = 6,4 \cdot 10^{-5}$.

Tetrahydro- $N_{(a)}$ -methylfluorocurarin (VIII) besitzt ein etwas langwelliges Indolinspektrum, das auf Zusatz von Alkali keine Veränderung erfährt. Schon in ca. 1-n. Salzsäure zeigt der Stoff die Absorption eines Indoliniums Salzes¹¹⁾ (Fig. 4). Im IR.-Spektrum (KBr) des Chlorids finden sich Banden bei $3,07 \mu$ (OH) und $6,23 \mu$ (Indolin); Vinylbanden fehlen. Mit Pyridin/Essigsäureanhydrid entsteht aus VIII die O-Acetylverbindung IX, die als Jodid kristallisiert. Das UV.-Spektrum des Jodids entspricht demjenigen von VIII; im IR.-Spektrum (KBr) findet sich die Bande der O-Acetylgruppe bei $5,78 \mu$ und die Indolinbande bei $6,23 \mu$. OH- und Vinylbanden fehlen.

Die Verbindung X zeigt dieselbe gegen Alkali unempfindliche UV.-Absorption wie VI. Das $N_{(a)}$ -Atom ist bedeutend weniger basisch als die entsprechende Gruppierung in der Verbindung VIII, ist doch zur annähernd vollständigen Protonisierung zum Indoliniumsalz ca. 7-n. Salzsäure nötig (Fig. 4).

Im IR.-Spektrum (KBr) des X-Chlorids fehlt die OH-Bande. Es finden sich Banden bei $6,09 \mu$ (schwach, $\nu_{(C=C)}$ der Vinylgruppe), bei $6,23 \mu$ (Indolin) und bei $11,05 \mu$ (Vinylgruppe). Letztere Bande ist deutlich längerwellig als die

¹⁵⁾ Vgl. ¹³⁾; Bildung und Verseifung des Methyläthers haben wir nur spektroskopisch nachgewiesen.

¹⁶⁾ KARL BERNAUER, E. BÄCHLI, H. SCHMID & P. KARRER, *Angew. Chem.* **69**, 59 (1957).

korrespondierende Bande der Verbindung VI (vgl. 14). Sowohl im IR.-Spektrum der Verbindung X wie in demjenigen der Verbindung VI finden sich noch Banden mittlerer Intensität bei $10,17\ \mu$ bzw. $10,18\ \mu$, die als CH-wagging-

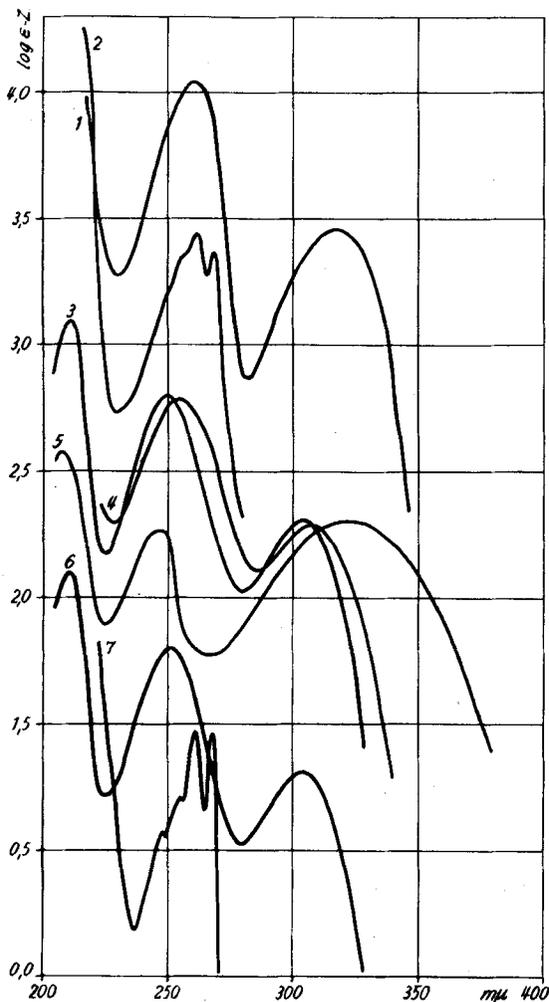


Fig. 4

Kurve Nr. 1: Tetrahydro- $N_{(a)}$ -methylfluorocurarinchlorid (VIII), $M = 360,9$, $c = 5,07 \cdot 10^{-5}$ in 95-proz. Äthanol, $Z = 0$.

2: VIII in 0,7-n. HCl (90-proz. Äthanol), $c = 4,41 \cdot 10^{-4}$, $Z = 0,62$.

3: Isodihydro- $N_{(a)}$ -methylfluorocurarinchlorid (VI), $M = 358,9$, $c = 1,034 \cdot 10^{-4}$ in 95-proz. Äthanol, $Z = 1,20$.

4: VI in 0,1-n. KOH (95-proz. Äthanol), $c = 9,31 \cdot 10^{-5}$, $Z = 1,20$.

5: VI in 5-n. HCl (48-proz. Äthanol) (= VIa), $c = 0,517 \cdot 10^{-4}$, $Z = 1,50$.

6: Desoxy-isodihydro- $N_{(a)}$ -methylfluorocurarinchlorid (X), $M = 342,9$, $c = 1,0 \cdot 10^{-4}$ in 95-proz. Äthanol, $Z = 2,2$.

7: X in 7,5-n. HCl (~ 25 -proz. Äthanol), $c = 2,46 \cdot 10^{-4}$, $Z = 1,1$.

Schwingung der Gruppierung $\text{CH}_2=\text{CH}-$ angesehen werden könnten. Die Frage, ob in den oben genannten Verbindungen eine vollständig oder nur teilweise substituierte Vinylgruppe vorliegt, muss zurzeit noch offen bleiben.

