

BIJDRAGE TOT DE KENNIS DER ALKALOÏDEN VAN SEDUM ACRE L.

PROEFSCHRIFT

TER VERKRIJGING VAN DE GRAAD VAN
DOCTOR IN DE TECHNISCHE WETENSCHAP
AAN DE TECHNISCHE HOGESCHOOL TE
DELFT, OP GEZAG VAN DE RECTOR MAG-
NIFICUS DR. O. BOTTEMA, HOGLERAAR
IN DE AFDELING DER ALGEMENE WETEN-
SCHAPPEN, VOOR EEN COMMISSIE UIT DE
SENAAT TE VERDEDIGEN OP WOENSDAG
24 JUNI 1959 DES NAMIDDAGS TE 4 UUR

DOOR

YVONNE MARIE FERNANDE MULLER

GEBOREN TE HAARLEM



1012 H 26

UITGEVERIJ WALTMAN - DELFT

1012 B 151

BIJDRAGE TOT DE KENNIS DER
ALKALOÏDEN VAN SEDUM ACRAE L.

PROEFSCHRIFT
TER VERKRIJGING VAN DE GRAAD VAN
DOCTOR IN DE RECHTEN EN WETENSCHAP
VAN DE RECHTEN DER PROCEEDURE
BETREFFENDE DE VERKRIJGING VAN
DE GRAAD VAN DOCTOR IN DE RECHTEN
EN WETENSCHAP VAN DE RECHTEN
IN DE VERBODENDE RECHTEN EN WETENSCHAP
SCHIEDEN EN RECHTEN EN WETENSCHAP
SCHIEDEN EN RECHTEN EN WETENSCHAP

DIT PROEFSCHRIFT IS GOEDGEKEURD DOOR DE PROMOTOR
PROF. DR. IR. P. E. VERKADE

YVONNE MARIE FERNANDE MULDER

GEBOREN TE HAARLEM

Aan mijn ouders

INHOUD

	Pag.
Inleiding	9
Hoofdstuk I. Literatuuroverzicht	11
Hoofdstuk II. De extractie van <i>Sedum acre</i> L.	
1. Inleiding	15
2. De extractie in het algemeen	16
3. Literatuuroverzicht	17
4. Gevolgde extractiemethoden	18
5. Experimenteel gedeelte	20
6. Conclusie	22
Hoofdstuk III. De toegepaste papierchromatografie	
1. Gevolgde methode en resultaten	24
2. Experimenteel gedeelte	27
Hoofdstuk IV. De afscheiding van enige alkaloiden	
A. Sedridine	32
1. Gevolgde methode en resultaten	32
a. Afscheiding	32
b. Structuuropheldering	33
c. Invloed van de droogmethode op het gehalte aan sedridine	35
d. Invloed van de droogmethode op de verhouding der optische antipoden	35
2. Experimenteel gedeelte	36
B. Sedamine	40
1. Gevolgde methode en resultaten	40
2. Experimenteel gedeelte	42
C. Onbekend alkaloid X	45
1. Gevolgde methode en resultaten	45
2. Experimenteel gedeelte	46
Hoofdstuk V. Synthese van enige gesubstitueerde piperidinen	
A. 2-(2'-hydroxypropyl)piperidine	50
B. 1-methyl-2-(2'-hydroxypropyl)piperidine	53
C. 1-methyl-2-(2'-hydroxy-2'-phenylaethyl)piperidine	55
D. 2-(2'-hydroxy-2'-phenylaethyl)piperidine	59
E. 2-(2'-hydroxybutyl)piperidine	60
F. 1-methyl-2-(2'-hydroxybutyl)piperidine	61
G. 1-methyl-2-(2'-oxopropyl)piperidine	62

	Pag.
Hoofdstuk VI. Papierchromatografisch onderzoek naar de aanwezigheid van nicotine	
1. Gevolgde methode en resultaten	64
2. Experimenteel gedeelte	66
Samenvatting	69
Summary	70
Literatuur	71

INLEIDING

Met het in dit proefschrift beschreven onderzoek beoogden wij de alkaloiden van *Sedum acre* L. (muurpeper) te leren kennen. Bekend was, dat het alcoholische extract van deze plant zeker één alkaloid, het sedamine [1-methyl-2-(2'-hydroxy-2'-phenylaethyl)piperidine] bevat, terwijl het vermoeden over het voorkomen van nicotine uitgesproken was.

De betrekkelijke eenvoud van deze verbindingen was één van de redenen, waarom juist *Sedum acre* gekozen werd. Een tweede reden was het feit, dat *Sedum acre* een kleine plant is, welke zonder veel moeite in ons land gekweekt kan worden. Een eventueel onderzoek naar de biogenese der alkaloiden in genoemde plant zou daardoor misschien vergemakkelijkt kunnen worden.

Meer gespecificeerd stelden wij ons het volgende ten doel:

1. een inzicht te krijgen in het aantal alkaloiden van *Sedum acre* en een geschikte methode voor de afscheiding uit te werken;
2. na te gaan of er een verband bestaat tussen de oogsttijd enerzijds en de samenstelling van het alkaloidmengsel anderzijds;
3. van onbekende alkaloiden zo mogelijk de structuur op te helderen;
4. de in de literatuur reeds vermelde gegevens over in *Sedum acre* aanwezige alkaloiden te verifiëren en eventueel aan te vullen.

hier het is dat vroeger het bestuur onder de leiding van de
 staat van de provincie (Amsterdam) is formeel geweest. Het
 was dat het althans een deel van de provincie was. Het
 het schied (1813-1814) is een deel van de provincie. Het
 was in de verhouding over het water van de provincie. Het
 De provincie is een deel van de provincie. Het is een
 van de provincie. Het is een deel van de provincie. Het
 in de provincie. Het is een deel van de provincie. Het
 in de provincie. Het is een deel van de provincie. Het
 in de provincie. Het is een deel van de provincie. Het

Wat het is, wordt hieronder vermeld.

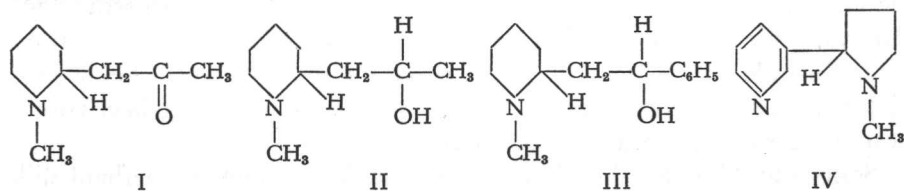
1. Het is een deel van de provincie.
2. Het is een deel van de provincie.
3. Het is een deel van de provincie.
4. Het is een deel van de provincie.

LITERATUURVERZICHT

In 1872 werden door MYLIUS [1] de resultaten gepubliceerd van een onderzoek, hetwelk hij ingesteld had naar de chemische samenstelling van *Sedum acre* L. en waarbij hij als eerste melding maakte van de aanwezigheid van een alkaloïde in deze plant. Hij verkreeg dit alkaloïde, hetwelk niet tot kristallisatie te brengen was en door lucht snel geoxydeerd werd, bij extractie van het plantenmateriaal met alcohol. De vrije base was goed oplosbaar in alcohol, aether, chloroform en zuren, slecht oplosbaar in water. Het hydrochloride en het nitraat waren beide kristal- lijn; smeltpunten echter werden niet vermeld.

Het duurde tot 1939, voordat een tweede publikatie verscheen. KOLESNIKOV en SHVARTSMAN [2] slaagden erin een alkaloïde van smelt- punt 86–87° en $[\alpha]_D^{20} -56,75^\circ$ (in alcohol) af te zonderen, hetwelk zij sedamine noemden. De door hen opgestelde brutoformule $C_{17}H_{24}NO_2$, welke, gezien de oneven som van waterstof- en stikstofatomen, zeker onjuist is, werd door de auteurs zelf in twijfel getrokken. De verbind- ing bevatte een niet-phenolische hydroxylgroep en was aan het stik- stofatoom gemethyleerd. Het hydrochloride en ook het pikraat konden niet in kristallijne vorm verkregen worden.

Enige jaren later onderwierp MARION [3] *Sedum acre* aan een onder- zoek, waarbij hij een alkaloïde van smeltpunt 88–89° isoleerde, hetwelk naar zijn mening identiek kon zijn met het produkt der Russische onder- zoekers en hetwelk dan ook door hem als zodanig werd aangemerkt. De aanvankelijk opgestelde brutoformule $C_{14}H_{21}NO \cdot \frac{1}{3}H_2O$ werd ge- corrigeerd tot $C_{14}H_{21}NO$. Tezamen met LAVIGNE en LEMAY stelde MARION [4] later een onderzoek in naar de structuur van genoemde stof, waarbij een eerder uitgevoerd onderzoek naar de alkaloiden van *Sedum sarmentosum* BUNGE [5] hun van nut was. Laatstgenoemde plant bevatte twee alkaloiden, het N-methylisopelletierine (I) en mogelijk de daarmee overeenkomende alcohol (II). Deze gegevens, gecombineerd met de voor sedamine gevonden brutoformule, deden het vermoeden rijzen, dat sedamine structuurformule III zou bezitten.



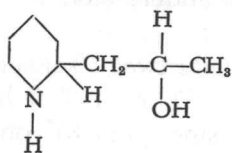
Bij de synthese nu van dit 1-methyl-2-(2'-hydroxy-2'-phenylaethyl)-piperidine(III) – van welke stof twee paren optische antipoden mogelijk zijn – kregen genoemde auteurs uiteindelijk slechts één optisch inactieve vorm en wel die van smeltpunt 88° in handen. Het infraroodspectrum (in zwavelkoolstof) van deze verbinding bleek identiek te zijn met het infraroodspectrum (in zwavelkoolstof) van het natuurlijke produkt, zodat sedamine inderdaad de verwachte structuurformule III heeft. Bovendien smolt de synthetische verbinding bij dezelfde temperatuur als het natuurlijke produkt, terwijl na mengen van beide verbindingen bij bepaling van het smeltpunt geen depressie werd waargenomen. Er was echter wel een verschil tussen het smeltpunt van het hydrochloride van het natuurlijke produkt (smeltpunt 205°) en dat van het hydrochloride van de synthetische verbinding (smeltpunt 185°), terwijl een mengsel van deze beide stoffen smolt bij 185°. Genoemd verschil zou volgens MARION toe te schrijven zijn aan het feit, dat sedamine in de plant vermoedelijk in optisch actieve vorm aanwezig is – hetgeen, de identiteit van beide produkten aanvaardend, reeds door KOLESNIKOV en SHVARTSMAN [2] was aangetoond – terwijl de synthetische vergelijkstof uiteraard optisch inactief was. Bovenstaande feiten betreffende de smeltpunten der vrije basen en der hydrochloriden zouden alleen dan met elkaar in overeenstemming te brengen zijn, indien de optisch actieve vorm en het racemaat een continue reeks mengkristallen vormen, hetgeen weinig waarschijnlijk is. Bepaling van de optische activiteit van natuurlijk sedamine zou hier de oplossing hebben gebracht.

De door MARION onderzochte *Sedum acre* bevatte echter nog een tweede alkaloid, hetwelk olieachtig was. Bij destillatie van het ruwe alkaloidmengsel kon een fractie van kooktraject 70–75°/1,5 mm afgescheiden worden. Bij behandeling met pikrinezuur werd een pikraat van smeltpunt 226° verkregen. Na mengen hiervan met nicotinedipikraat (smeltpunt 226°) werd bij bepaling van het smeltpunt geen depressie waargenomen. Op grond van deze feiten werd aangenomen, dat het alkaloid nicotine (IV) was.

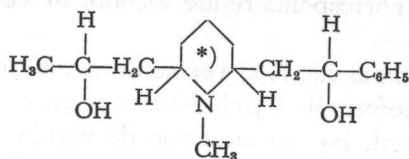
Een uitgebreide, zij het chemisch niet diepgaande studie van *Sedum acre* werd gemaakt door NORDAL [6]. Hij zonderde daarbij, naast glycosiden, organische zuren en andere produkten, twee olieachtige alkaloiden af. Het ene, hetwelk $[\alpha]_D^{15} - 64,6^\circ$ (in alcohol) had en volgens de elementairanalyse de brutoformule $C_{13}H_{19}NO$ bezat, werd sedine genoemd, terwijl aan het andere produkt van $[\alpha]_D^{15} - 51,8^\circ$ (in alcohol) en brutoformule $C_{17}H_{23}NO_2$ de naam sedacrine gegeven werd. Beide produkten, welke volgens de auteur zelf vermoedelijk niet geheel zuiver waren, vertoonden lokaalanaesthetische werking.

SCHÖPF en UNGER [7] onderzochten – gelijktijdig met en onafhankelijk

van ons - *Sedum acre* met de bedoeling daaruit sedamine te isoleren. Zij slaagden er niet in sedamine en nicotine af te zonderen, maar verkregen wel een ander, tot dan toe onbekend alkaloïde van smeltpunt 83-84° en $[\alpha]_D^{21} + 29,3^\circ$ (in alcohol). Dit alkaloïde, waarvan de isolering en structuurheldering tegelijkertijd ook door ons plaats vond [8], bleek structuurformule V te bezitten en werd sedridine genoemd.



V



VI

*) dubbele binding in de ring; plaats onbekend

Op grond van het feit, dat zij in hun plantenmateriaal geen sedamine, maar wel sedridine hadden gevonden, namen SCHÖPF en UNGER aan, dat er van *Sedum acre* twee physiologische variëteiten voorkomen, elk gekarakteriseerd door een voor de betreffende variëteit specifiek alkaloïde. Deze uitspraak blijft geheel voor rekening van de auteurs.

Na het verschijnen van de voorlopige publikaties van ons [8] en van SCHÖPF en UNGER [7] deelde FRANCK [9, 10] mede uit *Sedum acre* behalve sedamine en sedridine nog twee alkaloiden afgescheiden te hebben. Eén van deze, het sedinine, $C_{17}H_{25}NO_2$, met smeltpunt 121° en $[\alpha]_D^{20} - 105^\circ$ (in methanol) bezit de structuurformule VI. Als mogelijke brutoformule voor het andere alkaloïde met smeltpunt 93°, sedinon genaamd, werd opgegeven $C_{16}H_{23}NO_2$ resp. $C_{17}H_{25}NO_2$. Het U.V. spectrum kwam overeen met dat van sedinine. Daarentegen gaf het I.R. spectrum een intensieve carbonylband te zien.

Behalve *Sedum acre* werd ook *Sedum sarmentosum* BUNGE op de aanwezigheid van alkaloiden onderzocht. Dit geschiedde door MARION en CHAPUT [5]. Zij scheidten uit de plant twee olieachtige alkaloiden af. Eén hiervan werd geïdentificeerd als (\pm)-N-methylisopelletierine, zulks op grond van de brutoformule $C_9H_{17}NO$, het smeltpunt van het pikraat (159°) en het niet optreden van een depressie bij bepaling van het mengsmeltpunt van dit pikraat met dat van synthetisch (\pm)-N-methylisopelletierine (smeltpunt 160°).

Omtrent het tweede alkaloïde, hetwelk blijkt de analyse van het pikraat twee waterstofatomen meer bezat dan eerstgenoemd alkaloïde, werd de veronderstelling geuit, dat het hier misschien de met N-methylisopelletierine corresponderende alcohol zou betreffen. Teneinde dit na te gaan werd synthetisch (\pm)-N-methylisopelletierine met lithium-

aluminiumhydride gereduceerd. Daarna werd het pikraat van het reductieproduct bereid. Dit pikraat smolt bij 126°. Na mengen hiervan met het pikraat van het natuurlijke produkt, smeltpunt 125°, werd bij smeltpuntsbepaling een depressie geconstateerd. Uit deze waarneming kan de volgende conclusie getrokken worden: het natuurlijke produkt was of een der optisch actieve vormen van de met (\pm)-N-methylisopelletierine corresponderende alcohol of een geheel andere stof.

WIELAND c.s. [11] vermeldten uit *Lobelia inflata* twee alkaloiden van de brutoformule $C_{14}H_{21}NO$ en resp. smeltpunten 81° en 103° te hebben geïsoleerd. Bij oxydatie van de verbinding van smeltpunt 81° ontstond 1-methyl-piperidinecarbonzuur-2, zodat zij voor hun natuurlijke produkt de structuurformule III zeer waarschijnlijk achtten. Door BEYERMAN c.s. [12, 13] nu werd het vermoeden uitgesproken, dat dit alkaloid één der optische antipoden van (\pm)-allosedamine zou zijn. Niet alleen was de brutoformule dezelfde, ook de smeltpunten vertoonden een goede overeenkomst:

alkaloïde uit *Lobelia inflata*: smeltpunt 81°; chloroauraat smeltpunt 182°
(-) -allosedamine: smeltpunt 79-80°; $[\alpha]_D^{18} - 18,9^\circ$ (in alcohol); chloroauraat smeltpunt 182-183°

(+) -allosedamine: smeltpunt 79-80°; $[\alpha]_D^{20} + 18,6^\circ$ (in alcohol)
 $[\alpha]_D^{22} + 31,3^\circ$ (in methanol)

Dit vermoeden werd bevestigd door de uitgebreide onderzoeken van SCHÖPF c.s. [14] over de nevenalkaloiden van *Lobelia inflata*, waarbij op grond van een vergelijking van natuurlijk met synthetisch materiaal vastgesteld werd, dat het betreffende alkaloid het (-)-allosedamine is. Het smeltpunt bedroeg 81° en $[\alpha]_D^{19,5} - 32,8^\circ$ (in methanol). Het chloroauraat smolt bij 181°.

Het alkaloid van smeltpunt 103° werd door hen eveneens geïsoleerd. De brutoformule hiervan was echter niet $C_{14}H_{21}NO$, zoals aanvankelijk door WIELAND c.s. was vermeld, maar $C_{13}H_{19}NO$, terwijl $[\alpha]_D^{23} + 49,3^\circ$ (in alcohol) bedroeg. Dit alkaloid bleek één der vier mogelijke stereoisomeren van 2-(2'-hydroxy-2'-phenylaethyl)piperidine te zijn.

DE EXTRACTIE VAN *SEDUM ACRE* L.

1. Inleiding

Omtrent de verdeling der alkaloiden over de verschillende plantendelen zijn geen algemene regels te geven: bij sommige plantensoorten is het alkaloidgehalte maximaal in de schors, bij andere daarentegen weer in de bladeren, wortels of zaden. Met betrekking tot *Sedum acre* is in dit opzicht niets bekend. Het viel echter buiten onze doelstelling hiernaar een onderzoek in te stellen. Immers, de bedoeling was alleen de alkaloiden te leren kennen en daartoe kon de plant als geheel verwerkt worden. Een onderzoek van de afzonderlijke plantendelen was overigens ook weinig aantrekkelijk, gezien de geringe afmetingen.

Daar bij *Sedum acre* niets bekend was omtrent het verband tussen het voorkomen der verschillende alkaloiden enerzijds en de oogsttijd anderzijds, leek het ons belangrijk deze factor mede in het onderzoek te betrekken. Wij willen hierbij echter opmerken, dat de resultaten van een dergelijk onderzoek afhankelijk zijn van de gevolgde opwerkingsmethode; bij onze desbetreffende experimenten werd het droge plantenmateriaal steeds geëxtraheerd met methanol.

De planten nu waren afkomstig uit de proeftuin van het Laboratorium voor Algemene en Technische Biologie der Technische Hogeschool te Delft, *) waar in het voorjaar 1955 op kleiige grond enige velden *Sedum acre* werden aangelegd, welke op vier verschillende tijdstippen geoogst werden, nl.: vóór de bloei, tijdens de bloei, na de bloei en na zaadvorming. Deze planten, welke volgens opgave van de Heer H. J. VAN HATTEM, biol. drs., identiek waren zowel met *Sedum acre* L., behorende tot de verzameling van de Hortus Botanicus der Rijksuniversiteit te Leiden als met het door MARION [3] onderzochte materiaal, **) werden terstond na het plukken in een vacuumoven bij ca. 50° en een druk van 10 cm gedroogd, waarna opwerking geschiedde volgens de straks te bespreken alcoholische extractiemethode (Methode I).

*) Aan Prof. Dr. P. A. ROELOFSEN, Hoogleraar-beheerder van het Laboratorium voor Algemene en Technische Biologie der Technische Hogeschool te Delft betuig ik mijn dank voor de gelegenheid, welke hij geboden heeft om in de proeftuin van genoemd laboratorium *Sedum acre* te kweken.

De Heer P. J. NIEUWDRP, biol. drs., ben ik zeer erkentelijk voor de medewerking, welke ik steeds van hem heb mogen ondervinden.

**) Voor het, door bemiddeling van Dr. H. C. BEYERMAN, ter beschikking stellen van een monster van door hem onderzochte *Sedum acre* L. ben ik Dr. L. MARION zeer erkentelijk.

