

SUMMARY

Dab¹-Dab⁹-bradykinin (Dab-Pro-Pro-Gly-Phe-Ser-Pro-Phe-Dab) has been prepared by a new procedure which differs from known syntheses of bradykinin. Against carboxypeptidase and chymotrypsin this synthetic analogue of bradykinin behaves in a way similar to that of the natural hormone, but it does not exhibit any pharmacological activity on the isolated rat uterus.

Chemische Forschungsabteilung der
F. HOFFMANN-LA ROCHE & Co. AG., Basel

185. Über die Alkaloide von *Pleiocarpa mutica* BENTH.

1. Mitteilung

von **W. G. Kump** und **H. Schmid**

(5. VII. 61)

Das Genus *Pleiocarpa* gehört der Subtribus *Pleiocarpinae* der Familie der Apocynaceen an. Zur selben Subtribus gehören *Picalima nitida* (STAFF) TH. et H. DURAND und das Genus *Hunteria* ROXB. Nach RAYMOND-HAMET¹⁾ enthalten die Wurzeln von *Pleiocarpa tubicina* STAFF Alkaloide; ein wässriger Extrakt dieses Pflanzenmaterials besitzt hypotensive Aktivität. DOUGLAS & KIANG²⁾ berichten, dass Blätter und Samen der mit *P. tubicina* taxonomisch sehr nahe verwandten *P. mutica* BENTH. Alkaloide enthalten. Dasselbe gilt für die Wurzeln dieser Pflanze: Nach TSAO *et al.*³⁾ zeigen wässrige und besonders Essigester-Extrakte des Wurzelmaterials deutliche blutdrucksenkende Aktivität. Über die Isolierung von reinen *Pleiocarpa*-Alkaloiden wurde in der Literatur noch nichts berichtet.

Für unsere eigenen Untersuchungen standen uns Wurzeln von *P. mutica* BENTH., die aus dem Gebiet des ehemaligen belgischen Kongo stammten, zur Verfügung. Das Pflanzenmaterial wurde mit 90-proz., essigsäurehaltigem Methanol ausgezogen und anschliessend der Extrakt in der im experimentellen Teil näher beschriebenen Weise in einen «Neutralteil», eine Fraktion schwacher Basen, eine Fraktion starker Basen, und in Form der Reineckate in eine Fraktion quartärer Basen aufgeteilt. Die «Neutralfraktion» war gewichtsmässig am bedeutendsten; sie enthielt neben Neutralstoffen einen essentiellen Teil der in der Droge vorkommenden Alkaloide. Näher untersucht wurden bisher die «Neutralfraktion» und die Fraktion der «Schwachen Basen». Durch Adsorptionschromatographie an Aluminiumoxyd und an Kieselgel und, wo notwendig, fraktionierte Kristallisation der Pikrate gelang es, acht Alkaloide in reiner Form zu isolieren. Ihre Namen, Bruttoformeln und wichtigsten Eigenschaften sind in den Tabellen 1, 2 und 3 aufgeführt.

¹⁾ M. RAYMOND-HAMET, C. r. hebdom. Séances Acad. Sci. 244, 2991 (1957).

²⁾ A. K. KIANG & B. DOUGLAS, Malayan Pharm. Journ. 6, 138 (1957).

³⁾ D. P. N. TSAO, J. A. ROSECRANS, J. J. DE FEO & H. W. YOUNGKEN, Economy Botany 15, 99 (1961).

Tabelle 1. *Eigenschaften der Alkaloide aus Pleiocarpa mutica BENTH.*

Alkaloid	Bruttoformel	Smp.	$[\alpha]_D$ (in CHCl_3)
Pleiocarpin	$\text{C}_{23}\text{H}_{28}\text{O}_4\text{N}_2$	141–142°	$-145^\circ \pm 3^\circ$
Pleiocarpinin	$\text{C}_{22}\text{H}_{26}\text{O}_2\text{N}_2$	135–136°	$-124^\circ \pm 2^\circ$
Kopsinin	$\text{C}_{21}\text{H}_{26}\text{O}_2\text{N}_2$	105°	$-69^\circ \pm 3^\circ$
Eburnamenin	$\text{C}_{19}\text{H}_{22}\text{N}_2$	amorph	?
Pleiomutin	$\text{C}_{42-43}\text{H}_{52-56}\text{O}_2\text{N}_4$	amorph	$-97^\circ \pm 5^\circ$
Pleiomutinin	$\text{C}_{40}\text{H}_{46-48}\text{O}_2\text{N}_4$	$> 220^\circ$?
Pleiocarpamin	$\text{C}_{21}\text{H}_{24}\text{O}_2\text{N}_2$	159°	$+123^\circ \pm 4^\circ$
Pleiocarpinidin . . .	?	154–156°	?

Tabelle 2. *Eigenschaften einiger Derivate der Alkaloide aus Pleiocarpa mutica BENTH.*

Alkaloid	Smp. des		
	Pikrats	Styphnats	Methodids
Pleiocarpin	157–159°		235–236°
Pleiocarpinin	222–223°	205–207°	295–298°
Kopsinin	213–215°		265°
Eburnamenin	189°		259–260°
Pleiomutin	$> 230^\circ$	$> 230^\circ$	
Pleiomutinin			
Pleiocarpamin			265–270°

Tabelle 3. *R_{PI}-Werte und Farbreaktionen der Alkaloide aus Pl. mutica*)*

Alkaloid	R _{PI} -Wert	Farbreaktion mit	
		Cer(IV)-sulfat	Zimtaldehyd-HCl
Pleiocarpin	1,00	nil**)	nil
Pleiocarpinin	0,69	rot (10.0RP5/10)	nil
Kopsinin	0,62	orange (2.5YR7/10)	gelb (5.0Y8/8)
Eburnamenin	0,90	gelb (2.5Y8/6)	nil
Pleiomutin	0,37	rosa (2.5R7/6)	nil
Pleiomutinin	0,17	violett (10.0P4/10)	violett (5.0P4/8)
Pleiocarpamin	0,48	gelb (2.5Y8/6)	nil
Pleiocarpinidin . . .	0,46	gelb (2.5Y8/6)	nil

*) Die Dünnschichtchromatogramme wurden an Kieselgel G (MERCK) mit Chloroform, das 7 % Methanol enthielt, als Laufmittel, bei 18° ausgeführt.

$$\text{R}_{\text{PI}}\text{-Wert} = \frac{\text{Laufstrecke des Alkaloids}}{\text{Laufstrecke des Pleiocarpins}}$$

Die Farbreaktion hat man durch Besprühen der Dünnschichtplatten mit dem Reagens erzeugt. In Klammern sind die Farbindices nach dem MUNSSELL-System angeführt.

**) Auf der Tüpfelplatte gibt eine konzentriert schwefelsaure Lösung des Pleiocarpins mit Cer(IV)-sulfat eine intensive violette Färbung, die im Verlauf einer halben Stunde nach gelb verblasst.

Das Hauptalkaloid ist das bei 141–142° schmelzende *Pleiocarpin* (I), das bisher in der Literatur noch nicht beschrieben worden ist. Hingegen wurde das Alkaloid bereits von den Herren Drs. E. SEEBECK und D. STAUFFACHER (Basel) aus *Pl.*

tubicina isoliert. Ferner liess uns Herr Dr. A. R. BATTERSBY (Univ. Bristol) wissen, dass er unabhängig von uns dasselbe Alkaloid aus *Pl. mutica* gewonnen und charakterisiert hat⁴⁾. Die Molekularformel $C_{23}H_{28}O_4N_2$ wird durch die Analysen und Eigenschaften des Alkaloids und einer grösseren Zahl seiner Derivate sowie durch eine Äquivalentgewichtsbestimmung gestützt. Auch die Ermittlung der Protonenzahl durch ein NMR-Spektrum steht damit in Übereinstimmung. Die Substanz enthält keine N-Methyl- und C-Methyl-Gruppen (HERZIG-MEYER; KUHN-ROTH; NMR-Spektrum) sowie keine aktiven H-Atome (ZEREWITINOFF, IR.-Spektrum). Die 4 Sauerstoffe liegen in 2 Carbomethoxygruppen vor (ZEISEL, Carbonylbanden im IR. bei 5,74 und 5,87 μ (CCl_4)). Von den beiden Stickstoffatomen ist eines basisch ($pK_{MCS}^* = 6,19$; Bildung eines

