

1210. H. Auterhoff

Über das Veratrin und die chemische Konstitution seiner Bestandteile

I. Mitteilung

Aus dem Institut für Pharmazie und Lebensmittelchemie der Universität Würzburg
Direktor: Prof. Dr. R. Dietzel

(Eingegangen am 21. Januar 1953)

Die chemischen Kenntnisse über das seit 1818 bekannte Veratrin sind auch heute noch unvollkommen. Frühere Bearbeiter dieses Alkaloidgemisches vermochten dem Wissensstande ihrer Zeit entsprechend jeweils nur Teilfragen zu lösen. In dieser Hinsicht müssen vor allem die Verdienste von *G. Merck*¹⁾, *E. Schmidt*²⁾ und Mitarbeitern, *C. R. Wright* und *A. P. Luff*³⁾, *M. Freund*⁴⁾ und Mitarbeitern sowie *B. K. Blount*⁵⁾ hervorgehoben werden. Die wahrscheinliche Zuordnung des Veratrins zu den Sterinalkaloiden erfolgte erst nach den grundlegenden Arbeiten von *W. A. Jacobs* und *L. C. Craig*⁶⁾.

In der chemischen Veratrinliteratur findet man zahlreiche Widersprüche und offensichtlich unrichtige Angaben. Das stark zunehmende Interesse, welches das Veratrin sowie die verwandten Alkaloide des Nieswurz neuerdings in pharmakologischer Hinsicht als Antihypertonika finden, zwingen deshalb dazu, das Veratrinproblem in pharmazeutisch-chemischer Richtung erneut zu bearbeiten.

Die heute handelsüblichen Veratrine bestehen fast ausschließlich aus den beiden Alkaloiden Cevadin und Veratridin. Beide sind gemäß den Formeln in Abb. 1 Ester des gleichen Alkamins. Während die Säurekomponente des amorphen Veratridins eindeutig als Veratrumssäure identifiziert werden konnte, läßt sich auf Grund der älteren Veratrinarbeiten nicht entscheiden, ob die wasserdampf-flüchtige Säure des kristallisierten Cevadins die Angelikasäure (cis-Form) oder die Tiglinsäure (trans-Form) ist.

¹⁾ *G. Merck*, Liebigs Ann. Chem. 95, 200 (1855).

²⁾ *E. Schmidt* und *R. Köppen*, Arch. Pharmaz. Ber. dtsh. pharmaz. Ges. 210/10, 511 (1877); Ber. dtsh. chem. Ges. 9, 1115 (1876). — *E. Schmidt* und *E. Bosetti*, Arch. Pharmaz. Ber. dtsh. pharmaz. Ges. 221/21, 81 (1883).

³⁾ *C. R. Wright* und *A. P. Luff*, Ber. dtsh. chem. Ges. 11, 1267 (1878); J. chem. Soc. [London] 33, 353 (1878).

⁴⁾ *M. Freund* und *H. Schwarz*, Ber. dtsh. chem. Ges. 32, 800 (1899); Ber. dtsh. chem. Ges. 37, 1946 (1904). — *M. Freund* und *A. Schwarz*, J. prakt. Chem. 96, 236 (1917).

⁵⁾ *B. K. Blount*, J. chem. Soc. [London] 122 (1935).

⁶⁾ Zusammenfassungen bei: *L. F. Fieser* und *M. Fieser*, Nat. Products relat. to Phenanthrene, Reinhold Publ. Corp. New York 1949. — *Th. A. Henry*, The Plant Alkaloids, J. u. A. Churchill Ltd., London 1949. — *H. Boit*, Fortschritte d. Alkaloidchemie seit 1933, Akad. Vlg., Berlin 1950.

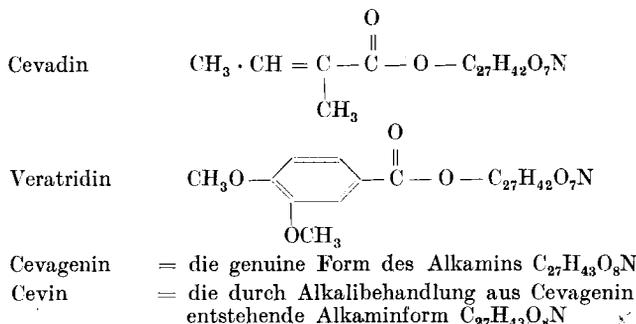


Abb. 1. Formeln der Hauptalkaloide des Veratrins.

So betrachten *Whright* und *Luff* (1878) das Cevadin als Tiglinsäureester, *Bosetti*⁷⁾ (1883) und *Ahrens*⁷⁾ (1890) als Angelikasäurederivat. *Freund* und *Schwarz* (1899) finden beide Säuren und *Horst*⁸⁾ (1902) nur die Tiglinsäure. Während erstere Autoren übliche Esterverseifungen durchführten und die entstehenden Säuren durch Siede- oder Schmelzpunkte bestimmten, verseifte *Horst* „kristallisiertes Veratrin“ mit Salzsäure in Gegenwart von Äthanol und destillierte den entstehenden Äthylester über, der als solcher durch seinen Siedepunkt charakterisiert wurde und bei der Verseifung Tiglinsäure gab. Angelikasäure als Vergleichssubstanz lieferte unter den gleichen Bedingungen den Angelikasäureester und nach dem Verseifen unveränderte Angelikasäure.

Diese unterschiedlichen Ergebnisse der älteren Arbeiten zur Identifizierung der Angelika- bzw. Tiglinsäure lassen sich unter Berücksichtigung der Befunde von *Fittig*⁹⁾ erklären. Danach ist die an und für sich labile Angelikasäure in alkalischem Milieu stabiler als in mineralischem; denn Angelikasäure lagert sich mit der 40fachen Menge 10%iger Lauge, 20 Stunden lang gekocht, nur zu etwa 5% in Tiglinsäure um. *Fittig* hat die auf *Pagenstecher*¹⁰⁾ und *Kopp*¹¹⁾ zurückgehenden Methoden zur Trennung beider Säuren verfeinert, was aber in den Veratrinarbeiten nicht Anwendung gefunden hat. Das angelikasaure Kalzium ist in der Wärme schlecht wasserlöslich und in Äthanol fast unlöslich; das tiglinsäure Kalzium verhält sich in beiden Lösungsmitteln entgegengesetzt. Nachdem unsere Versuche zur Identifizierung der flüchtigen Säuren auf papierchromatographischem Wege mißlingen, da beide Säuren als Kalzium- bzw. Ammoniumsalze nahezu gleiche R_F -Werte ergaben, wandten wir das *Fittigsche* Trennungsverfahren an. Wir verseiften sowohl handelsübliches Veratrin wie auch kristallisiertes Cevadin schonend mit alkoholischer Lauge und destillierten aus phosphorsaurem Milieu die flüchtige Säure in eine Kalziumkarbonataufschlammung über. In den im experimentellen Teil beschriebenen Versuchen fanden wir 63,5 bis 74% der theoretisch erwarteten Säuren wieder und identifizierten auch aus einheitlichem Cevadin sowohl Angelika- wie Tiglinsäure in wechselnden Mengenverhältnissen. Daraus muß geschlossen werden, daß sich eine der Säuren sekundär gebildet hat. Da nach allem, was über

7) *F. B. Ahrens*, Ber. dtsch. chem. Ges. 23, 2700 (1890).8) *P. Horst*, Chemiker Ztg. 26, 334 (1902).9) *R. Fittig*, Liebigs Ann. Chem. 233, 105 (1894).10) *A. Pagenstecher*, Liebigs Ann. Chem. 195, 108 (1879).11) *H. Kopp*, Liebigs Ann. Chem. 195, 81 (1879).

die beiden reinen Säuren bekannt ist, eine Umlagerung der stabileren Tiglinsäure in die Angelikasäure bei der Verseifung des Esteralkaloids unwahrscheinlich ist, muß Cevadin ein Angelikasäureester sein. Damit werden von uns insbesondere die Befunde von *Ahrens* sowie *Freund* und *H. Schwarz* bestätigt, während wir der jüngeren Arbeit von *Horst*, auf die sich offensichtlich viele Literaturangaben beziehen, weniger Beweiskraft zusprechen möchten; denn im salzsauren Milieu wird die Umlagerung zu Tiglinsäure begünstigt, und es ist wohl nicht gleichgültig, ob man die Angelikasäure als Reinsubstanz verestert oder diese gleichsam „in statu nascendi“ mit Äthanol umsetzt.

Nach Abschluß unserer diesbezüglichen Arbeiten wurde uns eine Veröffentlichung von *A. Stoll* und *E. Seebeck*¹²⁾ bekannt. Auch hier wird Cevadin als ein Angelikasäureester bezeichnet.

Die Zusammensetzung handelsüblicher Veratrine und die Reinheit einzelner Veratrinbestandteile können nach papierchromatographischen Methoden beurteilt werden. Zunächst bereitete uns das Auffinden eines geeigneten Lösungsmittels Schwierigkeiten, da Stoffe, die in Wasser wenig löslich sind, auch als mobile Phase Lösungsmittel verlangen, die wenig lösen; sonst folgen die Substanzen ohne Trennung der Flüssigkeitsfront. Andererseits kommt es aber bei solchen schlecht lösenden mobilen Phasen zu sog. „Schwanzbildung“. Nach Versuchen mit verschiedenen gebräuchlichen Lösungsmitteln erwies sich wassergesättigtes Phenol als das günstigste Medium

für die wandernde Phase. Bei Anwendung von Phenol erübrigt sich zudem ein Entwickeln der Chromatogramme, weil die Veratrinalkaloide unter diesen Bedingungen im UV-Licht deutlich fluoreszieren: Cevadin bläulich, Veratridin weiß. Die Fluoreszenz ist besser zu erkennen als die mit Sprühreagenzien, wie Kaliumpermanganat oder Säure-Basen-Indikatoren, auftretenden Färbungen.

Das Bild 2 zeigt typische Abbildungen von Papierchromatogrammen einiger Veratrinderivate. Bei handelsüblichen Veratrin findet man im Chromatogramm stets 2 Bestandteile: Cevadin und Veratridin.

In Gemischen mit Veratridin ist der R_F -Wert des Cevadins 0,88–0,90 (bei Reinsubstanz 0,88), derjenige des Veratridins 0,96–0,98 (bei Reinsubstanz 0,97). Der R_F -Wert des „ α -Cevins“ wurde zu 0,89 ermittelt, der des Cevagenins zu 0,93–0,94. α -Cevin ist neben Cevadin nicht erkennbar. Als wir zu Beginn dieser Arbeiten das Cevagenin noch nicht kannten und mit Cevin unkontrollierter Reinheit arbeiteten, sahen wir mit schlechter Reproduzierbarkeit zuweilen Trennungen von „Cevin“/Cevadin-Gemischen.

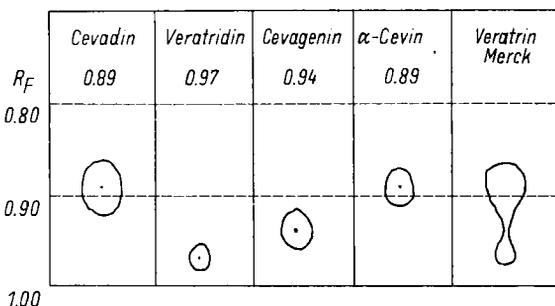


Abb. 2. Papierchromatogramme des Veratrin und seiner Bestandteile

¹²⁾ A. Stoll und E. Seebeck, Helv. chim. Acta 35, 1270 (1952).

