

43. Tetrahydro-nicotinsäure und Hexahydro-nicotinsäure als Wachstumsfaktoren bei *Staphylococcus aureus* und *Bacillus Proteus vulgaris*

von H. v. Euler, B. Högberg, P. Karrer, H. Salomon und H. Ruckstuhl.

(8. II. 44.)

Bei Gelegenheit chemischer Arbeiten mit Guvacin, d. h. 1,2,5,6-Tetrahydro-nicotinsäure-(3) haben wir deren Verhalten zu Mikroorganismen (*Staphylococcus aureus* und *Bacillus Proteus vulgaris*) und zu Fermentsystemen (Apocymase-Gärung und Oxydasen in Leber- und Nierengewebe) einer Prüfung unterzogen. Diese Versuche wurden dann auch auf die Hexahydro-nicotinsäure und N-Methyl-tetrahydro-nicotinsäure (Arecaidin) ausgedehnt.

Nicotinsäure-amid bzw. Nicotinsäure ist bekanntlich ein notwendiger Wachstumsfaktor für viele Mikroorganismen, z. B. Diphtheriebazillen¹⁾, Dysenteriebazillen²⁾, *Bacillus Proteus*³⁾, *Staphylococcus aureus*⁴⁾, Milchsäurebakterien⁵⁾ usw. Es bot daher Interesse, zu untersuchen, ob Nicotinsäure als Wachstumsfaktor bei diesen Mikroorganismen durch Tetra- bzw. Hexahydro-nicotinsäure ersetzt werden kann.

Wie die nachfolgenden Protokolle erkennen lassen, ist dies in weitgehendem Masse der Fall. Man wird daher die Annahme machen müssen, dass die geprüften Bakterien die Fähigkeit besitzen, Guvacin und Hexahydro-nicotinsäure zu dehydrieren und in die für den Aufbau der Cozymase notwendige Nicotinsäure überzuführen.

Die Wachstumswirkung der 1,2,5,6-Tetrahydro-nicotinsäure-(3) (Guvacin) für *Staphylococcus aureus* und *Bacillus Proteus vulgaris* steht derjenigen der Nicotinsäure nicht nach (Tabellen 1 und 2). Hier scheint somit die Dehydrierung der Tetrahydroverbindung bemerkenswert leicht zu erfolgen. Die Wachstumswirkung der Hexahydro-nicotinsäure setzt dagegen etwas später ein und wird erst am zweiten Versuchstag gleich stark wie diejenige der Nicotinsäure und Tetrahydro-nicotinsäure (Tabellen 3 und 4). Die Dehydrierung des Hexahydroderivates gelingt den Bakterien etwas weniger leicht als diejenige der Tetrahydroverbindung, was mit dem chemischen Verhalten solcher Stoffe in Übereinstimmung steht.

¹⁾ J. H. Mueller, *J. Bact.* **34**, 429 (1937); *J. Biol. Chem.* **120**, 219 (1937).

²⁾ S. A. Koser, A. Dorjman, F. Saunders, *Proc. Soc. exptl. Biol. Med.* **38**, 311 (1938); *Science* **90**, 544 (1939).

³⁾ P. Fildes, *Brit. J. Exptl. Path.* **19**, 239 (1938).

⁴⁾ Knight, *Bioch. J.* **31**, 741 (1937). — M. Landy, *Nature* **142**, 618 (1938). — Knight, *Mc. Ilwain, Bioch. J.* **32**, 1241 (1938).

⁵⁾ Snell, Strong, Peterson, *Am. Soc.* **60**, 2825 (1938).

N-Methyl-tetrahydro-nicotinsäure (Arecaidin) ist auf *Staphylococcus aureus* und *Proteus vulgaris* ohne Wirkung (Tabelle 5). Dies war zu erwarten, da eine Dehydrierung zur Nicotinsäure ohne Entmethylierung hier nicht möglich ist.

Das vollkommen gleichartige Verhalten von Nicotinsäure und Tetrahydro-nicotinsäure gegenüber *Staphylococcus aureus* geht weiterhin daraus hervor, dass Sulfanilsäure auf diesen Mikroorganismus in einer synthetischen Nährlösung die gleiche bakteriostatische Wirkung ausübt, gleichgültig, ob die Nährlösung Nicotinsäure-amid oder Tetrahydro-nicotinsäure enthält. In beiden Fällen wird die bakteriostatische Wirkung der Sulfanilsäure in normaler Weise durch p-Aminobenzoessäure aufgehoben (Tabelle 6).