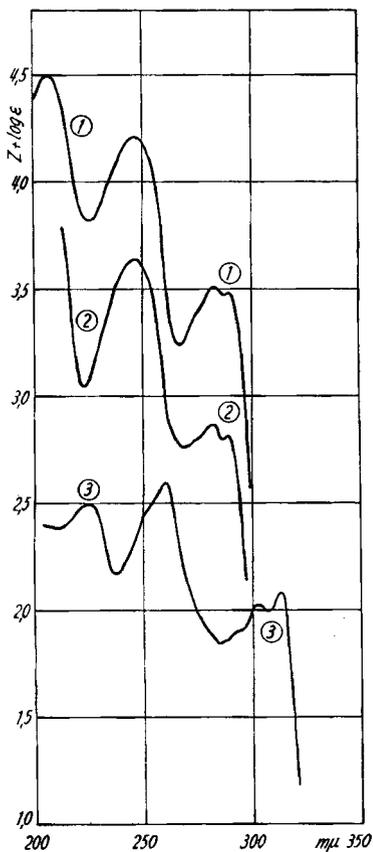


Fig. 1. UV.-Absorptionsspektren in 96-proz. Alkohol

Kurve 1: Pleiocarpin (I) $z = 0$
 Kurve 2: N-Carbäthoxy-hexahydrocarbazol $z = -0,5$
 Kurve 3: Eburnamenin (VI) $z = -1,9$

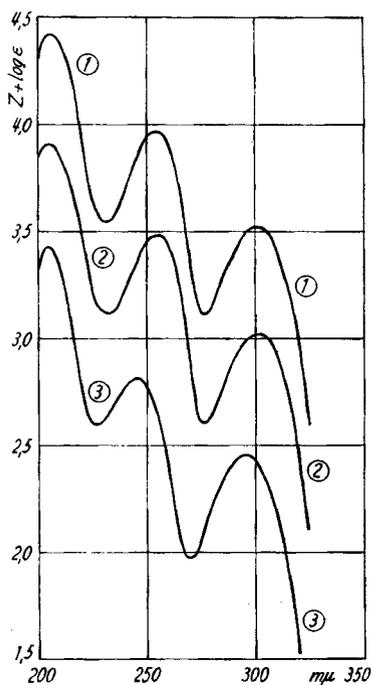


Fig. 2. UV.-Absorptionsspektren in 96-proz. Alkohol

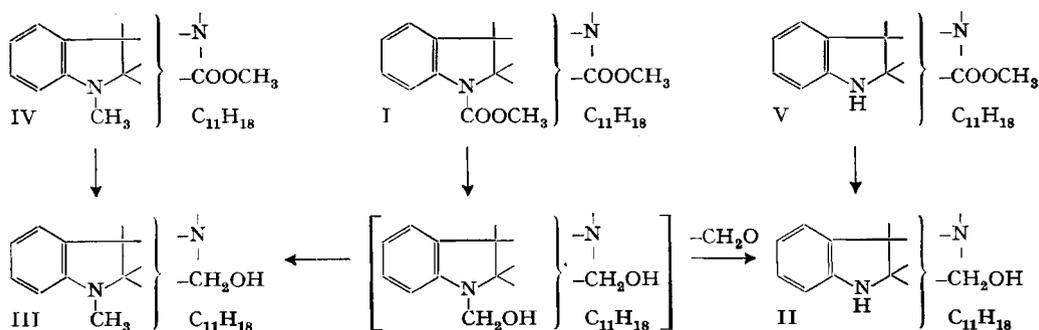
Kurve 1: Pleiocarpinin (IV) $z = 0$
 Kurve 2: N-Methyl-kopsinylalkohol (III) $z = -0,5$
 Kurve 3: Kopsinin (V) $z = -1,0$

⁴⁾ Die detaillierte chemische Untersuchung des Alkaloids wird gemeinsam von den Arbeitsgruppen in Zürich und Bristol vorgenommen werden.

kristallisierten Hydrochlorids und eines Pikrates) und tertiär (Bildung eines Monojodmethylats $C_{24}H_{31}O_4N_2J$). Das zweite, nicht basische Stickstoffatom liegt in einer N-Carbomethoxy-hexahydrocarbazol- oder einer äquivalenten Gruppierung vor. Pleiocarpin besitzt nämlich ein dem N-Carbäthoxy-hexahydrocarbazol⁵⁾ sehr ähnliches UV.-Spektrum (Fig. 1); die IR.-Carbonylbande der Modellverbindung liegt wie die längerwellige CO-Bande des Pleiocarpins bei $5,87 \mu$.

Bei der erschöpfenden katalytischen Hydrierung mit einem starken Überschuss an Platinoxid (HERAEUS) in 2N Schwefelsäure nahm Pleiocarpin 3,1 Mol. Wasserstoff auf. Das Alkaloid enthält somit ausser einem aromatischen Kern 5 weitere Ringe, aber keine Doppelbindungen.

Lithiumaluminiumhydrid-Reduktion von Pleiocarpin in siedendem Äther gibt ein N-Methyl-freies Produkt II, $C_{20}H_{26}ON_2$, vom Smp. $159-160^\circ$ mit einer für am N unsubstituierte Indoline charakteristischen gelborangen Cer(IV)-sulfat-Reaktion, und eine N-Methyl-haltige Verbindung III vom Smp. $136-137^\circ$, $C_{21}H_{28}ON_2$, mit Indolin-chromophor (Fig. 2) und einer für N-alkylierte Indoline typischen roten Cer(IV)-sulfat-Reaktion. Die Verbindung III wurde noch durch das kristallisierte Pikrat und die bei $124-125^\circ$ schmelzende O-Acetyl-Verbindung charakterisiert. Beide Stoffe sind methoxylfrei. Zwischenprodukt bei dieser Reduktion ist eine auch dünn-schicht-chromatographisch nachgewiesene N-Methylolverbindung: durch Säurehydrolyse des rohen Hydrierungsproduktes wird nämlich Formaldehyd abgespalten, der als p-Nitrophenylhydrazon nachgewiesen wurde. Der Abbau bestätigt die aus IR.- und UV.-Spektren gezogenen Schlüsse.

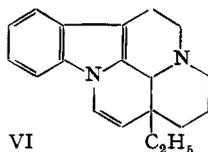


Das tertiäre *Pleioarpinin* (IV) enthält eine Carbomethoxygruppe, die auf Grund des UV.-Spektrums (Indolin mit Maxima bei $206, 254$ und $300 m\mu$ (Fig. 2)) und des IR.-Spektrums (CO-Bande bei $5,78 \mu$) nicht am N_(a) haften kann. Die im Alkaloid vorhandene N-Methylgruppe ist am N_(a) gebunden, da das Alkaloid im IR. keine NH-Bande und die für N_(a)-alkylierte Indoline charakteristische rote Cer(IV)-sulfat-Reaktion zeigt. Durch Reduktion mit Lithiumaluminiumhydrid entsteht die Verbindung III, die, wie erwähnt, durch Lithiumaluminiumhydrid-Reduktion von Pleiocarpin (I) erhalten wird. Der einzige Unterschied zwischen Pleiocarpin (I) und Pleiocarpinin (IV) besteht somit darin, dass die in I am N_(a) haftende Carbomethoxygruppe in IV durch einen Methylrest ersetzt ist. Diese Änderung ist offensichtlich verantwortlich für die grössere Basizität ($pK_{MCS}^* = 6,94$) von Pleiocarpinin.

⁵⁾ Siehe experimentellen Teil.

Ein weiteres tertiäres Alkaloid (V) besitzt die Summenformel $C_{21}H_{26}O_2N_2$. Es enthält eine Carbomethoxygruppe (IR.-Bande bei $5,78 \mu$) und keinen (N)- CH_3 -Rest. Der relativ kurzwellige Indolinchromophor (UV.-Maxima bei 205, 246 und $295 m\mu$ (Fig. 2)), eine IR.-Bande bei $3,0 \mu$ und eine für am $N_{(a)}$ unsubstituierte Indoline charakteristische orange Cer(IV)-sulfat-Reaktion sprechen dafür, dass es sich bei dem Alkaloid um ein am $N_{(a)}$ unsubstituiertes Indolin handelt. Reduktion mit Lithiumaluminiumhydrid führt zum Alkohol II. Damit sind Pleiocarpin, Pleiocarpinin und das Alkaloid V in eindeutiger Weise miteinander verknüpft. Die physikalischen Konstanten des Alkaloids V machten seine Identität mit dem von CROW & MICHAEL⁶⁾ aus *Kopsia longiflora* MERR. (*Apocynaceae*) isolierten *Kopsinin* wahrscheinlich. Auf Grund der Mischschmelzpunkte und identischer IR.-Spektren von authentischem Kopsinin mit V, bzw. von dem durch CROW bereiteten Kopsinylalkohol mit II, ist die Identität von V mit Kopsinin bewiesen. Die oben angegebenen strukturellen Eigenschaften von Kopsinin wurden auch von Herrn Dr. W. D. CROW abgeleitet⁷⁾.