Veratrin und seine nicht völlig reinen Bestandteile lassen sich durch Bestimmung des Schmelzpunktes nicht charakterisieren. Veratrin schmilzt unscharf zwischen 145 und 155°. Weitgehend angereichertes Cevadin oder Veratridin kann den gleichen Schmelzpunkt haben. Das Papierechromatogramm gibt lediglich Anhaltspunkte über das Mengenverhältnis, in dem die beiden Hauptbestandteile im Veratrin vorkommen. Die Ausarbeitung einer exakten analytischen Methode zur quantitativen Bestimmung der Bestandteile des Veratrins oder eines veratrinähnlichen Gemisches war eine grundlegende Voraussetzung für die Beurteilung der Verfahren zur Cevadin und Veratridindarstellung aus Veratrin. Es lag auf der Hand, für die analytische Methode die Spaltbarkeit der Esteralkaloide in Alkamin und Säuren und die verschiedene Flüchtigkeit der entstehenden Säuren auszunutzen. Cevadin gibt bei der Spaltung die Angelikasäure, die mit Wasserdämpfen flüchtig ist; aus Veratridin entsteht das gleiche Alkamin und die nicht flüchtige Veratrum-säure. Die ersten Vorversuche zeigten aber bereits, daß viele Faktoren zu berücksichtigen sind, wenn man die Spaltungsreaktionen und die Erfassung der Spaltprodukte reproduzierbar gestalten will: Substanzmenge, Verseifungsdauer, Lösungsmittel, Temperatur, Art der Destillation, Reihenfolge der Ausschüttelungen, Natur der Indikatoren bei der Titration usw.

Nach der im experimentellen Teil beschriebenen Methode erhält man reproduzierbare Resultate mit 200—300 mg Veratrin. Für die Verseifung bewährt sich 5%ige äthanolische Kalilauge. Das Verseifungsprodukt wird vorteilhaft mit Phosphorsäure angesäuert, die Angelikasäure aus einer *Parnas*-Apparatur mit Wasserdämpfen in vorgelegtes Wasser destilliert und mit n/10-Lauge (Phenolphthalein als Indikator) titriert. Die Veratrum-säure bestimmt man durch Ausschütteln des Rückstandes im *Parnas*-Kölbehen mit Benzol und Titration mit n/10-Lauge (Bromkresolpurpur als Indikator). Aus der wäßrigen Phase läßt sich das Alkamin nach Zusatz von Ammoniak mit Chloroform ausschütteln und nach Abdestillieren des Chloroforms wägen oder direkt mit n/10-Salzsäure (Methylorange als Indikator) titrieren.

Nach dieser Methode kann der Veratringehalt mit einer Genauigkeit von $\pm 1,5\%$, der Cevadinegehalt mit $\pm 2,3\%$, der Alkamingehalt mit $\pm 5,5\%$ (titriert) bzw. $\pm 3,8\%$ (gewogen) bestimmt werden. Am günstigsten ist also die Bewertung der Präparate nach der Veratrum-säurebestimmung, am ungünstigsten nach der titrimetrischen Alkaminermittlung, was so erklärt werden kann, daß mehrere Alkamine (Cevin und Cevagenin) verschiedener Basizität entstehen.

Bestimmungen verschiedener handelsüblicher Veratrinproben ergaben nach dieser Methode im Mittel eine Zusammensetzung von

26% Veratridin und 74% Cevadin.

Zur schnellen Beurteilung eines Veratrins genügt die mit geringerem Zeitaufwand und weniger Fehlerquellen behaftete Bestimmung der Veratrum-säurekomponente allein. Man spart bei dieser „Schnellmethode“ die Wasserdampfdestillation und destilliert die flüchtige Säure mit dem als Veratrum-säure-Lösungsmittel verwendeten Benzol ab.

Mit Hilfe dieser analytischen Methode wurde eine rationelle Nacharbeitung der älteren Cevadin- und Veratridin-Darstellungsverfahren ermöglicht.

Mit der *Schmidt-Bosetti*-Methode zur Isolierung von Cevadin aus Handelsveratrin durch fraktionierte Kristallisation aus verdünntem Alkohol erzielten wir nur geringe Ausbeuten an Cevadin. Aus manchen Veratrinen ließ sich ein kristallisiertes Produkt überhaupt nicht gewinnen. Dampft man die wäßrig-alkoholischen Veratrinlösungen ein, so fallen beim Erkalten oder Verdünnen mit Wasser meist harzige Produkte aus. Nur zuweilen gelingt die Darstellung eines kristallinen Produktes. Manchmal ist es vorteilhaft, eine ausgefallene kristalline Cevadinfraktion heiß abzutrennen. Doch auch dieser Kunstgriff ist nicht mit Sicherheit reproduzierbar. In den am besten gelungenen Versuchen erhielten wir aus Veratrin „*Merck*“ 23 bis 25% Cevadin vom Schmelzpunkte 205°.

Größere Ausbeuten an Cevadin und Veratridin hofften wir nach dem Verfahren von *Blount* zu erhalten. Hierbei wird eine Lösung von Veratrin in *n*/10-Schwefelsäure mit einer Natriumnitratlösung versetzt und aus dem gefällten Nitrat soll über ein schwer lösliches Sulfat das Veratridin gewonnen werden. Ohne laufende analytische Kontrolle der anfallenden Niederschläge mißlangen uns aber alle Versuche, Veratridin darzustellen, da stets nur unscharf zwischen 145 und 160° schmelzende Produkte erhalten wurden. Auf Grund der Analysen der einzelnen Phasen fällt als Nitrat durchschnittlich 60—70% des eingesetzten Veratrins aus, wobei eine Anreicherung von 26% Veratridin im Ausgangsveratrin auf 37—39% in der Base des Nitrats erfolgt. Die restliche Substanz aus dem Filtrat der Nitratfällung enthält noch 7—9% Veratridin. Daraus kann durch Kristallisation aus verdünntem Alkohol reines Cevadin mit relativ geringen Schwierigkeiten gewonnen werden. Nach *Blount* soll die als Nitrat gefällte Base in 2*n*-Schwefelsäure gelöst und mit gesättigter wäßriger Ammoniumsulfatlösung versetzt werden. Im Gegensatz zu *Blount* konnten „seidenartige Kristallnadeln“ hierbei nicht beobachtet werden, wohl aber scheidet sich — insbesondere bei Eisschrank-Temperaturen — eine ölige Schicht ab, die schwer quantitativ abzutrennen ist und durchschnittlich zwei Drittel der eingesetzten Alkaloidmenge enthält. Die daraus isolierte Base besteht zu 45—52% aus Veratridin.

Eine Verbesserung der Fällungsmethode ergibt sich, wenn man das zu leicht wasserlösliche Ammoniumsulfat durch Kaliumpyrosulfat oder Kaliumbisulfat ersetzt. Man erhält dann ebenfalls eine Base mit 45—53% Veratridin; der Niederschlag ist aber bei richtigen Mengenverhältnissen gut filtrierbar. Geht man bei dieser Sulfatfällung von einem etwa 50%igen Veratridin aus, so läßt sich dieses auf etwa 70—80% anreichern. Das reinste Veratridin (99,5%ig, Schmp. 155°) erhielten wir nach fünfmaliger Umfällung als Sulfat.

Mit Hilfe der analytischen Methode wurden auch andere Fällungen, z. B. fraktionierte Salzbildung mit Oxalsäure, Salzsäure u. a. in wäßrigen, alkoholischen oder azetonischen Lösungen auf ihre Eignung zur Anreicherung des einen oder anderen Bestandteils des Veratrins untersucht. Durchweg erwies sich die Trennwirkung von Fällung oder fraktionierter Salzbildung als ziemlich beschränkt. Noch recht gut brauchbar waren Fällungen, die in Anlehnung an die für Veratrin bisher

noch nicht verwendete Methode von *P. Ray*¹³⁾ mit Hexamethylentetramin erhalten wurden.

Versetzt man eine neutrale Veratrinsulfatlösung (Vd-Gehalt des Veratrins etwa 26%) mit einer 25%igen Hexamethylentetraminlösung, so entsteht keine Fällung. Schüttelt man aber diese Lösung mit Äther aus, so können 10—12% des ursprünglichen Veratrins aus der Ätherphase isoliert werden. Der Veratridingehalt dieser ausgeätherten Substanz beträgt nur 7—9%. Kocht man die zurückbleibende wäßrige Phase auf, so scheidet sich ein Basengemisch ab, das, noch heiß durch Dekantieren oder Filtrieren abgetrennt, bis über 40% Veratridin enthält und sich zur Sulfatkristallisation eignet.

Aus Handelsveratrin konnte auch auf chromatographischem Wege und mittels der *Craigschen* Gegenstromverteilung reines Veratridin nicht gewonnen werden. Hierüber wird im einzelnen noch berichtet werden. Befunde der Gegenstromverteilung im System: 70v/o Äthanol-Benzin Kp. 92—125° ließen sich in einfacher Form auswerten. Kocht man Veratrin mit der 20—25fachen Menge Benzin und läßt den Ansatz erkalten, so fällt ein Basengemisch mit einem Veratridingehalt von 38—42% aus. Die im Benzin gelöste Base enthält ungefähr 10% Veratridin.

Zusammenfassend können für die praktische Darstellung von Cevadin und Veratridin folgende Schlüsse gezogen werden:

1. Bei den verschiedenen Fällungen treten besonders häufig Veratrine mit Gehalten von ungefähr 27, 36 und 53% Veratridin auf. Das sind Zahlen, die den molekularen Verhältnissen entsprechen:

1 Mol Cevadin + 1 Mol Veratridin	→ 53,2% Veratridin
2 „ „ + 1 „ „	→ 36,3% „
3 „ „ + 1 „ „	→ 27,5% „

So hört die Kristallisation von Cevadin aus verdünntem Alkohol nach der *Schmidtschen* Methode immer dann auf, wenn die Veratridinkonzentration sich auf 35 bis 36% erhöht hat und demnach das Verhältnis 2 Mol Cevadin + 1 Mol Veratridin erreicht ist. Es lassen sich auf dem direkten Kristallisationswege aus Handelsveratrin maximal 23—25% Cevadin gewinnen. Die gleiche Cevadinausbeute kann mit der *Blountschen* Nitratfällung erzielt werden. Die Sulfatfällung gibt ein Veratrin der Zusammensetzung 1 + 1. Eine Anreicherung an Veratridin über diese Konzentration hinaus ist besonders schwierig.

2. Zur praktischen Darstellung von *Cevadin* durch fraktionierte Kristallisation aus verdünntem Alkohol eignen sich Gemische, die nicht mehr als 10% Veratridin enthalten. Solche an Veratridin arme Gemische können aus den Filtraten der Nitrat- oder Sulfatfällung gewonnen werden. Wir geben unserer Hexamethylentetraminmethode oder der Benzinextraktion den Vorzug.

Der Veratridin-Gehalt kann mit Vorteil nach der Kaliumpyrosulfat- oder Hexaminmethode angereichert werden. Da die Zusammensetzung der Fällungen durch äußere Einflüsse erheblich schwanken kann, ist eine analytische Kontrolle der Niederschläge zu empfehlen.

¹³⁾ *P. Ray*, Z. analyt. Chem. 86, 13 (1931); ref. *W. Fischer*, Angew. Chem. 64, 180 (1952).

3. Veratrinalkaloid-Gemische kristallisieren nicht, sondern bleiben beim Abdunsten organischer Lösungsmittel als Lacke zurück. Wir benutzen zur Beseitigung von Lösungsmittelresten die „Aufziehmethode“ von *Winterstein* und *Jatrides*¹⁴): Noch warme Abdunstungsrückstände werden schnell in einen Vakuumexsikkator gebracht. Es entstehen dann schaumartige Massen, die einheitlich und gut zu pulverisieren sind.