De opbrengsten aan ruw alkaloidmengsel, uitgedrukt zowel in grammen als in procenten, berekend op het droge uitgangsmateriaal, zijn vermeld in TABEL 1. Deze tabel bevat ook de overeenkomstige waarden, behorend bij materiaal, hetwelk, op zandgrond gegroeid, tegen het einde der bloeitijd 1954 in de omgeving van Amsterdam was verzameld en waarmede ons onderzoek begon. In dit geval echter werden de planten, welke geïdentificeerd waren als *Sedum acre* L. door Dr. P. VERMEULEN, *) Hortulanus van de Hortus Botanicus der Gemeentelijke Universiteit van Amsterdam, niet terstond na de oogst *in vacuo* gedroogd, maar bleven gedurende twee maanden bij kamertemperatuur liggen. Daarna werden de laatste resten vocht verwijderd door verwarming op ca. 50° bij atmosferische druk en werd geëxtraheerd volgens de hieronder te beschrijven methode I.

In alle gevallen werden steeds twee ruwe alkaloidmengsels, genaamd residu A en B, verkregen. De residu's A gaven alle bij papierchromatografisch onderzoek hetzelfde vlekkenpatroon te zien. Hetzelfde geldt ook voor de residu's B. Uit deze waarnemingen zouden wij de conclusie kunnen trekken, dat de aanwezigheid der verschillende alkaloiden onafhankelijk is van de oogsttijd (en mogelijk de bodemgesteldheid).

Bij in 1956 uitgevoerde experimenten werd vers plantenmateriaal deels snel *in vacuo* bij 50°, deels langzaam bij atmosferische druk en kamertemperatuur gedroogd. Daarna volgde extractie met methanol volgens methode I. De hoeveelheden der aldus verkregen residu's A en B zijn eveneens in TABEL 1 opgenomen.

Bij verdere opwerking van een aantal residu's (HOOFDSTUK IV) zou blijken, dat mogelijk de bodemgesteldheid en stellig de droogmethode van invloed zijn op het gehalte aan althans één der alkaloiden (sedridine) en dat laatstgenoemde factor tevens de verhouding van de optische antipoden der alkaloiden beïnvloeden kan.

2. De extractie in het algemeen

Alkaloiden komen in planten voor als zodanig of als zouten van organische zuren, als glycosiden, of gebonden aan peptiden. Om de basen te isoleren, kan het plantenmateriaal op verschillende wijzen bewerkt worden. In aanmerking komen bewerkingen met a) verdunde zuren, b) verdunde anorganische basen, c) een geschikt organisch oplosmiddel, terwijl d) in sommige gevallen stoomdestillatie kan worden toegepast.

Wat de *behandeling met verdunde zuren* betreft, hierbij treedt vaak verontreiniging op door organisch en anorganisch materiaal, hetgeen bij

*) De Heren Dr. P. VERMEULEN en H. J. VAN HATTEM, biol. drs., dank ik voor hun bereidheid om het plantenmateriaal te identificeren.

de verdere bewerking moeilijkheden kan opleveren. Bij het indampen kunnen slecht filtreerbare neerslagen ontstaan en het uitschudden van het zure waterige extract met chloroform ter verwijdering van niet-basische stoffen kan gepaard gaan met emulsiëvorming.

De basen zelf worden verkregen door de oplossing der zouten te behandelen met natriumcarbonaat, ammonia of natriumhydroxyde, gevolgd door extractie met aether of chloroform, waarna het extract bij zo laag mogelijke temperatuur *in vacuo* wordt ingedampt. Meestal gebruikt men het laatstgenoemde oplosmiddel, omdat daarin de alkaloiden als regel goed oplossen, ook diegene, welke in aether slecht oplosbaar zijn.

Behandeling met verdunde anorganische basen is in principe minder gewenst in verband met de mogelijke instabiliteit van alkaloiden in dit milieu.

In vele gevallen wordt *extractie met een organisch oplosmiddel* toegepast, voor welk doel methanol zeer geschikt is en vanwege zijn lage kookpunt en beter oplossend vermogen geprefereerd wordt boven aethanol. Het alcoholische extract wordt zover als mogelijk is *in vacuo* ingedampt en daarna met verdund zuur behandeld. In water oplosbare neutrale of zure organische bestanddelen worden verwijderd door uitschudden van de zure oplossing met chloroform, waarna de verdere opwerking geschiedt als vermeld in het voorgaande. In tegenstelling tot beide voorgaande bewerkingen, waarbij redelijkerwijze de totale hoeveelheid alkaloide geïsoleerd wordt, worden bij deze bewerking alleen vrije alkaloiden en in warme methanol oplosbare zouten verkregen.

Bezitten de basen bij 100° een voldoende dampspanning en zijn zij verder behoorlijk thermostabiel, dan is *stoomdestillatie* de meest voor de hand liggende afscheidingsmethode, welke snel tot het gewenste doel voert. Het waterige destillaat wordt, na aangezuurd te zijn, enige malen uitgeschud met chloroform en vervolgens *in vacuo* bij zo laag mogelijke temperatuur ingedampt. Daarna wordt de werkwijze gevolgd, die in het bovenstaande is aangegeven.

3. Literatuuroverzicht

Alvorens over te gaan tot de beschrijving van de door ons gebruikte methoden ter bereiding van het ruwe extract van *Sedum acre* willen wij eerst de door voorgaande onderzoekers met betrekking tot deze plantensoort toegepaste werkwijzen in het kort vermelden.

MYLIUS [1] behandelde plantenmateriaal, in het voorjaar ergens in Duitsland verzameld, na drogen achtereenvolgens met aether, alcohol, koud en warm water, verdund zoutzuur. Bij de extractie met alcohol

verkreeg hij een produkt van onaangename, scherpe smaak. De opbrengst werd niet vermeld.

KOLESNIKOV en SHVARTSMAN [2] onderwierpen in juni verzamelde muurpeper van Russische origine aan extractie met alcohol, waaraan azijnzuur was toegevoegd. Na indampen der oplossing bij verhoogde temperatuur (max. 50°) werd het residu uitgetrokken met een 1%-ige zoutzuuroplossing. Door behandeling van het zure extract met 10%-ige ammoniak, gevolgd door uitschudden met chloroform, werd in een opbrengst van 0,2% (berekend op het droge uitgangsmateriaal) het ruwe basenmengsel verkregen.

Door MARION [3] werden enige jaren later 9,3 kg droge planten, afkomstig uit de omgeving van Ottawa (Canada), met methanol geëxtraheerd. Na indampen der methanolische oplossing werd het residu met zoutzuur gedurende 24 uur op het stoombad verhit en na afkoelen gefiltreerd. Het onoplosbare residu onderging nogmaals dezelfde behandeling. De gecombineerde filtraten werden, na zuivering over norit en extractie met aether, ammoniakaal gemaakt en daarna uitgeschud met chloroform. Na afdestilleren van het oplosmiddel bleven de basen als een donkerbruine dikke olie achter. Opbrengst: 8 g (d.i. 0,086%).

Tijdens ons onderzoek verscheen een publikatie van SCHÖPF en UNGER [7], die weliswaar niet meer van invloed was op onze keuze van de extractiemethode, maar die in het kader van dit literatuuroverzicht toch genoemd moet worden. Vermeld wordt hierin, dat de ruwe alkaloiden, afgescheiden uit vers plantenmateriaal, tijdens de bloeiperiode in de omgeving van Darmstadt (Duitsland) geplukt, in de vorm van hun hydrochloriden verder bewerkt werden, maar zij verstrekken geen nadere gegevens omtrent hoeveelheid uitgangsmateriaal, door hen gevolgde extractiemethode en verkregen rendement.

Volgens een persoonlijke mededeling van Prof. CL. SCHÖPF echter werd het verse plantenmateriaal terstond na het plukken met verdund zoutzuur bij kamertemperatuur behandeld. Aan het zure extract werd een overmaat kaliumcarbonaat toegevoegd. Daarna werd uitgeschud met aether. Na afdestilleren van het oplosmiddel werden de basen omgezet in de hydrochloriden. De opbrengst werd niet vermeld.

4. Gevolgde extractiemethoden

Daar ons bij de bestudering der literatuur gebleken was, dat extractie met alcohol bij diverse plantensoorten dikwijls toegepast was, o.a. door MARION [3] met betrekking tot *Sedum acre*, kozen ook wij deze methode, temeer omdat wij ons onderzoek beschouwden als een voortzetting van het werk van MARION. De betreffende methode I wordt in het onderstaande aangegeven.

Methode I

Het fijngemalen droge plantenmateriaal werd uitputtend geëxtraheerd met kokende methanol, overeenkomstig de werkwijze van MARION. Het residu, ontstaan na indampen der methanolische oplossing, werd bij ca. 75° met verdund zoutzuur behandeld, waarna de zoutzure oplossing, na enige malen uitgeschud te zijn met chloroform, alkalisch gemaakt werd met 4 N ammoniak. Vervolgens werd uitgeschud met chloroform. Verwijdering van de chloroform leverde residu A. Daar nicotine – hetwelk immers volgens MARION aanwezig moest zijn – goed in water oplosbaar is en eventueel ook andere tot nu toe nog niet geïsoleerde alkaloiden deze eigenschap kunnen bezitten, werd de ammoniakale oplossing sterk alkalisch gemaakt met vast natriumhydroxyde en werd nogmaals *snel* uitgeschud met chloroform, dit in verband met de mogelijke instabiliteit der basen in sterk alkalisch milieu. Indampen van dit chloroformische extract leverde residu B. Beide residu's waren donkerbruin van kleur en zeer visceus.

Daar bij papierchromatografisch onderzoek van de residu's A en B bleek, dat er in *Sedum acre* meerdere alkaloiden aanwezig waren – waarbij in het midden zij gelaten of deze alle als zodanig in de plant voorkwamen dan wel tijdens de opwerking waren ontstaan – en er volgens deze goed reproduceerbare methode I een behoorlijke scheiding van de alkaloiden in twee groepen verkregen was, pasten wij deze methode steeds toe, evenwel met één uitzondering. Deze had betrekking op het onderzoek naar nicotine, welk alkaloid wij uit geen der bovengenoemde residu's hadden kunnen isoleren noch daarin hadden kunnen aantonen. De mogelijkheid dat het, indien aanwezig, slechts in zeer geringe hoeveelheid zou voorkomen, was voor ons aanleiding een grote hoeveelheid plantenmateriaal op te werken volgens de voor nicotine meest gunstige methode, waarbij het gedrag der overige alkaloiden van secundair belang geacht werd. Deze methode wordt hieronder als methode II beschreven.

Methode II

Allereerst werd door ons nagegaan, welke extractiemethoden speciaal met betrekking tot nicotine toegepast waren bij andere plantensoorten. Het bleek, dat boven de „alcoholische” extractie in vele gevallen de voorkeur werd gegeven aan directe stoomdestillatie uit alkalisch milieu, daarbij gebruikmakend van het feit, dat nicotine goed in water oplosbaar en met stoom vluchtig is.

Uit onderzoekingen van WERLE en BECKER [15] was komen vast te staan, dat nicotine snel en kwantitatief met waterdamp overdestilleert, indien de destillatie – zonder stoomdoorleiden – geschiedt uit een

TABEL 1

	<i>Sedum acre</i> Amsterdam (1954)		<i>Sedum acre</i> Delft, Lab. Techn. Biologie (1955)							
oogstperiode	einde der bloeitijd		voor de bloei		tijdens bloei		na de bloei		na zaadvorming	
drooggewicht	2200 g		425 g		800 g		738 g		780 g	
residu A	6,80 g	0,309%	2,15 g	0,506%	5,10 g	0,637%	3,85 g	0,521%	5,55 g	0,711%
residu B	3,00 g	0,136%	0,80 g	0,188%	0,85 g	0,106%	1,10 g	0,149%	1,20 g	0,154%
droogmethode	langzaam aan de lucht gedroogd		in oven gedroogd bij ca. 50°/10 cm; <i>direct</i> na de oogst							

I

II

III

IV

V

kokende verzadigde natriumchloride-oplossing, waaraan magnesiumoxyde of natriumhydroxyde is toegevoegd. Op grond hiervan onderwierpen wij het plantenmateriaal aan een dergelijke behandeling. Het verkregen waterige destillaat werd, na aanzuren met zoutzuur en uitschudden met chloroform ter verwijdering van niet-basische organische bestanddelen, tot een klein volume ingedampt. Dit zoutzure extract werd weer op de gebruikelijke wijze opgewerkt, met als resultaat de residu's A en B. Deze methode, aanvankelijk alleen uitgewerkt voor de afscheiding van nicotine, voldeed ook goed voor de winning van sedridine. Dit bleek uit een vergelijking van de procentuele opbrengsten aan sedridine, gewonnen uit volgens beide methoden verkregen residu's B; deze waren nl. van dezelfde grootte-orde.

Verder leerde papierchromatografisch onderzoek, dat ook de overige alkaloiden, welke volgens methode I verkregen waren, op één uitzondering na in de residu's A en B aanwezig waren (HOOFDSTUK III) en dat de scheiding der alkaloiden in twee groepen van soortgelijke aard was als bij methode I. De aanwezigheid van nicotine was dubieus, zodat een nader onderzoek in enkele andere systemen noodzakelijk bleef (HOOFDSTUK VI).

5. Experimenteel gedeelte

In het onderstaande wordt één der door ons uitgevoerde extracties, volgens elk der beide methoden, nauwkeurig beschreven. De overige geschieden op analoge wijze.

Methode I

Droog plantenmeel, 780 g, d.i. ong. 10 gew. % berekend op vers

	<i>Sedum acre</i> Delft, Lab. Techn. Biologie (1956)				<i>Sedum acre</i> Delft, Lab. Techn. Biologie (1957)	
oogstperiode	na zaadvorming		na zaadvorming		tijdens volle bloei	
drooggewicht	2184 g		5323 g		14000 g	
residu A	6,20 g	0,284%	14,00 g	0,263%	3,33 g	0,023%
residu B	1,70 g	0,077%	4,00 g	0,075%	3,22 g	0,023%
droogmethode	in oven gedroogd bij ca. 50°/10 cm; <i>direct</i> na de oogst		langzaam aan de lucht gedroogd		langzaam aan de lucht gedroogd	

VI

VII

VIII

geplukt materiaal, hetwelk terstond na de oogst in de oven gedroogd werd bij ca. 50° en een druk van 10 cm, werd geëxtraheerd met 6 porties van elk 2,5 l kokende methanol gedurende telkens 8 uur. De oplossingen werden warm gefiltreerd. Na vereniging der extracten en afdestilleren van de methanol, waarvan het laatste gedeelte tenslotte *in vacuo* geschiedde, werd 132 g donkerbruin residu verkregen, hetwelk onder roeren, bij 75° met in totaal 1700 ml verdund zoutzuur werd uitgetrokken.

Na behandeling met norit, gevolgd door filtratie, werd het zoutzure extract, na enige malen uitgeschud te zijn met chloroform, alkalisch gemaakt met 130 ml 4N ammoniak. Vervolgens werd uitgeschud met 15 porties van elk 100 ml chloroform. Na drogen over watervrij magnesiumsulfaat werd van dit extract het oplosmiddel afgedestilleerd. Er resulteerde 5,55 g donkerbruine, zeer visceuze olie (residu A).

De waterige, ammoniakale oplossing werd nu onder roeren en koelen *sterk* alkalisch gemaakt met 750 g vast kaliumhydroxyde en daarna *snel* – om eventuele verharsing en racemisatie der alkaloiden in het sterk alkalische milieu zoveel mogelijk tegen te gaan – uitgeschud met in totaal 2700 ml chloroform, waarbij veel last werd ondervonden van emulsievorming, hetgeen de scheiding der lagen bemoeilijkte. Na drogen over watervrij magnesiumsulfaat en indampen van deze chloroformoplossing werd 1,20 g donkerbruine visceuze olie verkregen (residu B).

De resultaten van alle extracties, welke werden uitgevoerd als bovenbeschreven, zijn vermeld in TABEL 1.

Methode II

De opwerking volgens deze methode van een grote hoeveelheid *Sedum*

acre werd gedeeltelijk uitgevoerd bij de N.V. Organon, Oss. *) Aan de lucht gedroogd materiaal, 14 kg, afkomstig van ca. 140 kg verse *Sedum acre*, in volle bloei geplukt, werd na fijnmalen gesuspenderd in 80 l water. Vervolgens werden 32 kg natriumchloride en 1,1 kg vast natriumhydroxyde toegevoegd, waarna onder goed roeren en verwarmen, maar zonder stoomdoorleiden, de met waterdamp vluchtige bestanddelen overgedestilleerd werden. De 50 l waterig destillaat werden met gec. zoutzuur aangezuurd en daarna, ter verwijdering van neutrale of zure organische bestanddelen, driemaal met telkens 5 l chloroform uitgeschud. De zoutzure oplossing werd bij verhoogde temperatuur (tot ca. 45°) *in vacuo* ingedampt tot een volume van ca. 400 ml (450 g). De aldus verkregen massa werd door ons op het laboratorium verder verwerkt.

Het extract, hetwelk een onaangename geur bezat, werd in een exsiccator boven gec. zwavelzuur en vast kaliumhydroxyde bij 18 mm druk tot ongeveer de helft van het gewicht ingedampt. In de bekerglazen hadden zich kristallen, vermoedelijk vooral ammoniumchloride, afgezet. Aan de geconcentreerde massa (217 g) werd 450 ml 4 N ammoniak toegevoegd, waarna met in totaal 2 l chloroform werd uitgeschud. Na de gebruikelijke opwerking werd 3,33 g donkerbruine olie verkregen (residu A).

De ammoniakale oplossing, overgebleven na de chloroformextractie, werd onder roeren en koelen sterk alkalisch gemaakt met 600 g vast natriumhydroxyde. Snel uitschudden met 3,5 l chloroform en opwerking van dit extract resulteerde in 3,22 g lichtbruine olie (residu B).

6. Conclusie

Uit de gegevens, vermeld in TABEL 1, blijkt dat bij extractie volgens methode I (extractie I t/m VII) de procentuele opbrengsten aan A-resp. B residu ongeveer van dezelfde grootte-orde zijn en dat de verhoudingen residu A – residu B onderling een redelijk goede overeenkomst vertonen.

De waarden, vermeld in de laatste kolom en betrekking hebbend op extractie volgens methode II (extractie VIII), vormen een uitzondering. Niet alleen liggen beide percentages aanzienlijk lager, ook hun verhouding is een andere.

Daar enerzijds sedamine – naar alle waarschijnlijkheid het hoofdbestanddeel der A-residu's – goed met water overdestilleert, zoals ons

*) Mijn oprechte dank betuig ik aan de Directie der N.V. Organon, Oss voor de door haar verleende faciliteiten bij de extractie.

uit een proef met synthetische stof is gebleken en anderzijds uit de residu's VII-B en VIII-B een gelijk percentage sedridine, berekend op het droge plantenmateriaal, verkregen werd, moet de oorzaak van bovengenoemd verschil in rendementen ons inziens vermoedelijk hierin gezocht worden, dat de residu's, ontstaan bij extractie volgens methode I, in sterkere mate verontreinigd zijn.

DE TOEGEPASTE PAPIERCHROMATOGRAPHIE

Alvorens over te gaan tot de afscheiding van afzonderlijke alkaloiden uit de ruwe residu's A en B, achtten wij het gewenst ons op de eerste plaats door middel van papierchromatografie te oriënteren over het aantal in die residu's aanwezige alkaloiden en hun R_F -waarden te leren kennen. Te verwachten viel, dat de kennis hiervan de afscheiding zou vergemakkelijken.

In dit hoofdstuk zullen wij de door ons gevolgde werkwijze beschrijven, welke ons in staat stelde niet alleen de diverse residu's (HOOFDSTUK II) in hun brutosamenstelling onderling te vergelijken, maar tevens ook na te gaan, in hoeverre de R_F -waarden der natuurlijke basen overeenstemming vertoonden met die van enige gesynthetiseerde verbindingen, welker synthese voortvloeide uit de afscheiding en identificatie van enige alkaloiden uit bovengenoemde residu's en waarvan met enige reden verwacht kon worden, dat ze misschien in *Sedum acre* aanwezig zouden zijn.

1. Gevolgde methode en resultaten

Talrijke, in de literatuur beschreven, pogingen om naar aanleiding van gegevens betreffende papierchromatografische onderzoeken, gericht bij verschillende klassen van verbindingen, algemene richtlijnen voor de papierchromatografie op te stellen, hebben gefaald. Wel werden voor bepaalde groepen van verbindingen de meest gunstige voorwaarden met betrekking tot het papier, de loopvloeistof, het reagens tot zichtbaarmaking gevonden, zodat het thans mogelijk is, door combinatie hiervan de scheiding van een mengsel van componenten, welke tot verschillende groepen behoren, te bewerkstelligen.

Het waren MUNIER en medewerkers [16] die in de periode van 1949-1952 als eersten de papierchromatografie van alkaloiden uitvoerig bestudeerden. Zij gingen van een groot aantal hiervan het onderlinge gedrag na in diverse systemen, waarbij zij constateerden, dat in sommige gevallen een goede scheiding tot stand kwam, indien de organische fase aangezuurd en het papier tevoren geïmpregneerd was met een oplossing van een neutraal zout, terwijl in andere gevallen goede resultaten verkregen werden, indien bij gebruik van een neutrale loopvloeistof het papier tevoren gedrenkt was in een oplossing van bepaalde zuurgraad.