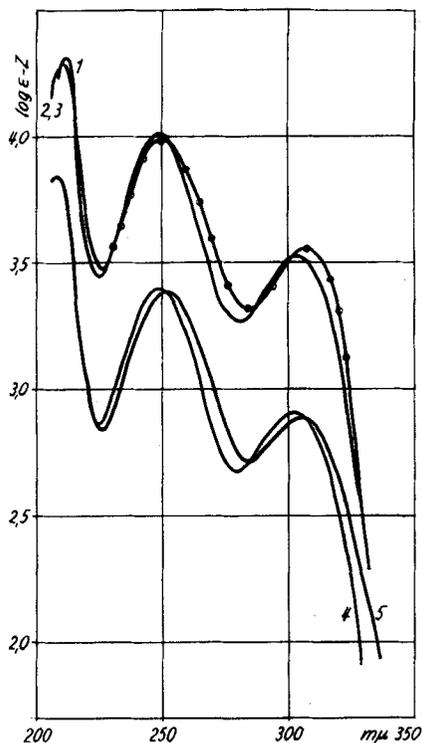


Fig. 5

- Kurve Nr. 1: Isodihydro- $N_{(a)}$ -methylfluorocurarinchlorid (VI) in abs. Methanol, $c = 0,95 \cdot 10^{-4}$ ($M = 358,9$), $Z = 0$.
 2: VI in abs. Methanol mit einer Spur HCl (\rightarrow VII) (siehe exp. Teil, $c = 0,95 \cdot 10^{-4}$, $Z = 0$.
 3: VII in 0,1-n. abs. methanolischer KOH, $c = 0,855 \cdot 10^{-4}$, $Z = 0$ ($-\ominus-\ominus-\ominus$).
 4: VII in 23-proz. Methanol/Wasser (\rightarrow VI), $c = 0,665 \cdot 10^{-4}$, $Z = 0,6$.
 5: Dsgl., 0,1-n. an KOH, $c = 0,604 \cdot 10^{-4}$, $Z = 0,6$.

Mit der nur in kleiner Menge zur Verfügung stehenden Verbindung X haben wir nach der früher angegebenen Methode¹⁰⁾ festgestellt, dass die Molekel nur *ein* basisches Stickstoffatom enthält. Das Chlorid lässt sich im Gegensatz zu I und II thermisch am $N_{(b)}$ -Atom glatt entmethylieren. Die Norverbindung XI destilliert im Hochvakuum bei 110–130° und ist kristallin. Im IR.-Spektrum der Norbase XI (CCl_4) fehlen OH- und NH-Banden. Es finden sich Banden bei 6,11 μ ($\nu_{\text{C}=\text{C}}$), 6,21 μ (Indolin) und 11,03 μ (Vinylgruppe). Eine schwache Bande liegt bei 10,08 μ . Nach Halbneutralisierung, Methylierung mittels Methyljodid und Umwandlung in die Chloride erhält man im Papierchromatogramm mit dem basischen Lösungsmittel D nur zwei, X und XI entsprechende Flecke.

Der Verbindung mit dem α -Methylenindolinchromophor kann auf Grund der den Substanzen VI, VIII und X zugewiesenen Strukturen nuremehr die Partialformel V mit disubstituierter β -Indolinstellung zukommen. Versuche, die Verbindung präparativ zu isolieren, schlugen fehl, da sie ausserordentlich leicht der säurekatalysierten Allylumlagerung unterliegt. Die Lösung, welche man nach der in alkalischem Medium durchgeführten Reduktion von II erhält, liefert mit Natriumpikrat eine schwerlösliche Verbindung, die sich aber nach dem Umlösen selbst bei Gegenwart von etwas Ammoniak im wesentlichen bereits als das Pikrat des Indolins VI erweist, wie aus seinem UV.-Spektrum hervorgeht (siehe experimenteller Teil). Auch das aus dem Pikrat durch Austausch an einer mit Natriumhydrogencarbonat gewaschenen Säule von Amberlite IRA 400 (Cl^\ominus -Form) gewonnene Chlorid gibt im Papierchromatogramm hauptsächlich nur den Fleck des VI-Chlorids. In dem neben dem Methylenindolin V bei der präparativ ausgeführten Reduktion von $\text{N}_{(a)}$ -Methylfluorocurarinchlorid (II) mit überschüssigem Natriumborhydrid ($\text{pH} > 9$) entstehenden Indolin liegt, wie aus dem UV.-Spektrum der Reduktionslösung hervorgeht, die Verbindung VIII vor (Fig. 2). Sie wird zu etwa 20% gebildet. Reduktionen der $\text{C}=\text{C}$ -Doppelbindung, z. B. mit Lithiumaluminiumhydrid, in den Systemen $-\overset{|}{\text{C}}=\overset{|}{\text{C}}-\text{N} <$ und $\text{Ar}-\overset{|}{\text{C}}=\overset{|}{\text{C}}-\text{CHO}$ sind schon einige Male beobachtet worden¹⁷⁾.

Schliesslich kann die Bildung des hydroxylfreien Indolins X so gedeutet werden, dass das beim Ansäuern der Reduktionslösung aus V durch Allylumlagerung entstandene Hydroxyindolin VI teilweise in das diquartäre Ion VIa übergeht, in welchem die Immoniumgruppierung von noch vorhandenem Natriumborhydrid in bekannter Weise reduziert wird. In Übereinstimmung damit gelingt es, VI mit Natriumborhydrid in saurer Lösung zu X zu reduzieren (siehe experimenteller Teil).

Für Fluorocurararin selbst ergibt sich zwangsläufig die Partialformel I. Diese Struktur lässt die langwellige Absorption des Alkaloids und ihre bathochrome Verschiebung auf Zusatz von Alkali ($\text{I} \rightarrow \text{Ia}$) verstehen. Hingewiesen sei ferner auf die Ähnlichkeit der UV.-Spektren von I bzw. II mit denjenigen von β -1-Anilinobut-1-en-3-on¹⁸⁾¹⁹⁾ und von Akuammicin²⁰⁾, für das kürzlich die Formel XII in Vorschlag gebracht wurde²¹⁾ (Fig. 1).

Im IR.-Spektrum⁹⁾ (KBr) zeigt Fluorocurararin (I) im Bereich 6,0 bis ca. 6,25 μ deutliche Doppelbindungsabsorption, wie für (chelierte) α, β -ungesättigte β -Aminoaldehyde erwartet werden kann²²⁾. Die Bande bei 3,54 μ (CaF_2 -

¹⁷⁾ N. G. GAYLORD, Reduction with Complex Metal Hydrides, S. 525ff., Interscience Publishers, New York 1956.

¹⁸⁾ K. BOWDEN, E. A. BRAUDE, H. R. J. JONES & B. C. I. WEEDON, J. chem. Soc. 1946, 45.

¹⁹⁾ Die Verbindung gibt im Gegensatz zu I aber nur eine geringe Alkaliverschiebung des Spektrums.

²⁰⁾ RAYMOND-HAMET, C. r. hebd. Séances Acad. Sci. 233, 560 (1951).

²¹⁾ K. AGHORAMURTHY & R. ROBINSON, Tetrahedron 1, 172 (1957).

²²⁾ Cf. N. H. CROMWELL, F. A. MILLER, A. R. JOHNSON, R. L. FRANK & D. J. WALLACE, J. Amer. chem. Soc. 71, 3337 (1949).

