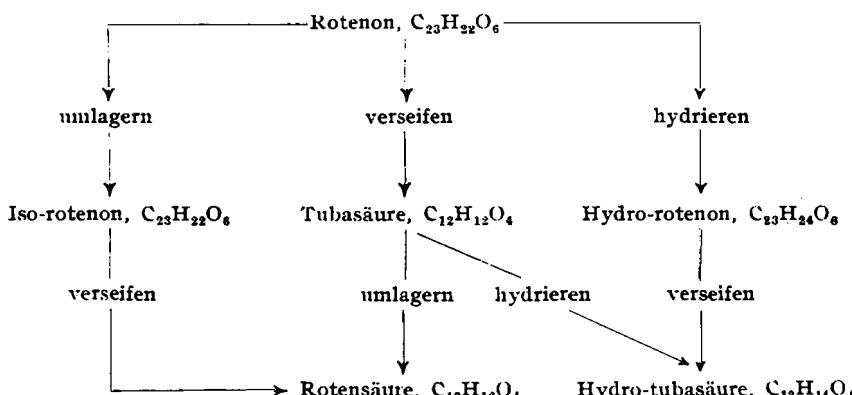


71. Sankichi Takei, Matao Koide und Shikiro Miyajima: Über Rotenon, den wirksamen Bestandteil der Derriswurzel, IV. Mitteil.¹⁾: Isomerie-Verhältnis zwischen Rotenon und Iso-rotenon.

[Aus d. Agrikulturchem. Institut d. Universität Kyoto.]

(Eingegangen am 10. Januar 1930.)

Aus Rotenon bildet sich nach früheren Beobachtungen²⁾ auf verschiedenen Wegen sein Isomeres, das Iso-rotenon vom Schmp. 178°. Nach unseren neueren Untersuchungen entsteht dieses Iso-rotenon sehr einfach und in guter Ausbeute durch kurzes Kochen des Rotenons mit einem Gemisch von Essig- und Schwefelsäure. Wird Rotenon mit alkohol. Kali ungesetzt, so liefert es Tubasäure³⁾; dieselbe Behandlung des Iso-rotenons führt aber nicht zur Tubasäure, sondern zur Rotensäure, einem Isomeren der Tubasäure. Bei der katalytischen Hydrierung addiert Rotenon 1 Mol. Wasserstoff und verwandelt sich in Hydro-rotenon³⁾. Letzteres liefert beim Verseifen mit alkohol. Kali die Hydro-tubasäure, die auch durch Hydrierung der Tubasäure herstellbar ist³⁾. Bei derselben Behandlung wie das Rotenon mit einem Gemisch von Essig- und Schwefelsäure wandelt sich das Hydro-rotenon nicht mehr in sein Isomeres um. Rotenon ist, ebenso wie das Hydro-rotenon, stark optisch aktiv, Iso-rotenon aber schwach. Das Iso-rotenon besitzt nicht mehr die katalytisch hydrierbare Doppelbindung, die im Rotenon vorhanden ist⁴⁾. Kocht man die Tubasäure, analog wie das Rotenon, mit einem Gemisch von Essig- und Schwefelsäure, so wandelt sie sich in ihr Isomeres, die Rotensäure, um.



¹⁾ III. Mitteil.: B. 62, 3030 [1929]. — Anmerkung bei der Korrektur: A. Butenandt und F. Hildebrandt stützen in ihrer inzwischen (11. Jan.) erschienenen Arbeit (A. 477, 245 [1930]) die von einem von uns (Takei) früher (B. 61, 1004 [1928]) vorgeschlagene Formel der Rotensäure, in der übrigens die Stellung von Carboxyl und Hydroxyl noch nicht feststeht. Es wurde zwar später eine andere Möglichkeit diskutiert (III. Mitteil.), aber dabei ausdrücklich die erste Formel offen gelassen, indem hervorgehoben wurde, daß sich die Isopropylgruppe auch im Furanring befinden kann. Die HHrn. Butenandt und Hildebrandt widerlegen also nicht, wie man aus ihrer Mitteilung entnehmen könnte, Takeis frühere Formeln, sondern entscheiden sich für einen seiner Vorschläge.

