[27] M. ANBAR & P. NETA, J. applied Radiation Isotopes *16*, 227 (1965).
[28] A. C. R. BROWN & D. G. L. JAMES, Canad. J. Chemistry *43*, 660 (1965).
[29] J. L. MAGEE, in «Comparative Effects of Radiation», M. BURTON, J. KIRBY-SMITH & J. L. MAGEE, Eds., Wiley, New York 1960.
[30] H.-D. KLOTZ, H. DROST & W. SCHULZ, Z. physik. Chem. *237*, 305 (1968).
[31] A. S. RODGERS, D. M. GOLDEN & S. W. BENSON, J. Amer. chem. Soc. *89*, 4578 (1967).
[32] S. ARAI, S. SHIDA, K. YAMAGUCHI & Z. KURI, J. chem. Physics *37*, 1885 (1962).
[33] B. ZIMMERLI & T. GÄUMANN, Helv. *52* (1969), im Druck; B. ZIMMERLI & T. GÄUMANN, Radiochim. Acta *8* (1969), im Druck.
[34] B. ZIMMERLI & T. GÄUMANN, Chem. Commun. *1969*, im Druck.
[35] T. OKADA, S. TAKAMUKA & H. SAKURAI, Nippon Kagaku Zasshi *86*, 1118 (1965).
[36] A. E. G. BERGDOLT, Diss. TH Karlsruhe 1965.
[37] R. F. BRIDGER & G. A. RUSSELL, J. Amer. chem. Soc. *85*, 3754 (1963).
[38] N. N. SEMJONOW, in «Einige Probleme der chemischen Kinetik und Reaktionsfähigkeit», Akademie-Verlag, Berlin 1961.
[39] S. W. BENSON, J. chem. Educ. *42*, 502 (1965).
[40] M. SZWARC & J. H. BIRKS, in «Theoretical Organic Chemistry, Proceedings and Discussion of the Kékulé Symposium London 1958», Butterworths, London 1959.
[41] L. HERK, M. FELD & M. SZWARC, J. Amer. chem. Soc. *83*, 2998 (1961).
[42] J. GRESSER, A. RAJBENBACH & M. SZWARC, J. Amer. chem. Soc. *83*, 3005 (1961); D. G. L. JAMES & R. D. SUART, J. physic. Chemistry *69*, 2362 (1965).

86. Zur Biosynthese des Strychnins

135. Mitteilung über Alkaloide[1])

von **Ch. Schlatter, E. E. Waldner** und **H. Schmid**
sowie **W. Maier** und **D. Gröger**

Organisch-chemisches Institut der Universität Zürich und
Institut für Biochemie der Pflanzen
der Deutschen Akademie der Wissenschaften zu Berlin, Halle (Saale)

(24. II. 69)

Summary: From the feeding of young plants of *Strychnos nux-vomica* with [^{14}C]-1- and [^{14}C]-2-acetate it could be deduced that the C-atoms 22 and 23 were derived from acetate. [^{14}C]-2-mevalonate, [^{14}C]-2-geraniol and [^{14}C]-2-geranyl pyrophosphate were also incorporated into strychnine. The distribution of radioactivity in the «mevalonate-strychnine» was in agreement with the monoterpenoid hypothesis. Feeding experiments especially with [^{14}C]-tryptophane showed that the main production centre of the alkaloid lay in the roots and that only a small part of it was carried to the leaves. Tritium labelled WIELAND GUMLICH aldehyde as well as $N_{(a)}$-[^{14}C]-1-acetyl WIELAND GUMLICH aldehyde were not converted into strychnine by *S. nux-vomica*.

Das Alkaloid Strychnin (I) aus verschiedenen *Strychnos*-Arten unterscheidet sich von anderen C_{20-21}-Indolalkaloiden durch die zusätzliche Anwesenheit einer das $N_{(a)}$- und das Atom C(17) verbindenden C_2-Brücke (C(22)–C(23)). In einer vorläufigen Mitteilung [2] wurde gezeigt, dass diese zwei Atome aus Acetat stammen.

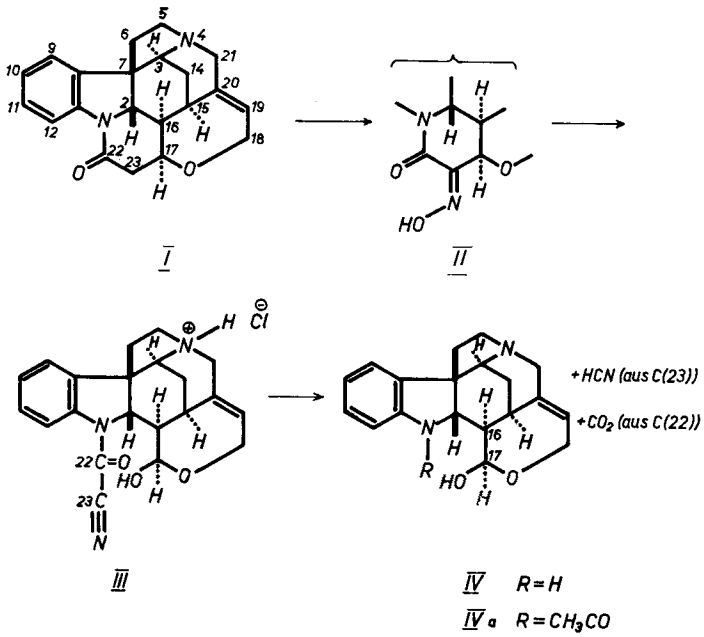
Im folgenden werden nun diese und weitere Versuche ausführlich beschrieben. Die Acetat-Versuche wurden wie folgt ausgeführt: Natrium-[^{14}C]-1- und -[^{14}C]-2-acetat hat man an 4–8 Monate alte Pflänzchen von *Strychnos nux-vomica* L. (*Loganiaceae*)

[1]) 134. Mitteilung vgl. [1].

appliziert (Tabelle 1). In den Experimenten 1 und 2 wurden die oberirdischen Teile der Pflanze in die radioaktive Lösung gestellt. In den Versuchen 3 und 4 wurde das Natriumacetat mit der Dochttechnik verabreicht. Die Inkorporierung in Strychnin war schlecht und betrug nur 0,004–0,02%. Erst später wurde gefunden, dass der Vorläufer wesentlich besser (Inkorporation 0,415%) bei direkter Applikation an die Wurzel eingebaut wird (Versuch 5).

Zum Abbau gelangte das bis zur Radioaktivitätskonstanz gereinigte Strychnin (I). Der Abbau des Alkaloids ist nachfolgend wiedergegeben:

Über das Hydrochlorid des 23-Isonitrososstrychnins (II) erhält man nach WIELAND *et al.* [3] mit Thionylchlorid durch Fragmentierung $N_{(a)}$-Cyanoformyl-WIELAND-GUMLICH-aldehyd-hydrochlorid (III) [4][2]. Durch Verkochen mit verdünnter Säure



resultierte aus III WIELAND-GUMLICH-Aldehyd (IV), Kohlendioxid aus C(22) (gefasst als Bariumcarbonat) und Blausäure aus C(23) (gefasst als Silbercyanid). Die gefundene Radioaktivitätsverteilung bei den Versuchen 1–4 ist ebenfalls in der Tabelle 1 wiedergegeben. In den Versuchen 1 und 2 mit [^{14}C]-1-Acetat sind etwa 50% der Radioaktivität spezifisch in C(22) lokalisiert; C(23) ist praktisch inaktiv. Die andere Hälfte der inkorporierten Aktivität ist auf den Rest der Strychnin-Molekel verteilt. Ein spezifischer Einbau in die C(22)–C(23)-Brücke wurde auch bei den Experimenten 3 und 4 (Dochttechnik) beobachtet. Die Resultate zeigen eindeutig, dass C(22) mit der Oxydationszahl + III aus der Carboxylgruppe der Essigsäure stammt. Auf einen Abbau des Strychnins aus Versuch 5 konnte deshalb verzichtet werden.

In weiteren Versuchen wurde der mevalonide Aufbau des restlichen aliphatischen Teils der Strychninmolekel nachgewiesen. Appliziert wurde Natrium-[^{14}C]-2-mevalonat

[2]) Siehe eine später erscheinende, ausführliche Mitteilung.