Met betrekking tot de papierchromatografie der alkaloiden van *Sedum acre* - nicotine uitgezonderd - waren tot voor kort geen literatuurgegevens bekend. In een recente publikatie, welke na beëindiging van ons experimentele werk verscheen, deelde FRANCK [9] mede, *Sedum acre* chromatografisch onderzocht te hebben op papier, hetwelk met 0,5 M KH_2PO_4 geïmpregneerd was, terwijl als loopvloeistof diende een mengsel van *n*-butanol, di-*n*-butylaether en 1%-ige mierenzuuroplossing in de volumeverhouding 2 : 1 : 3.

Toen wij ons onderzoek begonnen was wel een methode beschreven [16, 17, 18], volgens welke het mogelijk was de alkaloiden van *Punica granatum* L. papierchromatografisch op bevredigende wijze te scheiden. Daarbij bestond de loopvloeistof uit een mengsel van *n*-butanol en 9,5%-ige zoutzuuroplossing in de volumeverhouding 15 : 4.

Op grond van het feit, dat één der *Punica*-alkaloiden, het (\pm)-*N*-methylisopelletierine, tevens een bestanddeel vormt van *Sedum sarmentosum* BUNGE [5] en het in *Sedum acre* aangetroffen sedamine [4] een enigszins verwante structuur bezit, pasten wij bovenaangeduide werkwijze toe op onze ruwe basenmengsels A en B. Aangezien wij op deze wijze niet tot een voldoende scheiding der alkaloiden geraakten, moest naar een andere methode worden omgezien.

Volgens MARION [3] nu zouden in *Sedum acre* o.a. voorkomen sedamine en nicotine, en het lag dan ook voor de hand om eerst eens na te gaan aan welke voorwaarden voldaan moest worden om een behoorlijk verschil in R_F -waarden tussen deze twee verbindingen te verkrijgen. Waren deze voorwaarden eenmaal gevonden, dan zou er een kans zijn op het bereiken van een scheiding bij chromatografie der ruwe alkaloidmengsels onder dezelfde omstandigheden.

Wij gingen derhalve het gedrag na van nicotine en synthetisch (\pm)-sedamine (HOOFDSTUK V) in diverse loopvloeistof-systemen, terwijl het papier al dan niet tevoren geïmpregneerd was met oplossingen van verschillende zuurgraad. Uit deze proeven bleek o.a., dat:

1. de R_F -waarden, bij gebruik van dezelfde loopvloeistof - *n*-butanol, verzadigd met water - kleiner waren naarmate de pH van de impregneervloeistof lager was;
2. *n*-butanol als hoofdbestanddeel van de ontwikkelvloeistof te prefereren was boven diverse andere lagere aliphatische alcoholen.

Gebruik makend van deze feiten werd het gestelde doel tenslotte bereikt door als volgt te werk te gaan:

1. het papier, Whatman no. 1, werd geïmpregneerd met een oplossing van 1 molair KH_2PO_4 (pH ca. 4,1);
2. na opbrengen der vrije basen, opgelost in methanol, werd het chromatogram ontwikkeld met *n*-butanol, verzadigd met water;

3. de plaatsen der alkaloiden op het papier werden zichtbaar gemaakt door bespuiting met het reagens van DRAGENDORFF, hetwelk echter enigermate gewijzigd werd. Bij gebruik nl. van dit reagens volgens recept van MUNIER en MACHEBOEUF [19] verdwenen de vlekken zeer korte tijd na het verschijnen. Door verhoging van het kaliumjodidegehalte en toevoeging van gec. zoutzuur werd het „gemodificeerde” DRAGENDORFF-reagens bereid, na bespuiting waarmede de vlekken – rood tegen een geel-beige achtergrond – gedurende geruime tijd goed zichtbaar bleven.

Teneinde zoveel mogelijk constante R_F -waarden te verkrijgen, was het noodzakelijk, steeds bij dezelfde temperatuur te werken. Met de temperatuur nl. variëren deze waarden en hun onderlinge verhouding. Alle bepalingen werden dan ook uitgevoerd in een thermostaatkamer ($26^\circ \pm 1^\circ$), waar tevens de loopvloeistof werd bewaard. Dit laatste is belangrijk indien men bedenkt, dat de oplosbaarheid van water in *n*-butanol van de temperatuur afhankelijk is, terwijl de samenstelling van het mengsel constant moet zijn om vergelijkbare R_F -waarden te krijgen.

Wat nu de toepassing van bovenbeschreven werkwijze met betrekking tot de ruwe residu's A en B betreft, werden wij niet teleurgesteld in onze hoop. De chromatogrammen lieten zien, dat bij de door ons uitgevoerde extracties volgens methode I en II de alkaloiden verdeeld waren in twee groepen: de ene groep omvatte basen welke een R_F -waarde hadden, liggende tussen ca. 0,40 en 1,00 en wier concentratie het hoogst was in de A-residu's; tot de andere groep behoorden zij, die een R_F -waarde bezaten, gelegen tussen 0,00 en ca. 0,40 en die in hoogste concentratie aanwezig waren in de B-residu's.

Werd het plantenmateriaal geëxtraheerd volgens methode I, dan bleek het residu A bij alle uitgevoerde extracties verbindingen te bevatten, gekenmerkt door de R_F -waarden 0,41, 0,62 en 0,79 (gemiddelde waarden), terwijl in het residu B steeds voorkwamen verbindingen met de R_F -waarden 0,05/0,07, 0,15 en 0,44 (gemiddelde waarden).

Echter, bij chromatografie van het bij extractie volgens methode II verkregen residu A werd de vlek met R_F 0,79 niet teruggevonden, terwijl daarentegen een extra vlekje met R_F 0,39 zichtbaar werd. Wat het residu B betreft, hierbij werd behalve de reeds vermelde vlekken nog een vierde waargenomen met R_F 0,32 (TABEL 2). Niet vergeten moet worden, dat in dit geval een grotere hoeveelheid plantenmateriaal verwerkt is dan bij de extracties volgens methode I, zodat de met stoom vluchtige alkaloiden, wier concentratie toen te gering was, nu wel aangetoond kunnen worden.

Het feit, dat vele alkaloiden in vrije toestand onbestendig zijn, leidde

er ons voorzichtigheidshalve toe in sommige gevallen de ruwe alkaloidmengsels en de afzonderlijke alkaloiden in zoutzuuroplossing of als hydrochloriden te bewaren. Het lag voor de hand na te gaan welke veranderingen er zouden optreden in de R_F -waarden der samenstellende componenten, indien de ruwe mengsels, na omzetting in de zoutzure zouten, gechromatografeerd zouden worden onder overigens dezelfde omstandigheden als bovengenoemd. Proeven wezen uit, dat ook in dat geval – in grote lijnen – de alkaloiden der A-residu's, op één zeer duidelijke uitzondering na, een hogere R_F -waarde bezaten dan die der B-residu's (TABEL 2).

Hoewel beide werkwijzen – chromatografie van de alkaloiden, op papier gebracht als vrije basen en als hydrochloriden – beantwoordden aan het gestelde doel, was de laatstgenoemde te prefereren, omdat de vlekken zich dan scherper aftekenden tegen de achtergrond en minder gedeformeerd waren, hetgeen tot gevolg had, dat de R_F -waarden met een grotere nauwkeurigheid bepaald konden worden.

Het bleek niet mogelijk op grond van de vleggrootte een voorspelling te doen omtrent de verhouding, waarin de verschillende alkaloiden aanwezig zijn en te zeggen welke de hoofd- en welke de nevenalkaloiden zijn, daar proeven met synthetische specimina van in *Sedum acre* aanwezige alkaloiden aangetoond hadden, dat vlekken, afkomstig van twee stoffen, welke in gelijke hoeveelheden op papier gebracht waren, geenszins steeds hetzelfde oppervlak bezitten.

Tenslotte, het voorkomen van sedamine en sedridine in *Sedum acre* (3, 7, 8 en HOOFDSTUK IV), (\pm)-N-methylisopelletierine en de daarmee corresponderende alcohol (?) in *Sedum sarmentosum* BUNGE [5], (–)-allo-sedamine en 1-methyl-2-(2'-hydroxybutyl)piperidine in *Lobelia inflata* [14] was voor ons een reden deze verbindingen en enige homologen te synthetiseren (HOOFDSTUK V) met de bedoeling hen dan o.a. te gebruiken als vergelijkingsstoffen bij de papierchromatografie. Hun R_F -waarden zijn opgenomen in TABEL 3.

2. Experimenteel gedeelte

Bij ons onderzoek maakten wij steeds gebruik van papier, Whatman no. 1, hetwelk in stroken (20 × 55 cm) geknipt werd, waarvan de lengterichting overeenkwam met de walsrichting van het papier. Na bespuiten, tot verzadiging, met een oplossing van 1 molair KH_2PO_4 en drogen, werden zij voorzien van een startlijn, welke zich steeds bevond op een constante afstand van de bovenrand van het papier en van aequidistante startcirkeltjes. De te onderzoeken enkelvoudige verbindingen of meng-

sels werden opgelost in methanol of 2 N zoutzuur. Met een micropipet werd een zodanige hoeveelheid van elk van deze oplossingen binnen die startcirkeltjes gebracht, dat zij, afhankelijk van de aard der stoffen, 100–400 µg van elke component bevatte. Het bleek ons, dat de optimale waarde voor de verbindingen 4–5–6–9–10–11 (TABEL 3) lag bij ca. 100–150 µg, terwijl deze voor de verbindingen 1–2–3–7–8 aanzienlijk hoger was, nl. ca. 300–400 µg.

De strook werd vervolgens in de chromatografiebak gehangen, waarin zich op de bodem twee schaaltes bevonden: het ene bevatte *n*-butanol, verzadigd met water, het andere water verzadigd met *n*-butanol. In tegenstelling met hetgeen veelal in de literatuur vermeld staat, werd niet geëquilibreerd, maar werd terstond de loopvloeistof toegevoegd. Deze was als volgt bereid: 30 ml *n*-butanol werd flink geschud met 10 ml gedest. water. Na drie uur staan werden de lagen gescheiden. De bovenste laag was voldoende voor één chromatogram.

Na ca. 21 uur werd de strook uit de bak gehaald. Het vloeistoffront had in die tijd een afstand afgelegd van ca. 45 cm, gerekend vanaf de startlijn. De plaats ervan werd met potlood afgetekend en de strook met de onderkant boven gedurende enige uren aan de lucht gedroogd. Daarna werd het papier bespoten met het „gemodificeerde” DRAGENDORFF-reagens, hetwelk als volgt werd samengesteld:

850 mg basisch bismuthnitraat	} oplossing 1
40 ml gedestilleerd water	
10 ml ijsazijn	
24 g kaliumjodide	} oplossing 2
20 ml gedestilleerd water	

Bij mengen van de oplossingen 1 en 2 ontstond een heldere, oranje-gekleurde moederoplossing, welke in een bruine fles in het donker bewaard, 4–5 weken houdbaar was. Als spuitvloeistof diende een vers bereid mengsel van 5 ml moederoplossing, 10 ml ijsazijn, 6 ml geconc. zoutzuur en 44 ml gedestilleerd water.

Op de plaatsen waar zich de alkaloiden bevonden, verschenen rode vlekken, welke duidelijk afstaken tegen de geel-beige achtergrond. Zij werden direct met potlood omlijnd, daar na enige tijd vervaging optrad.

Zowel bij de chromatografie der residu's A en B – waarbij steeds 0,01 ml van een ca. 10%-ige oplossing op papier gebracht werd – als bij die der synthetische alkaloiden werd geconstateerd, dat niet alle vlekken even snel verschenen. Zij die behoorden bij aan het stikstofa-atom gemethyleerde verbindingen kwamen terstond op, terwijl diegene die de plaats aangaven van de niet gemethyleerde stoffen, in de meeste gevallen eers na $\frac{1}{2}$ –1 uur duidelijk zichtbaar waren.

De R_F -waarden, d.i. de verhouding van de afstand startlijn-zwaarte-

TABEL 2. Gemiddelde R_F -waarden der alkaloiden van *Sedum acre* L.

alkaloiden opgelost in methanol		alkaloiden opgelost in 2 N zoutzuur	
residu		residu	
A	B	A	B
	0,05/0,07		0,05/0,08
	0,15 sedridine (blz. 32)	0,10 ²⁾ nicotine	
	0,32 ²⁾		0,16 ²⁾
0,39 ²⁾ nicotine (blz. 63)			0,29 sedridine
0,41 onbekend alkaloiden (blz. 42)		0,40 onbekend alkaloiden	
	0,44 alkaloiden X (blz. 45)		0,44 alkaloiden X
0,62 sedamine (blz. 40)		0,62 sedamine	
0,79 ¹⁾		0,82 ¹⁾	

¹⁾ alleen verkregen bij extractie volgens methode I.

²⁾ alleen verkregen bij extractie volgens methode II.

TABEL 3. Gemiddelde R_F -waarden der synthetische verbindingen.

		verbindingen opgelost in methanol	verbindingen opgelost in 2 N zoutzuur	opmerkingen
1	(±)-sedridine	0,16	0,30	
2	(±)-allosedridine	0,16	0,29	
3	N-methylsedridine	0,14	0,28	2 racematen
4	(±)-sedamine	0,60	0,61	
5	(±)-allosedamine	0,58	0,59	
6	2-(2'-hydroxy-2'-phenylaethyl)piperidine	0,58	0,63	2 racematen
7	2-(2'-hydroxybutyl)piperidine	0,29	0,43	2 racematen
8	1-methyl-2-(2'-hydroxybutyl)piperidine	0,27	0,39	2 racematen
9	(±)-isopelletierine	-	0,29	HBr-zout
10	(±)-N-methylisopelletierine	-	0,20	
11	nicotine	0,38	0,09	

punt der vlek tot de afstand startlijn-vloeistoffront, werden bepaald met behulp van een van plexiglas vervaardigde rechthoekige driehoek ($30 \times 40 \times 50$ cm) waarop honderd, aan de lange rechthoekszijde evenwijdige lijnen aangebracht zijn.

In de tabellen op bladzijde 29 zijn de door ons bepaalde R_F -waarden opgenomen: in TABEL 2 degene, welke betrekking hebben op de alkaloiden van het natuurlijke materiaal, in TABEL 3 degene der synthetische verbindingen.

Daaruit blijkt, dat er in vele gevallen een duidelijk verschil bestaat tussen de R_F -waarden van eenzelfde alkaloid, de ene keer op papier gebracht als vrije base, de andere keer als hydrochloride. Dit zou verklaard kunnen worden door aan te nemen, dat het alkaloid zich in het eerste geval als fosforzuurzout, in het tweede geval als zoutzuurzout over het papier beweegt.

DE AFSCHIEDING VAN ENIGE ALKALOÏDEN

Nadat wij ons door middel van papierchromatografie georiënteerd hadden over het aantal alkaloiden in *Sedum acre*, was de volgende stap in het onderzoek de afscheiding van enige van hen uit de ruwe mengsels, gevolgd, voor zover mogelijk, door identificatie resp. opheldering der structuur.

Wat de afscheiding betreft hebben wij drie verschillende methodieken toegepast: a) sublimatie in hoogvacuum, b) chromatografie over aluminiumoxyde en c) destillatie in hoogvacuum.

- a. Het was ons gebleken, dat zich in het eerste residu B, hetwelk wij ter beschikking kregen, een stof bevond, welke gemakkelijk sublimeerde. Derhalve werden alle residu's B, welke wij in de loop van het onderzoek verkregen, aan verhitting in hoogvacuum onderworpen. Op deze wijze slaagden wij erin een tot dan toe niet eerder aangetroffen alkaloid door *sublimatie* af te scheiden. Hiervan werd de structuurformule opgehelderd. Het rechtsdraaiende alkaloid bleek een mengsel te zijn van één der racematen van 2-(2'-hydroxypropyl)-piperidine en de rechtsdraaiende component hiervan. Op voorstel van Professor CL. SCHÖPF (Darmstadt) [7], die deze rechtsdraaiende component terzelfder tijd isoleerde, werd aan dit alkaloid de naam sedridine toegekend.
- b. Enige B-residu's, waaruit het sedridine was verwijderd, werden verenigd en daarna onderworpen aan *chromatographie over aluminiumoxyde*. Op deze wijze werd een onbekend alkaloid X afgezonderd, waarvan de optische draaiing en de R_F -waarde werden bepaald en het infrarood (I.R.)-spectrum werd opgenomen. Dit spectrum gaf aanwijzingen betreffende de mogelijke constitutie van de stof. De volledige constitutie werd nog niet opgehelderd.
- c. De A-residu's bleken geen sublimeerbare componenten te bevatten. Het gelukte ons niet door middel van *destillatie in hoogvacuum* de verbindingen, welke in de A-residu's voorkwamen, van elkaar te scheiden. Door chromatografie over aluminiumoxyde kon hieruit echter (—)-sedamine [1-methyl-2-(2'-hydroxy-2'-phenylaethyl) piperidine] geïsoleerd worden.

Tevens werd een zeer kleine hoeveelheid van een onbekend alkaloid

in de vorm van het hydrochloride verkregen, waarvan alleen het smeltpunt en de R_F -waarde werden bepaald.

Het door ons uitgevoerde onderzoek naar de aanwezigheid van nicotine zullen wij niet hier, doch in een apart hoofdstuk (HOOFDSTUK VI) bespreken, aangezien daarbij uitsluitend gebruik gemaakt werd van papierchromatografie en er van afscheiding geen sprake was.

In het nu volgende willen wij een gedetailleerde beschrijving geven van de experimenten en resultaten, welke in het voorgaande slechts kort zijn aangeduid. Wij zullen daarbij een indeling maken niet naar de gevolgde afscheidingsmethoden, maar naar de geïsoleerde verbindingen en wel als volgt:

- A. Sedridine.
- B. Sedamine.
- C. Onbekend alkaloïde X.

A. Sedridine

1. GEVOLGDE METHODE EN RESULTATEN

a. *Afscheiding*

Bij het begin van ons onderzoek hadden wij de beschikking over de ruwe residu's A en B, verkregen bij extractie van het Amsterdamse plantenmateriaal, hetwelk na de oogst gedurende ongeveer twee maanden bij kamertemperatuur en atmosferische druk gedroogd was. Onze keuze van de in eerste instantie te volgen methode ter afscheiding van de zuivere alkaloiden werd door een toevallige omstandigheid bepaald. In de kolf, welke het residu B bevatte, hadden zich na enige weken staan bij kamertemperatuur kleurloze naaldvormige kristallen tegen de bovenrand afgezet. Het betrof hier blijkbaar een zeer gemakkelijk sublimerende stof. Het lag derhalve voor de hand te trachten deze verbinding door sublimatie uit het B-residu af te zonderen. Gezien de goede resultaten hierbij behaald, werden in het vervolg alle B-residu's steeds aan een dergelijke behandeling onderworpen, waarbij wij willen opmerken, dat in geen enkel ander geval een „spontane” sublimatie, zoals bovenbeschreven, werd waargenomen. Integendeel, teneinde het produkt uit het mengsel af te scheiden, was het in sommige gevallen zelfs noodzakelijk de sublimatietemperatuur aanzienlijk te verhogen.

Papierchromatografisch onderzoek leerde ons, dat de andere alkaloiden, welke in de B-residu's voorkwamen, geen nadelige gevolgen hadden

ondervonden van de langdurige verhitting: de vlekkenpatronen van de B-residu's waren, afziende van sedridine, vóór en na het experiment namelijk gelijk. Tevens was door speciale proeven aangetoond, dat onder de meest rigoureuze omstandigheden (+)-sedridine onveranderd sublimeerde en dat geen racemisatie of isomerisatie tot *allosedridine* optrad.

SCHÖPF en UNGER [7] die, zoals reeds eerder werd medegedeeld, eveneens bovengenoemd alkaloïde, het sedridine, uit *Sedum acre* isoleerden, gingen hiertoe op geheel andere wijze te werk. Zij onderwierpen het mengsel van de hydrochloriden der ruwe alkaloiden, verkregen bij behandeling van vers geplukt plantenmateriaal met verdund zoutzuur, met behulp van een tegenstroomverdelingsapparatuur aan verdelingschromatografie volgens CRAIG in het systeem chloroform/waterige natriumchloride-oplossing. Hun opbrengst aan sedridine bedroeg 0,03%, berekend op het droge plantenmateriaal. Een vergelijking van deze opbrengst met die, welke door ons zijn verkregen (TABEL 4), heeft slechts beperkte waarde, aangezien het plantenmateriaal van verschillende herkomst was en op verschillende wijzen werd voorbehandeld. Wel willen wij opmerken, dat bij de extractie en opwerking volgens de werkwijze van SCHÖPF de kans op volledige winning van sedridine ons *a priori* groter voorkomt dan bij de door ons gevolgde werkwijze. Alleen vergelijkende experimenten met hetzelfde plantenmateriaal kunnen echter dienaangaande uitsluitsel geven.

b. Structuuropheldering

Bij de structuuropheldering van genoemd alkaloïde deed zich een moeilijkheid voor. Gelijk te doen gebruikelijk, trachtten wij allereerst uit het smeltpunt, de elementair-analyse, de optische draaiing en het I.R. spectrum enige aanwijzingen over de structuur te verkrijgen. Echter, de eerste hoeveelheid stof, welke ons ter beschikking stond en welke afkomstig was van aan de lucht gedroogd Amsterdams plantenmateriaal, vertoonde na herhaald zuiveren door sublimatie geen smeltpunt, maar een smelttraject. Op grond van dit feit en de waarneming, dat het product een optische draaiing bezat, namen wij aan, dat het een mengsel van optisch actief en optisch inactief materiaal betrof. Gesteld nu verder, dat dit laatste betrekking had op een optisch actieve vorm en het racemaat van één en dezelfde verbinding, dan leidde de elementair-analyse binnen de toegestane foutengrenzen tot de brutoformule $C_8H_{17}NO$. Op grond van dit gegeven, gecombineerd met de uit het I.R. spectrum verkregen gegevens, nl. de afwezigheid van een carbonyl- en phenylgroep, de waarschijnlijke aanwezigheid van een hydroxylgroep en de mogelijke aanwezigheid van een secundaire aminogroep in het molecuul, en met

gegevens, welke de literatuur ons over de tot dan toe bekende alkaloiden van *Sedum acre* en *Sedum sarmentosum* BUNGE verschaftte, synthetiseerden wij enige van die verbindingen, van welke de mogelijkheid bestond, dat zij identiek zouden zijn met het onbekende alkaloïde. Het bleek vervolgens, dat het I.R. spectrum in tetrachloorkoolstof van ons alkaloïde volledig overeenkwam met het spectrum in tetrachloorkoolstof van één der twee racematen, welke mogelijk zijn van 2-(2'-hydroxypropyl)piperidine, nl. van het racemaat met smeltpunt 75-76°. Deze I.R. gegevens zijn in overeenstemming met bovenstaande opvatting over de samenstelling van het mengsel.