²⁾ B. 61, 1003 [1928]. ³⁾ Journ. Pharmac. Soc. Japan. 514, 1049 [1924].

⁴⁾ Auch F. B. La Forge u. L. E. Smith, Journ. Amer. chem. Soc. 51, 2574 [1929]. beobachteten diese Erscheinung.

Diese Beziehungen können durch das voranstehende Schema übersichtlich ausgedrückt werden.

Auf Grund dieser Ergebnisse kann man die Isomerie zwischen Rotenon und Iso-rotenon so erklären, daß sie nichts anderes ist als eine Isomerisation des Tubasäure-Restes im Rotenon zum Rotensäure-Rest im Iso-rotenon; d. h.: die hydrerbare Doppelbindung und ein asymmetrisches Kohlenstoffatom im Rotenon gehören alle beide zum Tubasäure-Rest. Daraus geht deutlich hervor, daß der Tubasäure-Rest eine sehr wichtige Rolle im Rotenon spielt, da Iso-rotenon, in dem lediglich der Tubasäure-Rest in den Rotensäure-Rest umgewandelt erscheint, für Tiere nicht mehr giftig ist⁵⁾.

Da es uns interessierte, ob freie Tuba-, Hydro-tuba- und Rotensäure noch irgendeine Giftwirkung auf Tiere ausüben, haben wir ihre Wirkung auf kleine Fische (Schlammbeißer, Cobitis fossilis) untersucht. Die Ergebnisse dieser Untersuchungen waren sehr bemerkenswert, weil sie ganz im Gegensatz zu unseren Vermutungen standen: In einer neutralen wäßrigen Lösung des rotensauren Natriums sterben die Fische bis zu einer Verdünnung von 0.0005 %, in einer Lösung des hydro-tubasauren Natriums bis zu 0.001 % und in einer Lösung des tubasauren Natriums bis zu 0.005 %. Hierdurch wird bestätigt, daß die Rotensäure für diese Fische 10-mal giftiger als die Tubasäure ist. Zum Vergleich haben wir gleichzeitig das Rotenon, das Hydro-rotenon und das Iso-rotenon als wäßrige Olivenöl- und Seifen-Emulsion untersucht, da diese nicht wasser-löslich sind. In der Rotenon-Emulsion sterben die Fische bis zu einer 0.00001-proz. Verdünnung ab und in der Hydro-rotenon-Emulsion bis zu 0.0001 %, während sie in der Iso-rotenon-Emulsion am Leben bleiben. Cyankalium, das furchtbare Gift, ist auch für diese Fische noch bis zu einer Verdünnung von 0.0001 % giftig; Rotenon wirkt also auf Schlammbeißer noch in 10-mal schwächerer Konzentration, Rotensäure aber erst in 5-mal stärkerer Konzentration ein als Cyankalium.

Beschreibung der Versuche.

Umlagerung des Rotenons: 10 g Rotenon werden mit einem Gemisch von 60 g Eisessig und 30 g Schwefelsäure 5 Min. gekocht. Wird dann das braun gefärbte Reaktionsprodukt mit 500 ccm Wasser versetzt, so scheidet sich eine amorphe Fällung ab, die beim Umkristallieren aus Alkohol farblose Nadeln ergibt. Ausbeute 8.5 g. Schmp. 178° (Mischprobe mit dem früher hergestellten Iso-rotenon²⁾).