über die Wurzeln, in einem Fall über den Stamm (Tabelle 2). Die Inkorporation in Strychnin war sehr schlecht. Es musste deshalb ein Strychnin mit sehr geringer spezifischer Aktivität abgebaut werden. Die erhaltenen Werte können deshalb keine grosse Genauigkeit beanspruchen, sind aber trotzdem signifikant.

Zur Lokalisierung der Aktivität wurde einerseits Strychnin (I) zu WIELAND-GUMLICH-Aldehyd (IV) abgebaut, der zu WIELAND-GUMLICH-Glykol (V) reduziert wurde. Entgegen den Angaben der Literatur [5] entstand bei der Reduktion von V mit Wasserstoff/Palladium nicht 18-Desoxy-19,20-dihydro-WIELAND-GUMLICH-glykol, sondern nur die 18-Desoxy-Verbindung VI [6], (vgl. [7]). VI wurde mit RANEY-Nickel in die Neo-Verbindung VII umgewandelt, die spektroskopisch charakterisiert wurde. Durch modifizierte KUHN-ROTH-Oxydation von VII bildeten sich aus der Seitenkette Propionsäure und Essigsäure, die als *p*-Bromphenacylester gereinigt und ausgezählt wurden. Auf einem weiteren Abbauweg wurde Strychnin (I) über 19,20-Dihydro-18-desoxy-isostrychnin (VIII) durch Ozonolyse in Strychanon (IX) [8]

Tabelle 1. [^{14}C]-*Acetat-Fütterungen*

Radioaktiv markierter Vorläufer	Na-[^{14}C]-1-Acetat			Na-[^{14}C]-2-Acetat	
Versuche Nr.	1	2	3	4	5
Gefütterte Menge (μCi)	180	500	380	500	165
Anzahl der Pflanzen	6	4	5	5	10
Alter der Pflanzen (Monate)	4	7	4	8	4
Fütterungsdauer (Tage)	4	4	31	20	5
Fütterungstechnik	Oberirdische Teile in Glas	Oberirdische Teile in Glas	Faden durch Stamm[a])	Faden durch Stamm	Wurzel in Glas
Inkorporierung in % (= Radioaktivität im Strychnin × 100/gefütterte Dosis)	0,004	0,004	0,013	0,021	0,415
Für den Abbau zur Verfügung stehende Anzahl Impulse (dpm)	10^4	10^4	$2 \cdot 10^4$	$5 \cdot 10^4$	$1 \cdot 10^6$

	Gefundene Radioaktivität (Angabe in relativen molaren Aktivitäten)			
Versuch Nr.	1	2	3	4
Strychnin (I)	1,00		1,00	1,00
23-Isonitrosostrychnin (II)	1,00	1,00	1,10	1,09
N(a)-Cyanoformyl-WIELAND-GUMLICH-aldehyd · HCl (III)	1,04		1,02	1,04
WIELAND-GUMLICH-Aldehyd (IV)	0,51	0,38	0,08	0,11
C(22) (als $BaCO_3$)	0,50	0,51	0,88	0,03
C(23) (als AgCN)	0,02	0,01	0,09	0,85

[a]) An 2 Pflanzen wurden je 40 μCi Na-[^{14}C]-1-Acetat durch Subcutankanülen verabreicht.

umgewandelt, das wiederum der modifizierten KUHN-ROTH-Oxydation unterworfen wurde.

Die Aktivitäten der gemessenen Verbindungen sind in Tabelle 2 aufgeführt. Auffällig ist, dass C(23) 13–14% und C(22) 4% der im Strychnin inkorporierten Aktivität aufweisen. Da, wie vorhin gezeigt, diese Atome aus Essigsäure stammen, unseres

Tabelle 2. *[^{14}C]-2-Mevalonat-Fütterungen*

Versuch Nr.	6	7	8
Gefütterte Menge Na-[^{14}C]-2-Mevalonat (μCi)	220	500	1400
Anzahl Pflanzen	4	4	10
Alter der Pflanzen (Monate)	7	7	12
Fütterungsdauer (Tage)	8	12	19
Fütterungstechnik	Wurzeln in Glas	Wurzeln in Glas	Faden durch Stamm
Inkorporierung in Strychnin (%)	0,0014	0,002	0,0003
Für den Abbau zur Verfügung stehende Anzahl Impulse (dpm)	$5 \cdot 10^3$	$2 \cdot 10^4$	$6 \cdot 10^3$
	Radioaktivität (Angabe in relativen molaren Aktivitäten)		
Versuch Nr.	6	7	8
Strychnin (I)	1,00	1,00	1,00
WIELAND-GUMLICH-Aldehyd (IV)		0,83	
WIELAND-GUMLICH-Glykol (V)		0,845	0,785
C(22) (als $BaCO_3$)		0,03	0,05
C(23) (als AgCN)		0,14	0,13
C(18) + C(19) aus Strychanon (IX)	0,1	0,06	0,07
C(18) + C(19) + C(20) aus Strychanon (IX)		0,088	0,14
C(18) + C(19) aus 18-Desoxy-neo-WIELAND-GUMLICH-glykol (VII)		0,05	0,09
C(18) + C(19) + C(20) aus 18-Desoxy-neo-WIELAND-GUMLICH-glykol (VII)		0,08	0,12
Verschmierung im C_9-Teil	0,45	0,27	0,40
Verschmierung pro C-Atom	0,05	0,03	0,045
Strychanon	0,65	0,65	0,68
C(17), aus Differenz WIELAND-GUMLICH-Glykol – Strychanon – Verschmierungsanteil in C(17)		0,165	0,06
C(17), aus Differenz 1,00 – C(22) – C(23) – Strychanon – Verschmierungsanteil in C(17)		0,15	0,095
C(17), berechnet nach Monoterpen-Hypothese ($^1/_3$ der spezifisch inkorporierten Aktivität)		0,185	0,14

Wissens aber ein biologischer Abbau von [^{14}C]-2-Mevalonat in [^{14}C]-2-Acetat noch nie beobachtet wurde [9], lag der Schluss nahe, dass das verwendete Mevalonat mit [^{14}C]-2-Acetat verunreinigt war. Tatsächlich liess sich nachweisen, dass unser Mevalolacton-Präparat 0,2% seiner Aktivität in Form von Essigsäure enthielt (siehe exper. Teil). Da Acetat ca. 100mal besser in Strychnin inkorporiert wird als Mevalonat, sind rund 20% der Totalaktivität des Strychnins in den C-Atomen 22 und 23 zu erwarten.

Bei einem spezifischen Einbau von Mevalonat [10] sollte der aliphatische C_9-Teil des Strychnins sämtliche inkorporierte Aktivität enthalten, und zwar zu 66% in C(3) und zu 33% in C(17). Die in den C-Atomen 18, 19 und 20 enthaltene Aktivität ist ein Mass für die Randomisierung. Sie beträgt pro C-Atom im Versuch 73%, im Versuch 8 4,5% und somit für den aliphatischen C_9-Teil 27 bzw. 40%.

Aus der Differenz der Aktivität des WIELAND-GUMLICH-Glykols (V) und von Strychanon (IX) bzw. aus der Differenz von 1,00 und den relativen molaren Aktivitäten von C(22) + C(23) + Strychanon wird für die Aktivität von C(17) ein Wert von 0,195 bzw. 0,18 im Versuch 7 sowie 0,105 bzw. 0,14 im Versuch 8 gefunden. Zieht man vom Mittel dieser Werte noch die durch die Randomisierung bedingte unspezifische Aktivität für ein C-Atom ab, so erhält man für das C(17) die korrigierten Werte 0,16 bzw. 0,08. Nach Abzug der Aktivitäten von C(22) und C(23) sowie der durch Randomisierung bedingten Aktivitäten des C_9-Teiles ergibt sich, dass die Mevalonsäure im Versuch 7 zu 56% und im Versuch 8 zu 42% spezifisch in das Strychnin eingebaut worden ist.

Bei Gültigkeit der Monoterpenhypothese für die Biosynthese der Indolalkaloide [10] ist demnach für C(17) eine relative molare Aktivität von 18,5% im Versuch 7 und 14% im Versuch 8 zu erwarten. Die gefundenen Werte stimmen damit befriedigend überein.