Verder werd ons spectrum door Professor SCHÖPF vergeleken met het spectrum van een door hem en UNGER uit *Sedum acre* geïsoleerde verbinding. Daarbij stelde hij vast, dat beide spectra gelijk waren.

Wij lieten ons natuurlijke produkt vervolgens met phenylisothiocyanaat reageren en slaagden erin, twee phenylthiocarbonylverbindingen af te zonderen. Uit mengsmeltpuntbepalingen met de overeenkomstige synthetische verbindingen volgde, dat de ene behoorde bij (+)-sedridine, de andere bij (±)-sedridine.

Weliswaar was thans de structuurformule van het sedridine opgehelderd, doch omtrent het smeltpunt en de optische draaiing verschaftte dit experiment ons geen gegevens. Deze werden verkregen uit proeven, welke door ZWEISTRA (HOOFDSTUK V) werden verricht en waarbij inactief 2-(2'-hydroxypropyl)piperidine van smeltpunt 75-76° in de beide optische antipoden gesplitst werd.

De volgende waarden werden gevonden:

(+)-sedridine smeltpunt 83-84° $[\alpha]_D^{20} + 28,6^\circ \pm 1^\circ$ (c = 2,28 in alc.)

(-)-sedridine smeltpunt 82,5-83,5° $[\alpha]_D^{21} - 28,1^\circ \pm 1^\circ$ (c = 2,31 in alc.)

LÖFFLER en TSCHUNKE [20] geven een smeltpunt van 84-86° en $[\alpha]_D + 22,4^\circ$ voor een verbinding, welke zij uitgaande van (+)-conhydrine verkregen. Het is mogelijk, dat het ook hier (+)-sedridine betreft.

Bij de opwerking nu van enige hoeveelheden Delfts plantenmateriaal, welke terstond na de oogst *in vacuo* bij verhoogde temperatuur waren gedroogd, werd door ons sedridine van smeltpunt 83-84° en $[\alpha]_D^{21} + 25,7^\circ \pm 1,2^\circ$ (c = 1,28 in alc.) geïsoleerd. Dat het hier optisch zuiver sedridine betrof werd bevestigd door de waarneming, dat bij inwerking van phenylisothiocyanaat slechts één derivaat ontstond en wel dat van (+)-sedridine, terwijl bij de bepaling van het mengsmeltpunt van het natuurlijke sedridine met synthetisch (+)-sedridine geen depressie optrad.

Het sedridine van SCHÖPF & UNGER had een smeltpunt van 83-84° en $[\alpha]_D^{21} + 29,3^\circ$.

c. *Invloed van de droogmethode op het gehalte aan sedridine*

Naar aanleiding van de waarneming, dat de hoeveelheid sedridine, gewonnen uit Delfts plantenmateriaal, hetwelk terstond na de oogst bij ca. 50°/10 cm gedroogd was, procentueel aanzienlijk lager lag dan de hoeveelheid, afkomstig van het bij kamertemperatuur en atmosferische druk langzaam gedroogde Amsterdamse materiaal, vroegen wij ons af in hoeverre de droogmethode voor dit verschil verantwoordelijk was. Immers, het was mogelijk, dat ook andere factoren, zoals bijvoorbeeld de bodemgesteldheid, een rol hadden medegespeeld, want de Delftse planten waren gekweekt op kleiige grond, terwijl de Amsterdamse afkomstig waren van zandgrond.

Teneinde nu alleen de invloed van de droogmethode na te gaan, werd van een hoeveelheid versgeplukte *Sedum acre* van Delftse origine een gedeelte terstond na de oogst *in vacuo* bij verhoogde temperatuur gedroogd, terwijl een ander gedeelte bij atmosferische druk en kamertemperatuur langzaam werd gedroogd. Na opwerken van het droge materiaal en isoleren van het sedridine bleek nu, dat de procentuele opbrengst aan sedridine (berekend op het droge plantenmateriaal) bij langzaam drogen ongeveer 2¹/₂ maal zo hoog was als bij snel drogen (TABEL 4). Dit zou verklaard kunnen worden door de aanname, dat tijdens de periode waarin de plant langzaam aan de lucht droogt, een gewijzigde stofwisseling plaats vindt, leidende tot een toename van de totale hoeveelheid sedridine. Wij willen hierbij nog opmerken, dat *Sedum acre* een succulent is en als zodanig dus veel water bevat, waardoor het droogproces onder analoge omstandigheden langer zal duren dan bij minder waterrijke plantensoorten.

d. *Invloed van de droogmethode op de verhouding der optische antipoden*

Zoals reeds eerder werd vermeld, was verscheidene malen uit terstond na de oogst snel gedroogd plantenmateriaal alléén (+)-sedridine geïsoleerd, doch slechts eenmaal uit langzaam gedroogde planten (herkomst: Amsterdam) een mengsel van (+)- en (±)-sedridine. Teneinde meer zekerheid dienaangaande te verkrijgen, was een soortgelijk tweede experiment noodzakelijk. Een grote hoeveelheid *Sedum acre* (herkomst: Delft) werd langzaam gedurende 2¹/₂ maand aan de lucht gedroogd. Een gedeelte hiervan was bestemd voor genoemd experiment, de andere hoeveelheid voor het onderzoek naar nicotine (HOOFDSTUK VI). Toevalligerwijze konden beide experimenten gecombineerd worden. Papierchromatografisch onderzoek leerde ons nl., dat het B-residu, verkregen bij de opwerking van het plantenmateriaal volgens een speciaal voor nicotine geschikte methode (HOOFDSTUK II, methode II) ook sedridine bevatte.

Het ruwe sedridine, op de gebruikelijke wijze (sublimatie) uit dit B-residu geïsoleerd, werd door resublimatie gezuiverd. Wij zouden dit in het experimentele gedeelte niet uitvoerig behandelen, doch slechts volstaan met een verwijzing naar de reeds eerder beschreven soortgelijke proef en de opgave der resultaten, ware het niet, dat bij die zuivering twee afzonderlijke hoeveelheden sedridine verkregen werden, de ene uitsluitend bestaande uit (+)-sedridine, de andere uit een mengsel van (+)- en (\pm)-sedridine. De verhouding van de totale hoeveelheid optisch actief sedridine tot die van optisch inactief sedridine was ongeveer 9 : 1 tegen ongeveer 2 : 1 in het eerste geval. Zou voornoemde scheiding in twee afzonderlijke delen niet opgetreden zijn, dan zouden wij toch de geringe hoeveelheid (ca. 10%) racemisch materiaal hebben kunnen aantonen. Bij een modelproef met een mengsel van synthetisch (+)- en (\pm)-sedridine in de verhouding 9 : 1 waren wij er namelijk in geslaagd met behulp van phenylisothiocyanaat beide componenten als phenylthiocarbamoylverbinding in goede opbrengst afzonderlijk te verkrijgen.

Wat nu betreft het feit, dat wij uit terstond na de oogst snel gedroogd plantenmateriaal alléén (+)-sedridine, uit langzaam gedroogde planten (+)- en (\pm)-sedridine hebben afgescheiden, willen wij hier vermelden, dat SCHÖPF c.s. [14] tot soortgelijke resultaten zijn gekomen. Het is ons niet mogelijk voor dit verschijnsel een directe verklaring te geven. Het optreden van racemisatie als gevolg van de opwerkingsmethode kan uitgesloten worden, aangezien in dat geval ook *allosedridine* zou moeten ontstaan. Deze verbinding werd echter in onze residu's niet gevonden.

Enzymen zullen in deze wel een rol hebben gespeeld. Men zou zich enerzijds bijvoorbeeld kunnen voorstellen, dat in de levende plant eerst (\pm)-sedridine wordt gevormd, waarna dan het (–)-sedridine weer snel wordt afgebroken. Dit heeft dan tot gevolg, dat uit snel gedroogd plantenmateriaal alleen maar (+)-sedridine wordt geïsoleerd. Bij langzaam drogen bestaat de kans, dat het enzymstelsel, hetwelk als katalysator optreedt bij de afbraak van (–)-sedridine, sneller geblokkeerd wordt dan het proces, hetwelk leidt tot het ontstaan van (\pm)-sedridine.

Anderzijds zou het ook mogelijk kunnen zijn, dat de levende plant uitsluitend (+)-sedridine maakt, terwijl in de plant, welke langzaam uitdroogt, tevens (–)-sedridine gevormd wordt.

Aangezien ons hieromtrent verder niets bekend is, willen wij ons van commentaar onthouden.

2. EXPERIMENTEEL GEDEELTE

a. Afscheiding

In het onderstaande zullen wij van elk der beide werkwijzen, welke

wij voor de afscheiding van sedridine hebben gevolgd, een voorbeeld geven.

1. Een oplossing van 3,0 g B-residu, verkregen bij de extractie van aan de lucht gedroogd plantenmateriaal (drooggewicht 2200 g, herkomst Amsterdam), in 10 ml chloroform, werd in een sublimatieapparaat gebracht. Na verwijdering van het oplosmiddel werd de visceuze donkerbruine massa verwarmd tot ca. 60° bij een druk van 0,2–0,5 mm. Op een met een mengsel van alcohol en vast koolzuur gekoeld oppervlak sublimeerde een kleurloos kristallijn produkt. Na resublimatie bij 35–45°/15 mm was het smelttraject van de lange naaldvormige kristallen 69–72° en $[\alpha]_D^{23} + 17,1^\circ \pm 3^\circ$ (c = 1,23 in alcohol). Opbrengst 190 mg.
2. Een oplossing van 1,7 g B-residu, afkomstig van extractie van terstond na de oogst *in vacuo* en bij verhoogde temperatuur gedroogde planten (drooggewicht 2184 g, herkomst: Delft) in chloroform werd in de onderste van een serie van drie achter elkaar zich bevindende bollen gebracht (zgn. „bolbuis”). Na wegzuigen van het oplosmiddel werd de bolbuis in horizontale richting vastgeklemd en aangesloten op de hoogvacuumpomp. Het bolletje 1, hetwelk het residu B bevatte, werd met behulp van een elektrische oven zeer langzaam – om spatten te voorkomen – opgewarmd. Bij 60°/0,2 mm werden in bol 2, welke met water gekoeld werd, kristallen zichtbaar, welke snel aangroeyden. Deze temperatuur werd gedurende de sublimatie gehandhaafd. Op analoge wijze werden de kristallen uit bol 2 gesublimeerd naar bol 3. Het smeltpunt van de aldus verkregen kristallen was 80–82°. Na resublimatie in een micro-sublimatieapparaat bij ca. 40°/0,2 mm was het smeltpunt 82,5–83,5° en $[\alpha]_D^{24} + 24,4^\circ \pm 2^\circ$ (c = 1,88 in alcohol). Opbrengst: 25 mg.

b. Structuuropheldering

1. De *elementair-analyse* van het materiaal, vermeld onder a-1 was in overeenstemming met de brutoformule $C_8H_{17}NO$.

$C_8H_{17}NO$ (143,23)	Ber. :	C 67,09	H 11,96	N 9,78
	Gev. :	C 67,0	H 11,6	N 9,8
2. Voor de opname van het *I.R. spectrum* *) van het alkaloïde, waarvan 4,4 mg opgelost was in 267 mg droge tetrachloorkoolstof, werd gebruik gemaakt van een Perkin-Elmer spectrograaf Type 21 (met dubbele lichtweg).

*) Het I.R. spectrum werd opgenomen en geïnterpreteerd door de Heer A. VAN VEEN, chem. drs., waarvoor ik hem mijn dank betuig.

Absorptiebanden werden waargenomen bij:

3310 m, breed, 2945 s, 2855 z, 1450 s, 1376 m, 1331 s, 1267 z, 1199 z, 1147 s, 1117 s, 1093 m, 1071 z, 1054 s, 1022 m, 987 z, 920 m, 864 z, 822 z, cm^{-1} .

(s = sterk; m = matig; z = zwak).

Uit dit spectrum bleek, dat in het molecuul geen carbonyl- en phenylgroep voorkwamen, maar waarschijnlijk wel een hydroxylgroep en misschien een secundaire aminogroep.

3. Voor de bereiding der in het voorgaande genoemde *synthetische verbindingen* zij verwezen naar HOOFDSTUK V.

4. *Reactie van het geïsoleerde produkt met phenylisothiocyanaat*

Aan een oplossing van 20 mg (0,14 mmol) sedridine (smelttraject $69-72^\circ$) in 1,25 ml droge aether werd toegevoegd 30 mg (0,22 mmol) phenylisothiocyanaat (kpt. $99,0-99,5^\circ/15$ mm). Na korte tijd scheidten zich kristallen af. Deze werden afgefiltreerd en uitgewassen met absolute aether. Verkregen werd een kristallijn produkt van smeltpunt $159,5-160^\circ$. Na omkristalliseren uit absolute alcohol was het smeltpunt $160-161^\circ$. Deze verbinding was het phenylthiocarbamoylderivaat van (\pm)-sedridine. Bij bepaling van het mengsmeltpunt met het overeenkomstige derivaat van synthetisch (\pm)-sedridine (smeltpunt $161-162^\circ$) werd geen depressie waargenomen.

De moederloog werd ingedampt. Na toevoegen van 2 ml van een mengsel van absolute aether en petroleumaether (kookpunt $40-60^\circ$) trad kristallisatie op. Verkregen werden kleurloze kristallen van smeltpunt 114° . Na omkristalliseren uit absolute aether was het smeltpunt $117,5-118,5^\circ$. Deze verbinding was het phenylthiocarbamoylderivaat van (+)-sedridine. Na mengen met het overeenkomstige derivaat van synthetisch (+)-sedridine (smeltpunt $118-119^\circ$) werd bij bepaling van het smeltpunt geen depressie waargenomen.

c. *Invloed van de droogmethode op het gehalte aan sedridine*

Alle hoeveelheden plantenmateriaal, waarvan in TABEL 4 sprake is, werden geëxtraheerd met methanol volgens methode I (HOOFDSTUK II). De afscheiding van het sedridine geschiedde in het eerste geval door sublimatie volgens de werkwijze, beschreven in het voorgaande onder a-1, in de beide andere gevallen door sublimatie volgens de werkwijze, beschreven onder a-2.

d. *Invloed van de droogmethode op de verhouding der optische antipoden*

Uitgaande van aan de lucht gedroogd plantenmateriaal (drooggewicht

TABEL 4

herkomst	omgeving A'dam (1954) zandgrond		proeftuin Lab. Techn. Biologie Delft (1956) kleiige grond			
droogmethode	aan de lucht gedroogd (ca. 2 mnd.)		aan de lucht gedroogd (ca. 2 mnd.)		terstond na de oogst in <i>vacuo</i> gedroogd bij ca. 50°/10 cm	
drooggewicht	2200 g		5323 g		2184 g	
Residu B	3,0 g	0,136%	4,0 g	0,075%	1,7 g	0,077%
Sedridine	190 mg	$86 \times 10^{-4} \%$	156 mg	$29 \times 10^{-4} \%$	25 mg	$11 \times 10^{-4} \%$

14 kg, herkomst: Proeftuin Lab. Techn. Biologie, Delft), werd na opwerking volgens methode II (HOOFDSTUK II) 3,22 g residu B verkregen. Hiervan werd 2,4 g opgelost in chloroform en vervolgens in een bolbuis gebracht. De isolering van het ruwe sedridine door verwarming van het residu B in hoogvacuum tot ca. 70°/0,2 mm geschiedde als beschreven in het voorgaande onder a-2. De aldus verkregen kristallen waren verontreinigd met olie. Het geheel werd overgebracht in een sublimatieapparaat en daarna langzaam verwarmd. Bij 50–70°/10–12 mm vormden zich grote kristallen tegen de binnenwand van het sublimatievat (hoeveelheid I), terwijl zich tegen het gekoelde oppervlak kleine kristallen, vermengd met een weinig olie, afzetten (hoeveelheid II). Beide hoeveelheden werden afzonderlijk opgewerkt.

Hoeveelheid I

Deze 204 mg kristallen werden ter zuivering gesublimeerd. Het smeltpunt was vervolgens 81–83° en $[\alpha]_D^{23} + 25,6^\circ \pm 0,4^\circ$ ($c = 2,06$ in alcohol). Het reactieproduct van deze stof met phenylisothiocyanaat bleef in de aether opgelost en werd eerst bij indampen verkregen. Het smeltpunt was 117–118° en de opbrengst bijna quantitatief. Na omkristalliseren uit een mengsel van absolute aether en petroleumaether (kookpunt 40–60°) was het smeltpunt 118–119°. Het uitgangsmateriaal bestond dus praktisch geheel uit (+)-sedridine.

Hoeveelheid II

Bij resublimatie bij 30–40°/15 mm werd 84 mg kristallen verkregen met smelttraject 62–77° en $[\alpha]_D^{23} + 17,8^\circ \pm 0,5^\circ$ ($c = 1,74$ in alcohol).

Aan een oplossing van 40 mg van dit kristallijne produkt in 3 ml absolute aether werd toegevoegd 60 mg phenylisothiocyanaat. Er ontstond spoedig een wit neerslag. Na een nacht staan werden de kristallen afge-

filtreerd en uitgewassen met absolute aether. Verkregen werd 15 mg stof met smeltpunt 159,5–160,5°. Deze verbinding was het phenylthiocarbamoylderivaat van (\pm)-sedridine. Bij bepaling van het mengsmeltpunt met het overeenkomstige derivaat van synthetisch (\pm)-sedridine werd geen depressie waargenomen.

Uit de moederloog werd bij indampen een kristallijn produkt verkregen, waaruit door omkristalliseren uit een mengsel van absolute aether en petroleumaether (kookpunt 40–60°) 39 mg kristallen van smeltpunt 118–119° werden geïsoleerd. Het betrof hier het phenylthiocarbamoylderivaat van (+)-sedridine. Na mengen met het overeenkomstige derivaat van synthetisch (+)-sedridine bleef het smeltpunt ongewijzigd.

B. Sedamine

Waar het er bij ons onderzoek om ging de alkaloiden van *Sedum acre* te leren kennen, lag het voor de hand, dat wij naast de afscheiding en eventuele structuuropheldering van tot dan toe onbekende basen ook zouden pogen onzekerheden betreffende reeds bekende alkaloiden zoveel mogelijk op te heffen. Een dergelijke onzekerheid nu bestond, zoals in het literatuuroverzicht reeds werd uiteengezet, aangaande de optische activiteit van natuurlijk sedamine. Teneinde dienaangaande meer inzicht te krijgen werd ons plantenmateriaal – hetwelk wij voorshands als identiek mogen beschouwen met dat van MARION (HOOFDSTUK II) – op sedamine onderzocht. Dit onderzoek had echter nog een tweede reden:

SCHÖPF en UNGER [7], die zich gelijktijdig met ons bezig hielden met *Sedum acre*, deelden mede, dat zij uit plantenmateriaal, in de omgeving van Darmstadt geplukt, geen sedamine hadden kunnen isoleren, maar wel een ander, in structureel opzicht daarmee overeenkomend alkaloid, het sedridine. Op grond hiervan poneerden zij, dat in de door hen verwerkte planten het sedamine der Canadese planten vervangen was door sedridine. Dit zou dan volgens genoemde auteurs wijzen op het voorkomen van twee physiologische variëteiten van *Sedum acre*, elk gekarakteriseerd door een voor de betreffende variëteit specifiek alkaloid.

Gesteld, dat deze aanname juist was, dan zouden wij in onze planten, waarin stellig sedridine voorkwam, niet tevens sedamine mogen aantreffen. Aangezien ons nu bij papierchromatografisch onderzoek der A-residu's gebleken was, dat er toch een kans bestond op aanwezigheid van sedamine in ons plantenmateriaal, besloten wij tot verdere opwerking van enige A-residu's.