Verseifen des Iso-rotenons: 5 g Iso-rotenon werden mit 50 ccm 5-proz. alkohol. Kali am Rückflußkühler auf dem Wasserbade 2 Stdn. gekocht. Das stark rot gefärbte Reaktionsprodukt wird mit 300 ccm Wasser versetzt, mit verd. Schwefelsäure angesäuert und ausgeäthert. Die ätherische Lösung wird mit Natriumbicarbonat geschüttelt und die alkalische Lösung mit verd. Schwefelsäure angesäuert. Wird die abgeschiedene braune Krystallmasse aus verd. Alkohol (Alkohol:Wasser = 1:2 Vol.) umkristallisiert, so ergibt sie farblose Nadeln. Ausbeute 0.5 g. Die farblosen Nadeln bestehen aus Rotensäure, wie die Schmelzpunkts-Mischprobe (182°) zeigt.

Umlagerung der Tubasäure in die Rotensäure: Wie früher berichtet, wandelt sich die Tubasäure durch gelindes Schmelzen mit Ätzkali

⁵⁾ vergl. I. Mitteil.: Biochem. Ztschr. 157, 1 [1925].

sehr leicht in die Rotensäure, ihr Isomeres, um. Dieselbe Umlagerung ist, wie eben erwähnt, durch entsprechende Behandlung mit einem Gemisch von Eisessig und Schwefelsäure sehr glatt ausführbar. Ausbeute 70% d. Th. Das Produkt wurde durch Mischprobe als Rotensäure festgestellt.

Hydro-rotenon.

Darstellung: Nach der Vorschrift von Kariyone³⁾ werden 10 g Rotenon in 270 ccm Essigester mit 3 g Palladium-Bariumsulfat (1% Pd) bis zur Aufnahme von 1 Mol. Wasserstoff (56 ccm pro Gramm) hydriert. Wird aus dem Reaktionsprodukt der Katalysator abfiltriert und ein großer Teil des Lösungsmittels abgedampft, so krystallisiert das Hydro-rotenon in Nadeln aus. Nach wiederholtem Umlösen aus Alkohol schmelzen diese bei 215°. Ausbeute 7 g.

4.552, 4.383 mg Sbst.: 11.612, 11.145 mg CO₂, 2.530, 2.425 mg H₂O.
 $C_{23}H_{24}O_6$. Ber. C 69.96, H 6.06. Gef. C 69.56, 69.45, H 6.16, 6.14.

Hydro-rotenon-Oxim: 1 g Hydro-rotenon wird mit 0.7 g Hydroxylamin-Hydrochlorid und 0.8 g Natriumacetat in 20 ccm Alkohol auf dem Wasserbade 8 Stdn. gekocht. Wird das abgeschiedene Kochsalz heiß abfiltriert, so krystallisieren beim Erkalten feine Nadeln aus, die man aus Alkohol umlösen kann. Ausbeute 0.3 g. Schmp. 255°.

3.720 mg Sbst.: 9.138 mg CO₂, 2.115 mg H₂O. — 7.688 mg Sbst.: 0.226 ccm N (16.5°, 758.5 mm).

$C_{23}H_{24}O_6 \cdot N \cdot OH$. Ber. C 67.12, H 6.12, N 3.40. Gef. C 67.00, H 6.28, N 3.34.

Verseifen des Hydro-rotenons: Aus diesem läßt sich durch dieselbe Behandlung mit 5-proz. alkohol. Kali, wie beim Iso-rotenon erwähnt, die Hydro-tubasäure herstellen. Sie schmilzt bei 166° (Mischprobe mit dem aus Tubasäure durch Hydrierung gewonnenen Präparat¹⁾).

Versuche zur Umlagerung des Hydro-rotenons: 3 g der Substanz werden mit einem Gemisch von 20 g Eisessig und 10 g Schwefelsäure 10 Min. gekocht. Das braun gefärbte Produkt wird in 200 ccm Wasser eingegossen, die amorphe Fällung abfiltriert und aus Alkohol umkrystallisiert. Farblose Nadeln. Ausbeute 0.8 g. Schmp. 215° (Mischprobe mit Hydro-rotenon). Nunmehr ist klar, daß Hydro-rotenon bei analoger Behandlung mit dem Säure-Gemisch, wie das Rotenon, keine Umlagerung erleidet.