Die Aktivität des C-Atoms 3 konnte nicht bestimmt werden. Der C_9-Teil ohne das C-Atom 17 enthält auf Grund der Aktivitätsdifferenz von Strychanon und der Randomisierung im Versuch 7 41% und im Versuch 8 32,5% der inkorporierten Aktivität, die spezifisch auf [^{14}C]-2-Mevalonat zurückzuführen ist. Man erwartet im Versuch 7 37% (2/3 von 56%) und im Versuch 8 28% (2/3 von 42%).

Auch [^{14}C]-2-Geraniol sowie Li-[^{14}C]-2-Geranylpyrophosphat wurden in Strychnin eingebaut (Tabelle 3). Bei Applikation der Vorläufer über die Wurzeln betrug die Einbaurate für das aus den Wurzeln gewonnene Strychnin 0,09 bzw. 0,45%. Auch diese Befunde stützen die Monoterpenhypothese. Strychnin (und Vomicin) aus den *Sprossen* waren inaktiv, selbst nach direkter Applikation des Geranylpyrophosphates über die Sprosse.

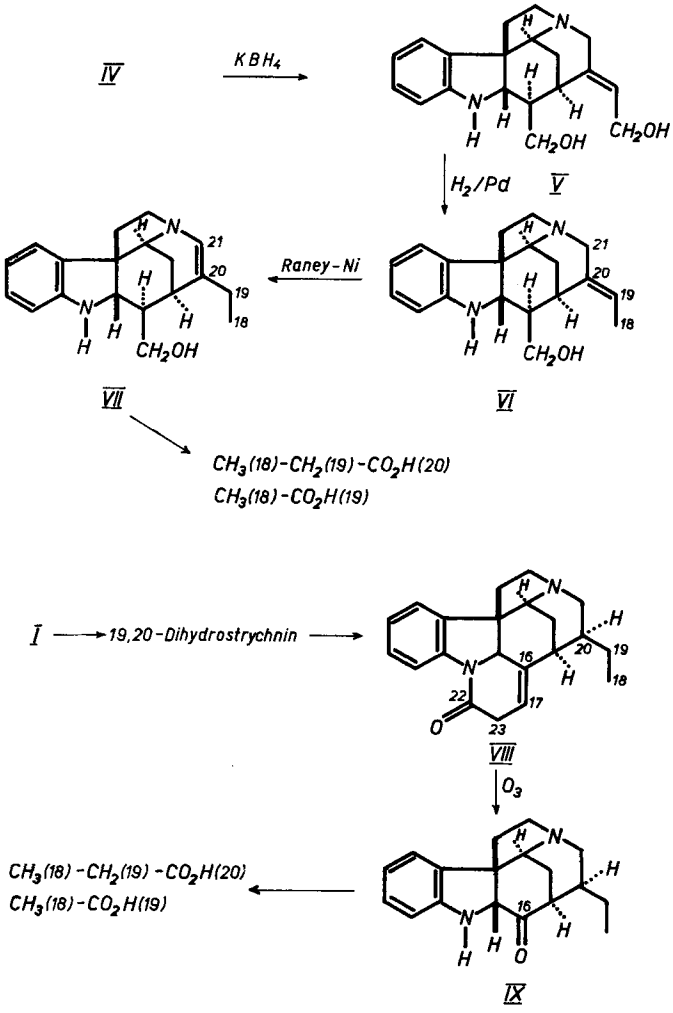
Eingebaut in Strychnin wurde auch Tryptophan (Indolring-[^{14}C]-2), wenn es über die Wurzeln appliziert wurde. Das aus Wurzeln isolierte Strychnin war ebenfalls wesentlich aktiver als dasjenige aus Sprossen (Einbaurate in der Wurzel 0,15% gegenüber 0,003% im Spross). Bei Applikation des markierten Tryptophans über die Sprosse waren sowohl Strychnin wie Vomicin inaktiv.

Diese Versuche zeigen, dass sowohl Tryptophan wie Geranylpyrophosphat nur in der Wurzel messbar in Strychnin eingebaut wurden. Die Wurzel kann deshalb als Hauptbildungsstätte für Strychnin angesehen werden. Bei unseren Versuchen hat offenbar kein wesentlicher Transport des Strychnins aus den Wurzeln in oberirdische

Pflanzenteile stattgefunden, da die «Spross-Alkaloide» bei Applikation der Vorläufer über die Wurzel praktisch inaktiv blieben. Da im Versuch 17 die Inkorporierungsrate im «Spross-Strychnin» besser ist als im «Spross-Vomicin», ist es wahrscheinlicher, dass Vomicin aus Strychnin entsteht, als umgekehrt.

Die Frage stellte sich nun, in welchem Stadium der Strychnin-Biosynthese die C-Atome 22 und 23 eingefügt werden. ROBINSON [11] hat hiefür den WIELAND-GUMLICH-Aldehyd (IV) in Betracht gezogen, der mit Essigsäure oder seinem Äquivalent Strychnin (I) produzieren könnte. Tatsächlich gelang es *in vitro*, durch Erhitzen von IV mit Malonsäure und Essigsäureanhydrid Strychnin aufzubauen [12]. WOODWARD [13] hat als direkten Vorläufer von Strychnin Diabolin (IVa) bzw. sein Tautomeres mit freier Aldehydgruppe diskutiert.

Durch Erhitzen von WIELAND-GUMLICH-Aldehyd (IV) mit tritierter Trifluoressigsäure resultierte ein tritierter Aldehyd. Aus Versuchen mit Deutero-trifluoressigsäure



ging hervor, dass im wesentlichen die H-Atome an den C-Atomen 10 und 12 durch die schwereren Isotope substituiert wurden. Bei Verfütterung dieses Präparates an die ober- oder unterirdischen Teile von *Strychnos*-Pflänzchen wurde keine signifikante Umwandlung in Strychnin beobachtet (siehe Tabelle 3). Dasselbe trifft für $N_{(a)}$-[^{14}C]-1-Acetyl-WIELAND-GUMLICH-aldehyd (Diabolin IVa) zu.

Tabelle 3. *Fütterung mit weiteren radioaktiv markierten Verbindungen*

Radioaktiv markierte Verbindungen	[^{14}C]-2-Geraniol	Li-[^{14}C]-2-Geranyl-pyrophosphat		$N_{(a)}$-[^{14}C]-1-Acetyl-WIELAND-GUMLICH-aldehyd	
Versuch Nr.	9	10	11	12	13
Gefütterte Menge (μCi)	22,5 [a])	5,4	11	100	100
Anzahl Pflanzen	5	6	7	6	7
Alter der Pflanzen (Monate)	18	18	6	6	16
Fütterungsdauer (Tage)	7	6	7	10	5
Fütterungstechnik	Wurzeln in Glas	Sprosse in Glas	Wurzeln in Glas	Wurzeln in Glas	Sprosse in Glas
Inkorporierung in %					
Vomicin aus Spross	0	0	0	–	$< 2 \cdot 10^{-3}$
Strychnin aus Spross	0	0	0	0	$< 2 \cdot 10^{-3}$
Strychnin aus Wurzel	0,09	–	0,45	0	

Radioaktiv markierte Verbindungen	[T]-WIELAND-GUMLICH-Aldehyd		Tryptophan (Indolring-[^{14}C]-2)	
Versuch Nr.	14	15	16	17
Gefütterte Menge (μCi)	23500 [b])	230	190	190
Anzahl Pflanzen	14	1	5	5
Alter der Pflanzen (Monate)	15	5	12	12
Fütterungsdauer (Tage)	7	4	7	7
Fütterungstechnik	7 Sprosse in Glas 7 Wurzeln in Glas	Oberirdische Pflanzenteile	Sprosse in Glas	Wurzeln in Glas
Inkorporierung in %	s. Fussnote [3])			
Vomicin aus Spross	–	–	$\leqslant 2 \cdot 10^{-4}$	$\leqslant 2 \cdot 10^{-4}$
Strychnin aus Spross	–	$< 2 \cdot 10^{-3}$	0	0,003
Strychnin aus Wurzel	–	–	–	0,15

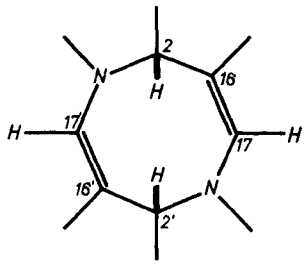
[a]) 75 mg Geraniol in 75 ml Wasser + 20 Tropfen Tween 20.