1. GEVOLGDE METHODE EN RESULTATEN

Daar ons bij destillatie van een A-residu gebleken was, dat daarbij

ontleding en geen behoorlijke scheiding der alkaloiden optrad, zodat uiteindelijk toch kolomchromatografie noodzakelijk was, werd bij een volgend experiment het ruwe A-residu als zodanig gechromatografeerd.

Wij maakten daarbij gebruik, zoals gezegd, van aluminiumoxyde. Voor de bepaling van de activiteit van dit adsorbens volgden wij de methode van BROCKMANN en SCHODDER [21], alleen met dit verschil, dat wij „Normalbenzin (Kahlbaum)” vervangen hebben door petroleumaether (kookpunt 60–80°), zoals door FORTUIN [22] wordt aangegeven.

Voordat wij overgingen tot chromatografie der ruwe A-residu's, chromatografeerden wij allereerst een mengsel van synthetisch (\pm)-sedamine en synthetisch (\pm)-allosedridine met het doel na te gaan:

- a. hoe de genoemde alkaloiden zich op de kolom zouden gedragen;
- b. welke activiteit aluminiumoxyde voor ons onderzoek het meest geschikt zou zijn.

Het bleek ons hierbij, dat bij gebruik van aluminiumoxyde, activiteit IV, een goede scheiding werd verkregen en dat (\pm)-sedamine geheel, (\pm)-allosedridine slechts gedeeltelijk werd teruggewonnen. Misschien was laatstgenoemde verbinding op de kolom voor een deel ontleed.

Gebruikmakend van deze gegevens chromatografeerden wij een A-residu, afkomstig van extractie – volgens methode I – van een hoeveelheid *Sedum acre* (herkomst Proeftuin Lab. Techn. Biologie, Delft), welke terstond na de oogst *in vacuo* bij verhoogde temperatuur was gedroogd, over aluminiumoxyde, activiteit IV. Enkele hierbij uiteindelijk verkregen olieachtige fracties bevatten (–)-sedamine, zoals wij op de volgende wijze hebben aangetoond:

- a. Door omzetting met verdund zoutzuur werd een hydrochloride van smeltpunt 215–217° verkregen. Na mengen met synthetisch (–)-sedamine hydrochloride, smeltpunt 217–219° (HOOFDSTUK V), werd bij smeltpuntsbepaling geen depressie waargenomen.
- b. Het I.R. spectrum (in KBr) van het hydrochloride van het natuurprodukt was identiek met het I.R.-spectrum (in KBr) van synthetisch (–)-sedamine hydrochloride. Dit was wel bewijzend voor de aanwezigheid van sedamine in de betreffende fractie, maar omtrent de optische zuiverheid van natuurlijk sedamine kon op grond van dit spectrum geen uitspraak gedaan worden, daar het I.R.-spectrum (in KBr) van (–)-sedamine hydrochloride volkomen gelijk is aan het I.R.-spectrum (in KBr) van (\pm)-sedamine hydrochloride.
- c. Uit het hydrochloride van het natuurlijke produkt werd de vrije base teruggewonnen: $[\alpha]_D^{22} - 84,8^\circ \pm 7^\circ$ ($c = 0,86$ in alc.). Synthetisch (–)-sedamine: $[\alpha]_D^{20} - 92,5^\circ \pm 1,2^\circ$ ($c = 4,06$ in alcohol) (HOOFDSTUK V).

Bij chromatografie van de olie, verkregen bij destillatie van het A-residu hetwelk afkomstig was van aan de lucht gedroogd plantenmateriaal (herkomst Amsterdam), werd een alkaloïde afgezonderd, welks hydrochloride smolt bij 160–210°. Uit het I.R.-spectrum (in KBr) bleek, dat het ook hier sedamine hydrochloride betrof. Enkele extra absorpties wezen erop, dat de stof niet geheel zuiver was. Daar de hoeveelheid ontoereikend was voor verdere zuivering, was het niet mogelijk de optische activiteit nauwkeurig te bepalen, zodat de vraag of sedamine optisch zuiver, dan wel deels racemisch in dit A-residu voorhanden was, onbeantwoord moet blijven.

Behalve sedamine werd uit dit A-residu een uiterst kleine hoeveelheid van een onbekend alkaloïde, eveneens in de vorm van het hydrochloride, afgescheiden. Het smeltpunt van dit hydrochloride bedroeg 233–235°, de R_F -waarde 0,44 (papier geïmpregneerd met 1 M KH_2PO_4 ; loopvloeistof: *n*-butanol-water).

Uit het bovenstaande blijkt, dat wij uit *hetzelfde* plantenmateriaal zowel sedridine als sedamine hebben kunnen afscheiden. In een recente publikatie, welke na beëindiging van ons experimentele werk verscheen, deelde FRANCK [9, 10] mede eveneens sedamine naast sedridine uit *Sedum acre* te hebben geïsoleerd.

2. EXPERIMENTEEL GEDEELTE

A. Destillatie

De destillatie van het A-residu-Amsterdam vond plaats in een bolbuis-apparaat. Uit 5,07 g donkerbruin, zeer visceus residu, werd 2,26 g (44%) bruine olie verkregen. Daarbij was verwarmd (elektrische oven) tot ca. 160°, terwijl de druk 0,1–0,2 mm was. Deze olie werd nogmaals gedestilleerd bij een oventemperatuur van maximaal 140° en een druk van 0,5 mm. Op deze wijze werd 1,27 g (25%) gele olie verkregen, terwijl een harsachtig produkt overbleef. Deze olie werd over aluminiumoxyde gechromatografeerd (zie B-b).

B. Kolomchromatografie

Het stoffmengsel werd, opgelost in zo weinig mogelijk benzeen, op de zuil van aluminiumoxyde gebracht. Nadat alle stof ingetrokken was, werd geëluëerd. De volgorde der door ons gebruikte elueervloeistoffen was: benzeen/aether/aether-10% methanol/aether-50% methanol/methanol. Laatstgenoemd oplosmiddel was van geen belang meer voor de scheiding, maar diende alleen om restanten organische stof-polymeren

en eventuele afbraakprodukten – zoveel mogelijk uit de kolom te wassen, dit in verband met de stofbalans.

Alle elueervloeistoffen, evenals het stofmengsel, werden voor het gebruik goed gedroogd; bij het experiment zelf werd steeds gewerkt onder uitsluiting van vocht.

Afscheiding en identificatie van sedamine

a. Ter beschikking stond 3,696 g A-residu, afkomstig van extractie – volgens methode I – van terstond na de oogst *in vacuo* bij verhoogde temperatuur gedroogd Delfts plantenmateriaal (drooggewicht 738 g). Deze hoeveelheid werd gedurende $\frac{1}{2}$ uur met droge benzeen gekookt. De donkerbruin gekleurde benzenische oplossing werd warm gedecanteerd van het niet-oplosbare deel en vervolgens ingedampt. De aldus verkregen 3,1500 g stof werd opgelost in zo weinig mogelijk benzeen en vervolgens op een kolom (\varnothing : 35 mm) gebracht, welke gevuld was met 150 g aluminiumoxyde, activiteit IV. De hoogte van de zuil bedroeg 19 cm. Er werden in totaal 85 fracties opgevangen. De resultaten van dit chromatogram zijn vermeld in TABEL 5.

TABEL 5

no.	elueervloeistof	ml	g	
1-10	benzeen	50	0,0799	kleurloze olie
11-48	benzeen	1900	0,5089	geel-bruine olie
49-61	aether	900	0,5792	geel-bruine olie
62-83	aether – 10% methanol	900	0,6651	oranje-bruine olie
84	aether – 50% methanol	500	0,3176	donkerbruine harsachtige vaste stof
85	methanol	300	0.3126	hars

Teruggewonnen werd in totaal 2,4633 g stof (78%), waarvan 1,8331 g (58%, berekend op het uitgangsmateriaal) olieachtig was.

Diverse fracties werden papierchromatografisch met het ruwe A-residu vergeleken. Daarbij werd waargenomen, dat de component, waarvan wij vermoedden dat zij sedamine was, voornamelijk in die fracties voorkwam, welke verkregen waren bij de elutie met aether. Derhalve werden alle aetherische fracties verenigd. Daar genoemde component echter nog vergezeld was van enkele andere verbindingen, was een verdere scheiding noodzakelijk. Daarom werd 0,5482 g olie (aetherische fracties) nogmaals gchromatografeerd over een kolom (\varnothing : 20 mm), welke 52 g aluminiumoxyde, activiteit IV, bevatte. De hoogte van de zuil was 18 cm. De resultaten staan vermeld in TABEL 6.

TABEL 6

no.	elueervloeistof	ml	g	
1-27	benzeen	1350	0,2548	kleurloze olie
28	benzeen-aether	50	0,0278	kleurloze olie
29	aether	50	0,0825	zwakgele olie
30	aether	50	0,0107	zwakgele olie
31	aether	150	-	
32	aether - 10% methanol	50	0,1586	lichtbruine, zeer visceuze olie
33-34	aether - 10% methanol	100	0,0067	
35-39	aether - 50% methanol	250	0,0152	donkerbruine harsachtige vaste stof
40-42	methanol	150		hars

Teruggewonnen werd 0,5411 g olie (98%). Op grond van gegevens, bij papierchromatografisch onderzoek der fracties verkregen, namen wij aan, dat sedamine vooral aanwezig was in de fracties 12 t/m 29.

Reactie van fractie 12 en fractie 29 met verdund zoutzuur

Aan 0,0164 g olie (fractie 12) werd een overmaat 2 N zoutzuur toegevoegd. De oplossing werd in een exsiccator boven gec. zwavelzuur ingedampt. Daarbij ontstond een glasachtige massa, waaruit zich na toevoegen van droge aceton een kleurloze stof afscheidde, welke na enige malen uitwassen met droge aceton, smolt bij 212-217°. Daar de hoeveelheid te gering was voor verdere zuivering, werd nogmaals een hoeveelheid olie en wel 0,0825 g (fractie 29) op dezelfde wijze met zoutzuur omgezet. Het ruwe hydrochloride werd uit absolute aceton, waaraan enige druppels water waren toegevoegd, omgekristalliseerd. Verkregen werden naaldvormige kristallen van (-)-sedamine hydrochloride van smeltpunt 215-217°. Na mengen van dit produkt met synthetisch (-)-sedamine hydrochloride werd bij smeltpuntsbepaling geen depressie waargenomen.

*Het I.R. spectrum (in KBr) van (-)-sedamine hydrochloride **

Afgezien van een aantal zeer zwakke banden werden absorpties waargenomen bij:

3280 s, 2935 s, 2585 ss, breed, 1600 z, 1450 ss, 1406 s, 1374 m, 1269 m, 1236 m, 1206 m, 1185 z, 1135 z, 1110 m, 1095 m, 1064 ss, 1047 s, 1017 m, 984 s, 948 s, 913 s, 866 m, 837 m, 812 m, 755 m, 741 ss, 697 ss, cm⁻¹
(ss = zeer sterk; s = sterk; m = matig; z = zwak)

*) Het spectrum werd opgenomen en geïnterpreteerd door de Heer A. VAN VEEN, chem. drs.

Omzetting van het hydrochloride van natuurlijk (–)-sedamine in de vrije base

Een oplossing van 0,0124 g natuurlijk (–)-sedamine hydrochloride (smeltpunt 215–217°) in ca. 1 ml methanol werd op een kolom (\varnothing : 15 mm) gebracht, welke 2 g aluminiumoxyde, activiteit IV, bevatte. Vervolgens werd met 30 ml aether geëluëerd. Na indampen van de aetherische oplossing werd 0,0086 g (81%) (–)-sedamine verkregen, waarvan de optische draaiing werd bepaald.

$$[\alpha]_{\text{D}}^{22} - 84,8^{\circ} \pm 7^{\circ} \quad (c = 0,86 \text{ in alcohol})$$

b. Op dezelfde wijze werd 1,0226 g gele olie (zie A) over aluminiumoxyde, activiteit IV, gechromatografeerd. Uit één der daarbij verkregen aetherische fracties werd, na indampen en behandelen van het residu met verdund zoutzuur, een kristallijn produkt van smelttraject 160–210° geïsoleerd. Hiervan werd het I.R.-spectrum in KBr opgenomen. Bij een vergelijking van dit spectrum met dat van synthetisch (–)-sedamine hydrochloride bleek, dat het hier sedamine hydrochloride betrof. Enkele extra absorpties wezen erop, dat de stof niet geheel zuiver was.

Uit een andere aetherische fractie scheidde zich na een soortgelijke behandeling een vaste kleurloze stof van smeltpunt 233–235° af. De R_{F} -waarde hiervan, bepaald volgens de methode, beschreven in HOOFDSTUK III, was 0,44.

C. Onbekend alkaloïde X

1. GEVOLGDE METHODE EN RESULTATEN

Na de afscheiding van sedridine en sedamine richtte ons onderzoek zich op een alkaloïde, hetwelk blijkens de papierchromatogrammen naast sedridine in de B-residu's voorkwam en hetwelk wij eveneens nader wilden leren kennen.

Hiertoe werden enige B-residu's verenigd, nadat eerst het sedridine door sublimatie eruit verwijderd was. Het in kokende benzeen oplosbare deel werd gechromatografeerd over aluminiumoxyde, waarbij uiteindelijk een olieachtig produkt verkregen werd, hetwelk bij papierchromatografie slechts één vlek te zien gaf. Van dit produkt werden vervolgens I.R.-spectra zowel in benzeen als in tetrachloorkoolstof opgenomen. Uit deze spectra bleek, dat in het molecuul voorkomen een hydroxyl- en een mono-gesubstitueerde phenylgroep, volgens een vergelijkend onderzoek van de Heer A. VAN VEEN waarschijnlijk ook een piperidinerings- en misschien een tertiaire aminogroep.

Nu slaagde FRANCK [9, 10] er onlangs in uit *Sedum acre* naast sedamine en sedridine twee tot dan toe onbekende alkaloiden, sedinon en sedinine, te isoleren, waarna hij een onderzoek instelde naar de structuur van laatstgenoemde verbinding. Op grond van gegevens, welke hij daarbij verkreeg, had hij vastgesteld, dat dit alkaloïde een 1-methyl-2-(2'-hydroxy-2'-phenylaethyl)-6-(2'-hydroxypropyl)piperideïne is. Bij een vergelijking van zijn gegevens over sedinine met die, welke wij over ons onbekende alkaloïde uit het I.R.-spectrum hadden verkregen, kwamen wij tot de conclusie, dat het hier twee verschillende verbindingen betrof, daarbij aannemende, dat ons preparaat praktisch zuiver was, welke aanname echter alleen berustte op de waarneming, dat bij papierchromatografie in één systeem – ook bij grote concentratie – slechts één vlek ontstond.

Een overtuigender bewijs voor de ongelijkheid van beide verbindingen leverde de papierchromatografie. Dank zij het feit, dat Dr. FRANCK ons bereidwillig een monster sedinine ter beschikking stelde, waren wij in staat de R_F -waarde hiervan met die van ons alkaloïde te vergelijken. Daartoe werden beide verbindingen op papier gebracht, opgelost zowel in methanol als in 2 *N* zoutzuur. In beide gevallen lagen de R_F -waarden ver uit elkaar.

In het onderstaande wordt de afscheiding van alkaloïde X beschreven en worden de gegevens, verkregen uit de papierchromatografie en de I.R. spectra vermeld.

2. EXPERIMENTEEL GEDEELTE

Enige B-residu's, afkomstig van extractie van vier partijen *Sedum acre*, welke terstond na de oogst bij verhoogde temperatuur *in vacuo* waren gedroogd, werden, nadat sedridine door sublimatie was verwijderd, verenigd en daarna gedurende 6 uur met benzeen gekookt. De lichtbruine benzenische oplossing werd warm afgeschonken en vervolgens ingedampt. Verkregen werd 0,4620 g lichtbruine olie. Deze hoeveelheid werd in 1 ml droge benzeen opgelost en op een kolom (\varnothing : 20 mm) gebracht, welke met 46 g aluminiumoxyde, activiteit IV, gevuld was. De hoogte van de zuil bedroeg 17 cm. De resultaten van dit chromatogram zijn in TABEL 7 vermeld.

Aan olie werd 0,3663 g (79%) teruggewonnen. Een aantal fracties werd papierchromatografisch met het ruwe B-extract vergeleken. Op grond van hierbij verkregen gegevens werden de fracties 23 en 24 verenigd (140 mg) en nogmaals gechromatografeerd. Bij indampen van enige aetherische fracties van dit chromatogram werd 15,4 mg olie, „alkaloïde X” genaamd, geïsoleerd.

TABEL 7

no.	elueervloeistof	ml	g	
1-10	benzeen	500	0,0892	lichtgele olie
11-14	benzeen - 10% aether	200	0,0154	lichtgele olie
15-16	benzeen - 50% aether	100	0,0240	bruine olie
17-20	aether	200	0,0270	zwak lichtgele olie
21-22	aether - 1% methanol	100	-	
23-27	aether - 10% methanol	250	0,1697	bruine olie
28-31	aether - 50% methanol	200	0,0410	donkerbruine olie
32	methanol	150	0,0544	harsachtige produkten

Optische draaiing:

$$[\alpha]_D^{23} + 5^\circ \pm 4^\circ \quad (c = 0,595 \text{ in alcohol}).$$

R_F-waarden:

Het papier, Whatman no. 1, was geïmpregneerd met een oplossing van 1 M KH₂PO₄. De loopvloeistof was *n*-butanol, verzadigd met water. R_F-waarden:

- a. alkaloïde X, opgelost in methanol R_F 0,41
alkaloïde X, opgelost in 2 N zoutzuur R_F 0,41;
- b. (–)-sedinine (FRANCK), opgelost in methanol R_F 0,75
(–)-sedinine (FRANCK), opgelost in 2 N zoutzuur R_F 0,75.

Infrarood-spectra

Deze werden opgenomen en geïnterpreteerd door de Heer A. VAN VEEN, chem. drs.

- a. Spectrum van een 6%-ige oplossing van alkaloïde X in benzeen (celdikte: 0,1 mm)
 1. Sterke absorpties bij 3620 cm⁻¹ (scherp; vrije hydroxylgroep) en 3270 cm⁻¹ (breed; geassocieerde hydroxylgroep) wijzen op het voorkomen van een *hydroxylgroep* in het molecuul.
 2. Omtrent de aanwezigheid van een *N-methylgroep* kan geen uitspraak gedaan worden en wel om de volgende reden: een normale N-methylgroep geeft een sterke band bij 2800 cm⁻¹. In ons geval wordt slechts een zeer zwakke absorptieband waargenomen bij 2800 cm⁻¹. Hieruit mag echter niet besloten worden tot afwezigheid van een N-methylgroep in het molecuul, daar gebleken is, dat sedamine – een N-methylverbinding – slechts een zeer zwakke absorptie geeft bij 2800 cm⁻¹ en zo dus een uitzondering vormt op de algemene regel. De mogelijk-

heid is niet uitgesloten, dat alkaloïde X een dergelijk uitzonderingsgeval is.

3. Op grond van het voorkomen van de volgende frequenties wordt de aanwezigheid van een *mono-gesubstitueerde phenylgroep* aangenomen: 1606 (zwak) – 1495 (zwak) – 758 (sterk) – 698 (matig) cm^{-1} . Deze frequenties zijn analoog aan die van sedamine.
 4. Blijkens een op het Laboratorium voor Organische Chemie der Technische Hogeschool te Delft uitgevoerd en nog niet gepubliceerd vergelijkend onderzoek is het voorkomen van een *piperidinering* vrijwel zeker en wel op grond van de aanwezigheid van de volgende frequenties: 1125 cm^{-1} en 1282 cm^{-1} .
- b. *Spectrum van een 6%-ige oplossing van alkaloïde X in tetrachloorkoolstof (celdikte: 0,1 mm)*

1. Een sterke brede absorptieband is aanwezig bij 1670 cm^{-1} . De intensiteit is aanzienlijk minder dan die van de scherpe absorptieband van de $\text{C}=\text{O}$ groep in sedamineketon, welke groep ook bij hogere frequentie absorbeert (1688 cm^{-1}). De frequentie 1670 cm^{-1} valt in het gebied, waar de geïsoleerde $\text{C}=\text{C}$ groep absorbeert, evenals ook de $\text{C}=\text{O}$ groep, welke met $\text{C}=\text{C}$ geconjugeerd is. Het is echter niet mogelijk met betrekking tot frequentie 1670 cm^{-1} een definitieve uitspraak te doen.

2. Het voorkomen van een $\text{C}=\text{C}$ groep in de ring, welke groep dus *cis* moet zijn, wordt om de volgende reden betwijfeld: voor een dergelijke groep kunnen we omstreeks 700 cm^{-1} een duidelijke absorptieband verwachten. In het betreffende spectrum komt een matige absorptieband voor bij 700 cm^{-1} . Dit behoeft echter niet op zo'n groep te wijzen, aangezien sedamine, hetwelk deze groep niet bevat, toch een duidelijke absorptieband bij ca. 700 cm^{-1} geeft en wel relatief intensiever dan die van de onbekende stof.

- c. *Spectrum van een zeer verdunde oplossing (10^{-3} mol/l) van alkaloïde X in tetrachloorkoolstof (celdikte: 25 mm)*

Bij deze grote verdunning worden in het spectrum beide hydroxyl-absorptiebanden, bij 3620 cm^{-1} (scherp) en 3270 cm^{-1} (breed) waargenomen. De intensiteitsverhouding der beide banden is praktisch onveranderd gebleven. Dit alles wijst op een *intramoleculaire waterstofbrug*.

