

7. Zur Kenntnis der Erythrophleum-Alkaloide.

(4. Mitteilung¹⁾).

Coumingin, ein krystallisiertes Alkaloid aus der Rinde von Erythrophleum Couminga (*H. Baillon*) und seine Beziehung zum Cassain

von L. Ruzicka, G. Dalma und W. E. Scott.

(28. XII. 40.)

In den vorhergehenden²⁾ Mitteilungen dieser Reihe ist über das Cassain und das Cassaidin, zwei krystallisierte Alkaloide aus der Rinde von *Er. Guineense* (*G. Don*) berichtet worden, während das Coumingin, welches der eine von uns³⁾ vor etwa drei Jahren, ebenfalls in krystallisierter Form aus der Rinde von *Er. Couminga* (*H. Baillon*) isoliert hat, den Gegenstand der vorliegenden Arbeit bildet.

Er. Couminga ist bisher viel weniger untersucht worden als *Er. Guineense*, obwohl es nahe lag, aus seiner erheblichen Giftigkeit auf die hohe physiologische Aktivität der darin enthaltenen Alkaloide zu schliessen. Dieser stattliche Baum, der eine Höhe von 20–30 m bei einem Stammdurchmesser von 40 bis 70 cm erreichen kann, ist erstmals von *H. Baillon* im Jahre 1871⁴⁾ beschrieben worden. Die auf Madagaskar und den Seychellen-Inseln heimische Erythrophleumart wurde in Anlehnung an die Bezeichnung durch die Eingeborenen, die je nach der Gegend Couminga, Comanga, Ciminga oder ähnlich lautet, benannt. Alle Pflanzenteile scheinen sehr giftig zu sein, und es heisst, dass weidende Tiere häufig den Blättern zum Opfer fallen. Die Rinde des Baumes ist sehr hart, etwa 2 cm dick, von zimtbrauner Farbe, innen ziemlich glatt und trägt eine recht starke und grobe Borke. Beim Mahlen der Droge ist grösste Vorsicht geboten, da das Pulver heftig zum Niesen reizt und die Schleimhäute stark und nachhaltig angreift. Wir können die Angaben der Literatur dahingehend bestätigen, dass unvorsichtiges Arbeiten unter Umständen tagelang anhaltenden Nasenkatarrh, Rötung und Anschwellen der Augen, Sehstörungen und sogar Fieber zur Folge haben kann. Am besten schützt man sich bei allen Manipulationen mit diesem Rindenpulver durch den Gebrauch einer Gasmasken. Ähnlich wie bei den Extrakten von *Er. Guineense* beobachtet man auch beim *Er. Couminga* eine typisch digitalisartige Herzwirkung, Lähmung des Atemzentrums, unwiderstehlichen Brechreiz, Durchfall mit blutigen Entleerungen, Dyspnoe, Distragmus, klonische und tonische Krämpfe, Zittern der Extremitäten, Kopfschmerzen und Trübung des Sensoriums; nur tritt im Falle des Coumingarinden-Extraktes das Vergiftungsbild noch eindrucksvoller in Erscheinung.

Gallois und *Hardy* haben als erste im Jahre 1876⁵⁾ in einem Blatte und einer Frucht des *Er. Couminga* die Anwesenheit eines Alkaloids festgestellt, das in seinem physiologischen Verhalten dem Erythrophlein sehr ähnlich war.

¹⁾ 3. Mitt. Helv. **23**, 753 (1940).

²⁾ 1. Mitt. Helv. **22**, 1497 (1939); 2. Mitt. Helv. **22**, 1516 (1939); 3. Mitt. Helv. **23**, 753 (1940).

³⁾ *G. Dalma*, Atti X. Congr. Intern. Chim. Roma. Vorgetragen am 19. Mai 1938.

⁴⁾ *Adamsonia* X, 105.

⁵⁾ *N. Gallois* und *E. Hardy*, J. pharm. chim. **24**, 25 (1876); Bl. [2] **26**, 39 (1876).

Die Rinde des Baumes wurde zuerst von *Laborde*¹⁾ im Jahre 1907 untersucht. Er konnte dabei eine krystallisierte, angeblich wasserlösliche Base isolieren, die ein ebenfalls krystallisiertes Hydrochlorid lieferte. *Laborde* unterliess es, sein Alkaloid näher zu charakterisieren und beschränkte sich darauf, einige qualitative Reaktionen anzustellen. Er äusserte die Vermutung, dass es sich wiederum um das Erythrophlein von *Gallois* und *Hardy* handle. Die Ausbeute belief sich auf etwa 0,5 % der Rinde.

Der eine von uns²⁾ machte im Jahre 1938 eine vorläufige Mitteilung über die Untersuchung der nämlichen Rinde, die von der Insel Madagaskar³⁾ stammte. Zur Alkaloidgewinnung wurde damals das mit dem halben Eigengewicht an 10-proz. Ammoniak befeuchtete Rindenpulver erschöpfend mit Äther extrahiert. Dem eingeeengten und mit verdünnter Kalilauge gewaschenen Ätherextrakt wurden die Gesamtalkaloide mit verdünnter Salzsäure entzogen. Nach Alkalizusatz wurde dann die wässrige Alkaloidlösung abermals ausgeäthert. Aus der gewaschenen Ätherlösung konnte nach Einengen eine Base zur Krystallisation gebracht werden, die nach wiederholtem Umkrystallisieren aus Äther bei 147° schmolz und eine spezifische Drehung von $-70,8^\circ$ aufwies. Das ebenfalls krystalline Hydrochlorid schmolz bei 205°. Für das neue Alkaloid wurde der Name Coumingin und die Formel $C_{28}H_{45}O_6N$ vorgeschlagen. Aus den ätherischen Mutterlaugen des Coumingins konnte nach weiterem Einengen durch Ausfrieren eine zweite Base abgeschieden werden, das amorphe Coumingain, dessen Hydrochlorid gleichfalls amorph war. Das Coumingain besass in Alkohol eine spezifische Drehung von $-64,5^\circ$ und entsprach scheinbar der Zusammensetzung $C_{32}H_{51}O_8N$; es müsste noch allerdings überprüft werden, ob es sich dabei tatsächlich um eine einheitliche Substanz gehandelt hat.