In kleiner Menge haben wir als kristallisiertes Pikrat ein weiteres Alkaloid isolieren können. Die Verbindung ist als Base amorph, liefert aber ein kristallisiertes Jodmethylat. Aus den Analysen des Pikrates und des Jodmethylates lässt sich für die freie Base die Summenformel $C_{19}H_{22}N_2$ ableiten. Das Alkaloid erwies sich auf Grund des UV.-Spektrums (Fig. 1), des Mischschmelzpunkts der Pikrate und identischer IR.-Spektren der freien Basen und der Methiodide als identisch mit *Eburnamenin* (VI)⁸⁾ aus der Rinde von *Hunteria eburnea* PICH. (*Apocynaceae*).



Hunteria gehört ebenfalls der Subtribus *Pleiocarpinae* an. Die nahe Verwandtschaft von *Pl. mutica* und *Hunteria eburnea* kommt auch darin zum Ausdruck, dass es uns gelang, aus bestimmten Fraktionen eines Extraktes von *Hunteria eburnea* Pleiocarpin (I) und Pleiocarpinin (IV) zu isolieren. Die erwähnten Fraktionen wurden uns in freundlicher Weise von den Herren Drs. E. SEEBECK und D. STAUFFACHER (Basel) zur Verfügung gestellt. Ausserdem erwies sich ein von den Herren Drs. W. I. TAYLOR und M. F. BARTLETT aus derselben Pflanze isoliertes Alkaloid mit I als identisch.

In kleiner Menge gewann man aus *Pl. mutica* ferner ein als *Pleiocarpamin* (VII) bezeichnetes Indolalkaloid (UV.-Spektrum: Fig. 3) der Zusammensetzung $C_{21}H_{24}O_2N_2$.

⁶⁾ W. D. CROW & M. MICHAEL, Australian J. Chemistry 8, 129 (1955).

⁷⁾ Briefliche Mitteilung vom September 1960. Der australische Forscher hat ferner festgestellt, dass einige Alkaloide aus *Kopsia longiflora* wie Pleiocarpin eine Urethangruppierung enthalten. Wir danken Herrn Dr. CROW bestens für die Bekanntgabe seiner Ergebnisse.

⁸⁾ M. F. BARTLETT, W. I. TAYLOR & M. RAYMOND-HAMET, C. r. hebd. Séances Acad. Sci. 249, 1259 (1959); M. F. BARTLETT & W. I. TAYLOR, J. Amer. chem. Soc. 82, 5941 (1960). – Nach Herrn Dr. W. I. TAYLOR (Summit, N. J.) könnte dieses Alkaloid ein bei der Aufarbeitung aus Eburnamin oder seiner Iso-Verbindung durch Wasserabspaltung gebildetes Artefakt darstellen.

die durch eine kryoskopische Molekulargewichtsbestimmung in Benzol gestützt wird. Die Substanz enthält keine N-Methyl-, eine C-Methyl- und eine Methoxyl-Gruppe. Aus dem UV.-Spektrum geht hervor, dass die Methoxylgruppe am Benzolkern haften muss. Aus dem Spektrum lässt sich nicht mit Sicherheit auf die Stellung der Methoxylgruppe im Methoxyindol-Chromophor schliessen. Das Alkaloid zeigt im Infrarot in Tetrachlorkohlenstofflösung zwei Carbonylbanden ungefähr gleicher Intensität bei 5,68 und 5,79 μ . In KBr wird eine schwache Bande bei 5,70 und eine starke Bande bei 5,80 μ beobachtet. Das verbleibende Sauerstoffatom liegt somit wahrscheinlich in

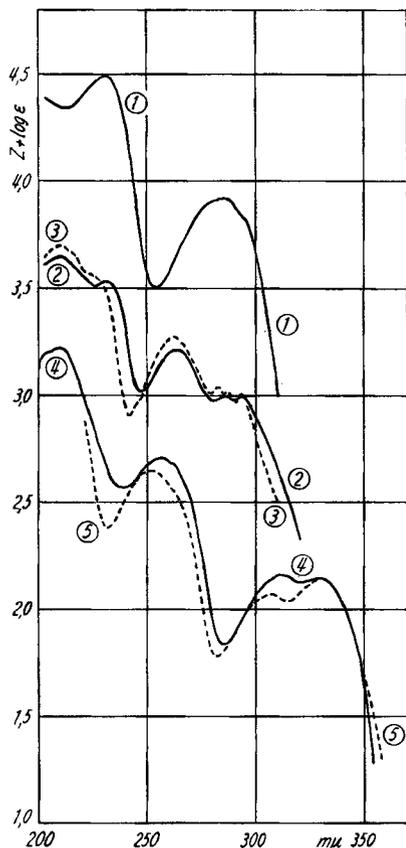


Fig. 3. UV.-Absorptionsspektren

- Kurve 1: Pleiocarpamin (VII) in 96-proz. Alkohol $z = 0$
 Kurve 2: Pleiomutin (VIII) in 96-proz. Alkohol $z = -1,0$
 Kurve 3: Pleiomutin (VIII) in 0,0025N alkohol. HCl $z = -1,0$
 Kurve 4: Pleiomutinin (IX) in 96-proz. Alkohol $z = -1,5$
 Kurve 5: Pleiomutinin (IX) in 0,008N alkohol. HCl $z = -1,5$

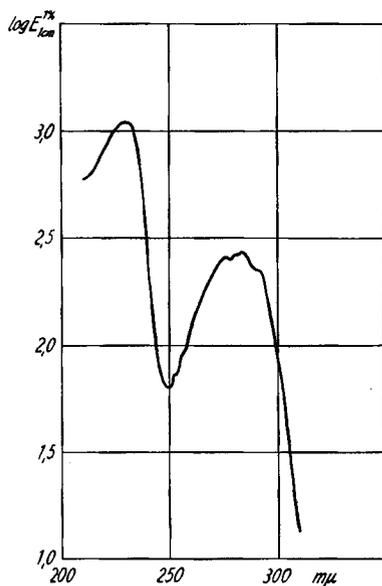


Fig. 4. UV.-Absorptionsspektrum des Pleiocarpinidins (X) in 96-proz. Alkohol

einem gesättigten Fünfringketon vor. Das Auftreten von zwei Banden in der Carbonylregion ist bei Cyclopentanon und gewissen Δ^2 -Cyclopentenonen schon beobachtet worden⁹⁾. Aus der Bildung eines kristallisierten Methojodids $C_{22}H_{27}O_2N_2J$ folgt die tertiäre Natur des zweiten Stickstoffs im Pleiocarpamin.

Die beiden nächsten Alkaloide stellen Vertreter des sogenannten «dimeren» Typs dar. Das erste von ihnen, *Pleiomutin* (VIII), konnte nur in amorpher Form gewonnen werden. Der Dimeritätstest nach der Methode der partiellen Quartärisierung¹⁰⁾ verlief positiv. Die Analysen des kristallisierten Dipikrats und des Distyphnats weisen auf die Formel $C_{42-43}H_{52-56}O_2N_4$ für Pleiomutin hin. Das UV.-Spektrum (Fig. 3) kann als Superposition eines Indolin- und Indol-Chromophors gedeutet werden. Es ist sehr ähnlich den Spektren etwa des Leurosins oder des Vincaleukoblastins aus *Vinca rosea* LINN.¹¹⁾ Im Infrarot (CCl_4) zeigt die freie Base eine Carbonylbande bei $5,78 \mu$ und eine Indolinbande bei $6,25 \mu$. Das Alkaloid enthält eine Methoxyl- und eine N-Methyl-Gruppe.

Das *Pleiomutin* (IX) kristallisiert als Base. Versuche zur Gewinnung von kristallisierten Salzen waren bisher mit dem Pikrat, Methopikrat und Methojodid erfolglos. Die Analysen der Base führen zusammen mit einer Molekulargewichtsbestimmung zur Molekularformel $C_{40}H_{46-48}O_2N_4$, die natürlich noch nicht als gesichert angesehen werden kann. Das Alkaloid enthält eine Methoxyl- und eine N-Methyl-Gruppe. Sein UV.-Spektrum (Fig. 3) weist grosse Ähnlichkeit mit den Spektren von Vobtusin und Callichilin aus *Callichilia subsessilis* STAPP.¹²⁾ auf. Im IR.-Spektrum beobachtet man, ähnlich wie beim Pleiocarpamin, in der Carbonylregion in Tetrachlorkohlenstofflösung zwei Banden bei $5,69$ und $5,79 \mu$. In KBr tritt die längerwellige Bande nur mit stark abgeschwächter Intensität auf. Die Spektren enthalten ferner eine Indolinbande bei $6,21 \mu$.