Schmelzpunktbestimmungen wurden stets mit dem Mikroschmelzpunktapparat nach *Kofler* durchgeführt. Fast durchweg erwiesen sich die in gewöhnlichen Schmelzpunkt-röhrchen ermittelten Schmelzpunkte als zu ungenau; Veratrinalkaloid-Gemische sintern in Röhrchen oft in einem Intervall von 10—20°, ohne daß die schwammigen Massen deutlich zusammenfließen.

Um die Reinheit der nach unseren modifizierten Methoden gewonnenen Veratrinalkaloide zu kontrollieren, wurden ihre UV-Spektren aufgenommen und mit denjenigen von *Poetsch*¹⁵) und Mitarbeitern verglichen. Die Bilder 3 und 4 zeigen die weitgehende Übereinstimmung.

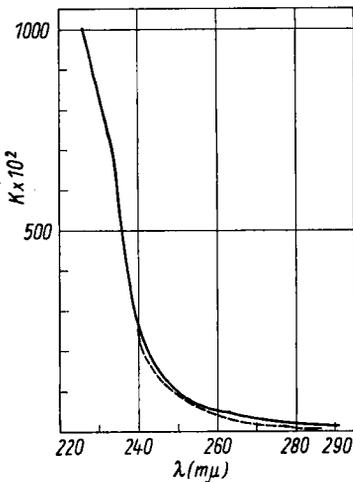


Abb. 3 Ultraviolett-Absorptionsspektrum des Cevadin

— eigene Messung
--- nach *Ch. E. Poetsch* u. Mitarb.
(*J. Amer. Pharm. Assoc., Sci. Ed.*
38, 522 (1949)).

K = molarer Extinktionskoeffizient
Gerät: *Beckmann*-Spektrophotometer
Modell DU

Meßpunkte: alle 5 mμ.

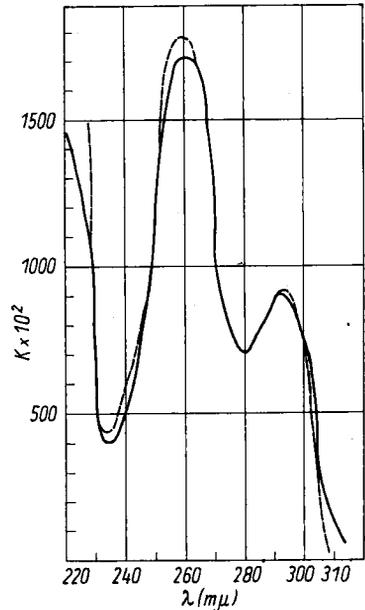


Abb. 4 Ultraviolett-Absorptionsspektrum des Veratridin

— eigene Messung
--- nach *Ch. E. Poetsch* u. Mitarb.
(*J. Amer. Pharm. Assoc., Sci. Ed.*
58, 522 (1949)).

K = molarer Extinktionskoeffizient
Gerät: *Beckmann*-Spektrophotometer,
Modell DU

Meßpunkte: alle 5 mμ.

¹⁴) *E. Winterstein* und *D. Jatrides*, *Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem.* 117, 240 (1921).

¹⁵) *Ch. E. Poetsch* und *L. M. Parks*, *J. Amer. Pharm. Assoc., Sci. Ed.* 38, 522 (1949). — *Ch. E. Poetsch*, *T. Higuchi*, *L. M. Parks*, *J. Amer. Pharm. Assoc., Sci. Ed.* 38, 525 (1949). — *A. J. Hennig*, *T. Higuchi*, *L. M. Parks*, *J. Amer. Pharm. Assoc., Sci. Ed.* 40, 168 (1951).

Tabelle 1. Farbreaktionen

Reaktion	Veratrin	Cevadin	Veratridin	Cevin
Konz. H ₂ SO ₄ (<i>Salkowski</i>)	grünlichgelb, dann rot			grünlichgelb, schnell rot
	mit 1 Tropfen 30%igen H ₂ O ₂ sofort violett			
CHCl ₃ + (CH ₃ CO) ₂ O + H ₂ SO ₄ (<i>Liebermann, Burchard</i>)	allmählich violett			schnell violett
CH ₃ COOH + CH ₃ COCl + ZnCl ₂ (<i>Tschugajeff</i>)	eosinrote Färbung mit grünlicher Fluoreszenz			
ZnCl ₂ + C ₆ H ₅ · COCl	orange	nahezu farblos	farblos	gelb
+ CHCl ₃ Bodensatz:			
(<i>Ekkert</i>)	orange	fast farblos	rötlich	gelbbraun
	allmählich violett			
Rohrzucker + konz. H ₂ SO ₄ (<i>Weppen</i>) Da diese Reaktion gemäß <i>Gadamer</i> eigentlich eine Furfurol-Rk. ist, können Furfurol und andere Aldehyde verwendet werden	grün, dann blau, dann braun			rotbraun, dann violett
Vitali-Rk. (<i>Beckmann, Kondakow</i>)	bräunlich		braun, vom Rande rot	braun
	nur zuweilen rot			
Salzsäure (<i>Trapp</i>)	rot			
<i>Froehdes R.</i>	gelb, bräunlich, dann rotviolett			gleich violett
Eisen(III)chlorid Rk.:*) ca. 50 mg Subst. + 2 g AlCl ₃ 1/2 Std. auf 160 bis 170° erhitzen. Nach dem Erkalten + 20 ccm H ₂ O-Filtrat + gtt. 1%ige FeCl ₃ -Lösung	grün	gelb	grün	gelb

Literatur:

Ekkert, L., Erkenn. org. Vbdg., Enke 1933, Stuttgart.

Gadamer, J., Lehrb. d. chem. Toxikol., Vandenhoeck-Ruprecht 1924, Göttingen.

*) Die FeCl₃-Reaktion wurde gemeinsam mit *H. Stausberg* ausgearbeitet. Über ihre Verwertung zur quantitativ-kolorimetrischen Vd-Bestimmung wird noch berichtet werden.

Für Veratrin sind zahlreiche Farbreaktionen vorgeschlagen worden. Man hat sie aber nur unvollständig auf die einzelnen Veratrinkomponenten übertragen. Da wir die Reaktionen zur Charakterisierung der bei der Aufarbeitung des Veratrins anfallenden Bestandteile ausnutzen wollten, mußten die Reaktionen kritisch gesichtet und vergleichende Untersuchungen angestellt werden.

Die Tabelle 1 zeigt das Verhalten der Veratrinalkaloide gegen eine Auswahl von Reagenzien.

Die meisten Farbreaktionen des Veratrin sind auf das Alkamin zurückzuführen. Zur Unterscheidung der Esteralkaloide vom Cevin eignet sich die *Weppen*-Reaktion. Zur Unterscheidung des Cevin vom genuinen Alkamin Cevagenin bedienten sich *Stoll* und *Seebeck* 84%iger Schwefelsäure, die Cevagenin sofort, Cevin erst allmählich rot färbt. Wir fanden, daß sich zur Cevin-Cevagenin-Unterscheidung gut eignen:

1. die Diazo-Reaktion

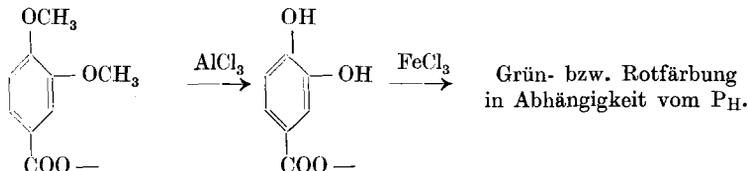
Versetzt man 4 ccm Diazo-Reagens DAB. 6 mit 1 ccm äthanolischer Lösung der zu prüfenden Substanz und 1 ccm 30%iger Natronlauge, so tritt bei Cevagenin sofort eine Rotfärbung auf. Cevin färbt sich dabei nur gelblich. Die Esteralkaloide reagieren erst nach Stunden;

2. die Triphenyl-tetrazoliumchlorid-Reaktion

5–20 mg Substanz werden mit 1 ccm 1%iger TTC-Lösung und 1 ccm n/1-Natronlauge versetzt. Cevagenin reduziert TTC sofort zum roten Formazanderivat. Reines Cevin und die Esteralkaloide reagieren nicht.

Veratridin kann mit der *Vitali*-Reaktion erkannt werden. Die Bemerkung *Gadamers*, daß die Rotfärbung des Veratrin bei der *Vitali*-Reaktion auf dem Veratrimsäurerest beruht, erfährt hier eine Bestätigung.

Chemisch durchsichtig ist unsere Veratridin-Eisenchlorid-Reaktion, die auf dem Veratrimsäure-Rest beruht und weder vom Cevadin noch Cevin gegeben wird:



Reines Veratridin reagiert in der *Weppen*-Reaktion nicht unter Rotfärbung, wie von *Bosetti* angegeben wurde. Da *Bosetti* für Veratridin außerdem eine Wasserlöslichkeit von 1 : 33 fand, kann seine Substanz nicht mit Veratridin identisch gewesen sein.

*

Nach den grundlegenden Untersuchungen von *Craig* und *Jacobs*¹⁶⁾ ist das Veratrin-Alkamin ein Sterinalkaloid. Auf die Steroidstruktur weisen der positive Ausfall der gebräuchlichen Sterin-Farbreaktionen und einige Abbauprodukte hin. Bei der Selenhydrierung entsteht das sog. Cevanthridin, dem nach *Blount* die Formel $\text{C}_{23}\text{H}_{25}\text{N}$, nach *Craig* und *Jacobs*¹⁶⁾ $\text{C}_{25}\text{H}_{27}\text{N}$ zukommt und das wahrscheinlich ein Phenanthrenderivat ist. Bei der Selendehydrierung fanden *Craig* und *Jacobs*¹⁷⁾ aber auch 4,5-Benzohydrinden. Dieser Befund, wie auch der mit alkoholischem Alkali durchgeführte Fluorentest nach *Wannscheidt*¹⁸⁾ veranlaßten *Craig*,

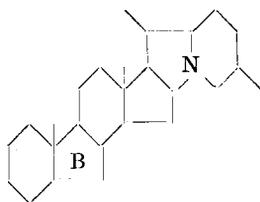
¹⁶⁾ L. C. Craig und W. A. Jacobs, J. biol. Chemistry 139, 293; Chem. Zbl. 1942, I, 52.

¹⁷⁾ L. C. Craig und W. A. Jacobs, J. biol. Chemistry 139, 263; Chem. Zbl. 1942, I, 50.

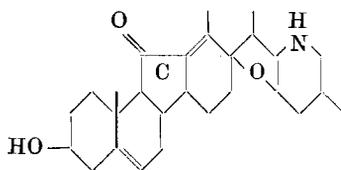
¹⁸⁾ A. A. Wannscheidt, Chem. Zbl. 1935, II, 3954.

Jacobs und Lavin¹⁹), für Cevin eine Formel zu diskutieren, die sich vom Cyclopentano-fluoren ableitet (I, Abb. 5). Das Auffinden einer „Hexantetracarbonsäure“ veranlaßte Huebner und Jacobs²⁰), die Forderung der 5-Gliedrigkeit des Ringes B wieder aufzugeben. Für die unveränderte Sterinstruktur sprach auch, daß man für die dem Cevin ähnlichen, aber durch das Fehlen zahlreicher Hydroxylgruppen einfacheren Alkaloide des Nieswurz die Steroidkonfiguration als gesichert ansah. So ist nach Jacobs und Huebner²¹) sowie Jacobs, Huebner und Sato²²) das Veratrumalkaloid Jervin eine 3 β -oxy-11-keto- $\Delta^{5,8(9)}$ -steroidbase. Diese Formel wird neuerdings von Fried, Wintersteiner, Moore, Iselin und Klinsberg²³) beanstandet, denen der Abbau des Jervins in ein Perhydro-benzo-fluoren-Derivat (II) gelang (Abb. 5). Damit ist auch wieder die unveränderte Sterinstruktur für Cevin fraglich geworden.