Wir haben die Extraktion der Coumingarinde — wie im experimentellen Teil näher beschrieben wird — jetzt in gleicher Weise vorgenommen. Es zeigte sich aber nun, dass man das Coumingin durch blosses Umkrystallisieren aus Äther nicht völlig frei von Begleitstoffen erhalten kann. Daher versuchten wir, das aus Äther gewonnene Roh-Coumingin aus Aceton-Wasser umzukrystallisieren, doch auch so wurde das Ziel nicht erreicht. Als wir jedoch anschliessend an die Aceton-Wasserreinigung eine chromatographische Trennung des Alkaloidgemisches vornahmen, gelang es uns schliesslich, das Coumingin nach Umkrystallisieren aus Äther völlig rein zu erhalten.

Das reine Coumingin krystallisiert aus Äther in Form von dünnen, meist zu Gruppen vereinigten, sehr leichten, brüchigen, schneeweissen,

1) *M. Laborde*, Ann. Mus. Coll. Marseille [2] 5, 305 (1907).

2) *G. Dalma*, l. c.

3) Aus der Gegend von Majunga.

glänzenden Nadelchen, die bei 142° scharf schmelzen¹⁾ und bei der Mischprobe mit dem bei $142,5^{\circ}$ schmelzenden Cassain eine starke Schmelzpunktserniedrigung zeigen. Die Bruttoformel $C_{28}H_{45}O_6N$ konnte bestätigt werden. Die Base ist in Wasser und in Petroläther praktisch unlöslich, während sie leicht von Methanol, Äthanol, Aceton, Essigester, Benzol und Chloroform aufgenommen wird. In Äther ist reines Coumingin relativ schwer löslich, weswegen sich dieses Lösungsmittel zum Umkrystallisieren besonders gut eignet. Während das Coumingin fast denselben Schmelzpunkt wie das Cassain besitzt, sind die Werte für die spezifische Drehung von Cassain ($[\alpha]_D^{20} = -111^{\circ}$) und Coumingin ($[\alpha]_D^{20} = -70^{\circ}$) ziemlich verschieden. Was die Farbreaktionen anbelangt, so gibt Coumingin mit konz. Schwefelsäure überhaupt keine Färbung, während das Cassain mit diesem Reagens eine citronengelbe und das Cassaidin eine orange Färbung zeigt. Mit Vanadin-Schwefelsäure gibt das Coumingin, ähnlich dem Cassain, eine blassgrüne, lange bestehende Färbung, während das Cassaidin intensiv himbeerrot wird. Mit Jodeosin als Indikator gibt das Coumingin bei der Titration keinen scharfen Farbumschlag; am besten eignet sich noch das Dimethylgelb als Indikator für diese Base.

Das reine Coumingin-hydrochlorid (Smp. 195°) krystallisiert aus Alkohol-Äther ohne Krystallwasser; es ist in Alkohol und Wasser leicht löslich.

Es erwies sich als unmöglich, vom reinen Coumingin ein Acetylderivat zu erhalten; sämtliche Versuche, die wir an der chromatographisch gereinigten Base in dieser Richtung vornahmen, verliefen bisher erfolglos. Hingegen gelang es uns aus dem nicht gereinigten Alkaloid ein Monoacetyl-Derivat vom Smp. $154-155^{\circ}$ herzustellen. Die Analyse der Verbindung entsprach genau der Zusammensetzung $C_{30}H_{47}O_7N$ für Acetyl-coumingin. Da es sich um ein neutrales Produkt handelt, liegt wahrscheinlich ein N-Acetyl-Derivat vor, dessen Bildung aus Coumingin nicht möglich ist, da im letzteren eine tertiäre Base vorliegt, wie weiter unten gezeigt wird. Das Acetyl-Derivat muss daher aus einem Begleitalkaloid des Coumingins gebildet worden sein²⁾.

Durch Darstellung des Coumingin-monoxims (Smp. 165°) konnte die Anwesenheit einer Carbonylgruppe nachgewiesen und somit die

¹⁾ Unreine Coumingin-Präparate schmelzen etwas höher. Durch fraktionierte Krystallisation des Roh-Coumingins lassen sich höher schmelzende Begleitalkaloide anreichern (Smp. bis 155°), über die später berichtet werden soll. Das alte, bei 147° schmelzende Präparat enthielt möglicherweise solche Beimengungen.

²⁾ Anmerkung bei der Korrektur: Das von uns erhaltene Acetyl-Derivat vom Smp. $154-155^{\circ}$ gab bei der Mischprobe mit dem fast gleichschmelzenden Acetyl-Derivat einer von Dr. E. Schlittler (Ciba, Basel) aus Couminga-Rinde erhaltenen Base keine Schmelzpunktserniedrigung. Die genaue Prüfung der Identität beider Verbindungen wird später erfolgen. Bei dem von Dr. Schlittler auf anderem Wege angereicherten Alkaloid handelt es sich um eine sekundäre, mit dem in dieser Mitteilung beschriebenen Coumingin nicht identische Base.

Funktion eines zweiten Sauerstoffatoms aufgeklärt werden. Bei der Auswertung des U.V.-Absorptionsspektrums des Coumingins (vgl. Fig. A, Kurve 1) lässt sich eine leichte Inflexion in der Absorptionskurve bei etwa 2850 Å nachweisen, die vielleicht ebenfalls diese Carbonylgruppe andeutet; viel deutlicher trat die für Carbonylgruppen charakteristische Absorptionsbande mit einem Maximum bei etwa 2870 Å ($\log \varepsilon = 1,57$) nach Hydrierung der im Coumingin enthaltenen Doppelbindung in Erscheinung (vgl. Kurve 2). Das Maximum der Kurve 1 bei 2250 Å ($\log \varepsilon = 4,26$) erlaubt die sehr wahrscheinliche Annahme, dass sich die Doppelbindung in α, β -Stellung zu einer Estergruppe befindet, ganz ähnlich wie es auch bei den übrigen bisher untersuchten Erythrophleum-Alkaloiden der Fall war. Nach der katalytischen Hydrierung verschwindet dieses Maximum, wie Kurve 2 (Dihydro-coumingin) zeigt. Das durch katalytische Hydrierung erhaltene Dihydro-coumingin, $C_{28}H_{47}O_6N$, konnte aus Äther kristallisiert erhalten werden. Smp. 95—96°; $[\alpha]_D^{20} = +8^\circ$. Das aus der Dihydrobase hergestellte Hydrochlorid ist in Wasser und Alkohol leicht löslich und schmilzt bei 160—162°.