*Erlenmeyer*¹⁾ hat gezeigt, dass in einer Nährlösung, die Nicotinsäure enthält, Pyridin- β -sulfonsäure bei *Staphylococcus aureus* wachstumshemmenden Einfluss ausübt. Dieselbe antagonistische Wirkung der Pyridinsulfonsäure lässt sich feststellen, wenn der Nährlösung statt Nicotinsäure Tetrahydro-nicotinsäure zugesetzt wurde (Tabelle 7).

Im Gärungsversuch mit Apozymase + Cozymase hemmt Tetrahydro-nicotinsäure in gleicher Weise wie Nicotinsäure (Tabelle 8). Durch eine zweistündige Inkubation von Tetrahydro-nicotinsäure mit Apozymase geht die Hemmungswirkung auf Null zurück; wird Nicotinsäure in gleicher Weise 2 Stunden inkubiert, so wird die Hemmungswirkung erheblich vermindert.

Hexahydro-nicotinsäure hemmt die Gärung mit Apozymase + Cozymase nicht und durch Inkubation mit Apozymase ändert sich daran nichts.

Es schien nicht unmöglich, dass die Tetrahydro-nicotinsäure durch gärende Hefe zur Hexahydrostufe reduziert werden könnte. Im präparativen Masstab durchgeführte Versuche geben aber dafür keinen Anhaltspunkt. Die der Gärlösung zugesetzte Tetrahydro-nicotinsäure liess sich nach Ablauf der Gärung unverändert zurückgewinnen und Hexahydro-nicotinsäure konnten wir nicht nachweisen.

Schliesslich haben wir auch noch untersucht, ob frischer Schweine-Leber- und Nierenbrei Fermente enthält, die Tetrahydro-nicotinsäure zu dehydrieren vermögen. Die Versuche wurden in der *Warburg*-Apparatur manometrisch verfolgt. Eine vermehrte Sauerstoffaufnahme fand jedoch nicht statt, wenn dem Nieren- bzw. Leberbrei Tetrahydro-nicotinsäure zugesetzt worden war.

Zahlreiche Versuche, Guvacinamid (1,2,5,6-Tetrahydro-pyridin-3-carbonsäure-amid) darzustellen, um es mit Nicotinsäure-amid vergleichen zu können, führten bisher nicht zum Ziel. So gelang es uns

¹⁾ Helv. 25, 249 (1942).

nicht, Guvacin mittels Thionylchlorid oder Phosphorpentachlorid in Acetylchloridlösung in Guvacinchlorid überzuführen und letzteres mit Ammoniak in das Amid umzusetzen.

Ebensowenig konnte aus Guvacin-methylester mit flüssigem Ammoniak und mit methanolischem, bei -10° gesättigtem Ammoniak Guvacinamid gewonnen werden. Es entstanden Stickstoff-reichere Verbindungen, die sich nicht rein isolieren liessen.

N-Nitrosoguvacin-methylester wurde durch flüssiges Ammoniak in N-Nitroso-4-amino-piperidin-3-carbonsäure-amid verwandelt, eine krystallisierte Verbindung vom Smp. 172° . Die Doppelbindung des Guvacins hatte somit 1 Mol Ammoniak addiert.

Wir haben weiterhin N-Carbäthoxy-guvacin dargestellt (Smp. 78°), dieses mit Thionylchlorid behandelt und das gebildete Säurechlorid mit ätherischer Ammoniaklösung umgesetzt. Dabei bildete sich N-Carbäthoxy-guvacin-amid, eine krystallisierte Substanz vom Smp. $136-137^{\circ}$. Alle Versuche, die Carbäthoxygruppe aus dieser Verbindung durch Verseifung mit Bariumhydroxyd ohne Verseifung der Amidgruppe zu eliminieren, schlugen fehl. Als einziges Reaktionsprodukt konnte Guvacin gefasst werden.