SYNTHESE VAN ENIGE GESUBSTITUEERDE PIPERIDINEN

In dit hoofdstuk zullen wij de bereiding beschrijven van die verbindingen, welke bij ons onderzoek een rol hebben gespeeld, nl.:

- A. 2-(2'-hydroxypropyl)piperidine
[(±)-sedridine en (±)-allosedridine].
- B. 1-methyl-2-(2'-hydroxypropyl)piperidine
[(±)-N-methylsedridine en (±)-N-methyl-allosedridine].
- C. 1-methyl-2-(2'-hydroxy-2'-phenylaethyl)piperidine
[(±)-sedamine en (±)-allosedamine].
- D. 2-(2'-hydroxy-2'-phenylaethyl)piperidine
[(±)-nor-sedamine en (±)-nor-allosedamine].
- E. 2-(2'-hydroxybutyl)piperidine.
- F. 1-methyl-2-(2'-hydroxybutyl)piperidine.
- G. 1-methyl-2-(2'-oxopropyl)piperidine
[(±)-N-methylisopelletierine].

Met uitzondering van de laatstgenoemde werden alle verbindingen verkregen in de vorm van het mengsel der beide paren optische antipoden. Alleen in het geval van 2-(2'-hydroxypropyl)piperidine en 1-methyl-2-(2'-hydroxy-2'-phenylaethyl)piperidine werd dit mengsel gescheiden. Op grond van waarnemingen, gedaan zowel bij de papierchromatografie als bij de opwerking der ruwe basenmengsels bleek, dat dit voor de andere verbindingen achterwege kon blijven, aangezien wij in onze extracten hun aanwezigheid niet hadden kunnen aantonen.

Daar de literatuur geen zekerheid over de optische draaiing van sedamine uit *Sedum acre* bood en de splitsing van synthetisch (±)-sedamine in optische antipoden niet was beschreven, terwijl bovendien over synthetisch optisch actief sedridine ook slechts weinig met zekerheid bekend was (HOOFDSTUK IV), was het, teneinde een uitspraak te kunnen doen omtrent de optische zuiverheid van door ons geïsoleerd natuurlijk materiaal, dus noodzakelijk, meer gegevens ter beschikking te krijgen.

Te dien einde werden door de Heren J. EENSHUISTRA, W. EVELEENS en A. ZWEISTRA [13] op het Laboratorium voor Organische Chemie der

Technische Hogeschool te Delft experimenten uitgevoerd, waarbij o.a. de splitsing van beide bovenstaande verbindingen in optische antipoden werd bewerkstelligd. Van deze laatste werden het smeltpunt en de optische draaiing bepaald, terwijl ook de stereochemie werd bestudeerd.

Alléén voor zover zij van direct belang waren voor de onderzoeken, beschreven in dit proefschrift, zijn de verkregen resultaten in het onderstaande opgenomen. Door de mogelijkheid, in andere hoofdstukken hier naar te kunnen verwijzen, wordt een vergelijking van natuurlijk en synthetisch materiaal aanzienlijk vergemakkelijkt en wordt een beter overzicht van het geheel verkregen.

A. 2-(2'-Hydroxypropyl)piperidine (±)-Sedridine en (±)-alloSedridine

1. INLEIDING

Voor de bereiding van deze verbinding gingen LADENBURG [23] en LÖFFLER [24] uit van 2-(2'-hydroxypropyl)pyridine, hetwelk ontstaan was bij de verhitting in een dichtgesmolten buis op 150° van een mengsel van α -picoline, acetaldehyde en water. Deze verbinding werd gereduceerd met natrium en kokende alcohol. Als smeltpunt van het daarbij verkregen produkt wordt opgegeven 45-47° resp. 47-49°.

HESS c.s. [25] en MEISENHEIMER en MAHLER [26] voerden de reductie van het pyridinederivaat katalytisch uit in ijszijn met waterstof en een platina katalysator en scheidden een stof af met smeltpunt 69-70°.

HESS en GRAU [27] gingen uit van isopelletierine, dat zij onderwierpen aan reductie met natriumamalgaam en water. Van het daarbij ontstane produkt gaven zij geen smeltpunt op.

De variatie in smeltpunten der geïsoleerde produkten houdt verband met het feit, dat er van 2-(2'-hydroxypropyl)piperidine twee paren optische antipoden bestaan. Een splitsing van het mengsel van beide in zijn samenstellende componenten was, toen wij ons onderzoek begonnen, in de literatuur nog niet beschreven. Wel was het aan LÖFFLER en TSCHUNKE [20] gelukt, bij omkristallisatie van voornoemd mengsel uit ligroïne een verbinding van smeltpunt 75-76° af te zonderen, welke ons later bleek te zijn het (±)-sedridine. Ongeveer gelijktijdig met ons slaagden SCHÖPF en UNGER [7] erin, de scheiding tot stand te brengen, waarbij zij twee produkten verkregen met de respectievelijke smeltpunten 68-70° en 72-75°.

Wij gingen voor de bereiding van het mengsel der stereoisomeren uit van 2-(2'-hydroxypropyl)pyridine, verkregen bij de inwerking van acetaldehyde op α -picollythium [28].

De reductie van de aldus verkregen verbinding tot het overeenkomstige piperidine-derivaat werd op twee manieren uitgevoerd, nl.:

- a. Katalytische reductie van de vrije base in ijszijn met waterstof en platinadioxyde als katalysator [26].
- b. Katalytische reductie van het hydrochloride in absolute alcohol met waterstof en platinadioxyde als katalysator.

Daar het voor de identificatie van een door ons uit *Sedum acre* geïsoleerd alkaloïde noodzakelijk was elk der twee paren optische antipoden in zuivere toestand ter beschikking te hebben, werd een methode voor de scheiding van bovengenoemd mengsel uitgewerkt. Bij gefractioneerde kristallisatie der vrije basen uit petroleumæther (kookpunt 40–60°), zoals aanvankelijk toegepast, werden door het kleine verschil in oplosbaarheid der componenten slechts zeer geringe opbrengsten aan zuivere eindprodukten verkregen. Daarom werd deze werkwijze vervangen door een andere, waarbij gebruik gemaakt werd van het feit, dat de beide pikraten in methanol een redelijk verschil in oplosbaarheid bezitten. Aldus werden (±)-sedridine, smeltpunt 75–76° en (±)-allo-sedridine, smeltpunt 70–71°, verkregen. Ter verdere karakterisering werden beide verbindingen omgezet in 1-phenylthiocarbamoyl-2-(2'-hydroxypropyl)piperidine. Tevens werd (±)-sedridine met behulp van N-acetyl-L-leucine in optische antipoden gesplitst.

2. EXPERIMENTEEL GEDEELTE

2-(2'-Hydroxypropyl)pyridine

Deze stof werd bereid uit acetaldehyde en α -picolylithium volgens het voorschrift, vermeld in Organic Synthesis [28]. Kookpunt 112–113°/11,5 mm; lit. [28]: 124–125°/20 mm.

2-(2'-Hydroxypropyl)piperidine

- a. Een oplossing van 12,0 g (0,087 mol) 2-(2'-hydroxypropyl)pyridine in 20 ml ijszijn werd na toevoegen van 1,1 g platinadioxyde als katalysator [29] gehydrogeneerd bij atmosferische druk en een temperatuur van ca. 55°. Na opname van de berekende hoeveelheid waterstof werd de katalysator afgefilterd en het oplosmiddel *in vacuo* afgedestilleerd. Het kleurloze residu werd alkalisch gemaakt met een 50%-ige kaliumhydroxyde-oplossing en daarna enige malen uitgeschud met aether. Het aetherische extract werd met watervrij magnesiumsulfaat gedroogd, waarna het oplosmiddel werd afgedestilleerd. Er bleef 11,1 g (89%) ener heldere olie achter, welke *in vacuo*

gefractionneerd werd. Verkregen werd 8,7 g (70%) zuiver produkt; kooktraject 121–124°/20 mm; lit. [26]: 115–120°/16 mm. Smeltpunt ca. 50° (onscherp); lit. [24]: 47–49°.

- b. Na hydrogenering van het hydrochloride van 2-(2'-hydroxypropyl)pyridine, in aanwezigheid van platinadioxide, in absolute alcohol bij atmosferische druk en ca. 50°, gevolgd door opwerking als bovenbeschreven, werd in een opbrengst van 80% eveneens 2-(2'-hydroxypropyl)piperidine verkregen; kooktraject 122–124°/20 mm.

*Scheiding der twee paren optische antipoden *)*

Uit een methanolische oplossing van aequimoleculaire hoeveelheden 2-(2'-hydroxypropyl)piperidine en pikrinezuur sloeg bij toevoeging van absolute aether een pikraat neer, hetwelk, na enige malen omkristalliseren uit een mengsel van methanol en aether, bij 140–141° smolt. Na ontleding van dit pikraat met overmaat zoutzuur (1 : 1), verwijdering van het vrijgekomen pikrinezuur en ontleding van het hydrochloride met vast natriumhydroxyde, werd (±)-allosedridine verkregen. Na omkristalliseren uit petroleumaether (kookpunt 40–60°), gevolgd door sublimatie, smolt dit produkt bij 70–71°.

De moederloog, welke overgebleven was na filtratie van het bovengenoemde ruwe pikraat, werd ingedampt. Bij omkristalliseren van het aldus verkregen produkt uit een mengsel van methanol en aether werd een pikraat van smeltpunt 135–137° geïsoleerd. Na ontleding van dit pikraat op analoge wijze als beschreven in het bovenstaande werd (±)-sedridine verkregen, smeltpunt 75–76°.

Reactie van (±)-sedridine resp. (±)-allosedridine met phenylisothiocyanaat

- a. Aan een oplossing van 0,050 g (0,00035 mol) (±)-sedridine in 6 ml absolute aether werd toegevoegd 0,100 g (0,00074 mol) phenylisothiocyanaat (kookpunt 99–99,5°/15 mm). Er ontstond direct een wit neerslag, hetwelk afgefiltreerd werd en grondig uitgewassen werd met absolute aether. Na omkristalliseren uit absolute alcohol bedroeg het smeltpunt 161–162°.

$C_{15}H_{22}N_2OS$ (278,42)	Ber. : C 64,71	H 7,96	N 10,06
	Gev. : C 64,9	H 8,0	N 10,2

- b. De overeenkomstige verbinding van (±)-allosedridine, op analoge wijze verkregen, smolt bij 156–158°.

*) De scheiding werd uitgevoerd door de Heer W. EVELEENS.

Splitsing van (\pm)-sedridine in optische antipoden *)

Uit een warme oplossing van aequimoleculaire hoeveelheden (\pm)-sedridine en N-acetyl-L-leucine in droge aceton kristalliseerde bij afkoeling (+)-sedridine-N-acetyl-L-leucinaat uit, hetwelk na eenmaal omkristalliseren uit een mengsel van droge aceton en methanol, bij 168–169° smolt.

Na ontleding van (+)-sedridine-N-acetyl-L-leucinaat met behulp van een geconc. loogoplossing, gevolgd door extractie met aether, werd (+)-sedridine verkregen. Na omkristalliseren uit petroleumaether (kookpunt 40–60°) was het smeltpunt 83–84°.

$$[\alpha]_D^{20} + 28,6^\circ \pm 1^\circ \quad (c = 2,28 \text{ in alcohol})$$

De oplossing, waaruit (+)-sedridine-N-acetyl-L-leucinaat was verwijderd, werd ingedampt en vervolgens opgewerkt op analoge wijze als hierboven beschreven. Het daarbij ontstane produkt werd enige malen omkristalliseerd uit petroleumaether (kookpunt 40–60°), waarbij (–)-sedridine verkregen werd. Het smeltpunt was 82,5–83,5 en $[\alpha]_D^{21} - 28,1^\circ \pm 1^\circ$ (c = 2,31 in alcohol).

B. 1-Methyl-2-(2'-hydroxypropyl)piperidine

(\pm)-N-Methyl-sedridine en (\pm)-N-Methyl-allosedridine

1. INLEIDING

Uitgaande van 2-(2'-hydroxypropyl)piperidine verkreeg LADENBURG [30] door methylering met kaliummethylsulfaat in water het 1-methyl-2-(2'-hydroxypropyl)piperidine. Het kookpunt werd niet vermeld.

Hess c.s. [25] voerden de methylering uit met een mengsel van 40%-ige formaline-oplossing, mierenzuur en water en scheidten een olie af met kooktraject 114–118°/22 mm.

MEISENHEIMER en MAHLER [26] voegden dimethylsulfaat bij 2-(2'-hydroxypropyl)pyridine en reduceerden het ruwe olieachtige reactieprodukt in ijsazijn met waterstof in aanwezigheid van een platina katalysator. Het aldus verkregen produkt had een kooktraject van 110–120°/22 mm.

Hess [31] tenslotte reduceerde methylisopelletierine met natrium-amalgaam en water en onderwierp de daarbij ontstane olie aan gefractioneerde destillatie. Hij zonderde twee fracties af met de resp. kooktrajecten 101–106°/15 mm en 115–120°/15 mm. Volgens genoemde auteur zou hier sprake zijn van een min of meer selectieve schei-

*) Deze splitsing werd uitgevoerd door de Heer A. ZWEISTRA.

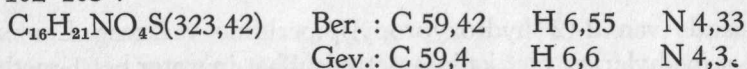
ding der twee paren optische antipoden. Dit komt ons onwaarschijnlijk voor, daar de kookpunten der beide paren vermoedelijk wel slechts weinig zullen verschillen. Over de omstandigheden waaronder genoemde fractionnering geschiedde, werden geen nadere gegevens verstrekt.

Wij gingen voor de bereiding van het mengsel der beide inactieve 1-methyl-2-(2'-hydroxypropyl)piperidinen uit van 2-(2'-hydroxypropyl)pyridine, hetwelk gemethyleerd werd met behulp van methyl *p*-tolueensulfonaat. Het gevormde zout werd katalytisch gehydrogeneerd en daarna ontleed.

2. EXPERIMENTEEL GEDEELTE

1-Methyl-2-(2'-hydroxypropyl)pyridinium *p*-tolueensulfonaat

Aan een oplossing van 10,0 g (0,073 mol) 2-(2'-hydroxypropyl)pyridine (zie A) in 100 ml droge benzeen werd toegevoegd 30,0 g (0,16 mol) methyl *p*-tolueensulfonaat [32]. Gedurende 2 uren werd aan een terugvloeiakoeler gekookt, waarbij zich een olie afscheidde, welke na een nacht staan in de ijskast gekristalliseerd was. De kristallen werden afgezogen en uitgewassen met absolute aether. Verkregen werd 21,94 g (93%) 1-methyl-2-(2'-hydroxypropyl)pyridinium *p*-tolueensulfonaat van smeltpunt 98–100°. Na omkristalliseren uit droge aceton was het smeltpunt 102–103°.



1-Methyl-2-(2'-hydroxypropyl)piperidine

Een oplossing van 21,0 g (0,065 mol) 1-methyl-2-(2'-hydroxypropyl)pyridinium *p*-tolueensulfonaat in 100 ml absolute alcohol werd na toevoeging van ca. 200 mg platinadioxyde gehydrogeneerd bij 20° en een waterstofdruk van ca. 145 atm. Na beëindiging van de waterstofabsorptie werd de katalysator afgefiltreerd en de alcohol *in vacuo* afgedestilleerd. De resterende kleurloze olie werd met 40 ml gedestilleerd water verdund, waarna alkalisch gemaakt werd met een 50%-ige natriumhydroxyde-oplossing. Vervolgens werd uitgeschud met 5 porties van elk 100 ml aether. Na drogen van het aetherische extract met watervrij magnesiumsulfaat en verwijderen van het oplosmiddel bleef 9,2 g (90%) lichtgele olie achter, welke aan gefractioneerde destillatie onderworpen werd. Verkregen werd 6,93 g (68%) 1-methyl-2-(2'-hydroxypropyl)piperidine met kooktraject 114–118°/20 mm; lit. [25]: 114–118°/22 mm; lit. [26]: 110–120°/22 mm.

C. 1-Methyl-2-(2'-hydroxy-2'-phenylaethyl)piperidine

(±)-Sedamine en (±)-alloSedamine

INLEIDING

MARION c.s. [4] gingen voor de bereiding hiervan uit van α -picoline, hetwelk zij condenseerden met benzaldehyde [33, 34, 35]. Na bromering van het condensatieproduct [33, 36] werd 2-(1', 2'-dibroom-2'-phenylaethyl)pyridine verkregen, waaraan met behulp van een alcoholische oplossing van kaliumhydroxyde twee moleculen broomwaterstofzuur onttrokken werden [37], waarbij 2-(2'-phenylaethynyl)pyridine ontstond. Aan deze verbinding werd water geaddeerd [37], waarbij 2-phenacylpyridine gevormd werd, welke stof vervolgens gemethyleerd werd met methyl *p*-tolueensulfonaat. Bij katalytische reductie van 1-methyl-2-phenacylpyridinium *p*-tolueensulfonaat in ijsazijn met waterstof en platina katalysator werd een mengsel verkregen van 1-methyl-2-phenacylpiperidine en 1-methyl-2-(2'-hydroxy-2'-phenylaethyl)piperidine. Bij de scheiding van dit mengsel in zijn componenten via de pikraten werd een verbinding van smeltpunt 88°, het (±)-sedamine, afgezonderd, welke één der twee mogelijke racematen van laatstgenoemde verbinding bleek te zijn. Het andere werd niet geïsoleerd.

Dit voorschrift werd tot en met de reductie nagewerkt (W. EVELEENS [38]). Het verkregen mengsel van reductieproducten werd echter niet opgewerkt via de pikraten, maar gereduceerd met lithiaaluminiumhydride. Door gefractioneerde kristallisatie van het daarbij ontstane mengsel uit petroleumaether (kookpunt 40–60°) werden (±)-sedamine, smeltpunt 89–90° en (±)-alloSedamine, smeltpunt 68–69°, in zuivere toestand verkregen.

STANĚK c.s. [39] hydrogeneerden langs katalytische weg het condensatieproduct van 1,2-dimethylpyridiniumjodide en benzaldehyde en kregen als reactieproduct een stof van smeltpunt 55°. Gelijk uit het volgende zal blijken, is hier stellig een mengsel beschreven van (±)-sedamine en (±)-alloSedamine.

Na het aanbrengen van enige wijzigingen in de reactieomstandigheden (J. EENSHUISTRA [13]), bleek deze methode ons nl. zeer geschikt te zijn voor de bereiding van grotere hoeveelheden (±)-sedamine en (±)-alloSedamine.

LUKEŠ c.s. [40] gebruikten als uitgangsstof voor hun sedaminesynthese 2-phenacylpyridine, ontstaan bij de condensatie van α -picoline en aethylbenzoaat in vloeibare ammoniak onder invloed van kaliumamide [41]. Met behulp van methyljodide, resp. methyl *p*-tolueensulfonaat werd deze verbinding omgezet in het bijbehorende zout. Na katalytische hydrogenering en opwerking volgens de gebruikelijke methode

werd het verkregen produkt gefractionneerd gedestilleerd, waarbij 1-methyl-2-phenacylpiperidine, kookpunt $111^{\circ}/0,13$ mm en merkwaardigerwijze alleen (\pm)-sedamine, smeltpunt $88-89^{\circ}$ (kookpunt $124^{\circ}/0,13$ mm) en niet (\pm)-allosedamine afgezonderd werden. De eerstgenoemde verbinding werd zowel met lithiualuminiumhydride als katalytisch met waterstof en Raneynikkel of platinadioxyde als katalysator gereduceerd. Bij deze katalytische reductie was de stof aanwezig als vrije base of als hydrochloride. Na de gebruikelijke opwerking scheidden zich bij behandeling van het ruwe reactieprodukt met petroleumaether (kookpunt $40-60^{\circ}$) in alle gevallen (\pm)-sedamine, smeltpunt $88,5-89^{\circ}$ resp. $87-88^{\circ}$ en $86-88^{\circ}$ af, terwijl, op één uitzondering na – katalytische reductie der vrije base – uit de moederloog, na indampen en chromatografie van het residu over aluminiumoxyde, (\pm)-allosedamine, smeltpunt $65-66^{\circ}$ resp. $67-68^{\circ}$ en 68° geïsoleerd werd.

Daar het in verband met papierchromatografische analyse van de extracten van *Sedum acre* bij het begin van ons onderzoek noodzakelijk was te kunnen beschikken over synthetische vergelijkingsstoffen, waartoe in de eerste plaats de beide inactieve 1-methyl-2-(2'-hydroxy-2'-phenylaethyl)piperidinen behoorden, werd door ons de volgende synthese uitgewerkt, welke snel tot het gewenste doel voert:

α -picolylithium werd gecondenseerd met benzaldehyde, waarbij 2-(2'-hydroxy-2'-phenylaethyl)pyridine ontstond. Na methylering van deze verbinding met methyl *p*-tolueensulfonaat resp. methyljodide, gevolgd door katalytische reductie van het zout, werd het mengsel van (\pm)-sedamine en (\pm)-allosedamine verkregen. Door gefractionneerde kristallisatie van dit mengsel uit petroleumaether (kookpunt $40-60^{\circ}$) werden (\pm)-sedamine, smeltpunt $88-89^{\circ}$, en (\pm)-allosedamine, smeltpunt $68-69^{\circ}$, in zuivere toestand afgezonderd.