Prisma) könnte von der C—H-Valenzschwingung der Aldehydgruppe herühren. Im $N_{(a)}$ -Methylfluorocurarin (II) liegen die Doppelbindungsbanden bei 6,09 und 6,17 μ und die Aromatenbande bei 6,32 μ (KBr). Das Vorliegen einer Carbonylgruppe im Fluorocurarin (I) lässt sich ferner durch die Bereitung eines gegenüber Säure äusserst instabilen Oxims $C_{21}H_{26}ON_3^{\oplus}$ (IV) als kristallisiertes Chlorid belegen²³). Das UV.-Spektrum des Chlorids ist in Fig. 1 wiedergegeben. Im Infrarot (KBr) zeigt das Chlorid starke Absorption bei 6,08 μ (Methylenindolin-Doppelbindung und —C=N— des Oxims) und 6,29 μ (aromatisches System).

Bei der Acetylverbindung des Fluorocurarins (I) handelt es sich zweifellos um das $N_{(a)}$ -Acetylderivat III. Seine UV.-Absorption ist bedeutend kürzerwellig als diejenige von I und II (Fig. 3). Im IR.-Spektrum (KBr) des Chlorids finden sich zwei intensive, wenig getrennte Carbonylbanden des α,β -ungesättigten Aldehyds und des Systems $Ar \cdot N \cdot \overset{\overset{|}{\text{C}}}{\underset{\underset{|}{\text{COCH}_3}}{\text{C}}}$ bei 5,91 und 5,93 μ ²⁴). Die

α -Methylenindolin-Doppelbindungsbande findet sich bei 6,06 μ und die Aromatenbande bei 6,21 μ . Die Banden bei 3,475 μ und 3,62 μ (CaF_2 -Prisma) könnten von der C—H-Valenzschwingung der Aldehydgruppe stammen²⁵).

Die Partialformel I für Fluorocurarin wird durch einen Oxydationsversuch gestützt: in alkalischer Lösung reagiert das Alkaloid, d. h. Ia, mit Wasserstoffsperoxyd, wobei die langwellige Absorption verschwindet und die typische Absorption eines Oxindols auftritt. Bei einem Ansatz mit geringer Substanzmenge hat man das Reaktionsprodukt als Pikrat gefällt und in das Chlorid umgewandelt (Ausbeute ca. 60%). Dieses zeigt im IR. (KBr) intensive Oxindol-Absorption bei 5,85 μ ²⁶) und die Aromatenbande bei 6,15 μ ²⁶). Das Papierchromatogramm zeigt zur Hauptsache einen auf Kaliumjodoplatinat, aber nicht mit Cer(IV)-Sulfat⁵) ansprechenden Fleck, dessen UV.-Spektrum in Fig. 6 dargestellt ist. Die Absorptionsmaxima bei 253 und 282 $m\mu$ ²⁶) sowie die momentan eintretende reversible Rotverschiebung auf Alkalizusatz²⁷) sind charakteristisch für ein am N unsubstituiertes Oxindol. Die glatte Bildungsmöglichkeit eines das Oxindol-System enthaltenden Abbauproduktes aus I ist evident²⁸).

Das Fluorocurarinchlorid (I) zeichnet sich wie andere Alkaloide, denen eine α -Methylenindolinstruktur zugewiesen wird, durch eine sehr hohe Links-

²³) Die Umwandlung des Oxims soll noch ausführlich studiert werden.

²⁴) N-Acetyldoline haben die Carbonylbande bei 6,01 μ (cf. B. WITKOP & J. B. PATRICK, J. Amer. chem. Soc. **76**, 5603 (1954); F. E. BADER, E. SCHLITTLER & H. SCHWARZ, Helv. **36**, 1257 (1953)), N-Acetyldole bei 5,90 μ (cf. B. WITKOP & J. B. PATRICK, J. Amer. chem. Soc. **76**, 5603 (1954); C. VAMVACAS, W. V. PHILIPSBORN, E. SCHLITTLER, H. SCHMID & P. KARRER, Helv. **40**, 1794 (1957)). Vinylester absorbieren im Bereich von 5,65–5,75 μ .

²⁵) S. PINCHAS, Anal. Chemistry **29**, 334 (1957).

²⁶) Cf. E. WENKERT, K. BOSE & TH. L. REICH, J. Amer. chem. Soc. **75**, 5514 (1953); B. WITKOP & A. EGK, *ibid.* **73**, 5664 (1951).

²⁷) J. W. CORNFORTH, C. E. DALGLIESH & A. NEUBERGER, Biochem. J. **48**, 598 (1951).

²⁸) Versuche zur präparativen Isolierung des Oxindolabbauproduktes sind im Gange.

drehung aus: $[\alpha]_D = -930^\circ$. Zum Vergleich seien die spezifischen Drehungen einiger anderer Alkaloide aufgeführt, für die α -Methylenindolin-Struktur wahrscheinlich ist: Akuammicin, HCl²⁹⁾: -626° ; Echitamidin, HCl³⁰⁾: -473° ; Alkaloidchloride der Toxiferengruppe⁵⁾: ca. -600° .

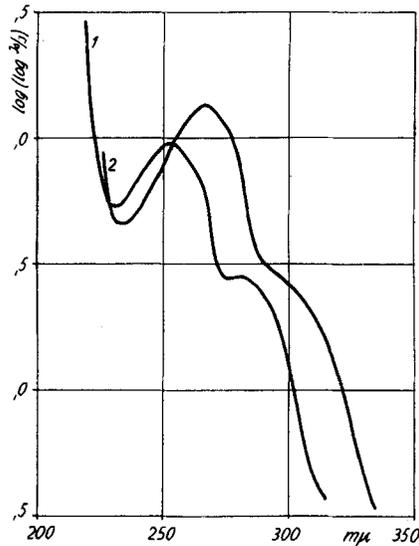
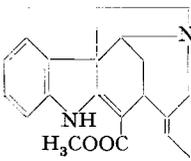


Fig. 6

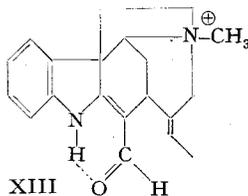
Kurve Nr. 1: Oxydationsprodukt des Fluorocurarinchlorids (H_2O_2/OH^\ominus) «Oxindol A» in 95-proz. Äthanol, qualitativ, ϵ nicht bekannt (siehe exp. Teil).

2: Dsogl. in 0,1-n. KOH (95-proz. Äthanol), quantitativ in bezug auf Kurve Nr. 1.