Rückstände aus der Herstellung von Arecaidin wurden dem einen von uns in freundlicher Weise von Herrn Prof. A. Stoll, Chemische Fabrik Sandoz in Basel, zur Verfügung gestellt. Dafür sprechen wir auch hier unseren verbindlichsten Dank aus. Die in dieser Untersuchung verwendeten Arecaidin- und Arecolin-Präparate wurden aus diesen Rückständen gewonnen.

Tabelle 1.
Versuche mit *Staphylococcus aureus*¹⁾.

Nicotin- säure-amid M/—	Tetrahydro- nicotinsäure M/—	Zuwachs nach	
		24 Std.	40 Std.
0	0	—	—
100 000	0	54	85
500 000	0	51	80
2 500 000	0	50	72
7 500 000	0	48	70
0	100 000	51	79
0	500 000	51	75
0	2 500 000	48	70
0	7 500 000	44	62
100 000	100 000	55	87
500 000	500 000	54	85
2 500 000	2 500 000	54	85
7 500 000	7 500 000	54	85

¹⁾ Nährlösung für *Staphylococcus aureus* siehe *Erlenmeyer*, *Helv.* **25**, 1066 (1942).

Tabelle 2.
Versuche mit *Proteus vulgaris*.

Nicotinsäure- amid Molare Konz.	Tetrahydro- nicotinsäure Molare Konz.	Zuwachs nach	
		24 Std.	48 Std.
—	—	57	97
—	—	54	96
—	—	38	78
5×10^{-6}	5×10^{-6}	52	97
$2,5 \times 10^{-6}$	$2,5 \times 10^{-6}$	50	92
$1,25 \times 10^{-6}$	$1,25 \times 10^{-6}$	29	51

Die Nährlösung für *Proteus vulgaris* bestand aus: 4,5 g KH_2PO_4 , 0,5 g $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, 0,5 g NH_4Cl , 50 cm³ 0,5-m. Natriumlactatlösung, 8,0 mg Eisen(II)-ammoniumsulfat und 8,0 mg $\text{MgSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$, — mit Wasser aufgefüllt auf 1000 cm³. p_H eingestellt auf 7,6.

Die Kultur wurde jeden zweiten Tag vom Agar auf die Nährlösung überimpft.

Testmethode: 5 cm³ Nährlösung im Reagensglas von gleichem Durchmesser mit Wasser auf 6 cm³ verdünnt. Während 30 Minuten bei 100° sterilisiert. Nach Abkühlen mit der zwei Tage alten Zwischenkultur mittels Platinöse geimpft. Wachstumstemperatur 37°.

Tabelle 3.
Versuche mit *Staphylococcus aureus*.

Nicotin- säure-amid M/—	Hexahydro- nicotinsäure M/—	Zuwachs nach	
		24 Std.	40 Std.
0	0	0	0
100 000	0	63	87
500 000	0	50	81
2 500 000	0	39	80
0	100 000	48	85
0	500 000	37	80
0	2 500 000	trübe	71
100 000	100 000	57	85
500 000	500 000	58	86
2 500 000	2 500 000	57	83

Methodik und Nährlösung wie bei den anderen Versuchen. Für jeden Versuch wurden 5 cm³ Nährlösung und 2 γ Aneurin verwandt. Mit Wasser auf 6 cm³ verdünnt.

Tabelle 4.
Versuche mit *Staphylococcus aureus*.

Nicotin- säure-amid M/—	Hexahydro- nicotinsäure M/—	Zuwachs nach	
		24 Std.	48 Std.
0	0	0	0
100 000	0	59	85
500 000	0	51	83
0	0	0	0
0	100 000	Trübung	78
0	500 000	0	74
500 000	500 000	56	84

Tabelle 5.
Versuche mit *Staphylococcus aureus*.

Nicotin- säure-amid M/—	N-Methyl- tetrahydro- nicotinsäure M/—	Zuwachs nach	
		24 Std.	40 Std.
0	0	0	0
100 000	0	67	86
500 000	0	54	82
2 500 000	0	40	80
0	100 000	Trübung	
0	500 000	0	0
0	2 500 000	0	Trübung

Methodik und Nährlösung wie bei den übrigen Versuchen. Für jeden Versuch wurden 5 cm³ Nährlösung und 2 γ Aneurin angewandt. Mit Wasser auf 6 cm³ verdünnt.