[b]) Alkaloid in 0,1-proz. wässeriger Bernsteinsäure-Lösung.

[3]) Bei der Fütterung mit [T]-WIELAND-GUMLICH-Aldehyd beobachtete man in der Alkaloidfraktion das Auftreten von zwei bisher noch nicht identifizierten radioaktiv markierten Substanzen.

Unter der Voraussetzung, dass WIELAND-GUMLICH-Aldehyd und sein $N_{(a)}$-Acetylderivat unverändert an den Ort der Biosynthese des Strychnins gelangt sind, machen diese Experimente es sehr unwahrscheinlich, dass die beiden Stoffe direkte Vorläufer von Strychnin darstellen[3]).

Als Substitute für WIELAND-GUMLICH-Aldehyd oder Diabolin kämen deren 16-Methoxycarbonyl-Derivate oder ihre Äquivalente (z.B. 16-Methoxycarbonyl-18-desoxy-WIELAND-GUMLICH-aldehyd) in Frage. Diese Vorläufer würden nun das vollständige C_{10}-Terpenoid-Skelett enthalten (vgl. auch [14]). Die Bildung der Hauptalkaloide südamerikanischer Strychnaceen vom Typ des C-Toxiferins [15] und des C-Dihydro-toxiferins [6] [16], deren zentraler Teil in der Figur wiedergegeben ist, aus 2 Monomeren-Einheiten mit dem Skelett des WIELAND-GUMLICH-Aldehyds, ist nur möglich, wenn C(16) ein H-Atom trägt. Diese Strychnaceen synthetisieren kein Strychnin.



Zentraler Teil der Hauptalkaloide vom Typ des C-Toxiferins und des C-Dihydro-toxiferins

Wir danken Frau A. DÜRSTELER-MEIER (Zürich) für die ausgezeichnete experimentelle Mitarbeit, der mikroanalytischen Abteilung des Zürcher Instituts (Leitung: H. FROHOFER) für die Radioaktivitätsbestimmungen, Herrn PD Dr. M. HESSE für Massenspektren, Herrn Prof. W. VON PHILIPSBORN für NMR.-Spektren und der Gärtnermeisterin L. PETER für die Aufzucht und Pflege der Pflanzen (Institut für allgemeine Botanik der Universität Zürich; Direktor: Prof. Dr. H. WANNER). Herr Dr. J. WÜRSCH, Physikalische Abteilung der F. HOFFMANN-LA ROCHE & Co. AG, Basel, stellte uns freundlicherweise [^{14}C]-2-Mevalolacton zur Verfügung. – Dem SCHWEIZERISCHEN NATIONALFONDS danken wir für die gewährte Unterstützung.

Experimenteller Teil

Allgemeine Bemerkungen. – Smp. auf KOFLER-Block (nicht korrigiert). Abdampfoperationen bei 30–40° Badtemperatur im Rotationsverdampfer bei Wasserstrahlvakuum. Kugelrohrdestillationen bzw. -sublimationen im Luftbad bei 0,01 Torr. Dünnschichtchromatogramme, wenn nicht anders angegeben, auf Kieselgel HF_{254} (MERCK) mit Chloroform/Methanol = 50/8 oder Benzol/Essigsäure-äthylester/Diäthylamin = 7/2/1 (System B) für Alkaloide und mit Benzol für *p*-Bromphenacylester. Farbreaktionen mit Cer(IV)-sulfat-Reagenz (CR.) [17] und Kaliumjodoplatinat-Lösung [18] für Alkaloide bzw. mit alkalischer Kaliumpermanganat-Lösung für *p*-Bromphenacylester. Säulenchromatogramme an Silicagel (MERCK, Ø 0,05–0,20 mm) oder Alox (WOELM, neutral). UV.-Spektren in 95-proz. Äthanol; Angaben in nm ($\log\varepsilon$). IR.-Spektren in Chloroform; Angaben in cm^{-1}. NMR.-Spektren in $CDCl_3$ oder CF_3COOH bei 100 MHz; Angaben in ppm relativ zu internem Tetramethylsilan = 0. Massenspektren auf den Geräten ATLAS Typ CH4 und CEC Typ 21-110B (Direkteinlass, 70 eV). Für die Radioaktivitätsbestimmungen wurden die Substanzen nach der Kristallisation wenn möglich sublimiert oder destilliert, andernfalls wurden die Kristallisate bei 90–100°/HV. während mindestens 4 Std. getrocknet. Radioaktivitätsbestimmungen im TRI-CARB-Flüssigkeitsszintillations-Spektrometer Modell 314 EX (PACKARD INSTRUMENT Co., La Grange, Ill., USA). Die kristallinen Substanzen (0,2–5 mg) wurden teilweise direkt in einem Gemisch von 10 ml Szintillationslösung (4,0 g PPO (2,5-Diphenyloxazol) und 100 mg POPOP

(1,4-Bis-[2-(5-phenyloxazolyl)]-benzol) in 1000 ml analysenreinem Toluol), 6,5 ml Methanol und 1,5 ml einer 10-proz. methanolischen Äthanolamin-Lösung gelöst (vgl. [19]), wobei ein allfälliger Quenching-Effekt berücksichtigt wurde. Teilweise wurden die Proben – analog zur mikrochemischen C,H-Verbrennungsanalyse – im Sauerstoffstrom über einem KÖRBL-Katalysator bei 600° verbrannt, worauf die Verbrennungsgase zur CO_2-Absorption durch 1,5 ml einer 10-proz. methanolischen Äthanolamin-Lösung geperlt wurden. Lösungen (0,01–0,1 ml) wurden direkt in die Zähl-Lösung pipettiert. Gelangte Bariumcarbonat zur Zählung, so wurde daraus im Hochvakuum mit konzentrierter Schwefelsäure das CO_2 freigesetzt, in einem Gefäss mit 1,5 ml einer 10-proz. methanolischen Äthanolamin-Lösung bei – 180° ausgefroren und im abgeschlossenen Gefäss in der Base absorbiert. Die Zählausbeute betrug 55% für ^{14}C und 10% für T. Es wurden jeweils Doppel- oder Mehrfachbestimmungen durchgeführt. Nach Möglichkeit enthielten die Zählgläschen mindestens 10 cpm bzw. 18 dpm über dem Blindwert (ca. 60 cpm für ^{14}C). Die Proben wurden auf einen statistischen Standardfehler ($\pm 2\,\sigma$) von $\pm$ 5% ausgezählt. Die Dünnschicht- und Papierchromatogramme und die Elektropherogramme radioaktiver Substanzen wurden auf einem Radiochromatogramm-Scanner der Firma PACKARD, Modell 7200, mit GEIGER-MÜLLER-Durchflusszählern aufgenommen. Einige Zählungen (HALLE) wurden auch am Methandurchflusszähler der Firma FRIESECKE & HÖPFNER, Erlangen-Bruck, vorgenommen.

1. Radioaktive Substanzen. – *Na-[^{14}C]-1- und [^{14}C]-2-Acetat* sowie *Tryptophan* (Indolring-[^{14}C]-2) waren kommerzielle Präparate.

[^{14}C]-2-Mevalolacton verdanken wir Herrn Dr. J. WÜRSCH, Physikalische Chemie der F. HOFFMANN-LA ROCHE & Co. AG, Basel. Das 1965 hergestellte Lacton wurde bis Oktober 1966 in Substanz bei – 20° aufbewahrt, später in 0,07 M benzolischer Lösung bei – 20° (Zürich).