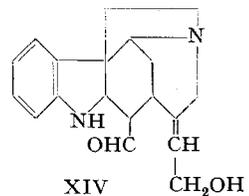
Es erscheint verlockend, die für Fluorocurararin abgeleitete Partialstruktur zu der auch biogenetisch plausiblen³¹⁾, aber noch hypothetischen Formel XIII³²⁾ auszuweiten. Diese würde im Einklang mit den aus Curarin³³⁾ und Calebassin³⁴⁾ aufgefundenen Dehydrierungsprodukten sowie der in diesen Alka-



XII



XIII



XIV

²⁹⁾ Cf. T. A. HENRY, *The Plant Alkaloids*, London 1949, S. 760.

³⁰⁾ *ibid.* ³⁰⁾, S. 720.

³¹⁾ R. B. WOODWARD, *Nature* **162**, 155 (1948); *Angew. Chem.* **68**, 13 (1956). Fluorocurararin könnte allerdings auch als Spaltprodukt der C_{40} -Alkaloide aufgefasst werden.

³²⁾ Sie setzt voraus, dass die oben erwähnte schwache Bande $10,17 \mu$ im IR.-Spektrum von VI und X nicht von einer $CH_2=CH$ -Gruppierung herrührt.

³³⁾ H. SCHMID, A. EBNÖTHER & P. KARRER, *Helv.* **33**, 1486 (1950).

³⁴⁾ H. WIELAND, B. WITKOP & K. BÄHR, *Liebigs Ann. Chem.* **558**, 144 (1947).

loiden nachgewiesenen β -Stellung³⁵⁾ der Äthylidenseitenkette zum N_(b)-Atom stehen. Fluorocurarin stünde dann, wie etwa das Akuammicin, in naher Beziehung zum WIELAND-GUMLICH-Aldehyd³⁶⁾ aus Strychnin, und Versuche, Fluorocurarin mit diesem Körper zu korrelieren, sind im Gange.

Dem Schweizerischen Nationalfonds zur Förderung der wissenschaftlichen Forschung danken wir herzlich für die Unterstützung dieser Arbeit.

Experimenteller Teil³⁷⁾

C-Fluorocurarinchlorid (I) wurde mehrmals aus Methanol/Äther umkristallisiert und zur Analyse 6 Std. bei 100° im Hochvakuum über P₂O₅ und KOH getrocknet.

C₂₀H₂₃ON₂Cl (342,9) Ber. CH₃(C) 4,38% Gef. CH₃(C) 3,78%

Farbreaktion mit Eisen(III)-chlorid in wässrigem Alkohol: grün.

Fluorocurarinjodid. Eine wässrige Lösung von Fluorocurarinchlorid versetzte man mit einem Überschuss von konzentrierter wässriger Natriumjodidlösung. Das amorphe Jodid wurde mit kaltem Wasser gewaschen, dreimal aus Methanol/Wasser umkristallisiert und zur Analyse 10 Std. im Hochvakuum bei 80° über P₂O₅ und KOH getrocknet.

C₂₀H₂₃ON₂J (434,2) Ber. C 55,33 H 5,34% Gef. C 55,14 H 5,41%

Fluorocurarinperchlorat. Das Perchlorat wurde aus der wässrigen Lösung des Chlorids mit Natriumperchloratlösung ausgefällt. Nach dem Waschen mit kaltem Wasser und dreimaligem Umkristallisieren aus Aceton/Wasser trocknete man 10 Std. bei 80° im Hochvakuum über P₂O₅ und KOH.

C₂₀H₂₃ON₂ · ClO₄ Ber. C 59,06 H 5,70 N 6,89%
Gef. „ 58,59 „ 6,04 „ 7,01%

Ozonisierung von Fluorocurarinchlorid (I). Durch eine Lösung von 21 mg Fluorocurarinchlorid in 3 ml 2-proz. wässriger Essigsäure wurde bei 0° innerhalb 30 Min. 1 l eines ca. 1-proz. Ozon/Sauerstoffgemisches geleitet. Hierauf entfernte man den Ozonüberschuss mittels Stickstoff bei 0° und erwärmte anschliessend auf 90–95°, wobei der überdestillierende Acetaldehyd in einer eisgekühlten 5-proz. Lösung von p-Nitrophenylhydrazin-hydrochlorid in Wasser aufgefangen wurde. Nach 40 Min. wurde der Niederschlag abfiltriert, mit kaltem Wasser gewaschen, getrocknet und im Hochvakuum bei 80–100°/0,02 Torr sublimiert. Das kristalline Sublimat hat man zweimal aus Alkohol/Wasser umkristallisiert: 2,6 mg Nadeln vom Smp. 123–125° (unkorr.); Misch-Smp. mit Acetaldehyd-p-nitrophenylhydrazon 123–126°. Bei der anschliessenden Erhöhung der Badtemperatur auf 120° konnte in dem überdestillierenden Wasser kein Formaldehyd gefunden werden.

Oxydation des Fluorocurarinchlorids mit Wasserstoffperoxyd. 10 mg Fluorocurarinchlorid löste man in 0,5 ml 0,01-n. NaOH und 0,1 ml 3-proz. Wasserstoffperoxyd. Da die Lauge rasch aufgebraucht wurde, wurden innerhalb von 1½ Std. noch 0,1 ml 1-n. NaOH in Anteilen zu 0,01 ml und 2 × 0,1 ml Wasserstoffperoxyd-Lösung zugesetzt. Hierauf war die anfangs gelbe Lösung völlig entfärbt und ein qualitatives UV.-Spektrum der Lösung zeigte keine Absorption bei 380 m μ . Nach dem Ansäuern auf pH = 5 versetzte man mit wässriger Pikrinsäurelösung im Überschuss, liess einige Std. bei 0° stehen, filtrierte, wusch das Pikrat 3mal mit kaltem Wasser und zerlegte es an Amberlite IRA 400 (Cl[⊖]Form). Das amorphe Chlorid (6,5 mg) zeigte nach scharfem Trocknen bei 60° im Hochvakuum im IR. (KBr) eine intensive Bande bei 5,85 μ . Die Hauptmenge des Chlorids chromatographierte man auf einem breiten WHATMAN-Papierstreifen mit dem Lösungsmittelgemisch

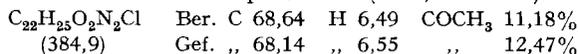
³⁵⁾ W. v. PHILIPSBORN, H. SCHMID & P. KARRER, *Helv.* **38**, 1067 (1955); K. BERNAUER, H. SCHMID & P. KARRER, *Helv.* **40**, 731 (1957).

³⁶⁾ H. WIELAND & W. GUMLICH, *Liebigs Ann. Chem.* **494**, 191 (1932); H. WIELAND & K. KAZIRO, *ibid.* **506**, 60 (1933).