De splitsing van (\pm)-sedamine in optische antipoden [13, 38] werd uitgevoerd met behulp van $L_g(-)$ -dibenzoylwijnsteenzuur resp. $D_g(+)$ -dibenzoylwijnsteenzuur.

2. EXPERIMENTEEL GEDEELTE

2-(2'-Hydroxy-2'-phenylaethyl)pyridine

Een oplossing van 41,1 g (0,30 mol.) *n*-butylbromide in 50 ml absolute aether werd onder roeren langzaam toegevoegd aan een suspensie van 3,8 g (0,54 mol) fijngesneden lithium in 100 ml absolute aether, terwijl de temperatuur op $10-15^{\circ}$ gehouden en een constante stroom van droge stikstof door de apparatuur gevoerd werd. Zodra al het lithium omgezet

was, werd de oplossing afgekoeld tot -30° en werd een oplossing van 22,3 g (0,24 mol) α -picoline in 50 ml absolute aether onder roeren toegedruppeld. Daarna werd nog gedurende 15 min. doorgeroerd. Het reactiemengsel werd vervolgens afgekoeld tot -70° , waarna een op nul graden gekoelde oplossing van 21,2 g (0,20 mol) benzaldehyde in 50 ml absolute aether met een zodanige snelheid toegevoegd werd, dat de temperatuur in het reactievat beneden -60° bleef. Nadat nog gedurende $1\frac{1}{2}$ uur flink geroerd was, bleef het reactiemengsel een nacht onder stikstof staan, waarbij de temperatuur opliep tot kamertemperatuur. Na ontleden met verdund zoutzuur ontstonden twee lagen, welke gescheiden werden. De waterige laag werd alkalisch gemaakt met een 20%-ige natriumhydroxyde-oplossing en daarna uitgeschud met 8 porties van elk 100 ml aether. Na drogen van het aetherische extract met watervrij magnesiumsulfaat en afdestilleren van het oplosmiddel werd 15,25 g (38%) kristallijn materiaal verkregen; smeltpunt $107-109^{\circ}$. Na omkristalliseren uit een mengsel van benzeen en petroleumaether (kookpunt $40-60^{\circ}$) was het smeltpunt $109,5-110,5^{\circ}$; lit. [37]: $107-108^{\circ}$. BERGMANN en ROSENTHAL [42] verkregen op in beginsel dezelfde wijze deze verbinding, smeltpunt 110° , bij gebruik van phenylbromide in plaats van *n*-butylbromide. Zij geven echter geen experimentele details.

1-Methyl-2-(2'-hydroxy-2'-phenylaethyl)pyridinium p-tolueensulfonaat

Aan een kokende oplossing van 3,42 g (0,017 mol) 2-(2'-hydroxy-2'-phenylaethyl) pyridine in 7 ml droge benzeen werd 7,8 g (0,042 mol) methyl p-tolueensulfonaat toegevoegd. Er ontstond spoedig een wit neerslag. Na een uur koken aan een terugvloeikoeler werd de reactie als geëindigd beschouwd. Het neerslag werd afgefiltreerd, uitgewassen met benzeen, en gedroogd. Opbrengst 5,63 g (85%).

Dit produkt werd omgekristalliseerd uit een mengsel van aether en methanol. De verbinding smolt bij $163-165^{\circ}$, na bij 111° voor het grootste deel gesmolten en vervolgens bij 114° weer vastgeworden te zijn (Kofler microsmeltpuntapparaat).

$C_{21}H_{23}NO_4S(385,49)$	Ber. : C 65,43	H 6,01	N 3,63
	Gev.: C 65,3	H 5,9	N 3,6

1-Methyl-2-(2'-hydroxy-2'-phenylaethyl)pyridiniumjodide

Voor de bereiding van deze verbinding uit 2-(2'-hydroxy-2'-phenylaethyl)pyridine en methyljodide werd dezelfde werkwijze gevolgd als beschreven in het bovenstaande. Het smeltpunt was bij bepaling in een Lunge-Berl blok ca. 154° , terwijl bij gebruik van een Kofler microsmeltpuntapparaat bij zeer langzame opwarming een waarde gevonden werd

van 161–162° (geelkleuring bij 159°). Waarschijnlijk hebben we hier te maken met polymorphie.

$C_{14}H_{16}NO(341,20)$ Ber. : C 49,28 H 4,73 N 4,11
Gev.: C 49,1 H 4,7 N 4,0

1-Methyl-2-(2'-hydroxy-2'-phenylaethyl)piperidine

Een oplossing van 5,04 g (0,013 mol) 1-methyl-2-(2'-hydroxy-2'-phenylaethyl)pyridinium *p*-tolueensulfonaat in 100 ml 96%-ige alcohol werd na toevoeging van ca. 100 mg platinadioxyde katalysator onder roeren gehydrogeneerd bij kamertemperatuur en ongeveer 30 atm. waterstofdruk. Na beëindiging der reactie werd de katalysator afgefiltreerd, de alcohol *in vacuo* afgedestilleerd en het olieachtige residu (5,03 g, 99%) na verdunning met water, sterk alkalisch gemaakt met een 50%-ige natriumhydroxyde-oplossing. Vervolgens werd uitgeschud met 5 porties van elk 100 ml aether. Het aetherische extract werd op de gebruikelijke wijze opgewerkt. Na toevoeging van petroleumaether (kookpunt 40–60°) aan de aldus verkregen olie scheidde zich 0,850 g (30%) kristallen van ruw (\pm)-sedamine van smeltpunt 83–85° af; na omkristalliseren uit petroleumaether (kookpunt 40–60°) was het smeltpunt 88°–89°. Bij concentreren van de moederloog werd 1,4 g (49%) dikke naaldvormige kristallen verkregen. Bij omkristalliseren hiervan uit petroleumaether (kookpunt 40–60°) kon 0,750 g zuiver (\pm)-allo-sedamine van smeltpunt 68–69° worden geïsoleerd.

Een mengsel van gelijke hoeveelheden (\pm)-sedamine en (\pm)-allo-sedamine vertoonde een smelttraject van 55–61°.

Beide racematen werden eveneens verkregen, indien 1-methyl-2-(2'-hydroxy-2'-phenylaethyl)pyridiniumjodide aan bovengenoemde bewerkingen werd onderworpen.

Splitsing van (\pm)-sedamine in optische antipoden *)

Aan een warme oplossing van (\pm)-sedamine en L_g -(-)-dibenzoyl-wijnsteen-zuur in methanol werd een weinig water toegevoegd. Bij afkoeling scheidde zich kristallen af van (-)-sedamine-bi- L_g -dibenzoyl-tartraat. 1 H_2O , welke na omkristalliseren uit een mengsel van alcohol en water smolten bij 133–134°. Na ontleding met een verdunde loogoplossing, gevolgd door aetherextractie werd (-)-sedamine verkregen, waarvan na omkristallisatie uit *n*-pentaan het smeltpunt 61–62° was.

$[\alpha]_D^{20} - 92,5^\circ \pm 1,2^\circ$ ($c = 4,06$ in alcohol)

*) De splitsing werd uitgevoerd door de Heren W. EVELEENS en J. EENSHUISTRA [13, 38].

Uitgaande van D_g -(+)-dibenzoylwijnsteen-zuur en sedamine, teruggewonnen uit de moederloog, welke overgebleven was na filtratie van bovengenoemd zout, werd via (+)-sedamine-bi- D_g -dibenzoyltartraat. $1H_2O$, smeltpunt $133-134^\circ$, (+)-sedamine verkregen. Na omkristalliseren uit *n*-pentaan was het smeltpunt $61-62^\circ$.

$$[\alpha]_D^{18} + 91,5^\circ \pm 1,0^\circ \quad (c = 3,29 \text{ in alcohol})$$

Van (-)-sedamine werd een isomorfe vorm van smeltpunt $74-75^\circ$ waargenomen.

(-)-Sedamine hydrochloride

Aan een droge aetherische oplossing van (-)-sedamine werd toegevoegd een 6%-ige oplossing van zoutzuur in methanol. Het gevormde neerslag werd afgefiltreerd en omgekristalliseerd uit een mengsel van methanol en aether. Het smeltpunt was $217-219^\circ$.

D. 2-(2'-Hydroxy-2'-phenylaethyl)piperidine

(\pm)-nor-Sedamine en (\pm)-nor-alloSedamine

1. INLEIDING

SCHEUING en WINTERHALDER [37] reduceerden 2-phenacylpyridine katalytisch in ijszijn met waterstof en platinadioxyde als katalysator. Het verkregen produkt kookte bij $165^\circ/4$ mm. Bij afkoeling werd de stof vast en smolt bij 85° .

Door toevoeging van α -picoline en aethylbenzoaat aan de oplossing van kaliumamide in vloeibare ammoniak bereidden HOWTON en GOLDING [41] 2-phenacylpyridine. Deze stof werd op twee manieren katalytisch gereduceerd:

- a. *als hydrobromide in alcohol* met waterstof en platinadioxyde als katalysator bij atmosferische druk en kamertemperatuur. Scheiding van het mengsel der gehydrogeneerde broomwaterstofzuren zouten door middel van gefractioneerde kristallisatie, gevolgd door behandeling met loog van de afzonderlijke componenten, leidde tot de isolering der beide paren optische antipoden van 2-(2'-hydroxy-2'-phenylaethyl)piperidine met de resp. smeltpunten $97,8-98,5^\circ$ en $112-112,5^\circ$.
- b. *als vrije base in dioxan* met waterstof en Raneynikkel als katalysator bij 140 atm. en $85-145^\circ$. De daarbij verkregen olie, kooktraject $100-145^\circ/1$ mm, werd bij afkoeling vast. Door gefractioneerde kristallisatie bij gebruik van diverse oplosmiddelen werden eveneens bovengenoemde verbindingen verkregen.

Wij bereidden het mengsel van beide vormen door reductie van 2-(2'-hydroxy-2'-phenylaethyl)pyridine (zie C.) in ijszijn met waterstof en platinadioxyde als katalysator.

2. EXPERIMENTEEL GEDEELTE

Een oplossing van 6,0 g (0,03 mol) 2-(2'-hydroxy-2'-phenylaethyl)pyridine in 125 ml ijszijn werd na toevoegen van ca. 100 mg platina-katalysator onder roeren gehydrogeneerd bij ongeveer 140 atm. waterstofdruk en kamertemperatuur. Na beëindiging der reactie werd de katalysator afgefiltreerd en de ijszijn *in vacuo* afgedestilleerd. Na de gebruikelijke opwerking van de achtergebleven zwak geelgekleurde olie werd 5,87 g (95%) kristallijn produkt verkregen van smelttraject 72–85°. Na eenmaal omkristalliseren uit petroleumaether (kookpunt 80–100°) was het smelttraject 80–85°; lit. [37]: 85°.

E. 2-(2'-Hydroxybutyl)piperidine

1. INLEIDING

Zowel MATZDORFF [43] als LÖFFLER en PLÖCKER [44] reduceerden 2-(2'-hydroxybutyl)pyridine – ontstaan bij verhitting op 160–170° van α -picoline en propionaldehyde in een dichtgesmolten buis – met natrium en alcohol. Daarbij verkreeg MATZDORFF een kleurloze olie van kookpunt 242–243°, LÖFFLER c.s. gaven als kooktraject op 125–130°/15 mm, terwijl zij tevens vermeldden, dat het produkt, vastgeworden na afkoeling tot –18°, smolt bij 55°, nadat het bij 46° week geworden was.

Het mengsel der beide inactieve 2-(2'-hydroxybutyl)piperidinen werd door ons als volgt bereid: *via* een lithiumsintese werd uit α -picoline en propionaldehyde 2-(2'-hydroxybutyl)pyridine gemaakt, hetwelk vervolgens in ijszijn met waterstof en platinakatalysator gereduceerd werd.

2. EXPERIMENTEEL GEDEELTE

2-(2'-Hydroxybutyl)pyridine

Aan een suspensie van 6,9 g (1,0 mol) fijngesneden lithium in 300 ml absolute aether werd onder roeren, bij kamertemperatuur toegevoegd 15 ml van een oplossing van 79,0 g (0,5 mol) broombenzen in 80 ml absolute aether, terwijl droge stikstof door de apparatuur geleid werd. De reactie zette onmiddellijk in. De resterende oplossing van broombenzen werd toegedruppeld met een zodanige snelheid, dat de aether zachtjes kookte. Na beëindiging der toevoeging werd nog een uur door-

geroerd. Vervolgens werd in 20 min. tijds 46,0 g (0,5 mol) α -picoline toegevoegd, waarna nogmaals een uur geroerd werd. Daarna werd het reactievat gekoeld in een ijs-zout mengsel en werd een oplossing van 29 g (0,5 mol) propionaldehyde in 50 ml absolute aether in een tijdsbestek van 25 min. toegedruppeld. Na tenslotte nog gedurende 15 min. goed doorgeroerd te hebben, werden 100 ml gedestilleerd water en 100 ml gec. zoutzuur langzaam toegevoegd, waarna het zure reactiemengsel tijdens de nacht aan zichzelf werd overgelaten. Er hadden zich twee lagen gevormd: een lichtgele aether- en een rode waterlaag. Nadat deze gescheiden waren en de aetherlaag eenmaal met water was uitgeschud, werden de verenigde waterige extracten sterk alkalisch gemaakt met vast natriumcarbonaat, waarbij zich een donkerrode olie afscheidde. De oplossing werd uitgeschud met 6 porties van elk 150 ml chloroform. Bij opwerken van dit chloroformische extract volgens de gebruikelijke methode bleef een donkerrode, enigszins visceuze olie achter, welke aan gefractioneerde destillatie werd onderworpen. Verkregen werd 31,4 g (42%) 2-(2'-hydroxybutyl)pyridine van kooktraject 130–132°/20 mm; lit. [43]: 125–127°/18 mm; lit. [44]: 124–126°/14 mm.

2-(2'-Hydroxybutyl)piperidine

Een oplossing van 15,0 g (0,1 mol) 2-(2'-hydroxybutyl)pyridine in 200 ml ijszijn werd na toevoegen van ongeveer 200 mg platina katalysator onder roeren bij kamertemperatuur gehydrogeneerd bij 155 atm. waterstofdruk. Na beëindiging der reactie werd de katalysator afgefiltreerd, de ijszijn *in vacuo* afgedestilleerd en het residu op de gebruikelijke wijze opgewerkt. Daarbij werd 14,0 g (90%) lichtgele olie verkregen, welke bij staan in de vrieskast geleidelijk kristallijn werd.

Ter zuivering werd gefractioneerd gedestilleerd. Verkregen werd 10,35 g (66%) gezuiverd produkt. Het kooktraject was 129–132°/17 mm; lit. [43]: 242–243°; lit. [44]: 125–130°/15 mm.

F. 1-Methyl-2-(2'-hydroxybutyl)piperidine

1. INLEIDING

In de literatuur werden geen gegevens gevonden. Het mengsel der beide inactieve vormen werd door ons als volgt bereid:

2-(2'-hydroxybutyl)pyridine (zie E) werd met methyl *p*-tolueensulfaat omgezet in 1-methyl-2-(2'-hydroxybutyl)pyridinium *p*-tolueensulfaat. Deze verbinding werd katalytisch gereduceerd met waterstof en platinakatalysator en daarna ontleed met loog.

2. EXPERIMENTEEL GEDEELTE

1-Methyl-2-(2'-hydroxybutyl)pyridinium *p*-tolueensulfonaat

Aan een oplossing van 12,5 g (0,082 mol) 2-(2'-hydroxybutyl)pyridine in 30 ml droge benzeen werd toegevoegd 22,0 g (0,12 mol) methyl *p*-tolueensulfonaat. Gedurende twee uur werd gekookt aan een terugvloeikoeler. Het bij afkoeling ontstane kristallijne produkt werd afgefiltreerd. Opbrengst 24,9 g (90%), smeltpunt 118–120°. Na omkristalliseren uit een mengsel van aether en methanol smolt de verbinding bij 119,5–120,5°.

$C_{17}H_{23}NO_4S(337,45)$	Ber. : C 60,51	H 6,87	N 4,15
	Gev.: C 60,5	H 6,9	N 4,1

1-Methyl-2-(2'-hydroxybutyl)piperidine

Een oplossing van 15,2 g (0,045 mol) 1-methyl-2-(2'-hydroxybutyl)pyridinium *p*-tolueensulfonaat in 125 ml absolute alcohol werd na toevoegen van ca. 200 mg platina katalysator onder roeren bij kamertemperatuur gehydrogeneerd bij een waterstofdruk van ongeveer 120 atm. Na beëindiging der reactie werd de katalysator afgefiltreerd, de alcohol *in vacuo* afgedestilleerd en de resterende olie sterk alkalisch gemaakt met een 50%-ige natriumhydroxyde-oplossing. Na herhaald uitschudden met chloroform en opwerken van het chloroformische extract op de gebruikelijke wijze werd 7,0 g (91%) olie verkregen, welke gefractionneerd gedestilleerd werd. Verkregen werd 5,83 g (73%) van een produkt met kooktraject 119–122°/17 mm.

$C_{10}H_{21}NO(171,29)$	Ber. : C 70,12	H 12,36	N 8,18
	Gev.: C 69,9	H 12,3	N 8,2

G. 1-Methyl-2-(2'-oxopropyl)piperidine

(±)-N-Methylisopelletierine

Deze verbinding werd bereid volgens de methode, beschreven door WIBAUT en KLOPPENBURG [45]. Het kookpunt was 85–86°/1 mm; lit. [45]: 43°/0,16 mm.

PAPIERCHROMATOGRAPHISCH ONDERZOEK
NAAR DE AANWEZIGHEID VAN NICOTINE

In de inleiding werd reeds kort vermeld, dat het onze bedoeling was na te gaan, of zich in ons plantenmateriaal nicotine bevond, want over het voorkomen van dit alkaloïde in *Sedum acre* waren verschillende onderzoekers het namelijk onderling niet eens: de aanwezigheid werd door MARION [3] aangenomen, doch kon door SCHÖPF en UNGER [7] niet bevestigd worden. Na beëindiging van ons experimentele werk verscheen een publikatie van FRANCK [10], waarin deze auteur mededeelde geen nicotine te hebben kunnen aantonen in zijn plantenmateriaal.

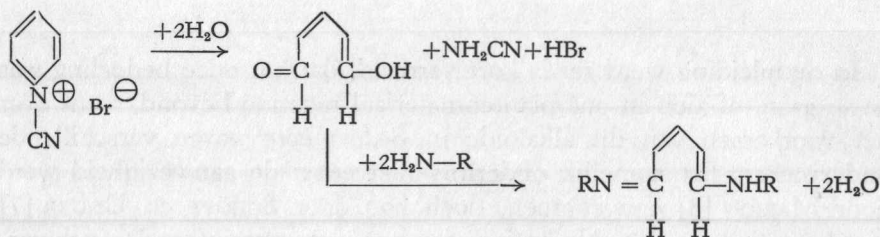
Wat nu de eerstgenoemde onderzoeker betreft, deze isoleerde uit *Sedum acre* van Canadese origine een zeer geringe hoeveelheid van een olieachtig produkt van kooktraject $70-75^{\circ}/1,5$ mm. Dit werd met behulp van pikrinezuur omgezet in een pikraat van smeltpunt 226° . Na mengen hiervan met nicotinedipikraat (smeltpunt 226°) werd bij bepaling van het smeltpunt geen depressie waargenomen. Op grond van deze feiten nam MARION de aanwezigheid van nicotine in zijn plantenmateriaal aan.

SCHÖPF en UNGER onderwierpen het mengsel van de hydrochloriden der ruwe alkaloiden, verkregen bij behandeling van vers geplukte *Sedum acre* van Duitse origine met verdund zoutzuur, aan verdelingschromatografie in het systeem chloroform/waterige natriumchloride-oplossing, waarbij zij er niet in slaagden nicotine af te zonderen.

FRANCK [10] extraheerde verse planten van Duitse oorsprong met methanol en onderzocht het ruwe basenmengsel o.a. ook op de aanwezigheid van nicotine. Hij deed dit met behulp van circulaire papierchromatografie en gebruikte als kleurreagens het DRAGENDORFF-reagens. Hij slaagde er op deze wijze niet in nicotine aan te tonen; als mogelijke reden voor de afwezigheid gaf hij op de grote vluchtigheid van dit alkaloïde.