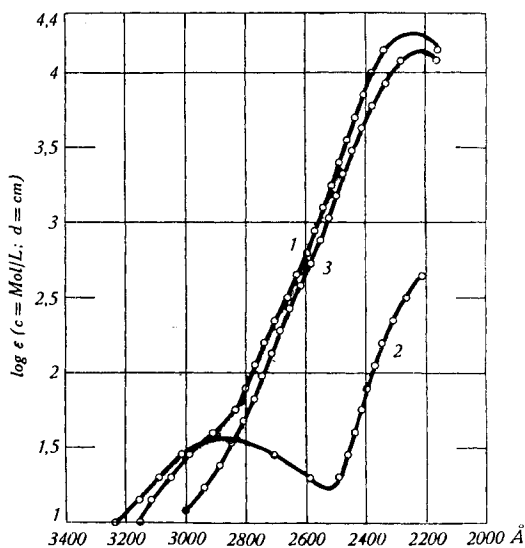
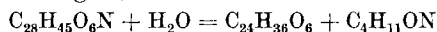


Fig. A.

Durch anhaltendes Erwärmen mit 0,5-n. Schwefelsäure liess sich das Coumingin in eine krystalline Säure von der Zusammensetzung $C_{24}H_{36}O_6$, die wir Couminginsäure nennen wollen, und Dimethylamino-äthanol zerlegen, welch letzteres nach Zusatz von Kalilauge durch Destillation mit Wasserdampf isoliert und als Chloraurat identifiziert wurde. Die saure Spaltung des Coumingins verläuft also im Sinne der Gleichung:



Couminginsäure schmilzt bei 200°, besitzt eine spez. Drehung von -81° und gibt einen Methylester vom Smp. 217—218°, der eine spezifische Drehung von -83° aufweist. Aus dem Methylester konnte ohne weiteres ein Monoxim vom Smp. 124—125° erhalten werden. Eine Acetylierung der Couminginsäure bzw. ihres Esters war nicht durchführbar. Man macht somit die gleiche Erfahrung, wie beim Coumingin selbst.

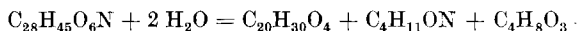
Das U. V.-Absorptionsspektrum der Couminginsäure (vgl. Kurve 3) lässt ebenso wie jenes des Coumingins, das für α , β -unge-sättigte Carboxylverbindungen charakteristische Maximum bei 2220 Å ($\log \varepsilon = 4,15$) erkennen, woraus sich ergibt, dass in dieser Beziehung die auf saurem Wege erhaltene Spaltsäure ebenso konstituiert ist, wie das Coumingin selbst.

Durch alkalische Verseifung mit 0,5-n. Kalilauge konnte das Coumingin weitergehend zerlegt werden als es bei der sauren Spaltung der Fall war. Beim Verdünnen des Reaktionsgemisches mit Wasser wurde aus der angesäuerten Lösung eine krystalline Säure zur Abscheidung gebracht, die nach Schmelzpunkt und Mischschmelzpunkt mit der Cassainsäure identisch befunden wurde. Auch die spezifische Drehung war völlig gleich ($[\alpha]_D^{20} = -122^\circ$). Ebenso waren der Methylester und sein Acetylderivat nach Schmelzpunkt und Mischprobe mit den entsprechenden Derivaten der aus Cassain gewonnenen Cassainsäure identisch¹⁾. Zur weiteren Sicherung dieses Ergebnisses wurde die bei der alkalischen Verseifung des Coumingins erhaltene Spaltsäure durch Chromsäure zur entsprechenden Dehydrosäure, $C_{20}H_{28}O_4$, oxydiert, die ihrerseits mit der aus Cassainsäure gewonnenen Diketo-cassensäure verglichen und identisch befunden wurde; schliesslich ist der Vergleich mit demselben positiven Ergebnis auch noch auf die entsprechenden Methylester ausgedehnt worden²⁾.

¹⁾ Es gelang uns dann auch, aus den verschiedenen Mutterlaugen, die beim Umkry-stallisieren der durch saure Spaltung gewonnenen Couminginsäure anfallen, eine gewisse Menge Cassainsäure zu isolieren, wie im experimentellen Teil näher beschrieben wird.

²⁾ Das Ergebnis der alkalischen Spaltung des Coumingins war insofern überraschend, als dabei Cassainsäure und nicht Allo-cassainsäure erhalten wurde. Über die besonderen Versuchsbedingungen, deren Einhaltung zum Gelingen der Allomerisierung notwendig erscheint, soll in einer späteren Mitteilung berichtet werden. Das von uns aus Coumingin erhaltene Cassainsäure-Präparat schmolz bei 223—224° und gab mit der gleichschmel-zenden Allo-cassainsäure (aus Cassain gewonnen; vgl. Helv. **22**, 1508 (1939)) bei der Mischprobe eine Schmelzpunkterniedrigung von etwa 35°. Es ist uns nun gelungen, auch aus Cassain auf alkalischem Wege und unter Beobachtung der nämlichen Versuchsbedingungen ebenfalls Cassainsäure anstelle der Allo-cassainsäure zu erhalten. Auch dieses Präparat schmolz scharf bei 223—224°. Wir stellten ferner fest, dass ein altes, durch saure Spaltung aus Cassain hergestelltes Präparat der Cassainsäure, dessen Schmelzpunkt seinerzeit im offenen Röhrchen zu 203° bestimmt worden war (vgl. Helv. **22**, 1508 (1939)), jetzt ebenfalls den Schmelzpunkt von 223—224° aufweist. (Alle hier erwähnten Schmelz-punkte wurden im evakuierten Röhrchen bestimmt.)

Da auch bei der alkalischen Verseifung des Coumingins die Entstehung von Dimethylamino-äthanol beobachtet wurde, ergibt sich aus dem bisher gesagten, dass die alkalische Spaltung im Sinne der nachstehenden Gleichung verläuft:



Zur Bestätigung dieses Sachverhaltes wurde auch die durch saure Spaltung gewonnene Couminginsäure, $\text{C}_{24}\text{H}_{36}\text{O}_6$, ihrerseits der alkalischen Verseifung unterworfen, wobei tatsächlich wieder Cassainsäure erhalten wurde. Es ergibt sich daraus, dass Couminginsäure ein Cassainsäure-Derivat ist, in welchem eine Hydroxylgruppe mit einer Säure $\text{C}_4\text{H}_8\text{O}_3$ verestert ist. Wir sind z. Zt. mit der Reindarstellung und Identifizierung dieser niedrig-molekularen Spaltsäure beschäftigt und werden demnächst über das Untersuchungsergebnis berichten.