Vom letzten Alkaloid, dem *Pleiocarpinidin* (X), erhielten wir zu wenig, um es zu analysieren. Nach dem IR.- und UV.-Spektrum (Fig. 4) handelt es sich hier um ein Indolalkaloid.

Eine weitere Untersuchung von Pleiocarpamin, Pleiomutin, Pleiomutin und Pleiocarpinidin ist geplant, sobald einmal mehr Material zur Verfügung stehen wird.

Wir danken den Herren Drs. E. SEEBECK und D. STAUFFACHER in Firma SANDOZ AG. (Basel) bestens für die Überlassung des Pflanzenmaterials und für die Bereitung und Rohauftrennung der Extrakte von *Pleiocarpa mutica*. Ferner danken wir den genannten Herren für die Überlassung von rohem Pleiocarpin sowie von Fraktionen aus *Hunteria eburnea*. Zu danken haben wir auch herzlich Herrn Dr. W. D. CROW (Canberra University College, Canberra) für Proben von Kopsinin und Kopsininderivaten und Herrn Dr. W. I. TAYLOR (Summit, N. J.) für Proben von Eburnamenin-pikrat, Eburnamenin-methiodid und des mit I identischen Alkaloides aus *Hunteria eburnea*.

Der eine von uns (W.G.K.) dankt der Firma SANDOZ AG. (Basel) für die Gewährung eines Stipendiums.

⁹⁾ P. YATES, N. YODA, W. BROWN & B. MANN, J. Amer. chem. Soc. 80, 202 (1958); P. YATES & L. L. WILLIAMS, *ibid.* 80, 5896 (1958).

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

¹¹⁾ N. NEUSS, M. GORMAN, G. H. SVOBODA, G. MACIAK & C. T. BEER, J. Amer. chem. Soc. 81, 4754 (1959).

¹²⁾ R. GOUTAREL, A. RASSAT, M. PLAT & J. POISSON, Bull. Soc. chim. France 1959, 893.

Experimenteller Teil¹³⁾

1. Extraktion der Wurzeln von *Pleiocarpa mutica* BENTH. – 20 kg fein gemahlene Wurzeln wurden zweimal mit je 60 l 90-proz. Methanol, dem 2,5% Essigsäure zugesetzt worden waren, je 2 Std. bei Zimmertemperatur ausgerührt. Nach dem zweiten Abzentrifugieren reagierte der Drogenrückstand nicht mehr mit MAYER's Reagens. Der essigsäure methanolische Extrakt wurde nun im Vakuum bei 50° auf 6 l eingeeengt und klar filtriert. Den Filtrerrückstand nahm man in Chloroform auf und extrahierte die Lösung mit 1 l 5-proz. Weinsäurelösung. Der Weinsäureauszug wurde mit der filtrierten essigsäuren Lösung vereinigt, mit 4 l 5-proz. Weinsäurelösung versetzt und mit 2 l Äther zur Entfernung fein verteilter fettiger Substanzen ausgerührt. Anschliessend wurde mit 3 l eines Chloroform-Alkohol-2:1-Gemisches ausgerührt. Der erste Chloroformextrakt, der Äther- und der Chloroform-Alkohol-Extrakt wurden vereinigt und im Vakuum bei 60° zur Trockne eingedampft: 570 g «*Neutralteil*».

Die wässrige, saure Lösung stellte man mit konz. Ammoniak auf pH = 8 und extrahierte viermal mit je 4 l Chloroform. Nach dem ersten und zweiten Abtrennen musste durch Zugabe von konzentrierter Ammoniaklösung auf pH = 8 nachgestellt werden. Dabei schied sich eine grössere Menge dunkelbrauner, chloroformunlöslicher Harze ab, die nach dem Abtrennen der wässrigen, ammoniakalischen Lösung mit 6 l Chloroform-Alkohol-Gemisch (2:1) eine Stunde verrührt wurde. Die Chloroformauszüge hat man zweimal mit je 5 l Wasser gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und im Vakuum bei 50° zur Trockne eingedampft: 52 g «*schwache Basen 1*». Eindampfen des klar filtrierten Chloroform-Alkohol-Auszuges im Vakuum bei 50° lieferte 78 g «*schwache Basen 2*». Die im Ausrührgefäss verbliebenen harzigen, unlöslichen Anteile wurden verworfen.

Die wässrige Lösung vom pH = 8 wurde dann durch Zugabe von konzentrierter Natronlauge auf pH = 12 gestellt und sechsmal mit je 2 l Chloroform ausgerührt. Die vereinigten Chloroformauszüge lieferten nach zweimaligem Waschen mit je 5 l Wasser, Trocknen über Natriumsulfat und Eindampfen im Vakuum bei 50° 5,5 g «*starke Basen*».

Anschliessend wurde die alkalische Lösung mit konzentrierter Salzsäure auf pH = 5 gestellt und mit wässriger Ammoniumreineckat-Lösung solange versetzt, bis keine weitere Fällung mehr eintrat. Die Reineckate wurden abfiltriert, zweimal mit Wasser gewaschen und lyophilisiert: 266 g «*Reineckate*».

2. Aufarbeitung des «Neutralteils» und der «schwachen Basen 1». – 2.1. Vorversuche hatten ergeben, dass sich der «Neutralteil» und die «schwachen Basen 1» hinsichtlich ihres Alkaloidgehaltes qualitativ nicht unterschieden. «Neutralteil» und «schwache Basen 1» wurden deshalb vereinigt. Diese 620 g Extrakt wurden in Chloroform aufgenommen und von reichlich ausgeschiedenem flockigem Material abfiltriert. Die Chloroformphase hat man dreimal mit verdünntem, wässrigem Ammoniak ausgeschüttelt. Nach dem Trocknen wurde der Chloroformauszug eingedampft und der Rückstand an 1 kg Aluminiumoxyd mit Chloroform-Benzol 1:1 chromatographiert. Zunächst wurden zwei Fraktionen, nämlich eine relativ hellgefärbte (F. 2.1.1) und eine dunkelbraun gefärbte Fraktion (F. 2.1.2) aufgefangen. Die erste Fraktion, von der die raschestwandernden, keine Alkaloid-Farbreaktion zeigenden Anteile abgetrennt worden waren, wurde nochmals zur Abtrennung einer geringen Menge der starkgefärbten Fraktion chromatographiert. Die eingedampfte Hauptfraktion (54 g) wurde mit Methanol unter Animpfen mit Pleiocarpin angerieben. Nach längerem Stehen im Eisschrank wurde die schmierige Kristallmasse zuerst mit 200 ml Methanol-Pentan (1:20) und hierauf mit 200 ml auf –10° gekühltem Methanol gewaschen. Die beiden Filtrate wurden vereinigt: *Filtrat 2 N*.

¹³⁾ Die Schmelzpunkte wurden auf dem KOFLER-Block bestimmt. Alle Lösungsmittel wurden vor Gebrauch frisch destilliert. Leider traten bei der Aufarbeitung Verluste ein, da, wie nachträglich festgestellt wurde, das häufig verwendete Chloroform bei der Chromatographie mit einem Teil der basischen Alkaloide unter Bildung quartärer Verbindungen reagierte. Alle Aufarbeitungen wurden mit Hilfe von Dünnschichtchromatogrammen an Kieselgel G (MERCK) und Aluminiumoxyd (FLUKA) mit Chloroform und Chloroform-Methanol-Gemischen als Laufmittel verfolgt. Zur Sichtbarmachung der Flecke und ihrer Charakterisierung dienten Cer(IV)-sulfat-Reagens (Helv. 29, 1853 (1946); 33, 512 (1950)) und Kaliumjodoplatinat-Lösung (Helv. 35, 29 (1951)).

Die verbleibenden Kristalle (22 g) waren stark gelb gefärbt und enthielten noch relativ viel Pleiocarpinin. Man löste sie in Methanol-Chloroform (5:1) und filtrierte die Lösung über eine kurze, mit Aluminiumoxyd unterschichtete Säule von aktiver Kohle. Aus dem farblosen Filtrat liess sich durch Kristallisation das als Hauptalkaloid enthaltene Pleiocarpin nicht vom Pleiocarpinin abtrennen. Es wurde daher an Kieselgel (MERCK, 0,2 bis 0,5 mm) mit Chloroform als Lösungsmittel chromatographiert, wobei das Pleiocarpin rascher eluiert wurde als das Pleiocarpinin. Nach Umkristallisieren aus Methanol erhielt man schliesslich 18 g *Pleioarpin* vom Smp. 141–142°. Die auf das Pleiocarpin folgenden Fraktionen wurden mit Filtrat 2 N vereinigt (*Filtrat 2 N'*).