Zu 0,004 ml der 0,07 M benzolischen Lösung wurden 27,1 mg Natriumacetat (3 H_2O) und 63,8 mg *p*-Bromphenacylbromid in 3 ml DMF zugegeben; nach 2 Std. wurde das Lösungsmittel am Hochvakuum abdestilliert und der Rückstand mit Benzol an 6 g SiO_2 chromatographiert. Das Bromphenacylacetat enthielt nach der ersten Kristallisation und nachfolgender Kugelrohrdestillation 84,5 dpm/mg und das Destillat der Mutterlauge 83,8 dpm/mg. 0,2% der Aktivität des Mevalolacton-Präparates lag somit in Form von Essigsäure vor.

Durch gesonderte Versuche wurde gezeigt, dass bei der Bereitung des *p*-Bromphenacylesters der Essigsäure im oben geschilderten Versuch keine radioaktive Essigsäure aus dem Mevalolacton entsteht. Die radioaktive Essigsäure bildet sich weder bei der zur Reinigung des Mevalolactons vorgenommenen Hochvakuumdestillation bei 100° noch bei der Umwandlung des in Methanol gelösten Lactons in Natriummevalonat durch Zusatz der berechneten Menge 0,1N Natronlauge bei 20°. Sehr wahrscheinlich ist die Essigsäure, bei der es sich nur um [^{14}C]-2-Essigsäure handeln kann, bei der Lagerung des [^{14}C]-2-Mevalolactons gebildet worden.

[^{14}C]-2-Geraniol wurde aus Na-[^{14}C]-2-Acetat über Bromessigsäure-methylester [20], gefolgt von Kondensation mit 6-Methyl-5-hepten-2-on (REFORMATSKY) und Reduktion dargestellt nach [21]. Der Alkohol wurde schliesslich in das Pyrophosphat übergeführt und als Li-Salz gefällt [22]. Aktivität 45 μCi/mMol.

*$N_{(a)}$-[^{14}C]-1-Acetyl-*WIELAND-GUMLICH-*aldehyd* (*[^{14}C]-Diabolin*). Die Herstellung erfolgte im wesentlichen nach [23]: 100 mg WIELAND-GUMLICH-Aldehyd erhitzte man mit 90,3 mg [^{14}C]-1,1'-Acetanhydrid und 1 ml Pyridin 1,5 Std. auf 80°. Nach dem Eindampfen wurde wie üblich aufgearbeitet und das dünnschichtchromatographisch einheitliche Produkt (N,O-Diacetyl-WIELAND-GUMLICH-aldehyd) nach Lösen in 5 ml Alkohol mit 5 ml konz. Ammoniak 12 Std. bei 20° stehengelassen. Man erhielt 120 mg dünnschichtchromatographisch reines, amorphes Diabolin, das noch über das Hydrochlorid gereinigt wurde. Ausbeute 99 mg; Aktivität 1820 μCi/mMol.

*[T]-*WIELAND-GUMLICH-*Aldehyd:* 400 mg WIELAND-GUMLICH-Aldehyd in 2 ml Trifluoressigsäure wurden in einer Doppelschenkelampulle mit Zerschlagventil nach dem Ausfrieren im Hochvakuum mit T_2O, das durch Verbrennung von 5 Curie trägerfreiem Tritium-Gas (NEN CHEMICALS) erhalten worden war, versetzt. Nach dem Abschmelzen der Ampulle im Hochvakuum hielt man die Reaktionsmischung 14 Std. bei 85°. Im Gegensatz zu einem Vorversuch ohne Tritium trat Braunfärbung ein. Anschliessend wurde im Hochvakuum T_2O und Trifluoressigsäure ablyophilisiert. Zur Entfernung des labil gebundenen Tritiums hat man anschliessend den Rückstand mit 2 ml 1N methanolischer Salzsäure ablyophilisiert. Das erhaltene Hydrochlorid wurde zweimal aus Alkohol/Aceton umkristallisiert, hierauf in die freie Base umgewandelt und diese aus Chloroform/Aceton umkristallisiert. Man erhielt 96 mg radiochemisch einheitlichen [T]-WIELAND-GUMLICH-Aldehyd.

Aus der Mutterlauge liessen sich durch Chromatographie an Alox (Aktivität III) mit Chloroform gefolgt von Kristallisation weitere 113 mg tritierter WIELAND-GUMLICH-Aldehyd gewinnen. Aktivität 162 mCi/mMol. Es wurden somit 4% der eingesetzten Radioaktivität ausgetauscht. Bei der Lagerung bei – 20° tritt infolge Autoradiolyse eine bräunliche Verfärbung auf.

Auf Grund der nachfolgend beschriebenen Deuterierungsexperimente ist zu schliessen, dass CF_3COOT in erster Linie die C-Atome 10 und 12 durch Tritium substituierte. Beim Erhitzen von WIELAND-GUMLICH-Aldehyd mit deuterierter Trifluoressigsäure während 20 Std. auf 85° (Präparat A) bzw. während 20 Std. bei 85° plus 6 Std. bei 110° (Präparat B) erhielt man nach der üblichen Aufarbeitung die 2 WIELAND-GUMLICH-Aldehyd-Präparate A und B. Für den massenspektrometrischen Vergleich dienten im undeuterierten WIELAND-GUMLICH-Aldehyd die Ionen *m/e* 310 (M^+), *m/e* 180 (Fragmention c bzw. e'), *m/e* 144 (Fragmention d) und *m/e* 130 (Fragmention e) gemäss [24]. Das Präparat A enthält nach dem Massenspektrum insgesamt 2,1 Deuteronen, wovon gemäss der Fragmente c und d ca. 2 D im Aromatenteil und gemäss Fragment e bzw. e' 0,2 D im aliphatischen Teil lokalisiert sind. Präparat B enthält 2,6 D, wovon 2 aromatischer Natur sind. Vom Präparat B wurde noch in Trifluoressigsäure ein NMR.-Spektrum aufgenommen. Während der undeuterierte WIELAND-GUMLICH-Aldehyd zwischen 7,4 bis 7,8 ein 4 Protonen entsprechendes Aromatenmultiplett zeigt, beobachtet man bei der Verbindung B2 je einem Proton entsprechende Singulette bei 7,60 und 7,70 (H–C(9), H–C(11)).

Praktisch gleich wie deuterierte Trifluoressigsäure verhielt sich 85-proz. Trideutero-Phosphorsäure.

WIELAND-GUMLICH-Aldehyd wurde weitgehend zerstört beim Erhitzen in 25–32-proz. Salzsäure, 67–87-proz. Schwefelsäure und 10-proz. Essigsäure bei Gegenwart von aushydriertem Platinoxid.

Experimentelle Details siehe [25].

2. Fütterungsversuche und Isolierung des Strychnins. – Für die Versuche Nr. 1–5, 8 und 15 (Zürich) wurden 4–12 Monate alte, im Treibhaus gezogene, 1–5 g schwere und ca. 20 cm hohe Pflänzchen von *Strychnos nux-vomica* L. indischer Herkunft verwendet. Zur Verabreichung der radioaktiven Vorläufer wurden teils 1 cm unterhalb der Erdoberfläche abgeschnittene Pflanzen oder Ganzpflanzen mit dem gesamten Wurzelwerk in Gläschen mit ca. 2 ml Wasser und Vorläufer gestellt, teils wurde der im Boden belassenen Pflanze ein Fadenbündel (Docht) durch den Stengel gezogen, welches in ein Analysenröhrchen mit ca. 0,1 ml radioaktiver Lösung getaucht wurde. Die Pflanzen wurden nicht künstlich belichtet. Die Temperatur betrug 22°. Für die Versuche Nr. 6, 7, 9–14, 16 und 17 (Halle) wurden 6–18 Monate alte Pflanzen verwendet. Nachts Beleuchtung mit einer Hg-Lampe. Temperatur 25–30°. Die Applikation der Vorläufer erfolgte bei den Versuchen Nr. 6, 7, 9, 11, 12, 14 und 17 über die Wurzeln. Diese wurden eingeschnitten und in die entstandenen Spalten Filterpapiere eingelegt; Wurzel und Filtrierpapiere tauchten in ein Glasgefäss mit der aktiven Lösung ein. Nach der Aufnahme wurde bis zum Versuchsende mit Leitungswasser nachgefüllt. In den Versuchen Nr. 10, 13 und 16 wurden Sprosse (5 cm oberhalb Erdoberfläche abgeschnitten; nur unverholzte Teile) eingesetzt. Spezifische Angaben über die einzelnen Fütterungsversuche sind in den Tabellen 1, 2 und 3 enthalten.