Zusammenfassend kann gesagt werden, dass im Coumingin ein Ester des Cassains mit einer Säure von der Zusammensetzung $\text{C}_4\text{H}_8\text{O}_3$ vorliegt. Das in seiner Funktion noch nicht gesicherte sechste Sauerstoffatom der Coumingin-Molekel ist in diesem Säure-Rest enthalten.

Der *Rockefeller Foundation* in New York und der *Gesellschaft für Chemische Industrie* in Basel danken wir für die Unterstützung dieser Arbeit.

Experimenteller Teil¹⁾.

Bestimmung der Gesamtalkaloide.

20 g Rindenpulver wurden mit 12 cm³ 10-proz. Ammoniak durchfeuchtet, mit 60 cm³ Äther energisch durchgeschüttelt und über Nacht stehen gelassen. Sodann wurde der Äther abdekantiert und durch 30 cm³ frischen Äther ersetzt. Die Extraktion wurde auf diese Weise bis zur Erschöpfung der Droge wiederholt. Die vereinigten Ätherauszüge wurden bis auf etwa 50 cm³ eingengt und mit verdünnter Natronlauge im Scheidetrichter gewaschen. Dann wurden die Gesamtalkaloide dem Äther durch wiederholtes Ausschütteln mit schwefelsäurehaltigem Wasser entzogen. Die so erhaltene wässrige Alkaloid-Sulfatlösung wurde abermals alkalisch gemacht und daraufhin erschöpfend mit Äther extrahiert. Die über Natriumsulfat getrocknete ätherische Alkaloidlösung wurde nun stark eingengt und schliesslich in einem tarierten Glasschälchen an der Luft verdunsten gelassen. Es wurden 0,117 g eines firnisartigen, durchsichtigen Rückstandes erhalten, entsprechend einer Ausbeute an Gesamtalkaloiden von 0,59% der Rinde.

Aufarbeitung der Rinde.

10 kg des Rindenpulvers wurden mit 5 Liter 10-proz. Ammoniak durchfeuchtet und erschöpfend mit Äther extrahiert. Die vereinigten Ätherauszüge wurden auf insgesamt 2 Liter eingengt und im Scheidetrichter wiederholt mit verdünnter Kalilauge gewaschen, wodurch beträchtliche Mengen von Verunreinigungen abgeschieden werden konnten. Der Ätherlösung wurden nun die Gesamtalkaloide durch wiederholtes Ausschütteln mit 1-n. Salzsäure entzogen. Die vereinigten wässrigen Alkaloidlösungen wurden zweimal im Scheidetrichter mit Äther gewaschen, dann alkalisch gemacht und erschöpfend

¹⁾ Alle Schmelzpunkte sind korrigiert.

mit Äther ausgeschüttelt. Die vereinigten Ätherlösungen wurden nochmals mit verdünnter Kalilauge gewaschen, über Natriumsulfat kurz getrocknet und schliesslich im Vakuum zur Trockene verdampft. Ausbeute an Gesamtalkaloiden: 50,5 g.

Das auf diese Weise gewonnene, firnisartige Alkaloidgemisch wurde in etwa $\frac{1}{4}$ Liter heissem Aceton gelöst und darauf kubikzentimeterweise, unter ständigem Durchschütteln, bis zur dauernden Trübung mit warmem Wasser versetzt. Die Lösung wurde dann rasch abgekühlt und noch einige Minuten energisch geschüttelt, wobei allmählich die Abscheidung einer perlmutterglänzenden, gelblichen Krystallmasse einsetzte. Es wurde über Nacht im Eisschrank auskrystallisieren gelassen, dann an der Pumpe filtriert, mit acetonhaltigem Wasser gewaschen und scharf abgesaugt. Der gelbliche, krystalline Niederschlag wurde nochmals in etwa 200 cm³ heissem Aceton gelöst und wie das erste Mal mit Wasser ausgefällt. Nach dem Stehenlassen über Nacht wurde der entstandene, nun ziemlich weisse Niederschlag abgenutscht und bei 50° im Vakuum getrocknet. Man konnte so 11 g an Rohcoumingin erhalten (Fraktion I). Die vereinigten acetonisch-wässrigen Mutterlaugen (Fraktion II) wurden zur Gewinnung weiterer Alkaloide beiseite gestellt.

Die 11 g Rohcoumingin wurden in 44 cm³ Benzol aufgelöst, auf einer Säule aus 300 g aktiviertem Aluminiumoxyd chromatographisch adsorbiert, sodann erst mit Benzol und anschliessend daran mit einer Benzol-Äther-Mischung 1:1 fraktioniert eluiert. Mit reinem Benzol konnten bloss sehr geringe Mengen Coumingin erhalten werden, während die Hauptmenge (7,94 g) an ebenso reiner Base bei Verwendung der Benzol-Äther-Mischung eluiert wurde. Bei der anschliessenden Behandlung mit reinem Äther liess sich nichts mehr aus der Säule herauslösen, hingegen wohl mit Aceton, welches nach dem Eindampfen 2,45 g eines gelblichen Pulvers hinterliess, das bisher nicht näher untersucht wurde. Jedenfalls enthielt diese Acetonfraktion kein Coumingin, da das Pulver in Äther völlig unlöslich war.

Das mit Benzol und Benzol-Äther eluierte Coumingin wurde wiederholt aus Äther umkrystallisiert, wobei schon nach der ersten Krystallisation der konstante Smp. von 142° erhalten wurde. Beim Vermischen mit dem bei 142,5° schmelzenden Cassain ergab sich eine Schmelzpunkterniedrigung. Die schneeweissen Krystallnadelchen wurden zur Analyse bei 80° im Hochvakuum bis zur Gewichtskonstanz getrocknet.

3,523 mg Subst. gaben 8,84 mg CO₂ und 2,92 mg H₂O

7,070 mg Subst. gaben 0,171 cm³ N₂ (18°, 728 mm)

C₂₈H₄₅O₆N Ber. C 68,40 H 9,23 N 2,85%

Gef. „ 68,48 „ 9,27 „ 2,72%

$[\alpha]_D^{20} = -70^\circ (\pm 1^\circ)$ (in 95-proz. Äthylalkohol; c = 1)

Coumingin-hydrochlorid.