2.2. *Aufarbeitung des Filtrates 2 N'*. Das Filtrat 2 N' gab beim Eindampfen 27,3 g Rückstand. Dieser wurde in 200 ml Pentan gelöst und an 1 kg Aluminiumoxyd (WOELM, neutral, Aktivität IV) adsorbiert. 5,2 l Pentan eluierten zunächst 17,1 g Neutralstoffe (keine Alkaloid-Farbreaktionen, kein Stickstoff). Die nächsten 8 l Pentan eluierten 0,56 g einer ausser Neutralsubstanzen mit Cer(IV)-sulfat gelb und orange färbende Alkaloide enthaltenden Fraktion (*Fraktion F. 2.2.1*). Die nächsten 12 l Pentan, zusammen mit 4 l Pentan, das 15% Benzol enthielt, eluierten 4,62 g (*F. 2.2.2*), die ausser Neutralsubstanzen verschiedene, mit Cer(IV)-sulfat sich blau färbende Alkaloide enthielten. Mit 11,5 l Petroläther, der 15% Benzol enthielt, und mit 1,5 l reinem Benzol kamen 2,6 g einer mit Cer(IV)-sulfat sich rot färbenden Fraktion (*F. 2.2.3*) aus der Säule. 5,5 l Benzol schliesslich eluierten 2 g der Fraktion *F. 2.2.4*. Mit stärker eluierenden Solventien wurden nur mehr wenig harzige, braune Substanzen eluiert, die verworfen wurden.

Die Fraktion *F. 2.2.3* wurde in siedendem Pentan aufgenommen, die nicht in Lösung gegangenen Flocken über Watte abfiltriert und mit Pentan nachgewaschen. Aus dem stark eingeeengten Filtrat schied sich nach einigem Stehen Kristalle ab, die bereits recht reines *Pleioarpinin* darstellten. Die Mutterlaugen wurden eingedampft und mit der Fraktion *F. 2.1.2* vereinigt.

2.3. *Aufarbeitung der Fraktion F. 2.1.2*. Die mit den Mutterlaugen des Pleiocarpinins vereinigte Fraktion *F. 2.1.2* wurde in Chloroform aufgenommen, von dunkelbraunem, unlöslichem Material abfiltriert und über wenig neutrales Aluminiumoxyd filtriert. Das jetzt heller braun gefärbte Filtrat wurde eingedampft und an der hundertfachen Menge Aluminiumoxyd (WOELM, neutral, Aktivität IV) chromatographiert. Durch Elution mit Pentan-Benzol wurden Fraktionen, die neben Pleiocarpinin vor allem *Kopsinin* enthielten, eluiert. Die langsamer wandernden Alkaloide liessen sich an solchen Säulen nicht trennen und wurden mit Benzol und Benzol-Methanol-Gemischen gemeinsam eluiert (*Fraktion F. 2.3.1*). Man erhielt 1,1 g einer kopsininreichen Fraktion, die durch wiederholte analoge Chromatographie schliesslich ein Kopsininkonzentrat gab, das frei von Pleiocarpinin war, aber noch geringe Mengen von Pleiocarpin und einer mit Cer(IV)-sulfat sich rot anfärbenden Base (Alkaloid R_1) enthielt. Über das Pikrat konnte daraus reines Kopsinin erhalten werden.

Die eingedampften Fraktionen *F. 2.3.1* wurden in Tetrachlorkohlenstoff gelöst, von unlöslichen, dunkelgefärbten Flocken filtriert und die Lösung über neutrales Aluminiumoxyd (Aktivität IV) filtriert. Das eingedampfte Filtrat (6,7 g) wurde an der zweifachen Menge Kieselgel (MERCK, 0,2 bis 0,5 mm) chromatographiert. Zunächst kamen neben Neutralsubstanzen Pleiocarpin und Pleiocarpinin. Die folgenden Fraktionen enthielten neben etwas Kopsinin in der Hauptmenge zwei neue Alkaloide, nämlich *Pleiomutin* und *Pleioarpamin*. Später kamen noch weitere Alkaloide: *Fraktion F. 2.3.2*. Durch wiederholte Chromatographie an Kieselgel mit Chloroform als Laufmittel liess sich schliesslich das Pleiomutin sehr stark anreichern. Die vollständige Reinigung erfolgte über das Pikrat (750 mg).

Das in der Säule nur wenig langsamer wandernde Pleioarpamin liess sich vom Pleiomutin nur sehr schwierig abtrennen. Die 480 mg wiegende Pleioarpamin-Rohfraktion wurde mehrmals an neutralem Aluminiumoxyd (Aktivität IV) mit Benzol chromatographiert. Durch Reinigung über das Pikrat gelang es auch hier, ein reines Alkaloid zu erhalten.

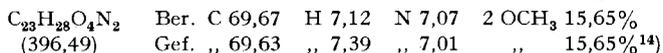
Die zwischen der Pleiomutin-Pleioarpamin-Fraktion und der Fraktion *F. 2.3.2* liegenden Eluate enthielten in kleiner Menge noch ein weiteres Alkaloid: *Pleioarpininidin*. Es wurde durch Chromatographie stark angereichert und schliesslich durch Dünnschichtenchromatographie an Aluminiumoxyd mit Chloroform als Laufmittel weiter gereinigt. Durch Abtragen der mit dem Alkaloid beladenen Schichten, Elution mit Aceton und Umkristallisieren aus Aceton-Äther erhielt man schliesslich das Pleioarpininidin in kristallisierter Form.

2.4. *Aufarbeitung der Fraktion F. 2.2.1*. Bei der Chromatographie dieser Fraktion (0,56 g) an der 50fachen Menge neutralen Aluminiumoxyds (Aktivität IV) mit Pentan als Laufmittel

wurde nach Abtrennung von Neutralstoffen eine Fraktion eluiert, die stark an *Eburnamenin* angereichert war. Die späteren Fraktionen enthielten Pleiocarpinin. Neuerliche Chromatographie der das Eburnamenin enthaltenden Fraktionen an 12 g Kieselgel (MERCK, «fein gepulvert») mit Chloroform lieferte nach Abtrennung von Begleitbasen schliesslich ein sich mit Cer(IV)-sulfat orange färbendes Alkaloidgemisch, das in Äther gelöst und mit ätherischer Pikrinsäurelösung in das Pikrat verwandelt wurde. Nach längerem Stehen wurde zentrifugiert, mit Äther nachgewaschen und das Pikrat mehrmals aus Methanol umkristallisiert. Man erhielt schliesslich 200 mg Pikrat.

2.5. *Aufarbeitung der Fraktion F. 2.3.2.* Das Gewicht dieser dunkelbraun gefärbten Fraktion betrug 2,5 g. Sie wurde an der fünfzigfachen Menge Kieselgel mit Chloroform, das 5% Methanol enthielt, chromatographiert. Nach Auftrennung von Vorfraktionen, die in sehr kleiner Menge neue Alkaloide zu enthalten schienen, wurde die das *Pleiomutinin* enthaltende Fraktion mit alkoholisch-ätherischer Pikrinsäurelösung gefällt. Das Pikrat liess sich nicht kristallisieren, erfuhr aber durch Umlösen aus Alkohol eine merkliche Reinigung. Das Pikrat wurde dann in Aceton gelöst und durch Filtration über neutrales Aluminiumoxyd in die freie Base umgewandelt, die aus Aceton-Äther langsam kristallisierte.

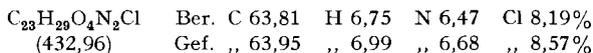
3. **Charakterisierung der einzelnen Alkaloide.** – 3.1. *Pleiocarpin.* Dieses Hauptalkaloid wurde mehrmals aus Methanol, Pentan und Methanol umkristallisiert. Smp. 141–142°.



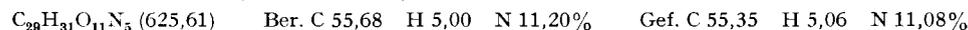
Die Substanz enthält kein N-Methyl, kein C-Methyl und keinen aktiven Wasserstoff nach ZEREWITINOFF. – $\text{pK}_{\text{MCS}}^* = 6,19$. Äquiv.-Gew.: Ber. 396; Gef. 402. $[\alpha]_{\text{D}}^{25} = -145 \pm 3^\circ$ ($c = 1,1725$; Chloroform). – Mit Cer(IV)-sulfat wird beim Ansprühen zunächst keine Farbreaktion beobachtet. Beim Erwärmen tritt Violettfärbung ein, die innerhalb einer Sekunde nach gelb verblasst¹⁵⁾.

UV.-Spektrum in 96-proz. Alkohol: λ_{max} in $\text{m}\mu$ ($\log \epsilon$): 206,5 (4,49); 246 (4,20); 282,5 (3,51); 289,5 (3,48). λ_{min} in $\text{m}\mu$ ($\log \epsilon$): 226 (3,81); 267 (3,24); 288 (3,47). Das Spektrum erfährt in 0,04N alkohol. Salzsäure oder in 0,05N alkohol. Kalilauge praktisch keine Veränderung. – IR.-Spektrum in CCl_4 : keine OH- oder NH-Banden. Carbonylbanden bei 5,74 und 5,87 μ .