Zur Isolierung des Strychnins bzw. Vomicins wurden die Pflanzen oder Pflanzenteile mit Schere und Turmix zerkleinert und mit Methanol, das 3% Eisessig enthielt, so lange perkoliert, bis eine Probe des eingedampften Eluates keine Kaliumjodoplatinat-Farbreaktion mehr gab. Die vereinigten Extrakte hat man eingedampft, den Rückstand in 1N Salzsäure aufgenommen und diese Lösung zur Entfernung von Chlorophyll und andern Neutralstoffen mehrmals ausgeäthert. Hierauf wurde die wässerige Phase mit Ammoniak-Lösung alkalisch gestellt und mit Chloroform so lange ausgezogen, bis eine Probe des Extraktes keine Farbreaktion mit Kaliumjodoplatinat-Lösung mehr zeigte.

Die Isolierung und Reinigung des Strychnins sei an einem einzelnen Beispiel gezeigt (Versuch Nr. 8): Die aus 10 Pflanzen erhaltenen Rohalkaloide wurden an 10 g Kieselgel mit Chloroform, dem in steigendem Masse Methanol zugesetzt worden war (bis 10%), chromatographiert. Die Strychnin-haltigen Fraktionen wurden zusammengefasst und eingedampft (180 mg). Aus Chloroform/Aceton hat man umgelöst, wobei das Strychnin auskristallisierte und das durch die Chromatographie nicht abgetrennte Brucin in Lösung blieb. Zur Mutterlauge wurden 500 mg inaktives Strychnin gegeben und wieder kristallisiert. Beide Kristallisate wurden vereinigt, aus Chloroform/Aceton umgelöst (620 mg) und nach Sublimation bei 250°/0,01 Torr ausgezählt. Es folgten 3 wei-

tere Umkristallisationen aus demselben Lösungsmittelgemisch, wobei man das Kristallisat S-1 erhielt. S-1 versetzte man mit der äquivalenten Menge 0,1N methanolisch-wässeriger Salzsäure und kristallisierte das Strychnin-HCl–2 H_2O aus Methanol/Aceton um (Kristallisat S-2). Das Hydrochlorid wurde in Wasser gelöst und nach Ammoniak-Zusatz mit Chloroform ausgeschüttelt. Den Eindampfrückstand der Chloroformphase hat man an 10 g Kieselgel mit Chloroform/Methanol-Gemischen chromatographiert und das erhaltene Strychnin umkristallisiert (380 mg Kristallisat S-3). Das Strychnin wurde als radiochemisch rein angesehen, wenn die molaren Aktivitäten von S-1, S-2 und S-3 um nicht mehr als 8% voneinander verschieden waren. Andernfalls wurden die angeführten Reinigungsoperationen wiederholt. In den Versuchen 5, 9–13 16 und 17 hat man das Strychnin aus Chloroform/Methanol umkristallisiert.

Die Isolierung von Vomicin sei beim Versuch 11 beschrieben: Bei der Chromatographie der Rohalkaloide aus den Sprossen wurde zuerst die Vomicin-Novacin-Icajin-Fraktion eluiert (48,5 mg). Nach Zusatz von 50 mg inaktivem Vomicin wurde dreimal aus Methanol umkristallisiert, wobei schliesslich inaktives Vomicin resultierte.

3. Abbau des radioaktiven Strychnins. – 3.1. *23-Isonitrosostrychnin (II).* 200 mg Strychnin (i. allg. 30–200 mg) hat man mit 0,36 ml frisch destilliertem Isoamylnitrit und 2,65 ml 1N Natrium-äthylat-Lösung in einem Kugelrohr im Hochvakuum eingeschmolzen und unter Rühren (Mikro-Magnetrührer) 4 Std. auf 80° erhitzt. Hierauf wurde der Kugelrohrinhalt zu 5 ml eiskalter 1N wässeriger Salzsäure gegeben und ausgeäthert. Die wässerige Phase hat man hierauf mit Natrium-hydrogencarbonat-Lösung alkalisch gestellt und mit Chloroform ausgezogen. Der eingedampfte Chloroformauszug gab nach Chromatographie an 5 g Kieselgel mit Chloroform/Methanol-Gemischen 145 mg 23-Isonitrosostrychnin (Ausbeute 67%), das zweimal aus Chloroform/Aceton umkristallisiert wurde. Nach Auszählung dieser Präparate wurden Kristallisate und Mutterlaugen vereinigt und mit methanolischer Salzsäure ins Hydrochlorid umgewandelt, das man aus Methanol/Aceton umgelöst hat (156 mg). Manchmal wurde die aus der Chromatographie gewonnene 23-Isonitrosostrychnin-Base direkt ins Hydrochlorid umgewandelt und dieses ohne weitere Reinigung für den nachfolgenden Abbau benützt.

3.2. *$N_{(a)}$-Cyanoformyl-*WIELAND-GUMLICH*-aldehyd-hydrochlorid (III):* 57 mg Isonitrosostrychnin-hydrochlorid (II) wurden 4 Std. in 5 ml frisch destilliertem Thionylchlorid bei 20° stehengelassen. Nach dem Abdampfen behandelte man den Rückstand mit feuchtem Äther, dampfte wiederum ein, trocknete im HV. bei 20° und kristallisierte anschliessend aus Methanol um. Man erhielt 45 mg (79% d. Th.) $N_{(a)}$-Cyanoformyl-WIELAND-GUMLICH-aldehyd-hydrochlorid.

3.3. *Hydrolyse von $N_{(a)}$-Cyanoformyl-*WIELAND-GUMLICH*-aldehyd-hydrochlorid (III):* 60 mg der im Titel genannten Verbindung wurden in 1N wässeriger Salzsäure bei 100° Badtemperatur hydrolysiert. Die entstehenden Gase wurden im CO_2-freien Argon-Strom zuerst durch ein mit 5 ml schwach salpetersaurer 0,1N Silbernitrat-Lösung beschicktes Zentrifugenglas und anschliessend durch ein mit 5 ml Bariumhydroxid-Lösung gefülltes zweites Zentrifugengläschen geleitet. Die Bariumhydroxid-Lösung wurde aus 250 ml gesättigter Bariumhydroxid-Lösung, 5,2 g Bariumchlorid und 50 ml CO_2-freiem Wasser bereitet. Hierauf hat man die beiden Fällungen unter CO_2-Ausschluss abzentrifugiert und je zweimal mit CO_2-freiem Wasser, Alkohol und Äther gewaschen und im HV. bei 100° getrocknet. Man erhielt 10 mg Silbercyanid (Ausbeute 50%) und 14 mg Bariumcarbonat (Ausbeute 48%). Die salzsaure Hydrolyse-Lösung hat man alkalisch gestellt, mit Chloroform ausgezogen und den eingedampften Auszug aus Chloroform unter Vermeidung von längerem Erwärmen umkristallisiert. Man erhielt 36 mg (77%) WIELAND-GUMLICH-Aldehyd (IV), Smp. 206–208°, der zur Aktivitätsbestimmung noch zweimal umgelöst wurde. In Versuchen, bei welchen das $N_{(a)}$-Cyanoformyl-WIELAND-GUMLICH-aldehyd-hydrochlorid ohne vorherige Reinigung hydrolysiert wurde, hat man den erhaltenen WIELAND-GUMLICH-Aldehyd an Alox mit Benzol/Chloroform-Gemischen chromatographiert und hierauf weiter durch Umkristallisation gereinigt.

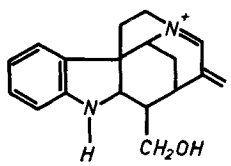
3.4. WIELAND-GUMLICH*-Glykol (V):* 92 mg WIELAND-GUMLICH-Aldehyd hat man mit 20 mg Kaliumborhydrid in 6 ml Methanol und 1 ml Wasser 4 Std. stehengelassen. Nach Verdünnen mit Wasser und Abdampfen des Methanols wurde mit Kaliumchlorid gesättigt und mit Chloroform erschöpfend ausgezogen. Das erhaltene, dünnschichtchromatographisch einheitliche Produkt wurde bei 220°/0,01 Torr destilliert: 55 mg (60%) Kristalle vom Smp. 250–252°.