200 mg Coumingin wurden in 5 cm³ Alkohol gelöst, mit alkoholischer Salzsäure neutralisiert und unter Umschwenken bis zur beginnenden Trübung mit Äther versetzt. Es wurde über Nacht krystallisieren gelassen; die erhaltenen Nadeln wurden nochmals aus Alkohol-Äther umkrystallisiert und dann im Hochvakuum bei 120° zur Gewichtskonstanz getrocknet. Smp. 195° (im Hochvakuum).

3,791 mg Subst. gaben 8,88 mg CO₂ und 2,96 mg H₂O

7,476 mg Subst. gaben 0,188 cm³ N₂ (18°, 719 mm)

7,205 mg Subst. gaben 1,986 mg AgCl

C₂₈H₄₅O₆N·HCl Ber. C 63,68 H 8,78 N 2,65 Cl 6,71%

Gef. „ 63,92 „ 8,74 „ 2,79 „ 6,82%

Negativ verlaufene Acetylierungsversuche.

a) In der Kälte. 100 mg reines Coumingin wurden in 2 cm³ Pyridin gelöst. Nach Zusatz von 2 cm³ Essigsäure-anhydrid liess man 24 Stunden bei Raumtemperatur stehen. Das Reaktionsgemisch wurde in 100 cm³ Wasser gegossen; darauf wurde die Base mit Ammoniak gefällt, abfiltriert und mit ammoniakalischem Wasser gewaschen. Die Substanz wurde wiederholt aus Äther umkrystallisiert, wobei sich der Smp. von 142° ergab. Bei der Mischprobe mit Coumingin wurde keine Schmelzpunkterniedrigung beobachtet. Die zur Analyse bei 80° im Hochvakuum getrocknete Substanz erwies sich als unverändertes Coumingin.

3,654 mg Subst. gaben 9,17 mg CO₂ und 3,04 mg H₂O

C₂₈H₄₅O₆N Ber. C 68,40 H 9,23%

Gef. „ 68,49 „ 9,31%

b) In der Wärme. Der Acetylierungsversuch ist in der Wärme wiederholt worden. Das Acetylierungsgemisch wurde 4 Stunden unter Rückflusskühlung zum Sieden erhitzt und dann ebenso aufgearbeitet, wie unter a) beschrieben. Abermals wurde unverändertes Coumingin zurückerhalten.

3,681 mg Subst. gaben 9,25 mg CO₂ und 3,08 mg H₂O

C₂₈H₄₅O₆N Ber. C 68,40 H 9,23%

Gef. „ 68,58 „ 9,36%

Acetyl-Derivat aus Roh-Coumingin.

500 mg von bloss durch wiederholtes Umkrystallisieren aus Äther gereinigtem Coumingin vom Smp. 146°, das bei der Analyse nicht einwandfrei gestimmt hatte, wurden in 5 cm³ Pyridin gelöst. Nach Zusatz von 5 cm³ Essigsäure-anhydrid liess man 24 Stunden bei Raumtemperatur stehen. Das Reaktionsgemisch wurde in 200 cm³ Wasser gegossen; daraus wurde die Base mit Ammoniak gefällt, abfiltriert und mit ammoniakalischem Wasser gewaschen. Die Substanz wurde dreimal aus Äther umkrystallisiert, wobei sich der konstante Smp. von 154—155° ergab. Zur Analyse wurde bei 80° im Hochvakuum getrocknet.

3,350; 4,125 mg Subst. gaben 8,295; 10,20 mg CO₂ und 2,675; 3,23 mg H₂O

6,908 mg Subst. gaben 0,157 cm³ N₂ (17°, 725 mm)

C₃₀H₄₇O₇N Ber. C 67,52 H 8,88 N 2,62%

Gef. „ 67,57; 67,48 „ 8,95; 8,76 „ 2,55%

Coumingin-oxim.

0,25 g Coumingin wurden in 5 cm³ Methanol gelöst, mit 5 cm³ frisch bereitetem Hydroxylamin-acetat-Reagens versetzt und 48 Stunden bei Raumtemperatur stehen gelassen. Da selbst nach Zusatz von 50 cm³ Wasser keine Trübung zu bemerken war, wurde die Lösung ammoniakalisch gemacht, wobei sich ein voluminöser, krystalliner Niederschlag bildete. Nach mehrstündigem Stehen im Eisschrank wurde dieser abgenutscht, mit Wasser ausgewaschen und wiederholt aus Äther umkrystallisiert. Smp. 165°. Zur Analyse wurde bei 110° im Hochvakuum getrocknet.

4,030; 3,948 mg Subst. gaben 9,80; 9,60 mg CO₂ und 3,32; 3,31 mg H₂O
4,333 mg Subst. gaben 0,221 cm³ N₂ (21°, 727 mm)

C ₂₈ H ₄₆ O ₆ N ₂	Ber. C 66,37	H 9,15	N 5,52%
	Gef. „ 66,36; 66,36	„ 9,22; 9,38	„ 5,67%

Katalytische Hydrierung des Coumingins.

Dihydro-coumingin. 0,8 g Coumingin wurden in 20 cm³ Eisessig gelöst und bei Raumtemperatur in Gegenwart von 120 mg Platinoyd-Katalysator mit Wasserstoff gesättigt. Die anfangs sehr rasch erfolgende Wasserstoffaufnahme war nach 20 Minuten beendet, wobei genau die für 1 Mol berechnete Menge gebunden wurde. Die vom Katalysator abfiltrierte Lösung wurde mit 150 cm³ Wasser verdünnt und daraus das Dihydro-coumingin mit Ammoniak gefällt. Nach einigem Stehen im Eisschrank wurde der Niederschlag abgenutscht, mit kaltem Wasser gewaschen und in Äther gelöst. Nach kurzem Trocknen über Natriumsulfat wurde die Lösung auf 20 cm³ eingengt und über Nacht bei -10° stehen gelassen. Die Krystalle wurden dann abgenutscht und mit kaltem Äther nachgewaschen; sie schmolzen bei 86—88°. Nach noch dreimaligem Umkrystallisieren aus Äther wurde der konstante Smp. von 95—96° erreicht. Die Substanz wurde bei 60° im Hochvakuum zur Gewichtskonstanz getrocknet.