Der eindeutige Beweis für die Sterinstruktur des Cevins wird erst erbracht sein, wenn es in übersichtlicher Reaktionsfolge gelingt, das Cevin in ein bekanntes natürliches Sterinderivat umzuwandeln oder größere Abbauprodukte zu erhalten, die mit den aus natürlichen Sterinen gewonnenen identisch sind, ähnlich wie dies z. B. Uhle und Jacobs²⁵) bei der Umwandlung des Sarsasapogenins in das Allosolanidanol (3 β) oder Kuhn und Löw²⁶) beim Abbau des Tomatidin zu dem Tigogegeninlacton gelang. Da aber Cevin 8 Sauerstoffatome besitzt, ist es nur wenig wahrscheinlich, daß seine Sterinstruktur auf dieselbe elegante Weise wird bewiesen werden können. Will man aber doch in dieser Richtung Versuche anstellen, so muß zuerst eine möglichst genaue Kenntnis der Eigenschaften und Stellungen der O-Funktionen erlangt, dann gegebenenfalls die Zahl der Hydroxyle reduziert und damit eine größere Ähnlichkeit mit gut bekannten Sterinen erreicht werden.



I.
Cevin-Formel von Jacobs,
Craig und Lavin 1942
B = 5gliedrig



II.
Jervin-Formel von Fried, Wintersteiner
u. Mitarbeiter 1952
C = 5gliedrig

¹⁹) L. C. Craig, W. A. Jacobs und G. I. Lavin, J. biol. Chemistry 139, 277; Chem. Zbl. 1942, I, 51.

²⁰) C. F. Huebner und W. A. Jacobs, J. biol. Chemistry 170, 181; Chem. Zbl. 1948, I, 1322.

²¹) W. A. Jacobs und C. F. Huebner, J. biol. Chemistry 170, 635 (1948).

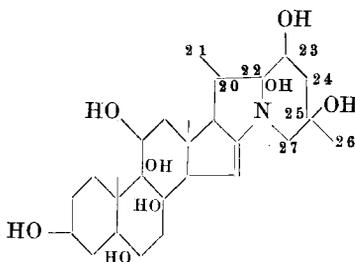
²²) W. A. Jacobs, C. F. Huebner und Y. Sato, J. biol. Chemistry 175, 57 (1948); Chem. Zbl. 1950, II, 2319.

²³) J. Fried, O. Wintersteiner, M. Moore, B. M. Iselin und A. Klinsberg, J. Amer. chem. Soc. 73, 2970; Chem. Zbl. 1952, 2345.

²⁴) I. Böttcher und H. Rochelmeyer, Arch. Pharmaz. Ber. dtsch. pharmaz. Ges. 285/57, I (1952).

²⁵) F. C. Uhle und W. A. Jacobs, J. biol. Chemistry 160, 243 (1945).

²⁶) R. Kuhn und I. Löw, Ber. dtsch. chem. Ges. 85, 416 (1952).



III.

Cevin-Formel, wie sie zu Beginn unserer Arbeiten zur Diskussion stand. ^ANumerierung der C-Atome der N-Ringe in Analogie zu Böttcher und Rochelmeyer²⁴⁾

Abb. 5

Zur Diskussion gestellte Strukturformeln für Cevin und Jervin

Freund und H. Schwarz fanden, daß Cevin in alkalischem Milieu eine „Dikaliumverbindung“ liefert. Diese Eigenschaft ist für das Cevinmolekül sehr charakteristisch und schien uns für eine genauere Bearbeitung von Belang zu sein. Wir kontrollierten zunächst den Kaliumgehalt und konnten die Anwesenheit von 2 Kaliumatomen nur in rohen Produkten bestätigen. Die Formel von Heß und Mohr²⁷⁾ $C_{27}H_{42}O_8NK \cdot KO C_2H_5$ betrachten wir nicht als genügend gesichert, da bei der Umsetzung mit Säurechloriden niemals die entsprechenden Äthylester beobachtet werden konnten.

Im Gegensatz zu Freund und Schwarz fanden wir, daß Cevinkalium aus Äthanol umkristallisierbar ist. Dazu müssen die in der Wärme hergestellten Cevin-dikaliumlösungen etwa 12 Stunden im Eisschrank aufbewahrt werden, wobei fast die ganze Lösung erstarrt. Das abgenutschte Cevinkalium enthält nur ein Kalium, das als Kaliumkarbonat, Kaliumsulfat sowie titrimetrisch nachgewiesen werden kann. Da das Cevinkalium gierig CO_2 aus der Luft aufnimmt, muß dies berücksichtigt werden, wenn man klar lösliche und stöchiometrisch richtig zusammengesetzte Produkte erhalten will.

Suspendiert man Cevin-dikalium in Äther oder Benzol und fügt Säurechlorid hinzu, so setzt sich unabhängig davon, ob man 1 oder 2 Mol Säurechlorid einwirken läßt, nur 1 Mol Säurechlorid um. So stellten wir Mono-azetyl-cevin, Mono-benzoyl-cevin und Mono-veratroyl-cevin her. Mit letzterem hofften wir ein partialsynthetisches Veratridin zu gewinnen oder zumindestens das konfigurative Verhältnis kennenzulernen, in welchem die synthetischen Mono-azylcevine zu den natürlichen Esteralkaloiden stehen.

Das synthetische Veratroyl-cevin schmilzt nach Kristallisation aus wäßrigem Äthanol bei 146° , unser natürliches Vergleichs-Veratridin bei 155° , der Mischschmelzpunkt liegt uncharakteristisch bei $142-155^\circ$. Die Eutektika mit Phenacetin wurden beim synthetischen Produkt zu 109° , beim Veratridin zu 104° bestimmt.

Versuche, das synthetische Produkt ähnlich dem natürlichen Veratridin als Sulfat umzukristallisieren, gelangen nicht, da die kalte Lösung des Sulfates des synthetischen Pro-

²⁷⁾ K. Heß und H. Mohr, Ber. dtsch. chem. Ges. 52, 1984 (1919).

duktes sich beim Erwärmen trübt. Papierchromatographisch läßt sich kein eindeutiger Unterschied konstatieren. Einige Unterschiede zeigen sich bei Löslichkeitsbestimmungen und Farbreaktionen.

Bei der Azetylierung mit Essigsäureanhydrid bilden sich verschiedene Acetyl-veratroyl-cevine. Aus dem echten Veratridin entsteht ein weißes, weiches Präparat vom Schmp. 208–213°, das synthetische Produkt ergibt einen glasigen, „aufziehbaren“ Stoff vom Schmp. 149°. Allerdings zeigen Analysen, daß der Gehalt an Azetylgruppen in beiden Fällen zu hoch, der an Veratroylresten zu niedrig ist.

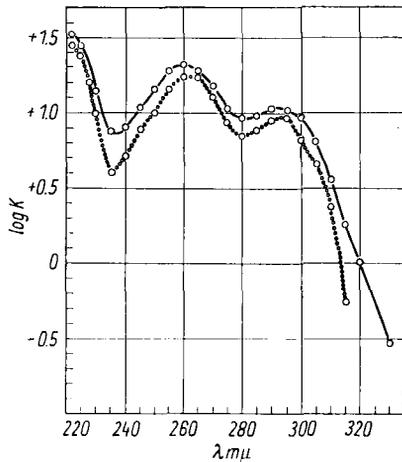


Abb. 6
Ultraviolet-Absorptionsspektrum
— Pseudo-Veratridin
.... natürliches Veratridin

Weiterhin wurden die UV-Spektren aufgenommen. Das Kurvenbild 6 zeigt wohl Maxima und Minima bei nahezu gleichen Wellenlängen, doch ist der Vertikalabstand beider Kurven groß genug, um die Identität beider Stoffe auszuschließen.

Den letzten Beweis, daß das natürliche Veratridin mit dem synthetischen Stoff nicht identisch ist, lieferten Toxizitätsbestimmungen*). Während für Veratridin eine LD 50 (nach *L. Kärber*) von 0,5 mg/kg intraperitoneal ermittelt wurde, war die LD 50 des Syntheseproduktes 260 mg/kg Maus.

Vom Veratroyl-cevin aus kann man schließen, daß auch die anderen auf die gleiche Weise hergestellten Monoazyl-cevine einer anderen Reihe angehören als die natürlichen. Wir möchten diese kurz als „Pseudo-veratrine“ bezeichnen.

Mit Digitonin geben auch die Pseudo-veratrine keine Fällungen.

Setzt man Cevin-dikalium in ätherischer Suspension mit Alkylhalogeniden um, so bilden sich wiederum nur Monoalkyl-derivate: mit Äthylbromid entsteht ein Mono-äthyl-äther des Cevins. Schwierigkeiten bereitet die Darstellung eines reinen Methyläthers.

Trotz zahlreicher Versuche gelang es nicht, denselben in eine kristalline Form zu bringen. Um die Bindungsart der Methylgruppe zu charakterisieren, wurde die Verätherung auch nach anderen Methoden versucht. So wurde Cevin mit Diazomethan umgesetzt, doch konnte ein kristallisierbares Produkt nicht gewonnen werden. Die Methylierung ist auch mit Methanol- und HCl-Gas durchführbar.

Da Methyl- und Äthyl-cevin nicht kristallin gewonnen werden konnten und die Reinheit dieser Substanzen durch Elementaranalysen nur schwer feststellbar ist, wurden Äther höheren Molekulargewichtes synthetisiert, die zudem von pharmakologischem Interesse sind. So wurden Monobenzyl-cevin und — durch direkte Umsetzung von Cevin mit 2,4-Dinitro-fluor-benzol — der Dinitrophenyl-äther hergestellt.

*) Ich danke Dr. *W. Schoetensack* vom Pharmakologischen Institut der Universität Würzburg für die Durchführung dieser Bestimmungen.

Da die Esteralkaloide Cevadin und Veratridin in Lauge unlöslich sind, Cevin aber eine Kaliumverbindung gibt, kommen zwei Möglichkeiten für die Lage des substituierbaren Hydroxyls in Frage. Entweder ist die Angelika- bzw. Veratrumsäure an der gleichen Stelle wie das Kaliumatom lokalisiert, oder es könnte nach der Verseifung eine Umlagerung vor sich gehen, wobei ein saures Hydroxyl neu gebildet wird. Die Entstehung des Pseudo-Veratridins spricht für die zweite Möglichkeit. Daraus ergibt sich die Folgerung, daß Cevin ein Kunstprodukt ist und als solches nicht im natürlichen Veratridin vorliegt. Wir nannten das hypothetische natürliche Alkamin in Analogie zum Veratrum-Alkamin Isogermin zunächst „Isocevin“.

Für die Isolierung des Isocevin kamen uns zwei Beobachtungen zustatten:

1. Rohes Cevin, wie es bei einer ohne Anwendung besonderer Maßnahmen durchgeführten Veratrinverseifung anfällt, reduziert Triphenyltetrazoliumchlorid in alkalischem Milieu ungleichmäßig. Verseift man mit etwa 20%iger alkoholischer Kalilauge, so reduziert das gewonnene Cevin TTC nur schwach. Wird die Verseifung schonend mit 5%iger äthanolischer Kalilauge durchgeführt, so erhält man ein „Cevin“, das TTC sehr intensiv reduziert.