Tabelle 6.
Versuche mit *Staphylococcus aureus*.
(Sulfanilsäurewirkung bei Anwesenheit von Nicotinsäure-amid
bzw. Tetrahydro-nicotinsäure.)

Nicotin- säure-amid M/—	Tetrahydro- nicotinsäure M/—	Sulfanil- säure × 10 ⁻⁵ g/cm ³	p-Amino- benzoesäure × 10 ⁻⁵ g/cm ³	Zuwachs nach 48 Std.
—	—	—	—	0
—	—	—	16	0
100 000	—	—	—	82
100 000	—	—	16	83
100 000	—	100	—	0
100 000	—	100	16	18
100 000	—	100	80	50
100 000	—	100	160	71
100 000	—	100	1600	83
—	100 000	—	—	81
—	100 000	100	16	trübe
—	100 000	100	80	39
—	100 000	100	160	66
—	100 000	100	1600	79

Tabelle 7.
 Versuche mit *Staphylococcus aureus*.
 Antagonistische Wirkung von Pyridin-3-sulfonsäure und Nicotinsäure
 bzw. Tetrahydro-nicotinsäure.

Pyridin-3-sulfonsäure M/—	Nicotin-säure M/—	Tetrahydro-nicotinsäure M/—	Zuwachs nach 48 Std.
—	—	—	0
—	—	50 000	83
100	—	50 000	0
500	—	50 000	52
1000	—	50 000	72
5000	—	50 000	76
—	50 000	—	76
100	50 000	—	0
500	50 000	—	56
1000	50 000	—	62
5000	50 000	—	70

Substrat wie bei früheren Versuchen. Zu jeder Probe ausserdem $M \times 10^{-7}$ Aneurin. Temperatur 37°.

Tabelle 8.
 Gärungsversuche, Beeinflussung durch Nicotinsäure, Tetra- und
 Hexahydro-nicotinsäure.

Zusatz 5 mg	Hemmung %	
	direkt	nach 2 St. Inkubation
Nicotinsäure.	30 ± 2	18
Tetrahydro-nicotinsäure	30 ± 2	0
Hexahydro-nicotinsäure.	3	3

Darstellung des Guvacins, Arecaidins und Arecolins aus technischen Rückständen.

Arecaidin, Arecolin.

Die Rückstände waren eine zähe, braune Schmiere, die sich in wenig Wasser klar löste, beim Verdünnen mit mehr Wasser aber schmierige, teerige Produkte abschied. Da die Arecolin-Alkaloide in Wasser leicht löslich sind, bestand der erste Schritt darin, diese löslichen Produkte von den unlöslichen zu trennen. Es zeigte sich, dass bei den vorliegenden Rückständen eine Verdünnung mit ca. dem zehnfachen Volumen Wasser nötig war, bis nach Abscheidung der schmierigen Produkte weitere Verdünnung keine Trübung mehr hervorrief. Wir haben jeweilen 1 Liter der Originalrückstände aufgearbeitet. Um die löslichen Produkte von den zähen, teerigen Begleitstoffen zu trennen, liessen wir 1 Liter des Rohproduktes in 10 Liter Wasser durch 1 resp. 2 Tropftrichter in 5 oder 10 Liter Wasser unter gleichzeitigem starken Turbinieren einfliessen und setzten das Turbinieren so lange fort, bis sich die wässrige Lösung fast ganz geklärt hatte. An den Gefässwandungen und am Rührer setzte sich eine zähe, schwarzbraune Masse ab, von der die Lösung abdekantiert und evt. filtriert wurde. Von den Arecanuss-Alkaloiden, nämlich dem Are-

colin, Arecaidin und Guvacin, ist das Arecolin mit Wasserdämpfen leicht flüchtig, die beiden andern Alkaloide dagegen nicht. Man destillierte daher aus der wässrigen Lösung im Vakuum das Wasser so weit ab, bis insgesamt noch ca. 1 Liter wässrige Lösung vorhanden war. Das Destillat reagierte stark alkalisch; es liess sich auf Arecolin in der Weise verarbeiten, dass man mit etwas weniger als der zur Neutralisation erforderlichen Menge Salzsäure versetzte und dann im Vakuum eindampfte. Es hinterblieb eine krystalline Masse von salzsaurem Arecolin, das praktisch schon rein war.