3,551 mg Subst. gaben 8,86 mg CO₂ und 3,05 g H₂O

C ₂₈ H ₄₇ O ₆ N	Ber. C 68,12	H 9,60%
	Gef. „ 68,09	„ 9,61%

$[\alpha]_D^{20} = +8^{\circ} (\pm 1^{\circ})$ (in 95-proz. Äthylalkohol; c = 1)

Dihydro-coumingin-hydrochlorid. 500 mg Dihydro-Base wurden in 5 cm³ Alkohol gelöst und nach Zusatz der berechneten Menge alkoholischer Salzsäure bis zur bleibenden Trübung mit Äther versetzt. Die nach 24-stündigem Stehen bei -10° gebildeten Krystallnadeln wurden abgenutscht, nochmals aus Alkohol-Äther umkrystallisiert, mit Äther gewaschen und bei 130° im Hochvakuum bis zur Gewichtskonstanz getrocknet. Smp. 160—162°. Die Substanz war sehr hygroskopisch.

4,130 mg Subst. gaben 9,64 mg CO₂ und 3,34 mg H₂O

C ₂₈ H ₄₇ O ₆ N·HCl	Ber. C 63,43	H 9,13%
	Gef. „ 63,70	„ 9,05%

Saure Spaltung des Coumingins.

Couminginsäure. 2 g Coumingin wurden in 60 cm³ 0,5-n. Schwefelsäure gelöst und 6 Stunden bei aufgesetztem Rückflusskühler am siedenden Wasserbad erhitzt, wobei allmählich ein Niederschlag von krystallinem Aussehen zur Abscheidung gelangte, der nach mehrstündigem Stehen im Eisschrank abgenutscht wurde. Das Filtrat wurde nochmals 6 Stunden am Wasserbad erwärmt, wobei sich noch eine geringe Menge Niederschlag bildete. Die etwas gelblich verfärbte Substanz (insgesamt etwa 1,2 g) wurde zweimal aus Aceton-Wasser und dann noch 5-mal aus Benzol umkrystallisiert, wobei der konstante Smp. von 200° (im Hochvakuum) erreicht wurde. Zur Analyse wurde bei 100° im Hochvakuum getrocknet.

3,681 mg Subst. gaben 9,23 mg CO₂ und 2,85 mg H₂O
 $C_{24}H_{36}O_6$ Ber. C 68,54 H 8,63%
 Gef. „ 68,43 „ 8,66%

$[\alpha]_D^{20} = -81^\circ (\pm 3^\circ)$; (in 95-proz. Äthylalkohol; c = 0,65)

Methylester. 100 mg Couminginsäure vom Smp. 200° wurden mit Diazomethan verestert und wie üblich aufgearbeitet. Nach 4-maligem Umkrystallisieren aus Äther-Hexan wurde ein krystallisierter Rückstand vom konstanten Smp. 217—218° (im Hochvakuum) erhalten, der im Hochvakuum bei 110° bis zur Gewichtskonstanz getrocknet wurde.

3,577 mg Subst. gaben 9,083 mg CO₂ und 2,846 mg H₂O
 13,136 mg Subst. wurden 24 Stunden mit 0,5-n. KOH gekocht und verbrauchten
 0,613 cm³ 0,1-n. Kalilauge

$C_{25}H_{38}O_6$ Ber. C 69,09 H 8,81% Äqu.-Gew. 217,3
 Gef. „ 69,30 „ 8,90% „ 214,2

$[\alpha]_D^{20} = -83^\circ (\pm 1^\circ)$; (in 95-proz. Äthylalkohol; c = 1)

Couminginsäure-methylester-oxim. 100 mg Couminginsäure-methylester wurden in 10 cm³ des frisch bereiteten Hydroxylamin-acetat-Reagens aufgelöst, bis zum Sieden erhitzt, und 36 Stunden bei Raumtemperatur stehen gelassen. Dann wurde in 100 cm³ Wasser gegossen und der sich hierbei bildende krümelige Niederschlag abfiltriert und mit verschiedenen organischen Lösungsmitteln behandelt, jedoch ohne so ein krystallisiertes Produkt erhalten zu können. Die Substanz wurde nun in Benzol gelöst und durch eine Säule von 6 g Aluminiumoxyd filtriert. Das Oxim liess sich mit Benzol nicht eluieren, wohl aber mit Äther, aus dem es gelang, 60 mg eines krystallisierten Oxims zu gewinnen, das nach dreimaligem Umkrystallisieren aus Äther-Hexan den konstanten Smp. von 124—125° besass.

4,041 mg Subst. gaben 9,86 mg CO₂ und 3,18 mg H₂O
 7,594 mg Subst. gaben 0,205 cm³ N₂ (18°, 725 mm)
 $C_{25}H_{39}O_6N$ Ber. C 66,79 H 8,74 N 3,12%
 Gef. „ 66,59 „ 8,81 „ 3,02%

Aufarbeitung der Mutterlaugen der Couminginsäure.

Die beim Umkrystallisieren der Couminginsäure anfallenden wässrig-acetonischen und benzolischen Mutterlaugen wurden im Vakuum bei niedriger Temperatur zur Trockne verdampft. Die erhaltenen Rückstände wurden vereinigt, in Äther gelöst und zwecks leichter Verarbeitung mit Diazomethan verestert, sodann wie üblich gereinigt und zur

Trockne verdampft. Es wurden auf diese Weise 550 mg eines amorphen Estergemisches erhalten, das nach Auflösen in Benzol zur Adsorption durch eine Säule von 15 g Aluminiumoxyd filtriert wurde. Mit Benzol konnte aus der Säule nichts eluiert werden, hingegen ließen sich durch die darauffolgende Elution mit Äther drei Fraktionen erhalten. Die I. Fraktion bestand aus 170 mg einer krystallisierten Substanz, die bei 188–189° konstant schmolz und mit dem gleichschmelzenden Methylester der Cassainsäure bei der Mischprobe keine Schmelzpunktserniedrigung zeigte; dann erhielt man als zweite Fraktion 30 mg einer öligen Substanz die nicht näher untersucht wurde, während die III. Fraktion (70 mg) wiederum krystallisiert war, im Hochvakuum bei 217–218° konstant schmolz und mit dem gleichschmelzenden Methylester der Couminginsäure bei der Mischprobe keine Schmelzpunktserniedrigung ergab.

Die Spaltbase: Dimethylamino-äthanol.