3.5. *18-Desoxy-*WIELAND-GUMLICH*-glykol (VI):* Eine Mischung von 40 mg Palladiumchlorid und 400 mg Norit in 12 ml 1N Salzsäure und 7 ml Eisessig wurde mit Wasserstoff bei 20° bis zur

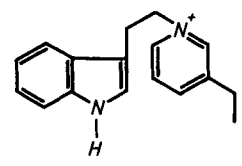
Konstanz geschüttelt. Anschliessend wurden 55 mg WIELAND-GUMLICH-Glykol (V) zugefügt. Nach Aufnahme eines Mol-Äqu. Wasserstoff (5 Std.) blieb die Hydrierung stehen. Ohne zu filtrieren wurde die Lösung mit Kaliumchlorid gesättigt, mit Ammoniak alkalisch gestellt und mit Chloroform erschöpfend ausgezogen. Der eingedampfte Chloroformextrakt stellte dünnschichtchromatographisch reinen 18-Desoxy-WIELAND-GUMLICH-glykol dar, der ohne weitere Reinigung zur Neo-Verbindung umgesetzt wurde. In einem Versuch mit inaktivem Material wurden aus 2,58 g WIELAND-GUMLICH-Glykol 1,9 g 18-Desoxy-WIELAND-GUMLICH-glykol erhalten (Ausbeute 77%), welcher durch Destillation bei 200°/0,01 Torr und nachfolgende Kristallisation aus Aceton gereinigt wurde. Smp. 176–178°. CR. orange. IR.: 3623, 3378 (OH, NH), 1603 (Indolin). NMR.: 7,14–6,51 (4 aromat. H); 5,47 (Quartett; J = 8 Hz; 1 H an C(19)); 1,51 (Dublett; J = 7 Hz; H_3 an C(18)). Massenspektrum: *m/e* 296 (M^+; 51%), 279 (11%), 265 (8%), 251 (7%), 166 (100%), 144 (54%), 136 (20%), 130 (38%). Bei der KUHN-ROTH-Oxydation entstanden 0,75 Mol-Äqu. flüchtige Säure, die sich nach Veresterung mit *p*-Bromphenacylbromid (s. 3.10.) durch dünnschichtchromatographischen Vergleich als Essigsäure identifizieren liess.

3.6. *18-Desoxy-neo-*WIELAND-GUMLICH-*glykol (VII):* 52 mg des nach 3.5. erhaltenen, nicht weiter gereinigten 18-Desoxy-WIELAND-GUMLICH-glykols (VI) wurden mit ca. 50 mg RANEY-Nickel [26] und 5 ml Xylol im HV. unter Rühren 14 Std. auf 140° erhitzt (vgl. [27]). Anschliessend wurde filtriert und eingedampft. Nun trocknete man im HV. sorgfältig bei 50° und unterwarf den Rückstand der modifizierten KUHN-ROTH-Oxydation [28].

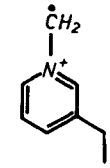
Zur Charakterisierung der Neo-Verbindung hat man 305 mg 18-Desoxy-WIELAND-GUMLICH-glykol nach der Behandlung mit RANEY-Nickel vom Katalysator abfiltriert, das Filtrat eingedampft und den Rückstand mit Chloroform an 6 g Kieselgel chromatographiert, wobei nicht umgesetztes Ausgangsmaterial auf der Säule haften blieb. Es wurden 265 mg (87%) einer dünnschichtchromatographisch einheitlichen Substanz erhalten, welche bei 50° im HV. getrocknet wurde. Kristallisation gelang nicht; beim Destillationsversuch im HV. zersetzte sich die Substanz. CR. orange. UV.: λ_{max} 235 (3,94), 298 (3,39); λ_{min} 226 (3,92), 271 (2,97). IR.: 3610, 3344 (OH, NH), 1648 (scharf und intensiv, N–C=C), 1605 (Indolin), 876 ($\overset{H}{R}C{=}C\overset{R}{R}$). NMR.: 7,20–6,60 (4 aromat. H); 5,72 (Singulett; 1 H an C(21)); 0,95 (Triplett; J = 7,5 Hz; H_3 an C(18)). Massenspektrum: *m/e* 296 (M^+; 88%), 281 (8%), 265 (9%), 251 (56%), 166 (49%), 144 (100%), 130 (39%), 121 (88%). KUHN-ROTH-Oxydation gab 0,84 Mol-Äqu. flüchtiger Säuren, welche sich auf Grund dünnschichtchromatographischer Vergleiche der *p*-Bromphenacylester aus gleichen Teilen Essig- und Propionsäure zusammensetzten. $C_{19}H_{24}N_2O$ Molgew. ber. 296; gef. 296 (massenspektrometrisch).



m/e 281



m/e 251



m/e 121

3.7. *19,20-Dihydrostrychnin:* Nach Aushydrieren von 20 mg Palladium(II)-chlorid und 200 mg Norit in einer Lösung von 5 ml Wasser, 1 ml Eisessig und einem Tropfen konzentrierter Salzsäure wurden 153 mg Strychnin zugegeben und 6 Std. hydriert, bis die Wasserstoffaufnahme beendet und 1 Mol-Äqu. aufgenommen worden war. Ohne vom Katalysator abzufiltrieren, wurde alkalisch gestellt und die Lösung mit Chloroform ausgezogen. Der Eindampfrückstand der Chloroformphase wurde aus Aceton umkristallisiert (148 mg (95%); Smp. 220–223°).

3.8. *19,20-Dihydro-18-desoxy-isostrychnin (VIII):* Eine Lösung von 110 mg 19,20-Dihydrostrychnin in 5 ml Eisessig und 1 ml 66-proz. Bromwasserstoffsäure (d = 1,78) wurde mit 75 mg rotem Phosphor zuerst 5 Std. und hierauf nach Zugabe von 500 mg Zinkstaub weitere 2 Std. am Rückfluss gekocht. Nach dem Filtrieren wurde eingedampft. Den sirupösen Rückstand hat man unter Eiskühlung mit Wasser und Ammoniak versetzt und die Lösung mit Chloroform ausgeschüttelt. Kristallisation des Eindampfrückstandes der Chloroformphase aus Aceton gab 24 mg 19,20-Dihydro-18-desoxy-isostrychnin (Smp. 179–181°). Die Mutterlauge wurde bei 200°/0,01

Torr rasch destilliert, wobei 75 mg kristallines Destillat (Smp. 179–181°) erhalten wurden (Gesamtausbeute 88%).

3.9. *Strychanon (IX):* 98 mg 19,20-Dihydro-18-desoxy-isostrychnin (VIII) wurden in 20 ml absolutem Methanol gelöst und die Lösung bei –70° mit 1,5 l Ozon/Sauerstoff-Gemisch (40 mg Ozon) während 3 Min. durchströmt. Es wurden 26 mg Ozon aufgenommen. Nach Zugabe von 5 ml Wasser hat man während 10 Min. bei 50° Stickstoff durchgeleitet. Dann wurde eingedampft, der Rückstand in 15 ml 10-proz. Schwefelsäure aufgenommen und die Lösung 10 Min. bei 80° gehalten, wobei eine orange CR. auftrat. Bei 50° wurde während 5 Min. Schwefeldioxid-Gas durchgeleitet und dann während 30 Min. mit Stickstoff gespült. Unter Eiskühlung wurde Ammoniak zugegeben und die Lösung mit Chloroform ausgeschüttelt. Den Eindampfrückstand hat man an 3 g Kieselgel mit Chloroform/2,5% Methanol für Strychanon und mit Methanol für Strychanon-$N_{(b)}$-oxid chromatographiert. Das Strychanon wurde aus Aceton/Petroläther kristallisiert (11 mg (13%); Smp. 160–163°). Die Mutterlauge wurde bei 140°/0,01 Torr sublimiert (12 mg farbloses Sublimat (14%) vom Smp. 160–162°). Als Lack wurden 20 mg Strychanon-$N_{(b)}$-oxid (22%) erhalten.