Nu lijkt ons voor een dergelijk onderzoek de circulairechromatografie minder geschikt; misschien had beter afdalende chromatografie toegepast kunnen worden. In dit laatste geval is de afstand startlijn-loopvloeistoffront aanzienlijk groter dan in het eerste geval met als gevolg kans op een betere scheiding. Daar komt bij, dat de gevoeligheid van nicotine ten opzichte van het DRAGENDORFF-reagens blijkens onze ervaring ongeveer vijfmaal kleiner is dan ten opzichte van het reagens volgens KÖNIG [46], hetwelk wij aanwendden. Bij dit laatste wordt gebruik gemaakt

van het feit, dat bij inwerking van een primair aromatisch amine en broomcyaan op pyridine en pyridinederivaten met twee vrije α -plaatsen een kleurstof ontstaat. Men stelt zich voor, dat deze reactie, welke zeer gevoelig is – ca. 2 μg nicotine is nog goed aan te tonen – als volgt verloopt [47, 48]



1. Gevolgde methode en resultaten

Toen wij ons onderzoek naar de alkaloiden van *Sedum acre* begonnen, hielden wij bij de extractie (HOOFDSTUK II) rekening met de mogelijke aanwezigheid van het goed in water oplosbare nicotine. Wij konden in de residu's, afkomstig van betrekkelijk kleine hoeveelheden plantenmateriaal, echter geen nicotine aantonen. Daar nu verwacht moest worden, dat het alkaloïde slechts in geringe concentratie voorkwam, werd een grote hoeveelheid *Sedum acre* opgewerkt volgens een speciaal voor de afscheiding van nicotine geschikte methode, waarbij gebruik gemaakt werd van de eigenschap, dat dit alkaloïde gemakkelijk met water overdistilleert. (HOOFDSTUK II, methode II). De daarbij verkregen residu's A en B werden op papier (geïmpregneerd met 1M KH_2PO_4) gechromatografeerd in het systeem *n*-butanol-water. Bij bespuiting met het gewijzigde DRAGENDORFF-reagens werd in de baan van het A-residu en niet in die van het B-residu ter hoogte van nicotine, welke verbinding als vergelijkingsstof meeliep, een vlek waargenomen.

Van nicotine en residu A werd nogmaals een chromatogram gemaakt, waarbij met dezelfde loopvloeistof, als bovengenoemd, ontwikkeld werd. Na bespuiten met een alcoholische oplossing van *p*-aminobenzoezuur, gevolgd door inwerking van broomcyaandamp, verscheen in de baan van het A-residu één vlek en wel ter hoogte van nicotine.

Daar deze reactie niet voor nicotine alleen specifiek is, zoals hierboven reeds werd opgemerkt en er bovendien op grond van de waarneming, dat twee stoffen in één systeem dezelfde R_F -waarde bezitten, geenszins besloten mag worden tot gelijkheid van deze stoffen, was het noodzakelijk, hun gedrag ook in enige andere systemen nader te bestuderen.

Bij gebruikmaking nu van de hiertoe gekozen systemen, welke in het experimentele gedeelte beschreven zullen worden, verscheen steeds in

de baan van het A-residu, na inwerking van het KÖNIG-reagens, één duidelijke vlek. In de meeste gevallen was deze weliswaar gedefformeerd, doch er was wel sprake van een bevredigende overeenkomst tussen de afstand, afgelegd door nicotine (vergelijkingsstof) en die, welke afgelegd was door het pyridinederivaat uit het A-residu. Het feit, dat de andere alkaloiden in deze systemen niet goed gescheiden werden – hetgeen waargenomen werd bij bespuiting der chromatogrammen met DRAGENDORFF-reagens – was van geen direct belang voor het onderhavige probleem.

Zoals bij een dergelijk onderzoek veelal gebruikelijk is werden in twee systemen het residu A (I) en een mengsel, bestaande uit residu A en een weinig nicotine (II) papierchromatografisch met elkaar vergeleken. In elk van beide systemen werd na inwerking van het KÖNIG-reagens het volgende waargenomen: in de baan van het mengsel (II) kwam slechts één vlek op. Deze bevond zich op volkomen gelijke hoogte als de vlek in de baan van residu A (I) en was duidelijk groter van oppervlak.

Wij zouden onze resultaten:

- a. een positieve kleurreactie met KÖNIG-reagens;
- b. het optreden – in twee systemen – van één vlek in de baan van het mengsel van residu A en nicotine;

willen zien als een aanwijzing voor het voorkomen van nicotine in ons plantenmateriaal.

Wanneer wij aannemen, dat het in beide gevallen *Sedum acre* betreft (zie blz. 15), dan kunnen wij zeggen, dat onze conclusie parallel loopt met die van MARION.

Tenslotte willen wij nog het volgende opmerken: het feit, dat nicotine waarschijnlijk in ons plantenmateriaal (*Crassulaceae*) voorkomt en zich daarin bevindt naast alkaloiden, welke een van nicotine aanzienlijk afwijkende structuur bezitten, is niet zo uitzonderlijk, want de aanwezigheid van dit alkaloid is reeds aangetoond in plantensoorten, behorende tot de volgende families [49, 50, 51]:

Equisetaceae
Lycopodiaceae
Papilionaceae
Erythroxylaceae
Asclepiadaceae
Solanaceae
Compositae.

2. Experimenteel gedeelte

Bij de papierchromatografie werd steeds gebruik gemaakt van papier, Whatman no. 1. De lengterichting van de stroken kwam overeen met de walsrichting van het papier. Tenzij anders vermeld, werden met elkaar vergeleken: nicotine en residu A. De gevolgde werkwijze was gelijk aan die, welke reeds in HOOFDSTUK III beschreven werd.

Gebruikte systemen

a. *n*-Butanol-water (3 : 1)

Zie HOOFDSTUK III.

Looptijd: ca. 21 uur

R_F nicotine: 0,38

R_F pyridinederivaat uit A-residu: 0,39

b. *n*-Butanol-azijnzuur-water (4 : 1 : 5)

Looptijd: ca. 24 uur

R_F nicotine: 0,58

R_F pyridinederivaat uit A-residu: 0,57 (gedefformeerd)

c. *t*-Amylalcohol-acetaatbuffer (1 : 1)

Looptijd: ca. 48 uur

R_F nicotine: 0,42

R_F pyridinederivaat uit A-residu: 0,44 (gedefformeerd)

De bufferoplossing werd verkregen door 9,5 ml 0,2 M azijnzuur te mengen met 90,5 ml 0,2 M natriumacetaat. (p_H der buffer: 5,6).

d. *n*-Butanol-*di*-*n*-butylaether-1%-ig mierenzuur (2 : 1 : 3)

Het papier was tevoren geïmpregneerd met 0,5 M KH_2PO_4 (p_H 4,18).

Looptijd: ca. 11 uur

R_F nicotine 0,08

R_F pyridinederivaat uit A-residu: 0,09

Gezien deze lage waarden werd een doorloopchromatogram gemaakt. De looptijd hiervan was viermaal zo lang.

Na drogen en inwerken van het KÖNIG-reagens bleken de vlekken zich op onderling precies dezelfde hoogte te bevinden.

e. *n*-Butanol-acetaatbuffer (1 : 1)

Looptijd: ca. 25 uur

R_F nicotine: 0,46

R_F pyridinederivaat uit A-residu: 0,49 (gedefformeerd)

De twee systemen *b* en *e* werden gebruikt voor de papierchromatografische vergelijking van residu A (I) enerzijds en een mengsel van

residu A en nicotine (II) anderzijds. In beide systemen verscheen na inwerking van het KÖNIG-reagens in de baan van het mengsel (II) slechts één vlek, welke zich op dezelfde hoogte bevond als de ene vlek in de baan van residu A (I) en groter van oppervlak was.

Kleurreacties

a. *Reactie met gewijzigd DRAGENDORFF-reagens*

Hiervoor wordt verwezen naar HOOFDSTUK III.

b. *Reactie met KÖNIG-reagens*

De papierchromatogrammen werden, na ontwikkeld en gedroogd te zijn, bespoten met een 1%-ige alcoholische oplossing van *p*-aminobenzoëzuur, zoals aangegeven werd door LEISERSON en WALKER [52]. Vervolgens werd de strook weer gedroogd en daarna gehangen in een bak, welke gevuld was met broomcyaandamp. Na korte tijd werden de plaatsen, waar de pyridinederivaten zich bevonden, zichtbaar als oranje-kleurige vlekken tegen een witte achtergrond, welke vlekken echter weer vrij snel verdwenen.

... (faint, illegible text) ...

... (faint, illegible text) ...

... (faint, illegible text) ...

SAMENVATTING

Op grond van gegevens, verkregen bij de papierchromatografie, stelden wij vast, dat zich, onafhankelijk van de oogsttijd, tenminste zeven alkaloiden in de alcoholische extracten van *Sedum acre* L. bevonden.

Een van deze alkaloiden kon door sublimatie in hoogvacuum uit het ingedampde extract worden afgescheiden. Dit tot dan toe niet eerder aangetroffen alkaloid werd gelijktijdig en onafhankelijk ook door SCHÖPF en UNGER geïsoleerd en door hen sedridine genoemd.

Wat de optische activiteit betreft, werd door ons het volgende waargenomen: werden de planten terstond na de oogst snel *in vacuo* bij verhoogde temperatuur gedroogd, dan werd uitsluitend (+)-sedridine geïsoleerd, terwijl uit langzaam (ca. 2 mnd.) aan de lucht gedroogd plantenmateriaal een mengsel van (+)- en (±)-sedridine verkregen werd.

De constitutie van het sedridine werd opgehelderd. Het bleek te gaan om een der beide 2-(2'-hydroxypropyl)piperidinen.

Door middel van chromatografie over aluminiumoxyde werden nog twee alkaloiden in min of meer zuivere toestand in geringe hoeveelheid afgescheiden. Hun constitutie is nog onbekend. Van een van hen konden uit het infrarood-spectrum echter wel enige aanwijzingen dienaangaande verkregen worden.

Een reeds eerder door MARION uit *Sedum acre* geïsoleerd alkaloid, het sedamine [1-methyl-2-(2'-hydroxy-2'-phenylaethyl)piperidine], waarvan hij de constitutie ophelderde, doch waarvan hij geen optische draaiing vermeldde, kon door ons met behulp van chromatografie over aluminiumoxyde in optisch redelijk zuivere toestand afgezonderd worden.

De resultaten van het papierchromatografisch onderzoek naar nicotine kunnen gezien worden als een aanwijzing voor het voorkomen van dit alkaloid in ons plantenmateriaal.

SUMMARY

On account of data obtained by paper chromatography, we ascertained that there were at least seven alkaloids in the alcoholic extracts of *Sedum acre* L., independent of the harvest-time.

By sublimation in high vacuum one of these alkaloids could be separated from the concentrated extract.

This alkaloid not found before was simultaneously and independently isolated by SCHÖPF and UNGER and called sedridine by them.

As far as the optical activity is concerned, the following was observed by us: if the plants were dried quickly *in vacuo* at increased temperature immediately after harvesting, exclusively (+)-sedridine was isolated, whereas a mixture of (+)- and (\pm)-sedridine was obtained from plant material that was slowly (about 2 months) dried in the air.

The constitution of sedridine was elucidated. It was found to be one of the two 2-(2'-hydroxypropyl)piperidines.

By means of chromatography on aluminium oxide two other alkaloids were separated in a small quantity in more or less pure condition. Their constitution is still unknown. Some information on the constitution of one of them could, however, be deduced from the infra-red spectrum.

An alkaloid isolated already at an earlier date by MARION from *Sedum acre*, sedamine [1-methyl-2-(2'-hydroxy-2'-phenylethyl)piperidine], whose constitution he proved, but whose optical rotation he did not mention, could be separated by us in optically reasonably pure condition with the aid of chromatography on aluminium oxide.

The results of the paper chromatographic tests on the presence of nicotine may be considered as an indication that this alkaloid occurred in our plant material.

LITERATUUR

1. E. MYLIUS, Arch. Pharm. **201**, 97 (1872).
2. D. G. KOLESNIKOV en A. G. SHVARTSMAN, J. Gen. Chem. (USSR) **9**, 2156 (1939); Chem. Zentr. **1940**, I, 3113; Chem. Abstr. **34**, 4072 (1940).
3. L. MARION, Can. J. Research **23B**, 165 (1945).
4. L. MARION, R. LAVIGNE en L. LEMAY, Can. J. Chem. **29**, 347 (1951).
5. L. MARION en M. CHAPUT, Can. J. Research **27B**, 215 (1949).
6. A. NORDAL, A pharmacognostical study of *Sedum acre* L., Johan Grundt Tanum Forlag, Oslo, 1946; Chem. Abstr. **44**, 3216 (1950).
7. C. SCHÖPF en R. UNGER, Experientia **12**, 19 (1956).
8. H. C. BEYERMAN en YVONNE M. F. MULLER, Rec. trav. chim. **74**, 1568 (1955).
9. B. FRANCK, Angew. Chem. **70**, 269 (1958).
10. B. FRANCK, Ber. **91**, 2803 (1958); Ber. **92**, 1001 (1959).
11. H. WIELAND, W. KOSCHARA, E. DANE, J. RENZ, W. SCHWARZE en W. LINDE, Ann. **540**, 103 (1939).
12. H. C. BEYERMAN, J. EENSHUISTRA en W. EVELEENS, Rec. trav. chim. **76**, 415 (1957).
13. H. C. BEYERMAN, J. EENSHUISTRA, W. EVELEENS en A. ZWEISTRA, Rec. trav. chim. **78**, 43 (1959).
14. C. SCHÖPF, TH. KAUFFMANN, P. BERTH, W. BUNDSCHUH, G. DUMMER, H. FETT, G. HABERMEHL, E. WIETERS en W. WÜST, Ann. **608**, 88 (1957).
15. E. WERLE en H. W. BECKER, Biochem. Z. **313**, 182 (1942).
16. R. MUNIER, Bull. soc. chim. France **1952**, 852.
17. J. P. WIBAUT, H. C. BEYERMAN en P. H. ENTHOVEN, Rec. trav. chim. **73**, 102 (1954).
18. U. HOLLSTEIN, Diss., Amsterdam 1956.
19. R. MUNIER en M. MACHEBOEUF, Bull. soc. chim. biol. **31**, 1144 (1949) en **33**, 846 (1951).
20. K. LÖFFLER en R. TSCHUNKE, Ber. **42**, 929 (1909).
21. H. BROCKMANN en H. SCHODDER, Ber. **74**, 73 (1941).
22. J. M. H. FORTUIN, Diss., T.H. Delft 1955.
23. A. LADENBURG, Ann. **301**, 117 (1898).
24. K. LÖFFLER, Ber. **42**, 948 (1909).
25. K. HESS, C. UIBRIG en A. EICHEL, Ber. **50**, 344 (1917).
26. J. MEISENHEIMER en E. MAHLER, Ann. **462**, 301 (1928).
27. K. HESS en R. GRAU, Ann. **441**, 101 (1925).

28. *Organic Synthesis* **23**, 83 (1943).
29. V. L. FRAMPTON, J. D. EDWARDS Jr. en H. R. HENZE, *J. Am. Chem. Soc.* **73**, 4432 (1951).
30. A. LADENBURG, *Ann.* **301**, 117 (1898).
31. K. HESS, *Ber.* **53**, 129 (1920)
32. *Organic Synthesis*, Coll. Vol. I, 145 (1956).
33. H. BAURATH, *Ber.* **20**, 2719 (1887).
34. H. BAURATH, *Ber.* **21**, 818 (1888).
35. G. H. LÉNART, *Ann.* **410**, 95 (1915);
B. D. SHAW en E. A. WAGSTAFF, *J. Chem. Soc.* **1933**, 77;
M. C. CHIANG en W. H. HARTUNG, *J. Org. Chem.* **10**, 21 (1945);
C. E. KASLOW en R. D. STAYNER, *J. Am. Chem. Soc.* **67**, 1716 (1945).
36. J. W. BLOOD en B. D. SHAW, *J. Chem. Soc.* **1930**, 504.
37. G. SCHEUING en L. WINTERHALDER, *Ann.* **473**, 126 (1929).
38. H. C. BEYERMAN, W. EVELEENS en YVONNE M. F. MULLER, *Rec. trav. chim.* **75**, 63 (1956).
39. J. STANĚK, J. HEBKÝ en V. ZVĚŘINA, *Collection Czechoslov. Chem. Commun.* **18**, 679 (1953); *Chem. Abstr.* **47**, 12378ⁱ (1953).
40. R. LUKEŠ, J. KOVÁŘ en K. BLÁHA, *Chem. Listy* **50**, 264 (1956); *Collection Czechoslov. Chem. Comm.* **21**, 1475 (1956).
41. D. R. HOWTON en D. R. V. GOLDING, *J. Org. Chem.* **15**, 1 (1950).
42. E. BERGMANN en W. ROSENTHAL, *J. Prakt. Chem.* **135**, 267 (1932).
43. A. MATZDORFF, *Ber.* **23**, 2709 (1890).
44. K. LÖFFLER en PH. PLÖCKER, *Ber.* **40**, 1310 (1907).
45. J. P. WIBAUT en C. C. KLOPPENBURG, *Rec. trav. chim.* **65**, 100 (1946);
C. C. KLOPPENBURG, *Diss.*, Amsterdam, 1946.
46. W. KÖNIG, *J. Prakt. Chem.* **69**, 105 (1904).
47. J. W. KULIKOW en T. N. KRESTOWOSDWIGENSKAJA, *Z. anal. Chem.* **79**, 454 (1930).
48. F. FEIGL, *Spot tests in organic analysis*, Elsevier Publishing Comp. 5th ed. 1956.
49. R. H. F. MANSKE en H. L. HOLMES, *The Alkaloids*, Acad. Press Inc. New-York 1950.
50. W. RUHLAND, *Handbuch der Pflanzenphysiologie*, Band VIII, Springer Verlag 1958.
51. L. H. FIKENSCHER, *Pharm. Weekblad* **93**, 932 (1958).
52. L. LEISERSON en TH. B. WALKER, *Anal. Chem.* **27**, 1129 (1955).

STELLINGEN

I

Bij de verklaring van het optreden van stabilisatie door hyperconjugatie wordt ten onrechte geen rekening gehouden met het bestaan van Van der Waals-London-krachten.

II

De conclusie van WALLIS en ADAMS betreffende het sterisch verloop van de reactie van optisch actief 1.2-diphenylaethylbromide met natrium berust op een onvolledige interpretatie van de reactie.

E. S. WALLIS en F. H. ADAMS, *J. Am. Chem. Soc.* **55**, 3838 (1933).

III

Tegen het door ARNOLD en BARNES voorgestelde mechanisme van de Jacobsen-reactie kunnen bedenkingen aangevoerd worden.

R. T. ARNOLD en R. A. BARNES, *J. Am. Chem. Soc.* **66**, 960 (1944).

IV

De door HIDEMASA HONDA gesuggereerde methode ter classificatie van koolwaterstoffen aan de hand van de „magnetic correlation index (M.I.)” bezit geen algemene geldigheid.

HIDEMASA HONDA, *Nenryo Kyokai - Shi (J. of the Fuel Society of Japan)* **32** (316) 447-460, Augustus 1953.

V

Het verdient aanbeveling in het algemeen de infrarood-spectra van organische stoffen, waarbij in beginsel het optreden van een racemische verbinding mogelijk is, in oplossing op te nemen.

VI

De mening van CLUSIUS, dat thermodiffusiefactoren nauwkeuriger met een „Trennschaukel” dan met een zogenaamde twee-bollen apparatuur gemeten kunnen worden, is niet geheel juist.

K. CLUSIUS en M. HUBER, *Z. Naturforschg.* **10a**, 230 (1955).

VII

Het verdient aanbeveling in onzuivere suikeroplossingen de concentratie te karakteriseren met behulp van fysische constanten, welke exact bepaald kunnen worden. De term °Brix is verwarrend.

H. BREITUNG, *Z. Zuckerindustrie* **81**, 185 (1956).

VIII

In de diffusietoren volgens HILDEBRANDT treedt mechanische beschadiging van het beetwortelsnijdsel op. De door de Raffinerie Tirllemontoise ontworpen extractie-apparatuur heeft deze bezwaren niet.

R. A. MCGINNIS, Beetsugar-Technology, Reinhold Publishing Corp. New-York (1951).

IX

De conclusie, welke TURKEVICH en HILLER uit hun proeven over de oxydatie van een tweetal racemische mengsels van koolwaterstoffen door *Bacterium aliphaticum* trekken, is aan kritiek onderhevig.

J. TURKEVICH en L. A. HILLER Jr., J. Am. Chem. Soc. **68**, 530 (1946).

X

De waarde van de methode voor quantitative scheiding van normale en vertakte aliphatische koolwaterstoffen door middel van ureum- en thiouream insluitverbindingen wordt in vele gevallen beperkt door het optreden van wederzijdse beïnvloeding der componenten en door uitwendige factoren.

XI

Het verdient aanbeveling te komen tot internationaal aanvaarde symbolen voor de decimale en natuurlijke logaritmie.

XII

De opvatting van SCHÖPF en UNGER betreffende het bestaan van physiologische variëteiten van *Sedum acre* L. is aanvechtbaar.

C. SCHÖPF en R. UNGER, *Experientia* **12**, 19 (1956).

XIII

De veronderstelling, dat lysine in de tabaksplant bij de biosynthese van de pyridinekern in nicotine als „precursor” fungeert, is hoogstwaarschijnlijk onjuist.

R. ROBINSON, *The Structural Relations of Natural Products*. Oxford Univ. Press. London 1955.

E. LEETE, J. Am. Chem. Soc. **78**, 3520 (1956).

A. A. BOTHNER-BY, R. F. DAWSON en D. R. CHRISTMAN, *Experientia* **12**, 151 (1956).

J. GRIMSHAW en L. MARION, *Nature* **181**, 112 (1958).