2. Es wurde beobachtet, daß die bei der alkalischen Verseifung erhaltenen „Cevine“ sich in Äther zum Teil sehr gut, zum Teil nur schlecht lösen. Letztere waren dabei offensichtlich uneinheitlich.

Die verschiedene Ätherlöslichkeit in Verbindung mit der TTC-Reaktion benutzten wir nun, um Cevin und Isocevin in reiner Form darzustellen. Das reinste Cevin mit negativer TTC-Reaktion erhielten wir aus umkristallisiertem Cevin-Kalium, das in Wasser gelöst und mit Äther wiederholt ausgeschüttelt wurde, Isocevin in der Weise, daß wir das nach schonender alkalischer Hydrolyse ammoniakalisch mit Chloroform ausgeschüttelte Alkamin mit Äther fraktioniert extrahierten. Es hinterblieben gelbliche Rückstände vom Schmelzpunkt 200—205°. Im UV-Licht fluoresziert die Substanz gelb, Cevin dagegen blendend weiß. Die Elementaranalyse stimmte für $C_{27}H_{43}O_8N$. Diese Substanz hielten wir für Isocevin und wurden in unserer Ansicht dadurch bestärkt, daß auch das Isogermin einen hohen Schmelzpunkt (250—252°) hat. Gleichzeitig beobachteten wir, daß aus warm filtrierten Ätherauszügen eine farblose Substanz vom Schmelzpunkt 165° kristallisierte, die TTC sehr stark reduzierte und nicht aus Cevin bestand.

In diesem Stadium unserer Versuche gelangte eine Veröffentlichung von *Stoll* und *Seebeck*¹²⁾ in unsere Hände. In dieser wird auf ganz anderem Wege, mit Hilfe von Infrarot-Spektren, nachgewiesen, daß Cevadin und Veratridin nicht Ester des Cevins, sondern des genuinen Alkamins „Cevagenin“ sind. Cevagenin und unser Isocevin sind identisch. Das Isocevin unserer ersten Versuche besaß aber noch nicht den Reinheitsgrad der *Stoll-Seebeck*schen Substanz.

Zur Reinigung des Isocevin lehnten wir uns an die von *Stoll* und *Seebeck* gegebene Vorschrift an: Wir lösten die Substanz in wenig Alkohol und versetzten mit Äther, wobei sich bald dieselben feinen Kristalle bilden, die wir schon bei unseren Ätherauszügen beobachtet

hatten. Die schön ausgebildeten Nadeln, die sich auch direkt aus Äthanol umkristallisieren lassen, schmelzen auf dem *Kofler*-Block bei 170° . Erst als wir diese Substanz bei 70° im Hochvakuum oder bei etwa 130° im Vakuum über Phosphorpentoxyd trockneten, erhielten wir so hohe Schmelzpunkte ($233-236^{\circ}$ *Kofler*), wie sie von *Stoll* und *Seebeck* mit $241-242^{\circ}$ angegeben werden. Der Gewichtsverlust beim energischen Trocknen der Kristallnadeln vom Schmp. 170° beträgt durchschnittlich 4,5%.

Das für unsere weiteren Versuche benötigte Cevagenin stellten wir nicht wie *Stoll* und *Seebeck* aus Cevadin, sondern direkt aus Handels-Veratrin her. Als wir die für Cevadin ausgearbeitete Vorschrift auf Veratrin übertrugen, erzielten wir nur schlechte Cevageninausbeuten. Um die Trennbarkeit von Cevin und Cevagenin sowie die Verseifungsbedingungen genau kennenzulernen, arbeiteten wir unsere TTC-Reaktion in eine quantitative Methode um.

Nach $\frac{1}{2}$ stündiger Reduktion in alkalischer Lösung säuern wir mit Salzsäure an und schütteln das gebildete Formazan mit Chloroform aus. Die Extinktion der roten Formazanlösung wird im *Pulfrich*-Photometer, Filter S 53, gemessen.

Mit Hilfe dieser Methode stellten wir fest, daß aus den durch Verseifung von Veratrin gewonnenen Lösungen bei P_H -Werten bis 8,5—9,0 mit Chloroform im wesentlichen nur Cevin extrahiert wird. Erhöht man darauf die Alkalität auf P_H 12, so erhält man beim Ausschütteln mit Chloroform cevageninreichere Gemische. Enthält ein Cevagenin-Cevin-Gemisch weniger als 35—38% Cevagenin, so läßt sich daraus mit Alkohol-Äther kein kristallines Cevagenin gewinnen. Es fallen allenfalls Flocken aus, die wiederholter Umfällungen bedürfen, wenn es überhaupt gelingt, Kristalle zu erhalten. Zur Umkristallisation rohen Cevagenins ist nach unseren Beobachtungen Essigsäure-äthyl-ester geeignet.

Cevagenin kann mit konzentrierter alkoholischer Lauge leicht in Cevin umgewandelt werden. Alle Versuche dagegen, Cevin in Cevagenin zu verwandeln, verlaufen negativ.

Mittels Ammoniak, Borax, Hexamethylentetramin oder in saurem Milieu kann Veratrin weder unter normalen Bedingungen noch im Autoklaven bei höheren Temperaturen so gespalten werden, daß Cevagenin entsteht. Mit Borsäure gibt Veratrin komplexe Verbindungen, was für zwei ortho-ständige Hydroxylgruppen spricht.

Da die natürlichen Esteralkaloide im Gegensatz zu Cevagenin TTC nicht reduzieren, muß das die Säurekomponente tragende alkoholische Hydroxyl für die Reduktion mitverantwortlich sein. Da eine solche Eigenschaft einer gewöhnlichen alkoholischen OH-Gruppe nicht zugeschrieben werden kann, vermuteten wir, daß die im Cevagenin nachweisbare Doppelbindung mit dem alkoholischen Hydroxyl in Verbindung steht. Um dies zu beweisen, stellten wir Hydrierungsversuche an.

Cevagenin nimmt beim Hydrieren mit *Raney*-Nickel als Katalysator bei Zimmertemperatur und gewöhnlichem Druck 1 Mol Wasserstoff auf. Die entstehende Dihydroverbindung ist sehr leicht in Alkohol löslich und im Gegensatz zum nicht-hydrierten Cevagenin auch relativ gut ätherlöslich, so daß auf Zugabe von Äther zu alkoholischen Lösungen das Dihydroceevagenin nicht auskristallisiert. Es reduziert TTC nicht.

Cevin nimmt beim Hydrieren mit *Raney*-Nickel als Katalysator bei Zimmertemperatur und gewöhnlichem Druck ebenfalls 1 Mol Wasserstoff auf. Auch das

entstehend Dihydrocevin ist in Alkohol sehr leicht löslich, in Äther aber praktisch unlöslich. Zur Reinigung von nichthydrierten Cevinresten kann deshalb die hydrierte Verbindung in wenig Methanol gelöst und mit Äther ausgefällt bzw. kristallisiert werden. Das so erhaltene Dihydrocevin schmilzt bei 243–245°. Es reduziert TTC nicht.

Versuche, die Ketogruppe des Cevagenins mit Li-Al-hydrid zu reduzieren, ohne die Doppelbindung des Moleküls anzugreifen, gelangen bisher nicht eindeutig, da Cevagenin in den Lösungsmitteln, die gewöhnlich für die LiAlH₄-Reduktion verwendet werden, wie z. B. Äther, nicht löslich ist. Nur ein kleiner Teil des eingesetzten Cevagenins konnte in ätherischer Suspension durch Behandlung mit LiAlH₄ in eine ätherlösliche Substanz vom Schmp. 150–154° umgewandelt werden; dieses „Cevagenin-ol“ reduziert, wie vermutet, TTC.

Diskussion

Die richtige Deutung des Reduktionsvermögens ist für die Klärung der Cevagenin-Cevin-Struktur von wesentlicher Bedeutung. Verschiedene Beobachtungen weisen darauf hin, daß der Chemismus dieser Reaktion kein einfacher ist. Ein labiles Zwischenprodukt der Cevagenin-Cevin-Umlagerung muß gegebenenfalls für die Reduktion verantwortlich gemacht werden; denn Cevagenin reduziert TTC nur in alkalischem Medium, die Endprodukte der alkalischen Umlagerung: α - und β -Cevin reduzieren aber nicht.

Eine Verschiebung des Indikator-Redox-Potentials durch das Alkali kann für die Reduktion kaum verantwortlich gemacht werden. Nach Jerchel und Möhle²⁸⁾ hat das „scheinbare Redoxpotential“ des TTC bei P_H 6,72 den Wert $-0,083$, bei P_H 8,5 den Wert $-0,100$. Redoxindikatoren mit wesentlich positiveren Redoxpotentialen, wie 2,6-Dichlor-phenol-indophenol oder Methylenblau, werden vom Cevagenin nicht reduziert.

Das Reduktionsvermögen des Cevagenins ist eine Folge des Zusammenwirkens des die Säurekomponente tragenden alkoholischen Hydroxyls mit der Doppelbindung des Moleküls. Weiter verlangt die Umlagerung des Cevagenins in das Cevin, die in ähnlicher Weise bei den Esteralkaloiden nicht beobachtet wird, ein Zusammenwirken zwischen dem gleichen alkoholischen Hydroxyl und der Ketogruppe. Es müssen demnach die drei Gruppen: $=CHOH$, $=C=C=$ und $=CO$ im Zusammenhang stehen. Dieser Forderung werden die bisher zur Diskussion gestellten Formeln von Jaffe und Jacobs²⁹⁾ sowie Stoll und Seebeck¹²⁾ nicht ohne weiteres gerecht, da eine Lokalisation des Keto-Sauerstoffes in den heterozyklischen Ring auch ein Verlegen der Säurekomponenten der Esteralkaloide in die Nähe des N-Ringes verlangt (Abb. 7). In Analogie zu anderen Sterinen möchten wir aber, wie das auch Stoll und Seebeck tun, annehmen, daß Cevagenin am C₃ verestert ist. Dies fordert gleichzeitig eine Verlegung der Ketogruppe und der Doppelbindung in die Ringe A und B des Steringerüsts.

²⁸⁾ D. Jerchel und W. Möhle, Ber. dtsch. chem. Ges. 77, 591 (1944).

²⁹⁾ H. Jaffe und W. A. Jacobs, J. biol. Chemistry 193, 325 (1951).

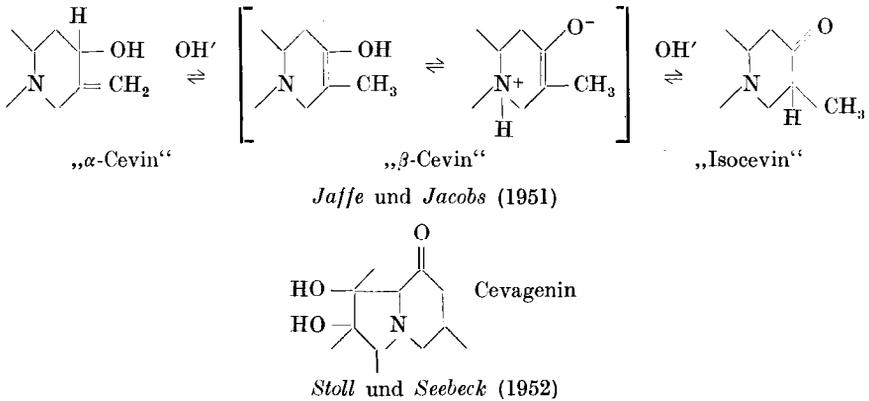


Abb. 7

Die zur Diskussion gestellten Formeln für Cevagenin und Cevin.