3.10. *Seitenkettenoxydationen nach* KUHN-ROTH *von 18-Desoxy-neo-*WIELAND-GUMLICH*-glykol (VII) und von Strychanon (IX):* Die bei der Oxydation in siedender Chromschwefelsäure gebildeten flüchtigen Säuren wurden abdestilliert und mit 0,1N Natronlauge und Phenolphtalein als Indikator titriert. In einem typischen Experiment wurden aus der Oxydation von 34 mg Strychanon 0,105 mÄquiv. Säure erhalten (87%). Die wässerige Lösung wurde fast zur Trockne eingedampft, mit 34 mg *p*-Bromphenacylbromid und 5 ml Dimethylformamid versetzt und 2 Std. bei 20° stehengelassen. Die Lösung hat man im HV. sorgfältig eingedampft und den Rückstand an 3 g Kieselgel mit Benzol chromatographiert. Nach Vereinigung der entsprechenden Fraktionen wurde eingedampft, der Rückstand aus Äther/Pentan kristallisiert und die Kristalle bei 60–80°/0,01 Torr destilliert. Man erhielt als langsamer wandernde Komponente 11 mg (41%) *p*-Bromphenacylacetat (Kristalle und Mutterlauge; Smp. nach Kristallisation aus Äther/Petroläther 83–85°) und 10 mg (35%) *p*-Bromphenacyl-propionat (Kristalle und Mutterlauge; Smp. nach Kristallisation aus Äther/Petroläther 61–62°).

LITERATURVERZEICHNIS

[1] J. J. DUGAN, M. HESSE, U. RENNER & H. SCHMID, Helv. *52*, 701 (1969).
[2] CH. SCHLATTER, E. E. WALDNER, H. SCHMID, D. GRÖGER, K. STOLLE & K. MOTHES, Helv. *49*, 1714 (1966).
[3] H. WIELAND & W. GUMLICH, Liebigs Ann. Chem. *494*, 191 (1932); H. WIELAND & K. KAZIRO, *ibid. 506*, 60 (1933).
[4] J. HYMON, Dissertation, Universität Zürich 1966.
[5] F. A. L. ANET & R. ROBINSON, J. chem. Soc. *1956*, 2291.
[6] K. BERNAUER, F. BERLAGE, W. v. PHILIPSBORN, H. SCHMID & P. KARRER, Helv. *41*, 2293 (1958).
[7] H. FRITZ, E. BESCH & TH. WIELAND, Liebigs Ann. Chem. *663*, 150 (1963).
[8] CH. WEISSMANN, O. HESHMAT, K. BERNAUER, H. SCHMID & P. KARRER, Helv. *43*, 1165 (1960).
[9] J. H. RICHARDS & J. B. HENDRICKSON, «The Biosynthesis of Steroids, Terpenes and Acetogenins», p. 5, 146, 176, 183, 209, 211; W. A. BENJAMIN, New York 1964. (Siehe auch Diskussion bei [25].)
[10] Literaturzusammenstellung bei [25]. Formulierung der «Monoterpenhypothese» durch E. WENKERT, J. Amer. chem. Soc. *84*, 98 (1962) und R. THOMAS, Tetrahedron Letters *1961*, 544.
[11] R. ROBINSON, «The Structural Relations of Natural Products», Oxford University Press 1955.
[12] F. A. L. ANET & R. ROBINSON, Chemistry & Ind. *1953*, 245.
[13] R. B. WOODWARD, Angew. Chem. *68*, 13 (1956).
[14] A. R. BATTERSBY, J. C. BYRNE, R. S. KAPIL, J. A. MARTIN & T. G. PAYNE sowie D. ARIGONI & P. LOEW, Chem. Comm. *1968*, 951; A. A. QURESHI & A. J. SCOTT, Chem. Comm. *1968*, 945–950 (3 aufeinanderfolgende Mitteilungen).
[15] W. ARNOLD, M. HESSE, H. HILTEBRAND, A. MELERA, W. VON PHILIPSBORN, H. SCHMID & P. KARRER, Helv. *44*, 620 (1961).
[16] F. BERLAGE, Dissertation, Universität Zürich 1960.

[17] P. KARRER & H. SCHMID, Helv. *29*, 1853 (1946); H. SCHMID & P. KARRER, Helv. *33*, 512 (1960).
[18] E. SCHLITTLER & J. HOHL, Helv. *35*, 29 (1952).
[19] F. KALBERER & J. RUTSCHMANN, Helv. *44*, 1956 (1961).
[20] G. A. ROPP, J. Amer. chem. Soc. *72*, 4459 (1959).
[21] G. J. SSAMOCHWALOW, M. A. MIROPOLSKAJA & N. A. PREOBRASHENSKI, J. allg. Chem. (russ.) *26*, 54 (1956).
[22] F. CRAMER & W. BÖHM, Angew. Chem. *71*, 775 (1959).
[23] J. A. DEYRUP, H. SCHMID & P. KARRER, Helv. *45*, 2266 (1962).
[24] H. MÜLLER, M. HESSE, P. WASER, H. SCHMID & P. KARRER, Helv. *48*, 320 (1965).
[25] CH. SCHLATTER, Dissertation, Universität Zürich 1968.
[26] N. L. DRAKE, ed., Org. Synthesis *21*, 15, John Wiley & Sons, New York 1941.
[27] R. N. CHAKRAVARTI & R. ROBINSON, J. chem. Soc. *1947*, 78.
[28] C. F. GARBERS, H. SCHMID & P. KARRER, Helv. *37*, 1336 (1954).

87. Zur Deutung des UV.-Spektrums von Pyridin-N-oxid

von **K. Seibold, G. Wagnière** und **H. Labhart**
Physikalisch-chemisches Institut, Universität Zürich

(00. III. 69)

Summary. From measurements of the influence of an electric field on the absorption spectrum of pyridine-N-oxide it is concluded that the 330 nm band is polarized perpendicular to the dipole moment, while the 280 nm transition moment lies parallel. Furthermore from these experiments the dipole moments in both excited states have been determined (Table 1). PARISER-PARR-POPLE-calculations as well as CNDO-calculations admit an assignment of the 330 nm band to an $A_1 \rightarrow B_1$, $\pi \rightarrow \pi^*$ transition and of the 280 nm band to an $A_1 \rightarrow A_1$, $\pi \rightarrow \pi^*$ transition. Thereby energy, polarization, intensity of the transition, and the dipole moments of the excited states have been taken into consideration. This assignment does not exclude the possibility of a weak n-π^* transition at approximately the same wavelength as the $A_1 \rightarrow B_1$ transition.

A. Einleitung. – Das UV.-Spektrum von Pyridin-N-oxid zeigt im Bereich von 340 bis 250 nm in unpolaren Lösungsmitteln auf der langwelligen Seite ein Bandensystem mit einem sehr scharfen Absorptionsmaximum bei 338 nm und zwei ausgeprägten Schultern bei 324 nm und 314 nm. Bei Zugabe von Alkohol, in alkoholischer und wässeriger Lösung verschwinden diese Übergänge und die Hauptbande, die zwischen 285 und 280 nm ihr Maximum in unpolaren Lösungsmitteln hat, wird nach kürzeren Wellenlängen verschoben (s. Fig. 1).

In den bisherigen Versuchen einer Deutung dieser Beobachtungen finden sich noch einige Unsicherheiten:

1. Die Bande bei 280 nm wird einheitlich einem π–π^*-Übergang zugeschrieben [1] [2] [3] [4] [5]. Bezüglich der Symmetrie dieses Übergangs findet man widersprechende Angaben. KUBOTA [4] deutet ihn als einen mit starker Ladungsverschiebung verbundenen, quer zum Dipolmoment polarisierten $A_1 \rightarrow B_1$-Übergang, ordnet ihn aber in einer späteren Arbeit [5] einem parallel zum Dipolmoment polarisierten $A_1 \rightarrow A_1$-Übergang zu. In den anderen genannten Arbeiten [1] [2] [3] wird die Frage der Polarisation nicht diskutiert. Versuche, wenigstens die relative Polarisation der langwelligen und kurzwelligen Bande in Pyridin-N-oxid aus der Fluoreszenzpolarisation zu bestimmen [6], blieben erfolglos.