³⁷⁾ Alle Smp. sind, falls nicht anders vermerkt, auf dem KOFLER-Block gemessen und korrigiert. – Alle Sublimationen bzw. Destillationen wurden im Kugelrohr ausgeführt. Es wurde dabei die Temperatur des Luftbades angegeben.

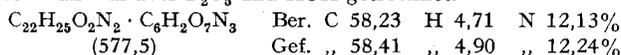
«C»³⁸⁾. Es wurden zwei aufeinanderfolgende Hauptzonen A und B ausgeschnitten und die Substanz mit Wasser eluiert. Die Lokalisierung der Flecken erfolgte mit Kaliumjodoplatinatlösung³⁹⁾. Die rascher laufende Substanz B gibt mit Cer(IV)-sulfatlösung eine gelbe Farbreaktion. UV.-Spektrum (in Wasser) λ_{\max} : 244; 283 m μ ; λ_{\min} : 228; 274 m μ ; in 0,1-n. Kaliumhydroxyd deutliche Rotverschiebung: λ_{\max} : 267 m μ . Inflexion bei ca. 295 m μ . Das UV.-Spektrum der Hauptsubstanz A, die keine Cer(IV)-sulfat-Reaktion zeigt, ist im theoretischen Teil angeführt.

*N*_(a)-Acetyl-fluorocurarinchlorid (III). 30 mg Fluorocurarinchlorid wurden mit 2 ml Pyridin und 3 ml Essigsäureanhydrid 48 Std. bei 20° stehengelassen. Nach einigen Std. hatte sich das Fluorocurarin gelöst, und das Acetat begann auszukristallisieren. Nach dem Verdampfen der Lösungsmittel kristallisierte man die Substanz zweimal aus Methanol/Äther um und trocknete zur Analyse 24 Std. bei 100° im Hochvakuum über P₂O₅ und KOH und wog im Schweinchen ein. Smp. 261–263° (Zers., Röhrchen).



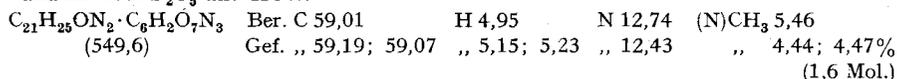
Farbreaktion mit Cer(IV)-sulfat in 2-n. H₂SO₄ auf Filterpapier: farblos, nach 1 Min. bläulichviolett. – R_{FC}-Wert⁴⁰⁾: 1,24. – UV.- und IR.-Spektrum siehe theoretischer Teil.

Zur Bereitung von *N*_(a)-Acetylfluorocurarinpikrat wurden 20 mg Chlorid in wenig Wasser gelöst, mit wässriger Natriumpikratlösung versetzt, das auskristallisierte Pikrat erschöpfend mit Wasser gewaschen und zweimal aus Aceton/Wasser umkristallisiert. Man erhielt 30 mg hellgelbe Nadeln vom Smp. 213–14°. Das Analysenpräparat wurde 24 Std. bei 100° im Hochvakuum über P₂O₅ und KOH getrocknet.

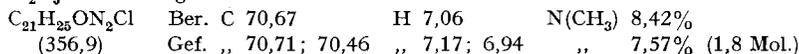


Acetylfluorocurarinchlorid wird durch verdünnte Lauge momentan verseift, wie aus der auftretenden Gelbfärbung ersichtlich ist.

*N*_(a)-Methylfluorocurarinchlorid (II). Die Lösung von 330 mg Fluorocurarinchlorid in 10 ml Wasser wurde innerhalb von 4 Std. mit insgesamt 12 ml 2-n. NaOH und 3,4 ml Dimethylsulfat in kleinen Anteilen abwechselnd versetzt und dabei intensiv geschüttelt. Die Lösung soll stets alkalisch sein. Das Ende der Reaktion zeigt sich dadurch an, dass eine Probe der neutralen Lösung mit Lauge keine Verstärkung der gelblichen Farbe zeigt. Jetzt hat man vorsichtig mit gesättigter Natriumpikratlösung versetzt, bis das Pikrat zu kristallisieren begann, hierauf einen Überschuss von Pikratlösung zugegeben und nach 12-stündigem Stehen im Eisschrank den orangefarbenen Niederschlag abgesaugt. Das Pikrat wurde mit Eiswasser gewaschen, getrocknet (498 mg) und dreimal aus Aceton/Wasser umkristallisiert (416 mg), Smp. 209–210°. Die Analysenprobe trocknete man 12 Std. bei 100° im Hochvakuum über P₂O₅ und KOH.



*N*_(a)-Methylfluorocurarinchlorid erhielt man in quantitativer Ausbeute durch Austausch des Pikrats an einer Säule von Amberlite IRA 400 (Cl[⊖]-Form) in wässrig-acetonischer Lösung. Nach zweimaligem Umkristallisieren aus Methanol/Äther wurden die blassgelben Kristalle vom Smp. 267° (Zers.) zur Analyse 12 Std. bei 100° im Hochvakuum über P₂O₅ und KOH getrocknet.



Farbreaktion⁴¹⁾ mit Cer(IV)-sulfat: blau (7,5 B^{5/6}) unbeständig, gelbe verblässend; nach 10 Min. 10,0 YR 7/10. – R_{FC}-Wert: 0,91. – UV.- und IR.-Spektren siehe theoretischen Teil.

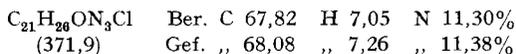
³⁸⁾ Methyläthylketon, wassergesättigt, mit 1% Methanol.

³⁹⁾ E. SCHLITTLER & J. HOHL, Helv. 35, 29 (1952).

⁴⁰⁾ Relativer Rf-Wert bezogen auf Fluorocurarin = 1,00; C-Gemisch, t = 18°.

⁴¹⁾ Farbwerte nach: MUNSELL, Book of Colour, MUNSELL COLOUR COMPANY INC., Baltimore (1929–1942).

$N_{(a)}$ -Methylfluorocurarinoxim-chlorid (IV). 25 mg Methylfluorocurarinchlorid (II) wurden mit 16 mg Hydroxylaminhydrochlorid und 1 ml Pyridin-Äthanol-Gemisch (1:1) 48 Std. bei 20° stehengelassen. Hierauf zeigte das Papierchromatogramm nur noch Spuren des Ausgangsmaterials. Aus der farblosen Lösung waren 8 mg weisse Kristalle ausgeschieden worden, die abgetrennt und nach dem Waschen mit kaltem Alkohol 12 Std. bei 100° im Hochvakuum über P_2O_5 und KOH getrocknet wurden. Smp. 258–260° (Zers., Röhrchen). Zur Analyse wurde im Schweinchen eingewogen.