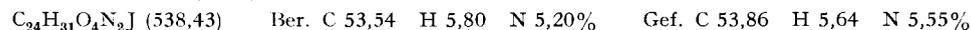
Pleiocarpin-hydrochlorid: Man löste die Base in 2N Salzsäure, dampfte im Vakuum bei 20° zur Trockne und kristallisierte den Rückstand mehrmals aus Äthanol-Äther um. Smp. 229–230° (Zers.). Zur Analyse wurde bei 90° getrocknet.



Pleiocarpin-pikrat: Das aus konzentriert ätherischer Lösung von Pleiocarpin auf Zusatz von ätherischer Pikrinsäurelösung zunächst schmierig anfallende Pikrat wurde nach Behandeln mit Methanol kristallin. Nach mehrmaligem Umkristallisieren aus wässrigem Methanol schmolz es unscharf bei 157–159° (Sintern ab 154°).



Pleiocarpin-jodmethylat: Man löste reines Pleiocarpin in frisch destilliertem Methyljodid, erhitzte 10 Min. zum Sieden und dampfte anschliessend zur Trockne ein. Der farblose Rückstand wurde mehrmals mit Äther ausgekocht und aus Aceton-Äther umkristallisiert. Smp. der farblosen Würfel: 235–236° (Zers.).



Perhydrierung von Pleiocarpin: 5,71 (14,75) mg reinstes Pleiocarpin in 5 ml 2N Schwefelsäure nahmen mit 90 (90) mg PtO_2 (HERAEUS) bei 724 (736) mm Wasserstoffdruck bei 20° 1,183 (2,925) ml Wasserstoff, das sind 3,16 (3,07) Mol., auf.

3.2. *Pleiocarpinin.* Das rohe, kristallisierte, noch etwas gelbstichige Pleiocarpinin wurde in methanolischer Lösung mit wenig Aktivkohle behandelt, die Lösung filtriert, das Filtrat im Vakuum eingedampft und der Rückstand zweimal aus siedendem Pentan umkristallisiert. Aus-

¹⁴⁾ Zur Analyse wurden die Substanzen, wenn nicht anders angegeben, bei 75° im Hochvakuum über Kaliumhydroxyd und Diphosphorpentoxyd 6 bis 12 Std. getrocknet.

¹⁵⁾ Alle Farbreaktionen wurden auf Kieselgel-Dünnschichten ausgeführt.

beute: 1,15 g. Aus den Mutterlaugen und anderen Pleiocarpinin-reichen Mischfraktionen wurde durch Chromatographie an Kieselgel noch ein weiteres Gramm des Alkaloides erhalten. Nach mehreren Kristallisationen schmolzen die dünnen langen Prismen zunächst bei 127°, erstarrten dann wieder und schmolzen endgültig bei 135–136°. Durch Impfen der Pentanlösung mit Kristallen vom Smp. 135–136° konnte direkt die höherschmelzende Form auskristallisiert werden. Die Verbindung liess sich bei 130–135°/0,001 Torr unzersetzt sublimieren.

$C_{22}H_{28}O_3N_2$ Ber. C 74,96 H 8,01 N 7,95 OCH_3 8,81 (N)CH₃ 4,27 %
(352,48) Gef. „ 74,92 „ 8,32 „ 7,56 „ 8,62; 8,78 „ 3,84; 3,39%

Die Verbindung enthält kein C-Methyl. - $pK_{MCS}^* = 6,94$. Äquiv.-Gew.: Ber. 352; Gef. 363. $[\alpha]_D^{25} = -124^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 1,461$; Chloroform). - Farbreaktionen: siehe Tabelle 3.

UV.-Spektrum in 96-proz. Alkohol: λ_{max} in $m\mu$ ($\log \epsilon$): 206 (4,42); 254 (3,97); 300 (3,52). λ_{min} in $m\mu$ ($\log \epsilon$): 231 (3,55); 276 (3,12). - IR.-Spektrum in CCl_4 : keine OH- oder NH-Banden. Carbonylbande bei 5,78 μ .

Pleiocarpinin-pikrat: Das in üblicher Weise mit ätherischer Pikrinsäurelösung bereitete Pikrat wurde dreimal aus Methanol umkristallisiert. Smp. 222–223° (Zers.).

$C_{28}H_{31}O_9N_5$ (581,60) Ber. C 57,83 H 5,37 N 12,04% Gef. C 58,30 H 5,53 N 11,94%

Pleiocarpinin-styphnat: Das wie das Pikrat bereitete Styphnat schmolz nach zweimaligem Umkristallisieren aus Alkohol-Benzol bei 205–207° (Zers.).

$C_{28}H_{31}O_{10}N_5$ (597,60) Ber. C 56,28 H 5,23% Gef. C 56,56 H 5,57%

Pleiocarpinin-jodmethylat: Man liess die Base 30 Min. in Methyljodid stehen, wobei sich das Jodmethylat kristallin ausschied. Smp. der farblosen Kristallschuppen nach mehrmaligem Umkristallisieren aus Methanol-Äther: 295–298° (Zers.). Zur Analyse wurde bei 80–85° getrocknet.

$C_{28}H_{31}O_2N_2J$ Ber. C 55,87 H 6,32 N 5,67 J 25,67%
(494,42) Gef. „ 56,49 „ 6,40 „ 5,53 „ 25,29%

3.3. Kopsinin. Das mit ätherischer Pikrinsäurelösung gefällte Pikrat wurde mehrmals aus Methanol (Aceton-Benzol-Gemische bewirkten nur eine geringe Reinigung) umkristallisiert (700 mg Pikrat). Die Pikrate der Begleitalkaloide befanden sich zur Gänze in den Mutterlaugen. Das aus Methanol kristallisierende *Kopsinin-pikrat* fiel in der Regel in hellgelben, glänzenden Schuppen vom Smp. 213–215° (Zers.) an. Gelegentlich erhielt man auch eine in Nadeln kristallisierende Modifikation vom Smp. 220–222° (Zers.), die mit dem von Crow *et al.*⁶⁾ beschriebenen Kopsinin-pikrat identisch zu sein scheint. Zur Analyse wurde bei 80–85° getrocknet. Bei der Verbrennung traten häufig Explosionen ein, so dass schliesslich im Gemisch mit Vanadiumpentoxyd verbrannt wurde. Die N-Werte fielen stets zu hoch aus.

$C_{27}H_{29}O_9N_5$ Ber. C 57,14 H 5,15 N 12,34 %
(567,57) Gef. „ 57,20; 57,89 „ 5,55; 5,37 „ 13,35; 12,85%

Kopsinin: Das in Chloroform gelöste Pikrat wurde über Aluminiumoxyd filtriert, mit Chloroform nachgewaschen, das farblose Filtrat im Vakuum eingedampft, der Rückstand in der minimalen Menge Cyclohexan gelöst, mit dem fünffachen Volumen Pentan versetzt, filtriert und der eingedampfte Rückstand mehrmals aus Pentan unter Druck umkristallisiert. Smp. der farblosen, derben Kristallplatten: 105°; Misch-Smp. mit authentischem Kopsinin ohne Erniedrigung. Die Base liess sich bei 90° (Luftbad)/0,001 Torr als farbloser Lack ohne Zersetzung destillieren.

$C_{21}H_{28}O_2N_2$ Ber. C 74,53 H 7,74 N 8,28 OCH_3 9,17%
(338,45) Gef. „ 74,40 „ 7,92 „ 8,58 „ 8,95%

Die Verbindung enthielt weder C-Methyl noch N-Methyl. $[\alpha]_D^{25} = -69^\circ \pm 3^\circ$ ($c = 0,8561$; Chloroform). Farbreaktionen: siehe Tabelle 3.

UV.-Spektrum in 96-proz. Alkohol: λ_{max} in $m\mu$ ($\log \epsilon$): 205 (4,43); 246 (3,83); 295 (3,45). λ_{min} in $m\mu$ ($\log \epsilon$): 227 (3,63); 270 (2,97). - IR.-Spektrum in CCl_4 : 3,0 μ (NH); 5,78 μ (-COOCH₃); es war identisch mit dem IR.-Spektrum von authentischem Kopsinin.

Kopsinin-jodmethylat: Beim Versetzen der ätherischen Lösung von Kopsinin mit überschüssigem Methyljodid fiel das Jodmethylat sofort in glänzenden Schuppen aus. Smp. nach dreimaligem Umlösen aus Methanol-Äther: 265° (Zers.).

