

Die beim Erkalten auskrystallisierte Verbindung bildet gelbliche Nadeln, die sich bei ca. 290° (unkorr.) zersetzen. Ausbeute 0,86 g. Schwer löslich in Alkohol, Benzol und Aceton, gut löslich in Pyridin und Dioxan. Die Thiazolverbindung krystallisiert aus Dioxan mit 2 Mol Krystall-dioxan, aus Pyridin mit 2 Mol Krystall-pyridin.

Substanz aus Alkohol umkrystallisiert, im Hochvakuum getrocknet:

$C_{18}H_{12}O_6N_2S_2$ (416,1)	Ber. C 51,91	H 2,90	N 6,72%
	Gef. ,, 52,06	,, 3,20	,, 6,53%

Substanz aus Dioxan krystallisiert:

$C_{18}H_{12}O_6N_2S_2 \cdot 2 C_4H_8O_2$ (592,1)	Ber. C 52,69	H 4,75%
	Gef. ,, 53,05	,, 4,87%

Substanz aus Pyridin krystallisiert:

$C_{18}H_{12}O_6N_2S_2 \cdot 2 C_5H_5N$ (574,2)	Ber. C 58,49	H 3,86	N 9,74%
	Gef. ,, 58,05	,, 3,82	,, 9,56%

4,4'-Di-[p-methoxyphenyl]-dithiazolyl-2,2' (Formel IV).

Man erhitzte 1,2 g Rubeanwasserstoff und 3,6 g  $\omega$ -Chlor-4-methoxy-acetophenon in 20 cm<sup>3</sup> Alkohol 4 Stunden zum Sieden. Dabei fielen gelbliche Nadeln aus, die man von der noch heissen Lösung abfiltrierte. Sie wurden aus viel kochendem Benzol umkrystallisiert.

In der Verbindung liegt das 4,4'-Di-[p-methoxyphenyl]-dithiazolyl-2,2' vor, das bei ca. 264° (unkorr.) unter Zersetzung schmilzt. Es ist in Alkohol äusserst schwer löslich; von konz. Schwefelsäure wird es mit schwach gelber Farbe gelöst; die Lösung fluoresziert im Ultraviolettlicht blau.

$C_{20}H_{16}O_2N_2S_2$ (380,1)	Ber. C 63,14	H 4,24	N 7,36	S 16,83%
	Gef. ,, 63,05	,, 4,30	,, 7,31	,, 17,0 %

Zürich, Chemisches Institut der Universität.

## 152. Über Curare-Alkaloide aus Calebassen.

II. Mitteilung

von H. Schmid und P. Karrer.

(10. VI. 47.)

In der ersten Mitteilung<sup>1)</sup> haben wir über die Isolierung von wirksamen Curare-Alkaloiden aus einem Calebassenmaterial berichtet, welches uns die chemische Fabrik *F. Hoffmann-La Roche* (Basel) in dankenswerter Weise zur Verfügung gestellt hat. Als Hauptalkaloid haben wir dabei das C-Curarin I [ $C_{20}H_{21}N_2$ ]<sup>+</sup>X<sup>-</sup>. (H<sub>2</sub>O) neben dem bisher unbekanntem Calebassin [ $C_{20}H_{25}ON_2$ ]<sup>+</sup>X<sup>-</sup> und den in sehr geringen Mengen auftretenden Curare-Alkaloiden A und B in krystallisiertem Zustand erhalten können. In der vorliegenden Mitteilung berichten wir über die weitere Aufarbeitung dieses Materials.

Zunächst konnten wir von dem Alkaloid A noch eine geringe Menge in reiner Form abtrennen. Seine Analysen stimmen auf die Formel [ $C_{20}H_{23}ON_2$ ]<sup>+</sup>Cl<sup>-</sup> ·  $\frac{1}{2}$ H<sub>2</sub>O; es ist deshalb isomer mit dem Toxi-

<sup>1)</sup> Helv. 29, 1853 (1946).

ferinchlorid<sup>1)</sup>, dem C-Curarin-I<sup>2)</sup>- und dem C-Curarin-III-chlorid<sup>3)</sup>. Von diesen Alkaloiden unterscheidet es sich aber deutlich durch seine Curare-Wirksamkeit von 0,05—0,07 mg/kg Frosch; während die erwähnten isomeren Verbindungen die folgenden Aktivitäten (Grenzdosis) zeigen: 0,009 und 0,1 mg/kg Frosch. C-Curarin III ist mit 15mg/kg Frosch fast unwirksam. Auch in den Farbreaktionen mit Mineralsäuren und Oxydationsmitteln sind deutliche Unterschiede erkennbar. Das Alkaloid A besitzt ferner ein charakteristisches UV-Absorptionsspektrum, welches sich mit keinem der bisher aufgenommenen UV-Spektren der Calebassenalkaloide zur Deckung bringen lässt. (Fig. 1)<sup>2)</sup>. Leider war bisher eine eingehendere Untersuchung der geringen Substanzmenge wegen nicht möglich.