Farbreaktion mit Cer(IV)-sulfat: Purpur 7,5 RP $\frac{5}{10}$, rasch über gelbrot nach grüngelb verbläsend. – UV.- und IR.-Spektren siehe theoretischer Teil.

Die von den Kristallen abgetrennte Reaktionslösung wurde im Vakuum eingedampft. Der Rückstand liess sich jedoch nicht kristallisieren.

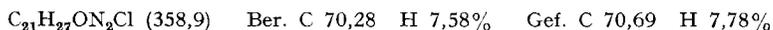
NaBH₄-Reduktion von Methylfluorocurarinchlorid (II). – a) *Mikro-Ansatz.* 1,01 mg Methylfluorocurarinchlorid wurden in 5 ml eines Phosphat-Puffers von pH = 8 (SÖRENSEN) gelöst und in Abständen von je 5 Min. sechsmal mit 0,1 ml NaBH₄-Lösung (50 mg NaBH₄ in 5 ml Methanol) versetzt. Die substanzfreie Blindlösung behandelte man auf die gleiche Art. Nach halbstündigem Stehen bei 20° war vollständige Entfärbung eingetreten. Die Lösungen wurden nach 10 Min. auf 40–50° erwärmt, mit Pufferlösung auf 25 ml aufgefüllt und am Spektrometer ausgemessen (UV.-Spektren siehe theoretischer Teil). Daraufhin hat man vorsichtig auf pH \approx 3 angesäuert und abermals gemessen.

b) *Präparativer Ansatz.* 300 mg Methylfluorocurarinchlorid II wurden in 15 ml Pufferlösung von pH = 8 gelöst und innerhalb von 2 Std. in kleinen Anteilen mit insgesamt 2 ml einer 5-proz. methanolischen NaBH₄-Lösung versetzt. Die auf –20° gekühlte Borhydridlösung hat man mehrfach frisch bereitet. Nach vollständiger Entfärbung wurde die Lösung noch 15 Min. auf 40–50° erwärmt, mit 2-n. HCl auf pH \approx 3,5 angesäuert und mit gesättigter wässriger Natriumpikratlösung versetzt. Das Pikrat kristallisierte aus und wurde nach Aufbewahrung der Lösung im Eisschrank über Nacht abgesaugt, mit kaltem Wasser gewaschen und getrocknet (406 mg). Weitere 120 mg Pikrat konnten durch Aufarbeitung der Mutterlauge und Waschflüssigkeiten gewonnen werden. Das gesamte Rohpikrat ergab nach der Zerlegung in das Chlorid an Amberlite IRA 400 290 mg Rohchloride. Diese chromatographierte man an 30 g Cellulosepulver (WHATMAN Standard Grade) mit dem Lösungsmittelgemisch «C».

Aus den Fraktionen 11–14 wurden 50 mg kristallisiertes Desoxy-isodihydro-methylfluorocurarinchlorid (X) gewonnen, das sich im Papierchromatogramm als einheitlich erwies.

Die Fraktionen 16–19 lieferten 102 mg kristallisiertes Isodihydro-methylfluorocurarinchlorid (VI), papierchromatographisch einheitlich, während 104 mg reines Tetrahydro-methylfluorocurarinchlorid (VIII) aus den Fraktionen 21–25 beim Anreiben mit Methanol/Äther erhalten werden konnten.

Isodihydro-methylfluorocurarinchlorid (VI) kristallisiert in Nadeln aus Methanol/Äther oder abs. Äthanol/Äther. Die Kristallisationen sind verlustreich infolge teilweiser Bildung des Äthers; die Chromatogramm-Ausbeute an reiner Verbindung betrug 34%. Zur Analyse wurde dreimal aus Äthanol/Äther umkristallisiert, 12 Std. bei 100° im Hochvakuum über P_2O_5 und KOH getrocknet und im Schweinchen eingewogen. Smp. 258 bis 259° (Zers., Röhrchen).



Farbreaktion mit Cer(IV)-sulfat in 2-n. H₂SO₄: lachsrot (10,0 R 6/10), nach 30 Min. gelb. – R_{FC}-Wert: 1,75. – UV.- und IR.-Spektren siehe theoretischer Teil.

Die Verbindung lässt sich mit Pyridin/Essigsäureanhydrid bei 40° nicht acetylieren.

Isodihydro-methylfluorocurarin-pikrat. 50 mg Chlorid löste man in wenig Wasser und fällte mit wässriger Natriumpikratlösung das Pikrat. Nach erschöpfendem Waschen mit kaltem Wasser wurde die Verbindung dreimal aus Aceton/Wasser umkristallisiert: 50 mg

filzige Nadeln vom Smp. 228–29° (Zers.). Zur Analyse trocknete man 7 Std. bei 100° im Hochvakuum über P_2O_5 in KOH.

$C_{21}H_{27}ON_2 \cdot C_6H_2O_7N_3$	Ber. C 58,80	H 5,30	N 12,69%
(551,5)	Gef. „ 59,04; 59,19	„ 5,18; 5,39	„ 12,93%

Ozonisierung von VI. Durch die Lösung von 30 mg Iso-dihydro-methylfluorocurarinchlorid (12 Std. im Hochvakuum bei 100° getrocknet) in 3 ml 2-proz. wässriger Essigsäure liess man in 1 Std. bei 0° ca. 3 l Ozon/Sauerstoffgemisch hindurchstreichen. Die Aufarbeitung erfolgte wie unter Fluorocurarin beschrieben. Nachdem aller Acetaldehyd abdestilliert war (30 Min.; → Phenylhydrazon A), erhitzte man auf 140–150° (Badtemperatur) und destillierte noch ca. 3 ml Wasser in eine Vorlage mit 1 ml einer gekühlten, 20-proz. wässrigen Lösung von p-Nitrophenylhydrazinhydrochlorid. Nach einigem Stehen setzte sich ein roter feinkristalliner Niederschlag ab, der abgeseugt, mit wenig kaltem Wasser gewaschen und getrocknet wurde (Phenylhydrazon B).

Identifizierung der beiden Phenylhydrazone. Man erhielt nach Sublimation des Phenylhydrazons A 4,7 mg Kristalle, die nach Umkristallisation aus Alkohol/Wasser den Smp. 127–128° zeigten; Misch-Smp. mit Acetaldehyd-p-nitrophenylhydrazon (Smp. 128°) ohne Depression.

Das Phenylhydrazon B gab nach der Sublimation im Hochvakuum 2,2 mg Kristalle, die nach Umkristallisation aus Alkohol/Wasser und daraufhin aus Methylenchlorid/Petroläther den Smp. 178–180° zeigten. Die Kristalle lagerten sich vorher bei 150° in Prismen um und gaben keine Smp.-Depression mit Formaldehyd-p-nitrophenylhydrazon (Smp. 178–180°).