$C_{22}H_{29}O_2N_2J$ (480,39) Ber. C 55,00 H 6,09% Gef. C 55,09 H 6,06%

3.4. *Eburnamenin*. – *Eburnamenin-pikrat*: Das aus Methanol in langen Nadeln kristallisierende Pikrat schmolz bei 189° (Zers.). Die Substanz enthielt kein N-Methyl. Spektrophotometrische Äquivalentgewichtsbestimmung¹⁶⁾: Ber. 507; Gef. 492.

$C_{25}H_{25}O_7N_5$	Ber. C 59,17	H 4,97	N 13,80	%
(507,52)	Gef. „ 59,09; 59,44; 59,40	„ 5,09; 5,05; 5,09	„ 13,42; 13,15; 13,66%	

Eburnamenin-methojodid: Eine Probe des Pikrats wurde wie früher angegeben mittels Zersetzung an Aluminiumoxyd in die freie Base umgewandelt, die man bei 90° (Luftbad)/0,005 Torr als schwach gelbstichiges Glas destillierte. Das daraus bereitete Methojodid wurde mehrmals aus Alkohol-Essigester umkristallisiert. Smp. 259–260° (Zers.).

$C_{20}H_{26}N_2J$ (420,14)	Ber. C 57,17	H 6,00%	Gef. C 57,28	H 6,13%
-----------------------------	--------------	---------	--------------	---------

Das Alkaloid aus *Pl. mutica* erwies sich auf Grund der Misch-Smp. der Pikrate und übereinstimmender IR.-Spektren der freien Basen und der Methojodide als identisch mit *Eburnamenin*.

3.5. *Pleiomutin*. – *Pleiomutin-dipikrat*: Das rohe Pikrat wurde mehrmals aus Isopropanol-Aceton und aus Aceton-Äther umkristallisiert. Ausbeute: 580 mg. Die Substanz begann sich beim Erhitzen ab 230° zu zersetzen, ohne dass ein Schmelzen beobachtet werden konnte.

$C_{54}H_{58}O_{16}N_{10}$	Ber. C 58,79	H 5,30	N 12,69	OCH ₃ 2,81	NCH ₃ 1,36%
(1103,1)	Gef. „ 58,86	„ 5,49	„ 12,53	„ 2,61	„ 1,59%
	„ „ 58,85	„ 5,38	„ 12,63	„ 2,64	„ 1,57%
	„ „ 58,87	„ 5,40	„ 12,66	„ 2,74	„ 1,63%

Die Analysenwerte passen auch auf die Formel $C_{54}H_{80}O_{18}N_{10}$ (1105,1), Ber. C 58,69 H 5,47%, und auf die Formeln $C_{55}H_{60}O_{18}N_{10}$ (1117,1), Ber. C 59,13 H 5,42%, oder $C_{55}H_{62}O_{16}N_{10}$ (1119,1), Ber. C 59,02 H 5,59%.

Pleiomutin-distyphnat: Das Styphnat wurde mit ätherischer Styphninsäurelösung und der durch Zersetzung des Pikrats an Aluminiumoxyd gewonnenen freien Base erhalten. Hier bot die Kristallisation Schwierigkeiten. Aus Isopropanol-Aceton und Aceton-Äther fiel das Styphnat in Nadeln an, die keinen Schmelzpunkt zeigten.

$C_{54}H_{58}O_{18}N_{10}$	Ber. C 57,14	H 5,15	N 12,34	OCH ₃ 2,73	NCH ₃ 1,32%
(1135,1)	Gef. „ 57,28	„ 5,48	„ 12,30	„ 3,35	„ 1,32%

Zur Bestimmung der spezifischen Drehung und Aufnahme der Spektren wurde reines Pleiomutin-dipikrat an Aluminiumoxyd in Chloroformlösung zerlegt. Nach dem sofortigen Eindampfen des Filtrats im Vakuum wurde der fast farblose, lackartige Rückstand im Hochvakuum getrocknet. Kristallisationsversuche blieben erfolglos. $[\alpha]_D^{25} = -97 \pm 5^\circ$ ($c = 1,03$; Chloroform).

UV.-Spektrum in 96-proz. Alkohol: λ_{max} in $m\mu$ ($\log \epsilon$): 210 (4,65); 233 (4,53); 264 (4,21); 286 (3,99); 294 (4,00). λ_{min} in $m\mu$ ($\log \epsilon$): 226 (4,52); 247 (4,02); 281 (3,97); 290 (3,98). Der Berechnung der ϵ -Werte wurde ein Molgewicht von 647 zugrunde gelegt. – Farbreaktionen: siehe Tabelle 3.

3.6. *Pleiocarpamin*. Die rohen Pleiocarpaminfraktionen (siehe 2.3) wurden in alkoholischer Lösung mit alkoholischer Pikrinsäurelösung gefällt. Das zunächst amorphe Pikrat wurde aus viel Alkohol umkristallisiert. Vom kristallinen, im wesentlichen aus Pleiomutin-dipikrat bestehenden Niederschlag wurde abzentrifugiert und die Mutterlauge nochmals zur Kristallisation gebracht. Das Filtrat wurde eingedampft, in Chloroform gelöst und durch Filtration über neutrales Aluminiumoxyd die freien Basen gewonnen. Durch mehrmalige Chromatographie der Basen an neutralem Aluminiumoxyd (WOELM, Aktivität IV) liess sich schliesslich das Pleiocarpamin vollständig von noch begleitendem Pleiomutin abtrennen. Das rohe Alkaloid wurde in siedendem Pentan, das etwas Aceton enthielt, unter Entfernung unlöslicher Anteile aufgenommen, die Lösung eingedampft und der Rückstand unter Zugabe von wenig Aktivkohle mehrmals aus Pentan umkristallisiert. Ausbeute: etwa 140 mg. Schmelzpunkt der farblosen, sechseckigen Plättchen: 159°.

$C_{21}H_{24}O_2N_2$	Ber. C 74,97	H 7,19	N 8,33	OCH ₃ 9,22	CCH ₃ 4,47%
(336,44)	Gef. „ 75,13; 75,19	„ 7,29; 7,32	„ 8,33	„ 9,11	„ 3,55%

¹⁶⁾ H. SCHMID & P. KARRER, Helv. 30, 2081 (1947).

Die Substanz enthält kein N-Methyl. – Molgewicht: Ber. 336; Gef. 344 (kryoskopisch in Benzol). $[\alpha]_D^{25} = +123^\circ \pm 4^\circ$ ($c = 0,783$; Chloroform).

UV.-Spektrum in 96-proz. Alkohol: λ_{max} in $m\mu$ ($\log \epsilon$): 231 (4,49); 286 (3,92). λ_{min} in $m\mu$ ($\log \epsilon$): 212 (4,34); 254 (3,51).

Pleiocarpamin-methiodid: Das in üblicher Weise bereitete Methiodid wurde aus Methanol-Äther umkristallisiert. Die flachen Nadeln verkohlten zwischen 265 und 270°, ohne zu schmelzen.

$C_{22}H_{27}O_2N_2J$ (478,38) Ber. C 55,24 H 5,69 N 5,86% Gef. C 55,05 H 5,86 N 5,90%

3.7. *Pleiomutinin*. Die freie Base (siehe 2.5) wurde mehrmals aus Aceton-Äther umkristallisiert. Ausbeute: 18 mg.

$C_{40}H_{46}O_2N_4$ Ber. C 78,14 H 7,54 N 9,09 OCH_3 5,05 NCH_3 2,41%
(614,82)

$C_{40}H_{48}O_2N_4$ Ber. C 77,89 H 7,84 N 8,88 OCH_3 5,03 NCH_3 2,44%
(616,85) Gef. „ 77,85; 77,82; 77,56 „ 7,71; 7,64; 7,79 „ 8,99 „ 5,14 „ 1,22%

Molgewicht (RAST, Campher): Ber. 614–616; Gef. 627. – Farbreaktionen siehe Tabelle 3.

UV.-Spektrum in 96-proz. Alkohol: λ_{max} in $m\mu$ ($\log \epsilon$): 209 (4,72); 255–257 (4,20); 310–313 (3,66); 330 (3,64). λ_{min} ($\log \epsilon$): 239 (4,06); 285–286 (3,33); 320–322 (3,62).

Es sei noch bemerkt, dass Lösungen von Pleiomutinin wenig beständig sind. Besonders in halogenierten Kohlenwasserstoffen bilden sich rasch schwerlösliche, rotbraune Produkte.