In dem einen Liter wässrigen Rückstandes von der ersten Destillation im Vakuum waren neben beträchtlichen Mengen Schmieren nur noch Spuren Arecolin und hauptsächlich recht beträchtliche Mengen Arecaidin und bedeutend weniger Guvacin enthalten. Die wässrige Lösung wurde von eventuell vorhandenen Schmieren abgossen und 4—5-mal mit je ca. 300 cm³ Äther ausgeschüttelt. Zuletzt war der Ätherextrakt nur noch schwach gefärbt; er wurde nicht weiter verarbeitet. Die wässrige Lösung haben wir im Vakuum vom Wasser so gut wie vollständig befreit. Es hinterblieb eine zähe, pechartige Masse, die sich in ca. 1½ Liter 96-proz. Alkohol durch Kochen am Rückflusskühler in Lösung bringen liess. Nach Literaturangaben soll zwar Arecaidin in Alkohol leichter löslich sein als Guvacin, aber unter den vorliegenden Umständen erhielt man aus der alkoholischen Lösung durch Krystallisation nur Arecaidin. Die Krystallisation des Arecaidins aus dieser Lösung hing von kleinen Konzentrationsänderungen und den Begleitstoffen ab und trotz Impfens dauerte es gewöhnlich längere Zeit, bis Arecaidin auskrystallisierte. Die Lösungen dünnen nicht zu konzentriert sein und auch nicht in die Kälte gestellt werden. Nach längerem Stehen krystallisierte Arecaidin aus. Es wurde auf einer geräumigen Nutsche abgenutscht, gut abgepresst und mit 96-proz. kaltem Alkohol gewaschen, bis es fast farblos war. Man erhielt so gewöhnlich 50—80 g Arecaidin. Dasselbe liess sich durch Aufnehmen in möglichst wenig heissem Wasser, Entfärben mit etwas Tierkohle, Filtrieren der Lösung im Heisswasser-Trichter, Abkühlen und Zusatz von Alkohol leicht in reiner Form erhalten.

Guvacin.

Dieses befand sich in der alkoholischen Mutterlauge des Arecaidins. Der Alkohol wurde abdestilliert, der pechartige Rückstand in ca. ½ Liter Wasser heiss gelöst und mit Tierkohle teilweise entfärbt. Dann haben wir die wässrige Lösung mit konz. Salzsäure stark angesäuert und in einer Porzellanschale bis zu dickflüssiger Konsistenz eingedampft. Besonders nach dem Impfen mit etwas Guvacin und einigen Tagen Stehen war die bräunlich-schwärzliche Masse mit Guvacinhydrochloridkrystallen reichlich durchsetzt. Sie wurde mit Alkohol verrieben und so weit verdünnt, dass sich die Krystalle gut abnutschen liessen. Das Guvacinhydrochlorid, dem Arecaidinhydrochlorid beigemischt war, blieb nach dem Waschen mit Alkohol als grauweisse Masse zurück. Diese wurde in siedendem Wasser gelöst, die Lösung mit Tierkohle entfärbt und durch einen Heisswasser-Trichter filtriert. Dabei schied sich das Guvacinhydrochlorid, das selbst in Wasser ziemlich schwer löslich ist, teilweise ab. Dessen Menge nahm nach Zugabe von konz. Salzsäure zu dem Filtrat noch bedeutend zu. Nach einigem Stehen haben wir die ausgeschiedenen Krystalle abgenutscht, zuerst mit Salzsäure und dann mit Alkohol gewaschen. Sie waren eine Mischung von Guvacinhydrochlorid mit Arecaidinhydrochlorid. Die vollständige Reinigung des Guvacins wurde über die Nitrosoverbindung des Guvacins ausgeführt, die in Wasser sehr wenig löslich ist. Zur Darstellung der Nitrosoverbindung wog man das Gemisch der Hydrochloride, löste es in so viel Wasser, dass es in der Kälte noch gelöst blieb, setzte dann eine gesättigte Lösung mit der berechneten Menge Natriumnitrit hinzu und erwärmte hierauf ca. 15 Minuten unter Umschütteln auf dem Wasserbad. Als bald begann die Abscheidung des Nitrosoderivates. Nach dem Abkühlen wurde dieses scharf abgenutscht und mit Wasser gut gewaschen. Es war für die Weiterverarbeitung rein genug. Die Mutterlauge des zuerst abgeschiedenen Nitrosoderivates gab beim Konzentrieren noch einige weitere Krystallisationen. Das Nitrosoderivat des Guvacins färbte sich am Licht allmählich gelb.