Im UV-Spektrum des Cevagenins fanden wir Maxima bei 260 und 290 $m\mu$, was für α , β -ungesättigte Ketone spricht. Die Auffindung des β -Cevin warnt aber vor einer Überbewertung der UV-Spektren für die Aufstellung von Formeln in der Cevagenin-Reihe, denn α -Cevin geht beim Stehen in 1%iger äthanolischer Natronlauge in β -Cevin über, das sich vom α -Cevin im wesentlichen nur durch ein Maximum bei 275 $m\mu$ unterscheidet. Als wir Cevagenin zehnmal aus Äthanol umkristallisierten, veränderte sich das UV-Spektrum des Cevagenins gleichfalls: an Stelle der 2 Maxima bei 260 und 290 $m\mu$ bildete sich eins bei etwa 275 $m\mu$ aus (Abb. 8).

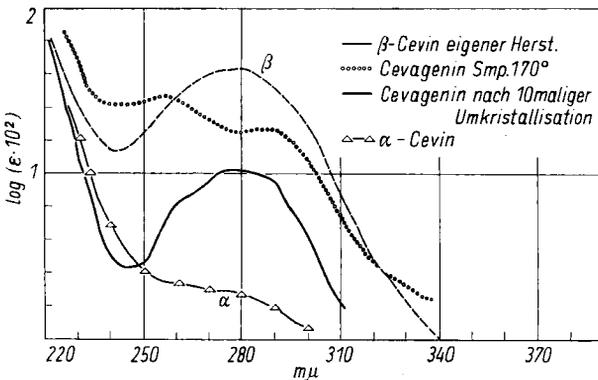


Abb. 8

Ultraviolett-Absorptionsspektren der Cevine und des Cevagenin.

Unsere in Gang befindlichen modellsynthetischen Arbeiten legen wir zunächst die in Abb. 9 skizzierten hypothetischen Formeln zugrunde, die zwar eine Reihe von Eigenschaften der Veratrin-Alkamine, nicht aber alle Feinheiten der Struktur,

wie z. B. die Isomerie α/β -Cevin, widerspiegeln. So erklärt die Doppelbindung am C₄ die leichte Oxydierbarkeit des alkoholischen Hydroxyls am C₃. Die konjugierten Doppelbindungen unserer hypothetischen Cevinformel könnten es verständlich machen, daß man Cevin nicht in Cevagenin umlagern kann. Wir erwägen aber trotzdem auch die Möglichkeit der Stellung der Ketogruppe am C₇, da 7-Keto-Sterine²⁴⁾ UV-Licht ähnlich absorbieren wie β -Cevin.

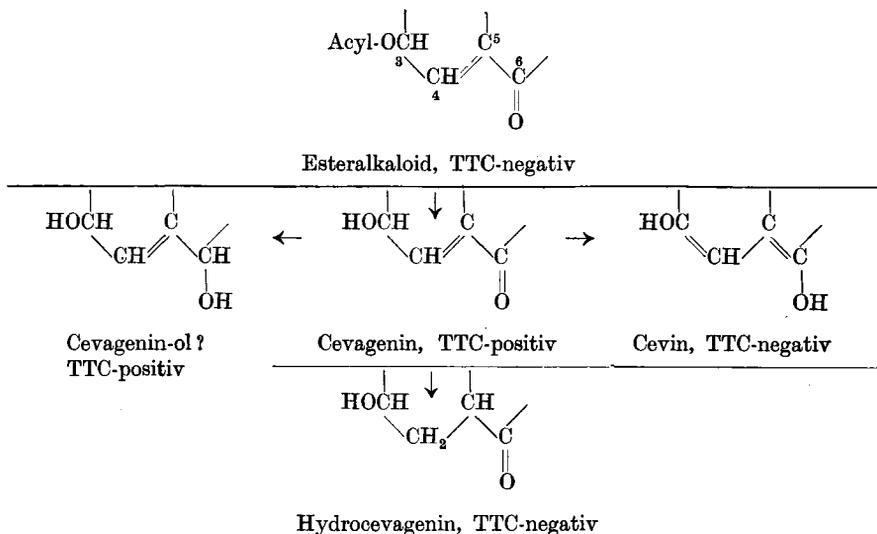


Abb. 9
Hypothetische Veratrin-Alkamin-Formeln. X

Beschreibung der Versuche

Abkürzungen: Vd = Veratridin Cd = Cevadin Cv = Cevin Cvg = Cevagenin

Identifizierung der flüchtigen Säurekomponente

1. 20 g Veratrin (26% Vd) + 120 ccm 5% methanolische Kalilauge wurden 1/2 Std. am Rückflußkühler erhitzt, der Methylalkohol abgedunstet, der Rückstand mit Wasser aufgenommen und mit 25%iger Phosphorsäure auf pH 3 gebracht. Die flüchtigen Säuren wurden mit Wasserdampf überdestilliert, in einer Kalziumhydroxyd-Suspension aufgefangen, das Filtrat mit CO₂ gesättigt und das ausgefallene CaCO₃ abfiltriert. Dieses Filtrat wurde bis zur Bildung einer Kristallhaut eingedampft, das Kalziumtiglinat nach 12 Std. abgesaugt, umkristallisiert und bei 100° getrocknet. Ausbeute: 1,89 g. Zur Gewinnung der freien Säure wurde das Salz in Äther suspendiert und mit verd. Phosphorsäure versetzt. Nach dem Trocknen über P₂O₅ waren Schmp. und Misch-Schmp. mit authentischer Tiglinsäure 62°

Das Filtrat des abgesaugten Kalziumtiglinats wurde mit dem gleichen Volumen Feinsprit versetzt, die nach 12 Std. ausgeschiedenen Kristalle filtriert und bei 100° getrocknet. Ausbeute: 0,65 g. Die daraus isolierte Säure hatte einen Schmp. von 42° und zeigte mit authentischer Angelikasäure keine Depression.

Im Versuch wurden somit insgesamt 2,54 g Calc.-Salze gewonnen (= 72,5% d. Th.).
Verhältnis: 2,9 Tigl.-Säure auf 1 Angel.-Säure.

2. 20 g Veratrin (28% Vd) wurden wie im Versuch 1 aufgearbeitet, nur wurde die flüchtige Säure in einer CaCO_3 -Suspension aufgefangen.

Ausbeute an Calc. tigl.	1,38 g Schmp. d. Säure 63°.
„ „ „ angelic.	0,79 g „ „ „ 41°.
	Sa. 2,17 g (63,5% d. Th.).

Verhältnis: 1,75 Tigl.-Säure auf 1 Angelik.-Säure.

3. 5 g Cd (Schmp. 206°) wurden wie im Versuch 2 aufgearbeitet.

Ausbeute an Calc. tigl.	0,385 g Schmp. d. Säure 59°.
„ „ „ angelic.	0,485 g „ „ „ 41°.
	Sa. 0,87 g (= 74% d. Th.).

Verhältnis: 0,79 Tiglin.-Säure auf 1 Angelika.-Säure.

Papierchromatographische Analyse

Phenol. liq. als wandernde Phase. Absteigende Methode. Papier Schleicher-Schüll Nr. 2043b. Streifen etwa 40 cm lang. Zeitdauer 12–20 Std.

Analytische Methode zur Beurteilung von Veratrin und seinen Bestandteilen

Etwa 300 mg Veratrin oder 200 mg Cd bzw. Vd (genau gewogen) werden in 15 ccm Äthanol und 1,5 ccm 5% äthanol. Kalilauge gelöst. Man kocht 30 Min. am Rückflußkühler, dunstet den Alkohol ab, nimmt den Rückstand mit 6 ccm 25%iger Phosphorsäure und 10 ccm Wasser auf und spült mit 50 ccm Wasser quantitativ in eine *Parnas*-apparat über. Das Ende des Kühlers muß in einigen ccm vorgelegten Wassers eintauchen. Man destilliert mit Wasserdampf 200 ccm über und sammelt diese in einem Meßkolben.

1. 100 ccm des Destillates werden mit n/10-Lauge (Mikrobürette, Phenolphthalein) titriert. 1 ccm n/10-Lauge entspricht 10 mg Angelikasäure = 59 mg Cd. Die Titration wird zur Kontrolle mit der zweiten Hälfte des Destillates wiederholt.

2. Der Rückstand im *Parnasköl*chen wird mit 100 ccm und dann $2 \times$ je 50 ccm Benzol*) ausgeschüttelt. Man trocknet die vereinigten benzolischen Lösungen der Veratrum-säure mit geglühtem Natriumsulfat, filtriert, wäscht mit Benzol nach und destilliert dieses ab. Der Rückstand im Destillationskolben wird in Äther gelöst, der Äther im Titration-gefäß abdestilliert, der Rückstand mit 5 ccm Alkohol und 10 ccm Wasser aufgenommen, bis zur Lösung leicht erwärmt und warm mit n/10-Lauge (Bromkresolpurpur) bis zur leichten Violettfärbung titriert. 1 ccm n/10-Lauge entspricht 18,25 mg Veratrum-säure = 67,5 mg Vd.

3. Die wäßrige Phase der Benzolausschüttelungen wird ammoniakalisch gemacht und portionsweise mit 200 ccm CHCl_3 ausgeschüttelt. Die CHCl_3 -Lösung wird mit Natriumsulfat getrocknet, das Chloroform abdestilliert, der Rückstand bei 105° getrocknet und gewogen.

Vd enthält 75,6% Alkamin, Cd 86,1%.

*) Als Lösungsmittel wurde Benzol verwendet, da Phosphorsäure in sauerstoffhaltigen organischen Lösungsmitteln teilweise löslich ist. Diese Beobachtung erfährt eine nachträgliche Bestätigung durch B. Helferich und U. Baumann, Ber. dtsh. chem. Ges. 85, 461 (1952), die besonders die Löslichkeit der Phosphorsäure in Äther und Dioxan hervorheben.