3.8. *Pleiocarpimidin*. Die freie Base (siehe 2.3) wurde sechsmal aus Pentan umkristallisiert. Smp. der farblosen Prismen: 154–156°. Das Alkaloid ist in Tetrachlorkohlenstoff zunächst löslich; nach sehr kurzer Zeit fällt ein in farblosen Nadeln kristallisierendes Addukt aus, das beim Erwärmen unscharf unter 80° schmilzt und aus dem durch Trocknen im Vakuum oder Umkristallisieren das Alkaloid zurückgewonnen werden kann. Die geringe Ausbeute (4,5 mg) verbot eine weitergehende Untersuchung.

4. **Korrelation von Pleiocarpin, Pleiocarpinin und Kopsinin.** – 4.1. *Lithiumaluminiumhydrid-Reduktion von Pleiocarpin*. Eine Lösung von 109 mg reinem Pleiocarpin in 11 ml absolutem Äther wurde mit 70 mg Lithiumaluminiumhydrid zwei Stunden unter Rückfluss erhitzt. Anschließend wurde mit gesättigter SEIGNETTE-Salzlösung versetzt und erschöpfend mit Äther ausgezogen. Die ätherische Lösung wurde eingedampft und der Rückstand (96 mg) einige Minuten mit 2N Schwefelsäure auf dem Wasserbad erhitzt. Nach Zugabe überschüssiger Sodaauslösung wurde mit Äther ausgezogen, die ätherische Lösung getrocknet, eingedampft und der Rückstand an neutralem Aluminiumoxyd (WOELM, Aktivität III–IV) mit Pentan chromatographiert. Zuerst wurde der mit Cer(IV)-sulfat sich rot färbende $N_{(a)}$ -Methyl-kopsinylalkohol eluiert. Nach Mischfraktionen kam mit Pentan und Pentan-Äther-Gemischen der sich mit Cer(IV)-sulfat orange färbende *Kopsinylalkohol* heraus.

Der so erhaltene $N_{(a)}$ -Methyl-kopsinylalkohol (etwa 70 mg) wurde mehrmals aus Pentan umkristallisiert. Smp. der farblosen Nadeln: 136–137°.

$C_{21}H_{28}ON_2$ Ber. C 77,74 H 8,70 N 8,63 NCH_3 4,63 1 akt. H 0,311%
(324,47) Gef. „ 77,45 „ 8,59 „ 8,92 „ 3,54 „ „ 0,321%

UV.-Spektrum in 96-proz. Alkohol: λ_{max} in $m\mu$ ($\log \epsilon$): 205 (4,41); 255 (3,99); 302 (3,52). λ_{min} in $m\mu$ ($\log \epsilon$): 232 (3,61); 276 (3,11).

Das in üblicher Weise bereitete *Pikrat* schmolz nach dreimaligem Umkristallisieren aus Aceton-Wasser bei 207–210° (Zers.).

$C_{27}H_{31}O_8N_5$ Ber. C 58,58 H 5,64 N 12,65%
(553,59) Gef. „ 58,01 „ 5,54 „ 12,84% kein OCH_3

90 mg $N_{(a)}$ -Methyl-kopsinylalkohol liess man mit 0,5 ml Pyridin und 2 ml Essigsäureanhydrid 2 Tage bei 20° stehen. Anschließend wurde im Vakuum eingedampft, mit Äther ausgezogen, die rotbraune Ätherlösung über wenig neutrales Aluminiumoxyd filtriert und das farblose Eluat nach dem Eindampfen (87 mg) mehrmals aus Pentan umkristallisiert. Smp. des *O-Acetyl-Derivates*: 124–125°.

$C_{23}H_{30}O_2N_2$ (366,51) Ber. C 75,37 H 8,25 N 7,64% Gef. C 75,37 H 8,32 N 7,36%

Der erhaltene *Kopsinylalkohol* (15 mg) wurde aus Äther-Pentan und Aceton-Methanol umkristallisiert. Smp. 159–160°.

$C_{20}H_{26}ON_2$ (310,44) Ber. C 77,38 H 8,44 N 9,03% Gef. C 77,31 H 8,60 N 8,96%

Das Verhältnis der Ausbeuten von $N_{(a)}$ -Methyl-kopsinylalkohol zu derjenigen von Kopsinylalkohol hängt von den Reaktionsbedingungen ab.

Bei der Dünnschichtchromatographie (Kieselgel; Chloroform-Methanol 5:1) des rohen, noch nicht mit Säure behandelten Reaktionsprodukts von Pleiocarpin beobachtete man neben den Flecken von $N_{(a)}$ -Methyl-kopsinylalkohol und Kopsinylalkohol einen etwas rascher wandernden Fleck, der mit Cer(IV)-sulfat-Reagens eine rotviolette, nach orange verblässende Färbung gab. Bei der Säurehydrolyse verschwand dieser Fleck.

91 mg Pleiocarpin in siedendem Äther wurden 20 Min. mit Lithiumaluminiumhydrid behandelt. Das Reaktionsgemisch wurde langsam in eisgekühlte 2N Schwefelsäure eingetropft, der Äther vorsichtig abgedampft und der Rückstand mit Wasserdampf destilliert. In der Vorlage befand sich 5-proz. p-Nitrophenylhydrazin-hydrochlorid-Lösung. Nach längerem Stehen wurde die Fällung abfiltriert und durch wiederholte Sublimation gereinigt. Ausbeute: 3,6 mg, Smp. 179–180°; keine Erniedrigung im Gemisch mit authentischem Formaldehyd-p-nitrophenylhydrazon. Bei dem obenerwähnten Fleck dürfte es sich somit um die $N_{(a)}$ -Methylolverbindung handeln.

4.2. *Lithiumaluminiumhydrid-Reduktion von Pleiocarpinin*. Eine Probe des Alkaloids wurde wie vorstehend beschrieben mit Lithiumaluminiumhydrid reduziert. Nach der Aufarbeitung und Filtration der Ätherlösung über Aluminiumoxyd erhielt man aus Pentan den $N_{(a)}$ -Methyl-kopsinylalkohol, der durch die Mischprobe und an Hand genau übereinstimmender IR.-Spektren (CCl_4) mit dem entsprechenden Reduktionsprodukt aus Pleiocarpin identifiziert wurde.

4.3. *Lithiumaluminiumhydrid-Reduktion von Kopsinin*. Die in üblicher Weise ausgeführte Reduktion gab Kopsinylalkohol, der durch Mischprobe und IR.-Spektren (CCl_4) mit dem Alkohol aus Pleiocarpin und mit einer von Herrn Dr. W. D. Crow in freundlicher Weise zur Verfügung gestellten Probe von Kopsinylalkohol identifiziert wurde.

5. *N-Carbäthoxy-hexahydrocarbazol*. – Zu einer aus 0,8 g Magnesium und 5,3 ml Äthyljodid in 100 ml absolutem Äther bereiteten Lösung von Äthylmagnesiumjodid liess man eine Lösung von 5,8 g Hexahydrocarbazol¹⁷⁾ in 100 ml absolutem Äther tropfen. Anschliessend wurde noch eine Stunde unter Rückfluss erhitzt. Hierauf liess man unter Rühren eine Lösung von 3,7 g Chlorameisensäure-äthylester in absolutem Äther unter Kühlung zutropfen. Nach einer Stunde wurde wie üblich aufgearbeitet und das erhaltene Öl durch mehrmalige Destillation (Luftbad, 80–90°/0,001 Torr) gereinigt. Ausbeute an farblosem Öl: 4,76 g (58%).

$C_{15}H_{19}O_2N$ (245,33) Ber. C 73,44 H 7,81 N 5,71% Gef. C 72,76 H 7,45 N 5,65%

UV.-Spektrum: siehe theoret. Teil. IR.-Spektrum: Carbonylbande bei 5,87 μ .

ZUSAMMENFASSUNG

Aus der Apocynacee *Pleiocarpa mutica* BENTH. wurden bisher acht tertiäre Alkaloide als kristallisierte Basen oder kristallisierte Salze isoliert. Hauptalkaloid ist das Pleiocarpin mit einem N-Carbomethoxyindolin-Chromophor. Mit diesem Alkaloid wurden zwei weitere in *Pleiocarpa* vorkommende Basen (Pleiocarpinin, Kopsinin) in Beziehung gesetzt. Ferner wurde das bereits früher aus *Hunteria eburnea* isolierte Eburnamenin als *Pleiocarpa*-Inhaltsstoff festgestellt. Umgekehrt enthält *Hunteria eburnea* Pleiocarpin und Pleiocarpinin.

Die anderen *Pleiocarpa*-Alkaloide konnten aus Materialmangel noch nicht näher untersucht werden. Zwei von ihnen stellen aus zwei ungleichen Teilen aufgebaute «dimere» Alkaloide dar.

Organisch-chemisches Institut der Universität Zürich

¹⁷⁾ Dargestellt nach J. GURNEY, W. H. PERKIN & S. G. P. PLANT, J. chem. Soc. 1927, 2676.