

K. Rehse und G. Dreke*)

Bildung von Benzidinfarbstoffen in der pharmazeutischen Analytik

III. Der Strychninnachweis von Malaquin**)

Aus dem Pharmazeutischen Institut der Freien Universität Berlin
(Eingegangen am 26. Februar 1971)

Die Struktur des roten Farbstoffs, der beim Strychninnachweis nach Malaquin¹⁾ entsteht, wurde aufgeklärt. Es handelt sich um ein Bistrychnidiniumbiskation (III), das durch Reduktion in Bistrychnidin (IV) überführt werden kann.

Formation of Benzidines in Pharmaceutical Analysis

III. Identification of Strychnine According to the Method of Malaquin¹⁾

The red coloured compound formed during the identification of strychnine according to Malaquin's method has the structure of a bistrychnidiniumbiscation (III) which can be reduced to bistrychnidine (IV).

Werden stark verdünnte Strychninlösungen mit Zink und Salzsäure in der Wärme reduziert und mit konz. Schwefelsäure unterschichtet, so entsteht an der Berührungsfäche beider Schichten ein roter Ring. Diese Beobachtung geht auf Malaquin¹⁾ zurück. Zusatz von Hydrogensulfit bewirkt Entfärbung. Denigés²⁾ stellte fest, daß sich der Nachweis günstiger durchführen läßt, wenn man nach der Reduktion 0,1proz. Natriumnitritlösung zugibt. Francois³⁾ wandte die Methode zur Bestimmung von Strychnos-Extrakten an, während Snell⁴⁾ die Analyse pharmazeutischer Präparate auf diese Weise durchführte.

Im Zusammenhang mit unseren Untersuchungen über die Otto-Reaktion des Strychnins interessierte uns die Struktur des oben beschriebenen Farbstoffs. Wir gelangten zu folgenden Ergebnissen:

*) Unter Mitarbeit von G. Meier und C. Strauß

**) I. Mitt.: K. Rehse, Arch. Pharmaz. 303, 518 (1970). II. Mitt.: K. Rehse und G. Dreke, Arch. Pharmaz. 304, 266 (1971)

1 P. Malaquin, J. pharmac. Chim. 30, 546 (1909)

2 G. Denigés, Bull. Soc. chim. France 9, 537 (1911)

3 A. Francois, Bull. Soc. pharm. Bordeaux 68, 158 (1930)

4 D. F. Snell, C. T. Snell, Colorimetric Methods of Analysis Vol. 2, Nostrand Co, N. Y. 1937, S. 516

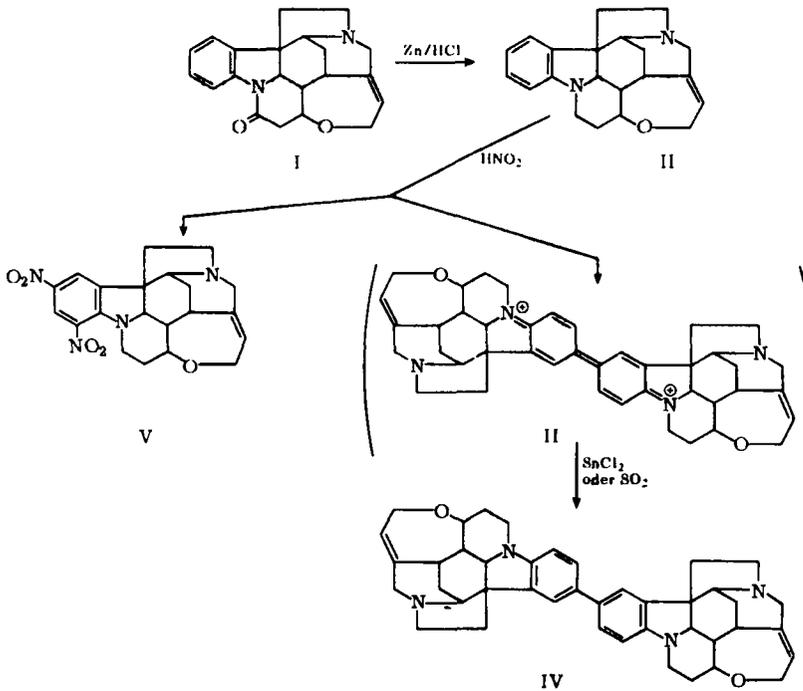


Abb. 1: Reaktionsablauf des Strychninnachweises von Malaquin

Strychnin (I) wird durch Zink und Salzsäure zum Strychnidin (II) reduziert. Die Reaktion läuft jedoch nicht quantitativ ab. Auch nach tagelangem Kochen unter den verschiedensten Bedingungen bleibt ein Teil des Strychnins unumgesetzt. II wurde daher von I durch DC getrennt und durch IR-, NMR- und Massenspektren identifiziert. Die wichtigsten Daten der Spektren sind in Tabelle 1 zusammengefasst.

Tabelle 1: Ausgewählte Daten der IR-, NMR- und Massenspektren von Strychnin und Strychnidin.

	IR-Spektrum [cm ⁻¹]	NMR-Spektrum δ (ppm)	Massenspektrum M ⁺
Strychnin (I)	1665, 1595	dd 8,1 (J = 8, J = 1) (1) m 7,3 – 7,2 (3)	334
Strychnidin (II)	---, 1595	m 7,2 – 6,3 (4)	320

Die Entfernung der Carbonylfunktion geht aus dem IR-Spektrum durch das Fehlen der Bande bei 1665 cm⁻¹ hervor. Die Umwandlung der Amidfunktion in ein Amin ist auch aus dem NMR-Spektrum deutlich abzulesen. Die chemische Verschiebung

des Protons in 4-Stellung ist in II von der Verschiebung der restlichen aromatischen Protonen nicht mehr abgesetzt und das Multiplett dieser Protonen wird insgesamt zu höherem Feld verschoben. Das NMR-Spektrum zeigt ferner, daß die Δ 21-Doppelbindung bei der Reduktion nicht angegriffen wird, denn das Signal des Protons in 21-Stellung ist erhalten geblieben und gegenüber Strychnin lediglich um 0,1 ppm nach höherem Feld verschoben und wird demgemäß bei 5,8 ppm gefunden. Das Massenspektrum zeigt mit $M^+ = 320$ das Molgewicht von II an.

Da die Trennung des Strychnidins von Strychnin mühevoll ist, wurde zur Darstellung des Farbstoffs immer das bei der Clemmensen-Reduktion erhaltene Gemisch verwendet.

Durch Umsetzung in schwefelsaurer Lösung mit Natriumnitrit wurde die von Malaquin¹⁾ beschriebene Farbe erhalten. Sie hatte ein langwelligstes Absorptionsmaximum von 525 nm. Da III nicht isoliert werden konnte, wurde der Strukturbeweis indirekt über IV geführt. Dazu wird die Farblösung mit Zinn (II)-chlorid unter Entfärbung reduziert, aufgearbeitet, und IV durch DC isoliert. Die Struktur von IV wird besonders durch das Massenspektrum gestützt, das ein Molgewicht von 638 ausweist. Da IV sehr oxidationsempfindlich ist, wies das NMR-Spektrum recht breite Signale auf und war nur zur summarischen Bestimmung der aromatischen Protonen geeignet. Die Verknüpfung zweier Strychnidinmoleküle in 2-Stellung zum 2,2'-Bistrychnidin wurde daher in Analogie zu unseren Arbeiten über Strychnin⁵⁾ und einige Antihistamine⁶⁾ angenommen. Außer IV entstehen noch drei gelbgefärbte Produkte verschiedener Rf-Werte, die jedoch nicht auftreten wenn man den Benzidinfarbstoff durch Oxidation mit Chromsäure in Eisessig darstellt. Es handelt sich daher wohl um Nitro-Derivate des Strychnidins. Für die Substanz mit dem Rf-Wert 0,33 konnte durch das Massenspektrum die Struktur des 2,4-Dinitrostrychnidins (V) wahrscheinlich gemacht werden. Das Spektrum zeigt nämlich als Peak höchster Masse 318 an. Das Auftreten des Peaks läßt sich durch Abspaltung zweier Nitrogruppen aus V erklären.