Ein Beispiel aus den Versuchsprotokollen:

Substanz Veratrin Merck. Für jeden Versuch 300 mg.

ccm n/10 Lauge zur Titration der flüchtigen Säure	% Cevadin	ccm n/10 Lauge zur Titration der Veratrum-säure	% Veratridin
1. 3,88 ccm —	76,3%	1,13 ccm —	25,4%
2. 3,60 ccm —	70,8%	1,28 ccm —	28,8%
3. 3,72 ccm —	73,0%	1,15 ccm —	25,8%
4. 3,70 ccm —	72,9%	1,16 ccm —	26,1%
Mittel 73,2%		Mittel 26,5%	

% Alkamin gravimetrisch	ccm n/10 HCl zur Titration des Alkamins	% Cevin titr.	% Roh-Cevin, berechnet nach dem Cevadin und Veratridingehalt (bequem nach einer graph. Darstellung zu ermitteln)
1. —	5,23 ccm	89%	83,7 — 83,3
2. 80%	4,48 ccm	76%	83,0
3. 87,6%	4,82 ccm	82%	83,4
4. 84%	4,85 ccm	82,4%	83,1 — 83,4
Mittel 83,8%		Mittel 81,8%	Mittel 83,3%

Fehlerberechnung für die Veratridinbestimmung

f	f ²
1. -1,1	1,21
2. +2,3	5,30
3. -0,7	0,49
4. +0,4	0,16
Σ 7,16	

$$f_m = \sqrt{\frac{7,16}{3}} = \pm 1,5\%$$

Fehlerberechnung für die Cevadinbestimmung

f	f ²
1. +3,1	9,60
2. -2,4	5,76
3. -0,7	0,04
4. +0,3	0,09
Σ 15,49	

$$f_m = \sqrt{\frac{15,49}{3}} = \pm 2,3\%$$

Fehlerberechnung für die gravimetrische Roh-Cevin-Bestimmung

f	f ²
2. -3,8	14,4
3. +3,8	14,4
4. +0,2	0,04
Σ 28,84	

$$f_m = \sqrt{\frac{28,84}{2}} = \pm 3,8\%$$

Fehlerberechnung für die titrimetrische Roh-Cevin-Bestimmung

f	f ²
1. + 7,2	51,84
2. - 5,8	33,64
3. + 0,2	0,04
4. - 1,8	3,24
Σ 88,76	

$$f_m = \sqrt{\frac{88,76}{3}} = \pm 5,5\%$$

„Schnellmethode“ zur Veratridin-Bestimmung

Es werden 300 mg Veratrin genau gewogen, mit 15 ccm Äthanol und 1,5 ccm 5% äthanol. Kalilauge versetzt und 30 Min. am Rückflußkühler gekocht. Der Alkohol wird abdestilliert, der Rückstand mit 10 ccm Wasser aufgenommen, mit 6 ccm 25%iger Phosphorsäure angesäuert und die Lösung 2× mit je 50 ccm Benzol ausgeschüttelt. Das Benzol wird nach dem Trocknen mit geglühtem Natriumsulfat abdestilliert und Reste flüchtiger Substanzen durch 10 Min. langes Evakuieren entfernt. Mit Äther spült man den Rückstand in ein weithalsiges Erlenmeyer-Kölbchen, verdunstet den Äther und nimmt mit 2—3 ccm Alkohol und 10 ccm Wasser auf. Man titriert mit n/10-Lauge (Mikrobürette, Bromkresolpurpur) bis zum Farbumschlag nach Blau-Violett.

Nacharbeitung der Cevadin- und Veratridin-Darstellung nach *B. K. Blount*

Beispiele aus den Versuchsprotokollen

1. 10 g Veratrin Merck (26% Vd) + 163 g 0,1 n-H₂SO₄ + 20%ige NaNO₃-Lösung bis kein Niederschlag mehr entstand. Der Niederschlag wurde in Wasser gelöst, mit Ammoniak bis zur alkalischen Reaktion versetzt und mit Chloroform ausgeschüttelt. Ausbeute 6,5 g Base, 37,5% Vd.

Das Filtrat des Nitratniederschlages wurde mit NH₃ versetzt und mit Chloroform ausgeschüttelt. Ausbeute: 3,3 g Base, 8,6% Vd.

Kontrollrechnung:

6,5 g (Vd 37,5%) entspricht 2,44 g Vd } Sa. 2,72 g Vd (theor. 2,60 g)
3,3 g (Vd 8,6%) entspricht 0,26 g Vd }

2. 4,5 g aus Nitratfällung gewonnene Base (37,5% Vd) + 10 ccm 2 n-H₂SO₄ + gesättigte (NH₄)₂SO₄-Lösung bis zur gerade auftretenden Trübung. Nach dreitägigem Stehen im Eisschrank wurde die ölige Schicht abgetrennt. Daraus wurden 2,3 g Base isoliert, 45,1% Vd.

Die wäßrige Schicht über der öligen Abscheidung ergab 2,0 g Base, 30,0% Vd.

Kontrollrechnung:

2,3 g (Vd 45,1%) entspricht 1,03 g Vd } Sa. 1,63 g Vd (theor. 1,69 g).
2,0 g (Vd 30,0%) entspricht 0,60 g Vd }

3. Versuch einer Sulfatfällung ohne vorherige Nitratfällung:

5 g Veratrin (38,0% Vd) + 6 g 1,5 n-H₂SO₄ + 1 g (NH₄)₂SO₄-Substanz. Nach 12 Std. wäßrige Phase von öliger Masse abtrennen. Aus der öligen Masse wurden 1,5 g Base, 44,5% Vd isoliert.

Aus der wäßrigen Phase wurden 3,3 g Base, 34,0% Vd, gewonnen.

Kontrollrechnung:

1,5 g (Vd 44,5%) entspricht 0,67 g Vd } Sa. 1,79 g Vd (theor. 1,90 g).
3,3 g (Vd 34,0%) entspricht 1,12 g Vd }

4. Fällung mit Kaliumpyrosulfat:

10 g Veratrin (26% Vd) + 40 g 2 n-H₂SO₄ + 40 g gesättigter K₂S₂O₇-Lösung + K₂S₂O₇ in Substanz q. s. Aus der Fällung 3,6 g Base, 53,0% Vd.

Aus dem Filtrat 6,1 g Base, 10,1% Vd.

Kontrollrechnung:

3,6 g Base (Vd 53,0%) entspricht 1,91 g Vd }
6,1 g Base (Vd 10,1%) entspricht 0,61 g Vd } Sa. 2,52 g Vd (theor. 2,60 g).

5. Fällung mit Kaliumpyrosulfat:

5,0 g Veratrin (53% Vd) + 20,0 g 2 n-H₂SO₄ + 20 g gesättigter K₂S₂O₇-Lösung. Aus der Fällung 2,8 g Base, 75,3% Vd.

Aus dem Filtrat 2,0 g Base, 25,0% Vd.

Kontrollrechnung:

2,8 g Base (Vd 75,3%) entspricht 2,11 g Vd }
2,0 g Base (Vd 25,0%) entspricht 0,50 g Vd } Sa. 2,61 g Vd (theor. 2,65 g).

Die Zusammensetzung der nach der Hexametylentetramin-Methode in der Hitze gefällten Fraktionen

Verfahren	Menge der gewonnenen Base	Analytisch ermittelter Veratridingehalt	Zur Kontrolle der anal. Bestimmungen errechneter Vd-Gehalt
Mit Äther ausgeschüttelt	11%	8,0%	0,83
Durch Aufkochen ausgefällte 1. Fraktion	21%	40,2%	8,45
2. Frakt.	3%	33,8%	1,01
3. Frakt.	24%	29,7%	7,12
Zurückgelassener, nicht ausgefallter Rest	41%	18,7%	7,66
			Sa. 25,07 (theor. 26%)

Cevadin-Gewinnung durch Benzin-Extraktion

5 g Veratrin (28,2% Vd) wurden mit 120 ccm Benzin (Kp 92–125°) gekocht.

Substanz	Schmp.	Menge in g	Vd %	Vd-Menge in g
im Benzin unlöslich	146°	0,63	38,0	0,24
beim Erkalten ausgefallen	147°	2,8	41,8	1,17
im Benzin gelöst	170°	1,4	10,1	0,14
		Sa. 4,83 (theor. 5,0)		Sa. 1,55 (theor. 1,41)

Cevin-,di"-kalium

1. 314 mg Roh-Cevindikalium wurden verascht. Der Rückstand betrug 73 mg (theor. für 2 K 74 mg).

2. 312 mg Roh-Cevindikalium wurden mit Schwefelsäure abgeraucht. Rückstand 109,5 mg (theor. 93 mg K₂SO₄).

3. 500 mg Roh-Cevindikalium wurden in H₂O gelöst und mit n/10-HCl titriert (Phenolphthalein). Verbrauch 19,3 ccm (für 2 K theor. 17,1 ccm).

Umkristallisiertes Cevin-Kalium

4. 113 mg → Rückstand 13 mg K_2CO_3 (theor. für 1 K 13,14 mg).
5. 200 mg wurden mit H_2SO_4 abgeraucht → 32,0 mg K_2SO_4 (theor. für 1 K 31,8 mg).
6. 440 mg wurden in H_2O gelöst und mit $n/10$ -HCl titriert (Phenolphthalein)-Verbrauch 9,2 ccm (für 1 K theor. 7,54 ccm).

Monoacetyl-cevin

5,85 g Cevindikalium + 0,78 g CH_3COCl + 50 ccm Äther. Nach einigen Stunden wurde der Äther filtriert, abgedunstet und daraus 1,4 g Subst. (Schmp. 143°) gewonnen. Der Rückstand auf dem Filter wurde mit H_2O zerlegt und mit Äther ausgeschüttelt. Es wurden 0,6 g Substanz (Schmp. 152°) gewonnen. Ausbeute an Acetyl-cevin 2,0 (= 36,3%). Zur Umkristallisation von Acetyl-cevin eignen sich Äther-Petroläther-Mischungen.

Analysen: 300 mg Acetyl-cevin (Schmp. 152°) → 31,4 mg CH_3COOH (theor. 32,7).
 $C_{29}H_{45}O_9N$ (551,65) Gef.: C 62,90 H 8,43 N 2,45
 Ber.: » 63,00 » 8,27 » 2,54

Monobenzoyl-cevin

1. 1,17 g Cevindikalium + 0,28 g (= 0,23 ccm) Benzoylchlorid + 40 ccm Äther. Das Filtrat ergab beim Abdunsten 0,8 g (= 0,65% d. Th.), umkristallisiert aus verd. Alkohol Schmp. 160° .

Analyse: 30 mg wurden verseift, phosphorsauer mit Benzol ausgeschüttelt. Rückstand aus dem Benzol verbrauchte 0,51 ccm $n/10$ -KOH, entsprechend 5,96 mg Benzoesäure (theor. 6,20).

2. 5,85 g Cevindikalium + 1,15 ccm Benzoylchlorid + 200 ccm Äther. Filtrat ergab nach Umkristallisation 2,8 g (= 45% d. Th.) Schmp. 160° .

Analysen zweier verschiedener Kristallisationsfraktionen:

- a) 119 mg → Verbr. 2,47 ccm $n/10$ -Lauge → 30,1 mg Benzoesäure (theor. 23,7),
- b) 100 mg → Verbr. 1,99 ccm $n/10$ -Lauge → 24,2 mg Benzoesäure (theor. 19,9).

$C_{34}H_{47}O_9N$ (613,72) Gef.: C 65,77 H 7,66 N 2,12
 Ber.: » 66,50 » 7,70 » 2,28

Monoveratroyl-cevin

Das Veratrumsäurechlorid wurde nach *v. Kostanecki* und *Tambor* (B. 39, 4023 [1906]) hergestellt, Schmp. 66° . 11,1 g Cevindikalium + 3,8 g Veratrumsäurechlorid + 200 ccm Äther. Aus dem Filtrat wurden 10,3 g Subst. (= 80,4% d. Th.) gewonnen. Schmp. nach Umkristallisation aus verd. Alkohol 146° .

Analysen: Schnellmethode: 100 mg verbrauchen 1,47 ccm $n/10$ -Lauge = 99,5% Monoveratroyl-cevin.

$C_{38}H_{51}O_{11}N$ (673,77) Gef.: C 64,31 H 7,85 N 1,95
 Ber.: » 64,16 » 7,63 » 2,08

Das UV-Spektrum des Veratroylcevin wurde mit dem *Beckmann*-Spektrophotometer, Modell DU, in 0,00005 n-Lösung (= 0,00337 g in 100 ccm) in 96,5 v/o-Äthanol aufgenommen*).

Natürliches Acetyl-Veratridin, Schmp. 208—213°.

Analyse: 200 mg verbrauchten für die Titration der flücht. Säure 3,97 ccm $n/10$ -Lauge = 17,1 mg CH_3CO (theor. 12 mg für 1 CH_3CO). Verbrauch für die Veratrumsäure 1,76 ccm $n/10$ -Lauge = 29 mg (theor. 47 mg Veratroyl-Rest).

* Ich danke Dr. E. Habermann vom Pharmakologischen Institut der Universität Würzburg für die Aufnahme der UV-Spektren.