Eine Ozonisierung des N-Methylfluorocurarins unter gleichen Bedingungen gab nur Acetaldehyd, aber keine Spur von Formaldehyd.

Spektroskopischer Nachweis des Methyläthers VII der Verbindung VI. In einem 25 ml Messkolben bereitete man eine $2,85 \cdot 10^{-4}$ -m. Lösung von VI in absolutem Methanol. Diese Stammlösung wurde wie folgt behandelt und gegen eine analog zusammengesetzte Blindlösung ausgemessen (siehe Fig. 5 im theoretischen Teil):

- 1,02 ml Stammlösung + 2,04 ml Methanol Kurve Nr. 1
- 23,98 ml der Stammlösung wurden mit 0,04 ml 0,1-n. HCl versetzt und 1 Std. stehengelassen,
- 1,02 ml der Lösung b + 2,04 ml Methanol Kurve Nr. 2
- Lösung c + 0,34 ml 1-n. abs. methanolische KOH Kurve Nr. 3
- 0,7 ml der Lösung b + 2,3 ml Wasser Kurve Nr. 4
- Lösung e + 0,3 ml 1-n. abs. methanolische KOH Kurve Nr. 5

Der unter b) gebildete Methyläther VII absorbiert 3 μ langwelliger als VI (langwelliges Maximum). Er zeigt keine Alkaliverschiebung. Nach der Hydrolyse unter e) tritt bei Alkalizusatz die gleiche Verschiebung des langwelligigen Maximums um + 4 μ auf, wie sie VI in 25-proz. wässrigem Methanol zeigt (0,1-n. KOH).

Tetrahydro-N_(a)-methylfluorocurarinchlorid (VIII). Die Ausbeute an dieser Substanz betrug 35% bzw. auf die Rohchloride vor der Chromatographie. 104 mg Chlorid hat man noch zweimal aus Methanol/Äther (oder abs. Äthanol) umkristallisiert und erhielt so 93 mg derbe Kristalle. Zur Analyse musste 24 Std. im Hochvakuum bei 100° über P_2O_5 in KOH getrocknet und im Schweinchen eingewogen werden (bei weniger energischem Trocknen wurden zu tiefe C- und zu hohe H-Werte gefunden). Smp. 283–285° (Zers., Röhrchen).

$C_{21}H_{29}ON_2Cl$ (360,9)	Ber. C 69,88	H 8,16%	Gef. C 69,29	H 8,10%
------------------------------	--------------	---------	--------------	---------

Farbreaktion mit Cer(IV)-sulfat: lachsrot (10,0 R 6/10) beständig, nach 2 Std. noch rot. – UV.- und IR.-Spektren siehe theoretischer Teil. – R_{FC} -Wert: 1,20.

Tetrahydro-N_(a)-methylfluorocurarinjodid. Eine Lösung von 15,5 mg Chlorid in wenig Wasser fällte man mit einer wässrigen Kaliumjodidlösung. Der kristalline Niederschlag wurde mit eiskaltem Wasser gewaschen und zweimal aus Aceton/Wasser umkristallisiert; 15 mg derbe farblose Kristalle vom Smp. 256–259°. Zur Analyse trocknete man 12 Std. bei 100° im Hochvakuum über P_2O_5 und KOH.

$C_{21}H_{29}ON_2J$ (452,4)	Ber. C 55,75	H 6,46%	Gef. C 56,10	H 6,72%
-----------------------------	--------------	---------	--------------	---------

O-Acetyl-tetrahydro-N_(a)-methylfluorocurarinjodid (IX). 20 mg VIII-Chlorid wurden mit 0,6 ml Pyridin und 1,2 ml Essigsäureanhydrid in einem Röhrchen eingeschmolzen und 2 Tage bei 40° stehengelassen. Nach 12 Std. war alle Substanz gelöst. Da das Chlorid nach dem Verdampfen der Lösungsmittel nicht kristallisierbar war, chromatographierte man die Substanz an ca. 8 g Cellulosepulver WHATMAN mit dem Gemisch «C». Die Hauptfraktionen (lachsrote Cer(IV)-sulfat-Reaktion) enthielten 18 mg einer papierchromatographisch einheitlichen Substanz mit grösserem R_f-Wert als VIII, die nach der Überführung in das Jodid aus Aceton/Wasser in farblosen Prismen kristallisierte. Zur Analyse wurde zweimal umkristallisiert (Smp. 257–259°) und 12 Std. im Hochvakuum bei 100° über P₂O₅ und KOH getrocknet.

C₂₃H₃₁O₂N₂J (494,4) Ber. C 55,87 H 6,32% Gef. C 55,99 H 6,40%

UV.- und IR.-Spektren siehe theoretischer Teil. – Farbreaktion mit Cer(IV)-sulfat: lachsrot (10,0 R 6/10) beständig. – R_{FC}-Wert des Chlorids: 1,90.

Desoxy-isodihydro-N_(a)-methylfluorocurarinchlorid (X) wurde in 17% Ausbeute aus den Rohchloriden isoliert (s. o.). Zweimalige Umkristallisation aus Methanol/Äther lieferte 40 mg farblose Kristalle. Zur Analyse hat man eine Probe 12 Std. bei 100° im Hochvakuum über P₂O₅ und KOH getrocknet und im Schweinchen eingewogen.

C₂₁H₂₇N₂Cl (342,9) Ber. C 73,56 H 7,94% Gef. C 73,70 H 8,20%

Farbreaktion mit Cer(IV)-sulfat: hellrot (7,5 R 6/10) beständig, nach 2 Std. bräunlichgelb. – UV.- und IR.-Spektren siehe theoretischer Teil. – R_{FC}-Wert: 2,10.

Desoxy-isodihydro-N_(a)-methylfluorocurarin-pikrat. 27 mg X-Chlorid verwandelte man auf üblichem Wege in das Pikrat, das zweimal aus Aceton/Wasser umkristallisiert orangefarbene Plättchen vom Smp. 203–204° lieferte. Zur Analyse trocknete man die fein verriebenen Kristalle 20 Std. bei 100° im Hochvakuum über P₂O₅ und KOH.