Zusammenfassend kann also festgestellt werden, daß der Strychninnachweis von Malaquin im Prinzip ein Strychnidinnachweis ist. Dies ist bei der Beurteilung der Spezifität von Wichtigkeit, da alle Strychninderivate ohne Carbonylfunktion ebenfalls einen positiven Ablauf der Reaktion verursachen. Die leichte Oxidierbarkeit des Strychnidins selbst ist schon länger bekannt^{7,8)} und sogar zum Nachweis von Cer-(IV)-Ionen ausgenutzt worden⁹⁾, ohne daß es seinerzeit möglich gewesen wäre, über die Struktur der hierbei entstehenden roten Farbstoffe Aussagen zu machen.

5 K. Rehse, Arch. Pharmaz. 303, 518 (1970)

6 K. Rehse und G. Dreke, Arch. Pharmaz. 304, 266 (1971)

7 G. R. Clemo, W. H. Perkin, R. Robinson, J. chem. Soc. (London) 1927, 1591

8 C. Romano, Rend. atti acad. sci. med. chir. 108, 31 (1954) CA 50, 7402 h

9 V. Voicu, I. Dema, Acad. rep. populare Romine, Studii cercetari chim. 7, 423 (1959) CA 54, 10659 c

Beschreibung der Versuche

Strychnidin (II)

10,0 Strychnin (I) wurden in 200 ml konz. Salzsäure gelöst und nach Zugabe von 20,0 amalgamierten Zinkspänen eine Woche am Rückflußkühler erwärmt (60°). Dabei wurden täglich noch 20 ml Salzsäure und 5,0 Zinkspäne hinzugefügt. Die leicht gelbliche Lösung wurde dann mit 20proz. Natronlauge schwach alkalisiert. Der weiße Niederschlag wurde abgesaugt und auf der Nutsche mit konz. Ammoniaklösung digeriert. Dabei ging der Niederschlag zum größten Teil in Lösung. Der Rest wurde in Chloroform gelöst, dreimal mit Wasser gewaschen, die Chloroformlösung mit Natriumsulfat getrocknet, filtriert und vom Lösungsmittel befreit. Ausbeute: 9,0 (90 % d. Th.)

Durch DC*) in Chloroform/Aceton/Methanol/10proz. Ammoniak (50 : 50 : 50 : 1) (im folgenden Fließmittel I genannt) wurde festgestellt, daß das Rohprodukt noch etwa 50 % umgesetztes Strychnin enthielt. (Rf-Wert von I 0,2; Rf-Wert von II: 0,1)

Zur Charakterisierung von II wurde das Gemisch im angegebenen Fließmittel durch präp. DC getrennt. Da die Trennung infolge der geringen Unterschiede der Rf-Werte schwierig war, wurde in die folgenden Umsetzungen das Gemisch aus I und II eingesetzt.

Bistrychnidin (IV)

Versuch A: 3,0 des Gemisches von I und II wurden in 10proz. Schwefelsäure in der Wärme gelöst und tropfenweise mit 1proz. Natriumnitritlösung versetzt bis sich die Reaktionslösung nicht mehr tiefer rot färbte. Nun wurde mit SO₂-Wasser bis zum Verschwinden der Farbe reduziert. Anschließend wurde mit 10proz. Natronlauge schwach alkalisiert, wobei ein bräunlich gefärbter Niederschlag ausfiel. Nun wurde dreimal mit 100 ml Chloroform ausgeschüttelt, getrocknet und vom Lösungsmittel befreit.

DC in Fließmittel I ergab 3 identifizierbare Produkte mit den Rf-Werten 0,02 (IV), 0,2 (I) und 0,3 (V), wobei sich ausschließlich IV mit Salpetersäure erneut rot färbte. V ist gelb gefärbt. Versuche I von V durch präp. DC zu trennen, führten nur zu Anreicherungen von V, die noch mit I verunreinigt waren. Von dieser Fraktion wurden MS aufgenommen. Die Struktur von 2 weiteren gelb gefärbten Substanzen [Rf 0,5 λ_{\max} : 429 nm (Chloroform) und Rf 0,8] konnte nicht geklärt werden.