Acetyl-Pseudoveratridin, Schmp. 149°

Analyse: 298 mg verbrauchten für die flücht. Säure 4,68 ccm n/10-Lauge = 20,1 mg CH₃CO (theor. 17,9 mg). Verbrauch für die Veratrumsäure 2,56 ccm n/10-Lauge = 42,3 mg Veratroyl-Rest (theor. 68,6 mg).

Tabelle zum Vergleich der Eigenschaften des partialsynthetischen Monoveratroylcevens und des natürlichen Veratridins

Lösungsmittel bez. Reaktion	Pseudo-Veratridin	Veratridin
95 v/o-Äthanol	löslich in 3,6 Teilen	löslich in 4 Teilen
70 v/o-Äthanol	„ „ 4 „	„ „ 7 „
Chloroform	„ „ 1,8 „	„ „ 3 „
Benzol	„ „ 3 „	„ „ 4 „
Petroläther	„ „ 5000 „	„ „ 2500 „
Äther	„ „ 154 „	„ „ 4 „
H ₂ O	„ „ 2500 „	„ „ 1100 „
Weppen-Rk.	violett	grün-blau-braun
Diazo-Rk.	gelblich, nach 2 Std. rosa	farblos
Vitali-Rk.	braun	bräunlich, vom Rande rot

Monoäthyl-äther des Cevins

5,85 g Cevindikalium + 1,09 g C₂H₅Br + 50 ccm Äther. Nach der Umsetzung wurde Wasser hinzugefügt und die ätherische Schicht abgetrennt. Daraus wurden 1,5 g (27,9% d. Th.) gewonnen. Schmp. 162°.

Analysen: Äthoxylgehalt: 9,89 mg verbrauchen n/50-Na₂S₂O₃ 5,30 ccm → 8,05% C₂H₅O (ber. 8,38%).

C₂₉H₄₇O₈N (537,67) Gef.: C 62,82 H 8,62 N 2,70
Ber.: » 64,74 » 8,80 » 2,60

Monomethyl-äther des Cevins

a) 2,92 g Cevindikalium + 0,7 g CH₃J + 50 ccm Äther. Nach der Umsetzung wurde Wasser hinzugefügt und die ätherische Schicht abgetrennt. Daraus wurde 1,0 g Substanz (= 37,3% d. Th.) gewonnen. Schmp. 159°.

Analysen: Methoxylgehalt: 11,878 mg, verbr. 5,18 ccm n/50-Na₂S₂O₃ → 4,51% CH₃O (ber. 5,92%).

C₂₈H₄₅O₈N (523,65) Gef.: C 63,24 H 8,88 N 2,79
Ber.: » 64,20 » 8,65 » 2,63]

b) 2,54 g Cevin + 100 ccm Äther + ca. 10 ccm Diazomethan-Lösung (1 ccm = 0,026 g CH₂N₂). Ausbeute: 2,6 g. Schmp. 164°.

Analyse: Methoxylgehalt: 8,178 mg verbr. 2,83 ccm n/50-Na₂S₂O₃ → 3,58% CH₃O (ber. 5,92%).

c) 4,0 g Cevin wurden in 100 ccm Methanol gelöst und 6 Std. bei Zimmertemperatur gasförmiges HCl eingeleitet. Nach Absaugen des Methanols im Vakuum wurde der Rückstand mit verd. Natronlauge aufgenommen und mit Äther ausgeschüttelt. Die ätherische Lösung wurde mit Kohle behandelt und daraus 1,8 g einer Substanz vom Schmp. 145–150° gewonnen. Diese löste sich in der Wärme in verd. Alkohol und fiel beim Erkalten wieder amorph aus.

Analysen: Methoxylgehalt: 11,026 mg verbr. 7,13 ccm n/50-Na₂S₂O₃ → 6,68% CH₃O (ber. 5,92%).

Bei einem zweiten Ansatz wurde ein Produkt mit einem geringeren Methoxylgehalt gefunden: 4,185 mg verbr. 1,73 ccm n/50-Na₂S₂O₃ → 4,27% CH₃O (ber. 5,92%).

C₂₈H₄₅O₈N (523,65) Gef.: C 63,72 H 8,44 N 2,95
Ber.: » 64,20 » 8,65 » 2,63

Benzyläther des Cevins

2,92 g Cevindikalium + 0,63 g Benzyl-chlorid + 50 ccm Äther → Ausbeute 1,9 g (= 59,3% d.Th.). Schmp. nach wiederholtem Umlösen aus verdünntem Äthanol 150–152°.

C₃₄H₄₉O₈N (599,74) Gef.: C 68,4 H 8,33 N 2,45
Ber.: » 68,2 » 8,24 » 2,33

2,4-Dinitrophenyl-cevin

509 mg Cevin (1 Millimol) + 195 mg 2,4-Dinitro-fluor-benzol (1,05 Millimol) + 10 ccm Azeton + 5 ccm H₂O. Die klare Lösung wird mit 126 mg Natriumbikarbonat (1,25 Millimole) langsam versetzt. Es scheidet sich sofort eine orangefarbene Substanz ab. Alle Versuche, diese umzukristallisieren, mißlangen. Die mehrfach aus verd. Äthanol und Methanol umgelöste Substanz schmolz bei 158–160°.

Analyse: 3,059 mg → 0,112 ccm N bei 738 mm und 24° C: Gef.: N 4,09; Ber.: N 6,22.

Analyse des ersten Isocevin, das durch fraktionierte Ätherextraktien aus rohen Veratrin-Alkamin-Gemischen isoliert wurde:

C₂₇H₄₃O₈N (509,62) Gef.: C 62,4 H 8,31 N 2,73
Ber.: » 63,6 » 8,50 » 2,75

Quantitative Ausführung der TTC-Reaktion

10 mg Cevagenin-Cevin-Gemisch werden mit 1 ccm 1/n-Natronlauge und 1 ccm 1%iger TTC-Lösung versetzt. Nach ½ Std. gibt man 5 ccm 1%ige Salzsäure hinzu und schüttelt das gebildete Formazanderivat mit Chloroform aus. Die vereinigten roten Chloroformlösungen werden auf 25 ccm eingestellt. Die Messung der Extinktion erfolgt im Pulfrich-Photometer, Filter S 53, 5 mm Küvetten. Der Gehalt an Cevagenin ergibt sich aus einer Eichkurve, die mit Cevin-Cevagenin-Gemischen bekannten Gehaltes ermittelt wurde.

Eichkurve: eingestellt auf krist. Cevagenin vom Schmp. 170°.

20% Cvg-E = 0,40; 50% Cvg-E = 1,00; 80% Cvg-E = 1,70.

Cevagenin-Gehalte der mit Chloroform ausgeschüttelten Alkamine bei verschiedenem P_H

10 g des bei der Verseifung von Veratrin anfallenden Roh-Alkamins (Cvg-Gehalt ca. 20%) wurden in der äquivalenten Menge verd. Salzsäure gelöst, durch Zugabe von Natronlauge steigende P_H-Werte eingestellt und mit jeweils 25 ccm Chloroform ausgeschüttelt.

P _H	Substanzmenge	% Cvg	Cvg-Menge in Gramm
7,0	1,179	0	0
7,8	0,991	8,0	0,079
8,5	1,241	13,0	0,161
9,0	1,610	21,5	0,346
10,0	2,291	37,5	0,860
12,0	1,312	55,0	0,720
	Sa. 8,624 (theor. 10,0)		Sa. 2,066

Löslichkeitstabelle

Lösungsmittel	Gewichtsteile Lösungsmittel für 1 Teil:	
	α -Cevin	Cevagenin vom Schmp. 170°
Prima-Sprit	4	60
70 v/o-Äthanol	6	70
Azeton	3	260
Benzol	6	4500
Chloroform	2	90
Äther	4	13000
Methanol	4	26
H ₂ O	120	920
Petroläther	1250	20000
Essigsäure-äthyl-ester	2	500

Gewinnung von Cevagenin aus Handels-Veratrin

6,0 Veratrin werden mit 30 ccm Äthanol und 5 ccm 2/n-Natronlauge 30 Min. auf dem siedenden Wasserbade erhitzt. Nach dem Neutralisieren mit etwa 27 ccm 5%iger Essigsäure destilliert man $\frac{2}{3}$ im Vakuum ab. Nach dem Abkühlen stellt man mit 2n-Natronlauge (ca. 6 ccm) auf ein P_H von 8,5 bis 9,0 ein und schüttelt mit 50 ccm Chloroform aus. Die aus dem Chloroform gewonnene Substanz gibt bei Kristallisationsversuchen kein Cevagenin. Darauf setzt man weitere 10 ccm 2n-Natronlauge hinzu (P_H über 12), schüttelt mehrere Male mit je 25 ccm Chloroform aus und destilliert das Chloroform im Vakuum ab. Der meist weiße Rückstand wird in wenig Äthanol gelöst und mit Äther versetzt. Das Cevagenin kristallisiert sofort aus: Ausbeute: 1,0 bis 1,5 g (20–30% d. Th.).

Dihydro-cevagenin

2 g Raney-Nickel wurden in 50 ccm Fein-Sprit suspendiert und in einer Schüttelbirne mit Wasserstoff gesättigt. 1,0 g Cvg wurden in 20 ccm Äthanol gelöst und hinzugegeben. Die Substanz nahm in 4 Std. 45,4 ccm (20°, 777 mm) Wasserstoff auf, was auf normale Verhältnisse reduziert, 47,6 ccm entspricht (ber. für 1 Doppelbindung 44,0 ccm). Die aus dem Filtrat gewonnene Substanz schmilzt bei 170–173°.

Analyse: C₂₇H₄₅O₈N (511,62) Gef.: C 62,71 H 9,23; Ber.: C 63,30 H 8,88

Dihydro-cevin

Die Hydrierung wurde wie beim Cvg durchgeführt. 1,5 g α -Cevin verbrauchten in 4 Std. 59,9 ccm Wasserstoff (20°, 767 mm), was auf normale Verhältnisse reduziert 65,7 ccm entspricht. (Ber. für 1 Doppelbindung 66,0 ccm.)

Der Katalysator wurde abfiltriert, der Alkohol bis auf einige ccm abdestilliert und Äther hinzugegeben. Dihydrocevin kristallisierte in Nadeln aus, die bei 170–200° Lösungsmittel abgeben und bei 243–245° schmelzen.

Analyse: C₂₇H₄₅O₈N (511,62) Gef.: C 62,70 H 8,74; Ber.: C 63,30 H 8,88

„Cevagenin-ol“

1 g Cvg (Schmp. 236°) wurde in 50 ccm abs. Äther suspendiert, mit 200 mg LiAlH₄ versetzt und unter sorgfältigem Feuchtigkeitsausschluß 8 Std. am Rückflußkühler gekocht. Darauf wurde Wasser zugesetzt, wobei ein Aufbrausen zeigte, daß noch ein Überschuß an LiAlH₄ vorhanden war. Aus der Ätherphase wurden 100 mg einer Substanz vom Schmp. 150–154° gewonnen. Die TTC-Reaktion dieser Substanz war deutlich positiv.

Analyse: C₂₇H₄₅O₈N (511,62) Gef.: C 64,15 H 8,95; Ber.: C 63,30 H 8,88

Die wäßrige Phase wurde mit Chloroform ausgeschüttelt und so die restliche Substanz zurückgewonnen, die sich in den untersuchten Eigenschaften vom Cevagenin nicht unterschied.

Dieser Versuch wurde 3× in Äther und 2× in Benzol, stets mit dem gleichen Ergebnis, wiederholt.