Das nach Abtrennung der durch saure Spaltung von 2 g Coumingin erhaltenen Couminginsäure anfallende Filtrat wurde stark alkalisch gemacht und mit Wasserdampf bis zum Ausbleiben der alkalischen Reaktion in der übergehenden Flüssigkeit destilliert, wobei n. Salzsäure vorgelegt wurde. Das nur schwach saure Destillat wurde am Wasserbad stark eingengt und dann in einem tarierten Wägegläschen zur Trockene verdampft. Der bei 100° bis zur Gewichtskonstanz getrocknete Verdampfungsrückstand ergab eine Auswage von 0,433 g Hydrochlorid der Spaltbase. Die schwach bräunlich gefärbte Krystallmasse wurde in Wasser gelöst und im 100 cm³-Messkolben zur Marke aufgefüllt. In 25 cm³ der Lösung wurde der Chlorgehalt bestimmt.

0,1082 g Subst. gaben 0,1241 g AgCl
 $C_4H_{11}ON \cdot HCl$ Ber. Cl 28,23 Gef. Cl 28,38%

Die verbleibenden 75 cm³ der Dimethylamino-äthanol-hydrochlorid-Lösung wurden mit der berechneten Menge einer 10-proz. Gold(III)-chloridlösung versetzt und dann auf ein Volumen von wenigen Kubikzentimetern eingengt. Beim langsamen Abkühlen der Lösung bildeten sich schöne goldgelbe Nadeln, die nochmals aus Wasser umkrystallisiert wurden. Die auf der Nutsche gesammelten Krystalle liess man zum Trocknen 24 Stunden in evakuierten Exsikkator über Phosphorpentoxyd stehen. Smp. 193°. Bei der Mischprobe mit dem aus Cassain gewonnenen Dimethylamino-äthanol-chloraurat zeigte sich keine Schmelzpunktserniedrigung.

10,551 mg Subst. gaben 4,33 mg CO₂, 2,63 mg H₂O und 4,840 mg Au
 $C_4H_{12}ONCl_4Au$ Ber. C 11,19 H 2,82 Au 45,95%
 Gef. „ 11,20 „ 2,79 „ 45,87%

Alkalische Spaltung des Coumingins.

Isolierung von Cassainsäure.

2 g Coumingin wurden in 75 cm³ 95-proz. Alkohol gelöst, mit 25 cm³ n. Kalilauge versetzt und anderthalb Stunden am Wasserbad unter Rückflusskühlung zum Sieden erhitzt. Sodann wurde auf 0° abgekühlt, mit n. Salzsäure angesäuert, mit kaltem Wasser bis zur be-

ginnenden Trübung versetzt und über Nacht im Eisschrank krystallisieren gelassen. Dann wurde der Niederschlag abgenutscht, mit Wasser gewaschen, zweimal aus Aceton-Wasser und noch zweimal aus Äther umkrystallisiert, wobei der konstante Smp. von 223—224° (im Hochvakuum) erreicht wurde. Die bei 110° im Hochvakuum getrocknete Säure ergab beim Mischen mit der gleichschmelzenden, aus Cassain hergestellten Allo-cassainsäure eine Schmelzpunktserniedrigung von 35°, während die Mischprobe mit der ebenfalls gleichschmelzenden, aus Cassain hergestellten Cassainsäure keine Schmelzpunktserniedrigung zeigte.

3,737 mg Subst. gaben 9,85 mg CO₂ und 3,05 mg H₂O

C₂₀H₃₀O₄ Ber. C 71,82 H 9,04%

Gef. „ 71,93 „ 9,13%

$[\alpha]_D^{20} = -123^{\circ} (\pm 1^{\circ})$ (in 95-proz. Äthylalkohol; c = 1)¹⁾

Methylester. 100 mg der Säure wurden in wenig Äthanol gelöst und mit Diazomethan verestert. Die Lösung wurde sodann im Vakuum zur Trockne verdampft, der hinterbliebene Rückstand in Äther aufgelöst, im Scheidetrichter mit Natriumbicarbonatlösung gewaschen und kurz über Natriumsulfat getrocknet. Die Ätherlösung wurde wieder zur Trockne verdampft und der Rückstand zweimal aus Methanol-Wasser und zweimal aus Äther umkrystallisiert, wobei der konstante Smp. von 188—189° erreicht wurde. Bei der Mischprobe mit dem gleichschmelzenden Vergleichspräparat aus der Cassainreihe konnte keine Schmelzpunktserniedrigung beobachtet werden. Zur Analyse wurde bei 110° im Hochvakuum getrocknet.

3,730 mg Subst. gaben 9,89 mg CO₂ und 3,12 mg H₂O

5,207 mg Subst. verbrauchten 4,621 cm³ 0,2-n. Na₂S₂O₃

C₂₁H₃₂O₄ Ber. C 72,38 H 9,26 OCH₃ 8,91%

Gef. „ 72,36 „ 9,36 „ 9,18%

$[\alpha]_D^{20} = -124^{\circ} (\pm 2^{\circ})$; (in 95-proz. Äthylalkohol; c = 1)²⁾

Acetylderivat des Methylesters. 100 mg des obigen Methylesters wurden in 2 cm³ Pyridin gelöst, mit 3 cm³ Essigsäure-anhydrid versetzt und über Nacht stehen gelassen. Das Reaktionsgemisch wurde in 100 cm³ Wasser gegossen, wobei ein krystallisierter Niederschlag zur Fällung gelangte, der viermal aus Methanol-Wasser umkrystallisiert wurde, wobei man den konstanten Smp. von 150°³⁾ erreichte. Es wurde zur Analyse bei 80° im Hochvakuum getrocknet.

3,687 mg Subst. gaben 9,563 mg CO₂ und 2,894 mg H₂O

C₂₃H₃₄O₅ Ber. C 70,74 H 8,78%

Gef. „ 70,78 „ 8,79%

¹⁾ Das Vergleichspräparat aus der Cassainreihe zeigte die gleiche spez. Drehung von -122°.

²⁾ Das Vergleichspräparat aus der Cassainreihe zeigte die gleiche spez. Drehung von -125°.

³⁾ In der ersten Mitteilung dieser Reihe (Helv. **22**, 1509 (1939)) ist der Schmelzpunkt des Acetyl-cassainsäure-methylesters irrtümlich zu 189—191° angegeben worden; es soll dort 149—151° heissen.

Diketo-cassensäure aus Coumingin.