Versuch B: Um die Ausbeute von IV zu erhöhen und gleichzeitig die Bildung von V zu vermeiden, wurden die Versuchsbedingungen variiert: 2,5 des Gemisches von I und II wurden in 100 ml Eisessig gelöst und tropfenweise mit einer Lösung von 5,0 CrO₃ in 5,0 Wasser und 150 ml Eisessig versetzt bis sich die Reaktionslösung nicht mehr tiefer rot färbte. I wird unter diesen Bedingungen von Chromsäure noch nicht angegriffen. Nun wurden 20 ml konz. Salzsäure hinzugegeben und mit einer 10proz. Lösung von Zinn (II)-chlorid in konz. Salzsäure bis zum Farbumschlag nach grün bis braun reduziert. Anschließend wurde mit konz. Ammoniak neutralisiert, wobei ein grauer Niederschlag ausfiel. Nun wurde mit 1 l Wasser verdünnt, mit Chloroform extrahiert und wie bei Versuch A aufgearbeitet.

DC in Fließmittel I ergab neben unumgesetztem I jetzt nur noch IV, das durch präp. DC gewonnen wurde. Die Startlinie wurde zu diesem Zweck mit Äthanol/10proz. Ammoniak (1 : 1) eluiert. Das Äthanol wird abgezogen. Dann wurde mit 500 ml Wasser verdünnt, mit Chloroform extrahiert und wie oben aufgearbeitet. IV wurde durch NMR und MS charakterisiert.

*) Für die DC wurde Kieselgel GF 254, für die präp. DC Kieselgel PF 254 der Firma Merck benutzt

IR-Spektren: Perkin-Elmer Typ 421 in CHCl_3 ; NMR-Spektren: Varian A 60 A in CDCl_3 gegen TMS; Elektronenspektren: Beckman DBG und Zeiss PMQ II; Massenspektren: Varian MAT CH 7.

Für die Anfertigung der IR-Spektren danken wir D. Ebert und K. Leitzow, für die Massenspektren J. Lindemann.

Anschrift: Prof. Dr. K. Rehse, 1 Berlin 33, Königin-Luise-Str. 2/4

[Ph 19]

E. Röder

Zur Kondensation von 3-Methyl-indol mit Aceton

2. Mitt.: 1,2-Cyclisierungsreaktionen an Indol-Derivaten

Aus dem Pharmazeutischen Institut der Universität Bonn
(Eingegangen am 1. März 1971)

Die Kondensation von 3-Methyl-indol mit Aceton/ AlCl_3 führt im wesentlichen im Molverhältnis 1 : 2 zu einem der beiden möglichen Pyrrolo-indole (IIa).

Daneben tritt eine Kondensation im Molverhältnis 2 : 3 ein, die ein Di-indolo-diaza-bicyclononan-Derivat liefert.

Condensation of 3-Methyl-indole with Acetone

The condensation of 3-methyl-indole with acetone/ AlCl_3 leads essentially in the ratio of 1 : 2 moles to one of the two possible pyrrolo-indoles (IIa).

Moreover a condensation occurs in the ratio of 2 : 3 moles and leads to a di-indolo-diaza-bicyclononane-derivative.

Nachdem die Kondensation von 3-(5-Methyl-2-picolyl)-indol mit Aceton zu Pyrrolo-indolen führte¹⁾, sollte untersucht werden, ob diese Methode allgemein zur Synthese solcher tricyclischen Indolderivate geeignet ist.

Das einfachste in 3-Stellung substituierte Indol ist das 3-Methyl-indol (I). I wird mit AlCl_3 in CS_2 behandelt und nach Abgießen des CS_2 mit Aceton umgesetzt. Die DC ergibt, daß I quantitativ umgesetzt ist und mehrere neue Verbindungen entstanden sind. Durch säulenchromatographische Reinigung und Trennung lassen sich zwei Verbindungen zur Kristallisation bringen. Die eine, IIb (Schmp. 42 bis 43°), färbt

1 E. Röder, Arch. Pharmaz. 305, 96 (1972).