C₂₁H₂₇N₂ · C₈H₂O₇N₃ Ber. C 60,55 H 5,46 N 13,08%
(535,5) Gef. „ 60,47 „ 5,70 „ 12,71%

Nor-desoxy-isodihydro-N_(a)-methylfluorocurarin (XI). 9 mg des Chlorids X wurden auf zwei Kugelrohre als gleichmässiger Lack verteilt und durch rasches Eintauchen in ein auf 220° vorgeheiztes Metallbad im Hochvakuum (p < 10⁻³ Torr) dequaternisiert. Man erhielt 8 mg eines beim Anreiben mit Äther kristallisierenden zähen Öls. Dieses wurde nochmals aus einem Kugelrohr bei 110–130° im Hochvakuum destilliert. IR.-Spektrum siehe theoretischer Teil. Im UV. typische Indolinabsorption.

5,33 mg frisch destillierte Norbase wurden sodann in 1,5 ml Methanol + 0,2 ml Wasser gelöst und mit 0,091 ml 0,1-n. HCl versetzt. Man dampfte im Exsikkator über P₂O₅ zur Trockene, löste den Rückstand in wenig Methanol und 2 ml Methyljodid und liess 24 Std. bei 20° stehen. Nach dem Verdampfen der Lösungsmittel und Austausch des Jod-Ions gegen Chlor-Ion an Amberlite IRA 400 (wässrig-acetonische Lösung) wurde das Gemisch auf Papierstreifen mit D-Gemisch⁴²⁾ chromatographiert. Man erhielt nur 2 Flecken gleicher Intensität. Die langsamer laufende Substanz wurde durch Vergleichschromatogramm als X-Chlorid identifiziert. Die zweite, fast an der Lösungsmittelfront laufende Substanz erwies sich als Norbase XI. Das alkalische Lösungsmittel D setzt aus den Hydrochloriden die Basen frei.

NaBH₄-Reduktion von VI. 3 mg VI wurden in 0,2 ml Wasser gelöst, mit einem grossen Überschuss an Natriumborhydrid versetzt und die Lösung langsam mit 1-n. Salzsäure auf pH 2 gebracht. Dann fällte man bei pH 6 mit Natriumpikratlösung das Pikrat aus, welches mit Wasser gewaschen und an Amberlite IRA 400 in das Chlorid umgewandelt wurde. Dieses erwies sich auf dem Papierchromatogramm (C-Gemisch) und nach der Farb- und Verblässungsreaktion im wesentlichen identisch mit der Verbindung X.

Versuch zur Isolierung des Methylenindolins V. 40 mg Methylfluorocurarinchlorid (II) wurden in 2 ml Puffer pH = 8 gelöst und innerhalb von 45 Min. in kleinen Anteilen mit 0,5 ml einer 2,5-proz. methanolischen Natriumborhydridlösung versetzt. Dann erwärmte man 15 Min. auf 30–40° und nahm von einer Probe dieser Reduktionslösung das UV.-Spektrum auf (Fig. 2). Darauf wurde mit 0,03 ml Aceton versetzt, 15 Min. stehengelassen

⁴²⁾ Essigester: Pyridin: Wasser = 7,5:2,3:1,65.

und mit Natriumpikratlösung gefällt. Das ölige Pikrat kristallisierte über Nacht im Eisschränk, wurde dann abgetrennt, mit schwach ammoniakalischem Wasser gewaschen und getrocknet (53 mg). Es zeigte nach zweimaligem Umkristallisieren aus Aceton/Wasser (+ einer Spur NH_3) den unscharfen Smp. 190–192°.

Das quantitative Differenzspektrum von diesem Pikrat und Tetramethylammoniumpikrat in abs. Methanol ergab ein typisches Indolinspektrum: λ max: 252 $\text{m}\mu$ ($\log \epsilon = 3,94$); 308 $\text{m}\mu$ ($\log \epsilon = 3,52$); λ min: 227 $\text{m}\mu$ ($\log \epsilon = 3,33$); 283 $\text{m}\mu$ ($\log \epsilon = 3,27$).

Eine Probe des Pikrats wurde am Amberlite IRA 400 (Cl^\ominus Form, mit verd. NaHCO_3 -Lösung gewaschen) in das Chlorid umgewandelt (Aceton/Wasser). Im Papierchromatogramm (C-Gemisch) beobachtete man im wesentlichen einen Fleck, der auf Grund des Rf-Wertes und der Farb- und Verblässungsreaktion der Verbindung VI entsprach.

Zusammenfassung

Das Calebassen-Alkaloid C-Fluorocurarin (C-Curarin III), welches auch als Spaltprodukt des C-Curarins I und des C-Calebassins bekannt ist, wurde in bezug auf seine Konstitution eingehend untersucht. Es erwies sich als ein α, β -ungesättigter Aldehyd, dessen Aldehydgruppe an ein α -Methylen-indolin-System angeschlossen ist und mit diesem die chromophore Gruppe bildet. Eine für C-Fluorocurarin wahrscheinliche Konstitutionsformel wird vorgeschlagen und diskutiert.

Zürich, Chemisches Institut der Universität

139. Synthese hochwirksamer Dekapeptide mit der Aminosäuresequenz des Val⁵-Hypertensins I (L-Asparagyl-L-arginyl-L-valyl-L-tyrosyl-L-valyl-L-histidyl-L-prolyl-L-phenylalanyl-L-histidyl-L-leucin und L-Asparaginyll-L-arginyl-L-valyl-L-tyrosyl-L-valyl-L-histidyl-L-prolyl-L-phenylalanyl-L-histidyl-L-leucin)

von **R. Schwyzer, B. Iselin, H. Kappeler, B. Riniker,
W. Rittel und H. Zuber**

(6. VI. 58)

Aus Rinderserum, welches mit Kaninchenrenin behandelt worden war, konnte PEART ein Polypeptid isolieren, welches an der mit Urethan narkotisierten und mit Pentapyrrolidinium-tartrat behandelten Ratte stark und kurzdauernd den Blutdruck erhöht¹⁾. Die Verbindung ist nach den vortrefflichen Untersuchungen von ELLIOTT & PEART²⁾ ein Dekapeptid mit der Aminosäuresequenz H · Asp-Arg-Val-Tyr-Val-His-Pro-Phe-His-Leu · OH (L_{10}). Sie unterscheidet sich vom Hypertensin I aus Pferdeserum³⁾ dadurch, dass an 5. Stelle (vom Aminende gezählt) der Aminosäurerest des Valins anstelle des Isoleucinrestes eingebaut ist.

¹⁾ W. S. PEART, *Biochem. J.* **59**, 300 (1955); **62**, 520 (1956).

²⁾ D. F. ELLIOTT & W. S. PEART, *Nature* **177**, 528 (1956).

³⁾ L. T. SKEGGS, K. E. LENTZ, J. R. KAHN, N. P. SHUMWAY & K. R. WOODS, *J. exper. Med.* **104**, 193 (1956).