Versuche zur Hydrierung des Iso-rotenons: Wird letzteres gerade so wie das Rotenon in einer Wasserstoff-Atmosphäre mehrere Stunden mit dem Katalysator geschüttelt, so nimmt es keinen Wasserstoff auf.

Bestimmung der Giftwirkung auf Schlammbießer.

Von der Tuba-, Hydro-tuba- und Rotensäure wurden je 0.25 g mit Natronlauge (n/10) genau neutralisiert und mit Wasser auf 500 ccm verdünnt; es wurde also eine 0.05-proz. neutrale Lösung jeder Säure vorbereitet. Von dieser Lösung wurden die nachstehenden schwächeren Lösungen durch entsprechende Verdünnung mit Leitungswasser hergestellt. Da Rotenon, Hydro-rotenon und Iso-rotenon in Wasser unlöslich sind,

³⁾ F. B. J. a Forge und L. E. Smith, Journ. Amer. chem. Soc. 51, 2574 1929, haben bei der Hydrierung des Rotenons nicht das einheitlich bei 215° schmelzende Hydro-rotenon, sondern zwei Isomere des Hydro-rotenons $C_{23}H_{24}O_6$ erhalten; von diesen schmilzt das eine bei 164° und reagiert neutral; das andere schmilzt bei 209°, reagiert sauer und ist in Alkali löslich. Kariyone und Butenandt, A. 464, 266 [1928], und ebenso wir haben nur ein einheitliches, bei 214—216° schmelzendes, neutrales Iso-rotenon $C_{23}H_{24}O_6$ gewonnen.

wurden sie zu je 0.1 g in 5 ccm (4.65 g) Olivenöl gelöst, mit einer aus 10 g Seife und 300 ccm Wasser bereiteten Lösung gemischt und dann eine feine Emulsion hergestellt. Diese Seifen-Emulsionen wurden je nach Bedarf mit Leitungswasser verdünnt. Als Kontrollversuch wurde dieselbe Emulsion, aber ohne wirksame Bestandteile, in entsprechender Verdünnung probiert; sie war aber für die Fische ganz ungiftig. Ferner wurde 0.1 g Cyankalium in 100 ccm Wasser aufgelöst und nach Bedarf mit Leitungswasser verdünnt.

Die Schlammbießer (*Cobitis fossilis*) wogen 4–6 g, die Temperaturen der Lösungen betragen 23–25°. Die Fische wurden einzeln in Erlenmeyer-Kolben von 300 ccm, die je 200 ccm der Versuchs-Lösungen enthielten, eingebbracht und dann ihre Lebensdauer in den Lösungen beobachtet.

Substanz	Konzentration (Proz.)	Lebensdauer (Min.)	
		A.	B.
Tubasäure	0.05	44	55
	0.01	120	160
	0.005	190	120
	0.001	∞	∞
Hydro-tubasäure	0.05	21	21
	0.01	50	50
	0.005	60	85
	0.001	200	∞
Rotensäure	0.05	13	13
	0.01	20	21
	0.005	31	31
	0.001	150	180
	0.0005	225	235
	0.0001	∞	∞
Rotenon I	0.0001	90	90
	0.00001	170	220
	0.0001	220	220
	0.00001	∞	∞
,, II	0.0001	330	∞
	0.00001	∞	∞
	0.0001	330	∞
	0.00001	∞	∞
Hydro-rotenon	0.0001	138	218
	0.00001	∞	∞
Iso-rotenon	0.001	∞	∞
Cyankalium	0.10	40	45
	0.001	115	115
	0.0001	150	250
	0.00001	∞	∞

Rotenon I war eine aus Olivenöl- und Seifenlösung frisch hergestellte Emulsion, Rotenon II eine vor 8 Tagen und Rotenon III eine vor 14 Tagen vorbereitete Emulsion. Man bemerkt ohne weiteres, daß die alten Rotenon-Emulsionen immer weniger giftig geworden sind. Das Zeichen ∞ bei der Lebensdauer bedeutet eine Zeitdauer von über 24 Stdn.