500 mg der auf alkalischem Wege aus Coumingin erhaltenen Säure $C_{20}H_{30}O_4$ wurden in 5 cm³ Eisessig gelöst und mit einer 10-proz. Lösung von Chromtrioxyd in Eisessig tropfenweise versetzt, wobei man die Temperatur zwischen 35 und 40° hielt. Nach Zusatz von 1 Mol Chromtrioxyd wurde die Lösung auf Zimmertemperatur abgekühlt und nach Zugabe von noch $\frac{1}{2}$ Mol Chromsäurelösung über Nacht stehen gelassen. Dann goss man das Reaktionsgemisch in das 5-fache Volumen Wasser und liess 3 Stunden im Eisschrank stehen. Der zur Abscheidung gelangte krystalline Niederschlag wurde abgenutscht, mit Wasser gewaschen, zweimal aus Aceton-Wasser, zweimal aus Äther umkrystallisiert und schliesslich bei 120° im Hochvakuum zur Gewichtskonstanz getrocknet. Es wurden so 350 mg Diketo-cassensäure vom Smp. 249° (im Hochvakuum) erhalten¹⁾. Die zum Vergleiche genau so hergestellte und gereinigte Diketo-cassensäure aus Cassain besass denselben Schmelzpunkt und ergab bei der Mischprobe keine Schmelzpunktserniedrigung.

$$\begin{array}{rcl}
 4,220 \text{ mg Subst. gaben } 11,18 \text{ mg CO}_2 \text{ und } 3,22 \text{ mg H}_2\text{O} \\
 C_{20}H_{28}O_4 & \text{Ber. C } 72,26 & \text{H } 8,49\% \\
 & \text{Gef. „ } 72,30 & \text{„ } 8,54\% \\
 [\alpha]_D^{20} = -152^\circ (\pm 2^\circ); & \text{(in 95-proz. Äthylalkohol; } c = 1)
 \end{array}$$

Methylester. 200 mg der Säure wurden in 2 cm³ Methanol gelöst und nach Zusatz von 0,1 cm³ konz. Schwefelsäure anderthalb Stunden unter Rückflusskühlung zum Sieden erhitzt. Die erkaltete Lösung wurde mit 50 cm³ Äther verdünnt und im Scheidetrichter wiederholt mit Natriumbicarbonatlösung gewaschen. Die erhaltene Ätherlösung wurde dann im Vakuum zur Trockne verdampft und der erhaltene Rückstand zweimal aus Methanol-Wasser und zweimal aus Aceton-Hexan umkrystallisiert. Die so erhaltenen prächtigen langen Nadeln schmolzen bei 132—133° und stimmten sowohl im Aussehen als bezüglich Schmelzpunkt mit den Vergleichspräparaten aus der Cassain- und der Cassaidinreihe völlig überein; bei den Mischproben ergaben sich keine Schmelzpunktserniedrigungen.

$$\begin{array}{rcl}
 4,179 \text{ mg Subst. gaben } 11,17 \text{ mg CO}_2 \text{ und } 3,27 \text{ mg H}_2\text{O} \\
 C_{21}H_{30}O_4 & \text{Ber. C } 72,80 & \text{H } 8,73\% \\
 & \text{Gef. „ } 72,94 & \text{„ } 8,76\% \\
 [\alpha]_D^{20} = -156^\circ (\pm 2^\circ); & \text{(in 95-proz. Äthylalkohol; } c = 1)^2)
 \end{array}$$

¹⁾ Für Diketo-cassensäure ist früher (vgl. Helv. **22**, 1509 (1939); Helv. **23**, 762 (1940)) ein Schmelzpunkt von 238—240° angegeben worden; durch weitere Reinigung konnten nun auch diese ältern Vergleichspräparate auf den Schmelzpunkt 249° gebracht werden. Auch die Methylester dieser aus Cassain und Cassaidin entstandenen Diketo-cassensäure-Präparate schmolzen jetzt bei 132—133° statt wie früher bei 129—130°.

²⁾ Das aus der Cassainreihe stammende Vergleichspräparat wies ein $[\alpha]_D^{20}$ von $-154^\circ (\pm 2^\circ)$ auf.

Alkalische Verseifung der Couminginsäure.

50 mg Couminginsäure wurden in 6 cm³ Alkohol gelöst und nach Zusatz von 4 cm³ n. Kalilauge anderthalb Stunden bei aufgesetztem Rückflusskühler zum Sieden erhitzt. Dann wurde der Alkohol im Vakuum weggedampft und der wässrige Rückstand nach Ansäuern mit Schwefelsäure im Scheidetrichter wiederholt mit Äther extrahiert. Die vereinigten Ätherauszüge wurden mit Wasser gewaschen, eingengt, mit Diazomethan verestert und wie üblich gereinigt. Aus der Ätherlösung konnte der bei 188—189° schmelzende Methyl ester der Cassainsäure erhalten werden, der bei der Mischprobe mit dem Vergleichspräparat keine Depression ergab.

Die Analysen wurden in unserer mikroanalytischen Abteilung (Leitung Hs. Gubser) ausgeführt.

Organisch-chemisches Laboratorium der
Eidg. Technischen Hochschule, Zürich.

8. Über Steroide und Sexualhormone.

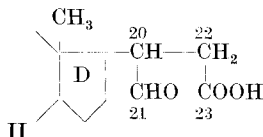
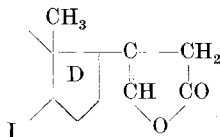
(66. Mitteilung¹⁾).

Herstellung von Lactonen vom Typus der Digitalis-Genine

von L. Ruzicka, T. Reichstein und A. Fürst.

(28. XII. 40.)

Die Aglucone der meisten pflanzlichen Herzgifte der Steroidreihe weisen als charakteristisches Merkmal am Kohlenstoffatom 17 eine ungesättigte γ -Lacton-Gruppierung auf, die durch nachstehende Teilformel I veranschaulicht wird.



Die Doppelbindung im Lactonring befindet sich in β, γ -Stellung zur Carbonylgruppe, und man hat es daher eigentlich mit Enol-lactonen der entsprechenden Aldehydsäuren (II) zu tun. Zu dieser Gruppe von Stoffen gehören die Aglucone der Digitalis- und Strophanthus-Glucoside, die 23 Kohlenstoffatome aufweisen und somit als Derivate der Nor-cholansäure betrachtet werden können. Anders gebaut sind die Aglucone der Scilla-Glucoside mit 24 Kohlenstoffatomen und gewisse Krötengifte, die in Stellung 17 einen zweifach

¹⁾ 65. Mitt. Helv. **23**, 1518 (1940).