Aus dem Nitrosoderivat konnte das reine Hydrochlorid des Guvacins leicht isoliert werden, indem man den Nitrosokörper in einem Becherglas mit konz. Salzsäure übergoss und auf dem Wasserbad vorsichtig auf ca. 50° erwärmte. Alsbald setzte lebhaft Gasentwicklung ein. Man erwärmte unter häufigem Umrühren so lange, bis diese Gasentwicklung beendet war, verdünnte etwas mit Wasser, nutschte ab und wusch zuerst mit etwas verdünnter Salzsäure, dann mit Alkohol nach. Das Guvacinhydrochlorid war dann rein. Die Ausbeute aus 1 Liter Rohprodukt schwankte zwischen 15 und 18 g Guvacinhydrochlorid. Wir haben das zuerst abgeschiedene Arecaidin regelmässig durch Behandlung mit Natriumnitrit darauf untersucht, ob es evt. Guvacin beigemischt enthielt, aber niemals Guvacin gefunden.

N-Nitrosoguvacin-methylester.

Wird Guvacin-methylester-hydrochlorid mit der berechneten Menge Natriumnitrit in wässriger Lösung versetzt, so tritt auch beim gelinden Erwärmen, im Gegensatz zum Guvacinhydrochlorid, keine Reaktion ein. Die Reaktion beginnt erst nach Zusatz von etwas Salzsäure. Die wässrige Lösung trübt sich alsbald und ein gelbliches Öl scheidet sich ab, das in Äther aufgenommen wird. Es krystallisierte nicht, wurde im Hochvakuum getrocknet, und da es den für den Nitrosoguvacin-methylester richtigen Stickstoffgehalt (16,1%) zeigte, direkt weiter verarbeitet. Wir haben es im Bombenrohr 3 Tage mit flüssigem Ammoniak aufbewahrt, dann das Ammoniak verdunstet und im Vakuum vollkommen entfernt. Es hinterblieb eine zähe, braune, schaumige Masse, die in Äther und Chloroform unlöslich, in Äthanol sehr wenig löslich, in Wasser spielend mit stark alkalischer Reaktion löslich war. Durch Auskochen mit Äthanol liess sich eine in Blättchen krystallisierte Verbindung isolieren, die nach mehrmaligem Umkrystallisieren bei 172° schmolz. Die alkoholische Lösung reagierte stark alkalisch und gab mit alkoholischer Salzsäure ein Hydrochlorid, das aus wenig Wasser umkrystallisiert bei 227—228° schmolz.

Analyse der Verbindung vom Smp. 172°:

$C_6H_{12}O_2N_4$	Ber. C 41,83	H 6,98	N 32,55%
	Gef. „ 41,27	„ 6,64	„ 32,34%

Hydrochlorid.

$C_6H_{12}O_2N_4 \cdot HCl$	Ber. N 26,79	Gef. N 26,79%
-----------------------------	--------------	---------------

Somit war N-Nitroso-4-aminopiperidin-3-carbonsäure-amid entstanden.

N-Carbäthoxy-guvacin.

Guvacinhydrochlorid wurde in möglichst konzentrierter wässriger Lösung mit der zur Neutralisation der Salzsäure nötigen Menge ($\frac{1}{2}$ Mol) konz. Na_2CO_3 -Lösung versetzt, sodann mit $1\frac{1}{4}$ Mol frisch destilliertem Chlorkohlensäure-äthylester und hierauf innerhalb von ca. 30 Minuten unter häufigem Umschütteln mit der berechneten Menge konz. Na_2CO_3 -Lösung in 3 Portionen behandelt. Nach einigen Stunden Stehen und häufigem Digerieren war die CO_2 -Entwicklung vollkommen abgeklungen. Die trübe Lösung wurde mit Äther ausgeschüttelt, der Ätherextrakt getrocknet. Nach dem Vertreiben des Äthers hinterblieb ein fast farbloses Öl, das langsam krystallisierte. Nach zweimaligem Umkrystallisieren aus Benzol und Pentan-Zusatz lag der Schmelzpunkt der Verbindung bei 78°.

$C_9H_{14}O_4N$	Ber. C 53,97	H 7,0	N 7,0%
	Gef. „ 54,08	„ 6,53	„ 7,07%

N-Carbäthoxy-guvacinamid.

N-Carbäthoxy-guvacin wurde mit frisch destilliertem Thionylchlorid übergossen und die Reaktionsmasse auf ca. 35° bis zur Beendigung der Gasentwicklung erwärmt. Hierauf entfernte man das überschüssige Thionylchlorid im Vakuum unter gelindem Erwärmen. Das zurückbleibende zähe Öl wurde mit bei 0° mit trockenem Ammoniak gesättigtem absolutem Äther übergossen und dann durch die Flüssigkeit noch einige Zeit trockenes Ammoniak geleitet. Dabei ging das Öl in Lösung und es schied sich ein in Äther

unlöslicher weisser Körper ab, den wir abnutschten und mit Äther wuschen. Die Ätherlösung enthielt nur Spuren Substanz. Der in Äther unlösliche Teil wurde mit wenig Wasser übergossen, das Ungelöste abgenutscht, mit Wasser gewaschen und im Vakuum getrocknet. Diese Verbindung krystallisierte aus heissem absolutem Alkohol in derben Nadeln, aus wenig warmem Wasser in schönen klaren Prismen. Sie ist ziemlich schwer löslich in kaltem Äthanol, wenig löslich in kaltem Wasser. Schmelzpunkt 136—137°. Nach der Analyse lag das N-Carbäthoxy-guvacinamid vor.

$C_9H_{14}N_2O_3$ Ber. C 54,51 H 7,11 N 14,12%
 Gef. „ 54,50 „ 7,41 „ 13,96%

Stockholm, Biochemisches Institut der Universität.
 Zürich, Chemisches Institut der Universität.

44. Steroide und Sexualhormone

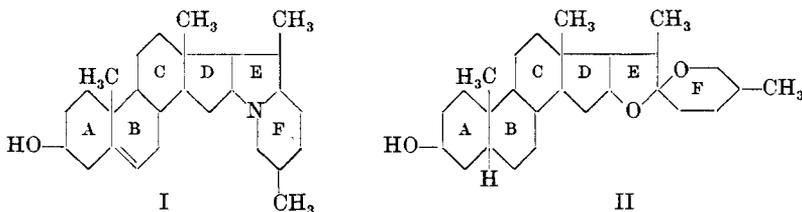
(92. Mitteilung¹⁾)

Über die stereoisomeren Dihydro-solanidine

von V. Prelog und S. Szpilfogel.

(8. II. 44.).

Die in einer früheren Mitteilung²⁾ vorgeschlagene Formel (I) für Solanidin regte zu Versuchen an, ausgehend von Sapogeninen der Diosgenin-Gruppe Solanidin-Derivate herzustellen. Solche Versuche gewinnen für die Konstitutionsermittlung des Solanidins deshalb an Bedeutung, weil es trotz mehrerer Versuche³⁾ nicht gelang, durch Abbau der stickstoffhaltigen Ringe E und F das Solanidin in ein bekanntes stickstoff-freies Steroid überzuführen. Von den Sapogeninen der Diosgenin-Gruppe stand uns wegen der Kriegsverhältnisse nur das Sarsasapogenin (II)⁴⁾ zur Verfügung. Nach der Formel (I) unterscheidet sich das Solanidin von dem Sarsasapogenin unter anderem dadurch, dass es eine Doppelbindung zwischen den Kohlenstoffatomen 5 und 6 enthält, während das Sarsasapogenin gesättigt ist und eine cis-Verknüpfung der beiden Ringe A und B aufweist.



¹⁾ 91. Mitteilung: *Helv.* **27**, 186 (1944).

²⁾ V. Prelog und S. Szpilfogel, *Helv.* **25**, 1306 (1942).

³⁾ Vgl. H. Rochelmeyer, *Arch. Pharm.* **280**, 453 (1942). Auch unsere zahlreichen Versuche waren bisher ohne Erfolg.

⁴⁾ Vgl. R. E. Marker und E. Rohrmann, *Am. Soc.* **61**, 846 (1939).