Aus den oberen Zonen des Reineckat-Chromatogramms konnten wir ferner noch etwa 500 mg des in Aceton schwer löslichen Calebassinpikrates abtrennen; das Calebassin ist nun in den von uns untersuchten Calebassen neben dem C-Curarin I als zweites Hauptalkaloid anzusprechen.

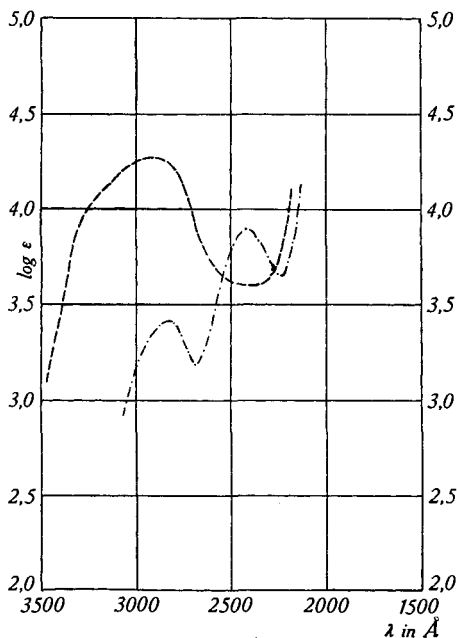


Fig. 1.

----- C-Toxiferin I in Wasser.  $\epsilon$ -Werte mit  $MG = 351,7$  berechnet.  
 - - - - Alkaloid A in Wasser.  $\epsilon$ -Werte mit  $MG = 380,7$  berechnet.

1) H. Wieland, K. Bähr und B. Witkop, A. 547, 156 (1941).

2) Helv. 29, 1853 (1946).

3) H. Wieland, H. J. Pistor und K. Bähr, A. 547, 140 (1941).

Schliesslich liess sich, leider nur in einer Menge von etwa 15 mg, ein fünftes Alkaloid isolieren, das sich von allen bisher bekannten Calebassen-Alkaloiden durch seine grosse Toxicität auszeichnet. Die Analyse des 2mal aus Alkohol umkrystallisierten Chlorides spricht für die Formel  $[C_{20}H_{23}ON_2]^+Cl^-$ . Der Schmelzpunkt des einmal aus Aceton-Wasser umkrystallisierten Pikrates lag bei  $265^0$  unter Dunkel-färbung. Dieser Schmelzpunkt ist noch nicht ganz sicher, da bisher sehr wenig Material zur Verfügung stand. Das neue Alkaloid besitzt ein UV-Absorptionsspektrum (Fig. 1), das mit demjenigen des Alkaloids „B“<sup>1)</sup> eine grosse Ähnlichkeit aufweist. Dass aber die beiden Alkaloide verschieden sind, ergibt sich einmal aus der ganz verschiedenen Lage ihrer Reineckate im Chromatogramm und zweitens aus dem Unterschied ihrer Wirksamkeiten: Das Alkaloid „B“<sup>2)</sup> ist mit seiner Grenzdosis von 0,03—0,05 mg/kg Frosch etwa 6—10mal schwächer wirksam als der neue Inhaltstoff.

Die wichtigsten Eigenschaften des neuen Alkaloids sind in den nachfolgenden Tabellen zusammengestellt. Wie man sieht, besteht in vieler Hinsicht eine gute Übereinstimmung der Eigenschaften mit denjenigen des Toxiferins I, welches im Jahr 1941 von *H. Wieland* und Mitarbeitern<sup>2)</sup> aus der Rinde von *Strychnos toxifera* isoliert worden ist. Einzig in den, allerdings wenig ausgeprägten Halochromiefärbungen mit Mineralsäuren bestehen Unterschiede. Trotzdem ist es unserer Ansicht nach sehr wahrscheinlich, dass die beiden Alkaloide

	Farbreaktion mit			
	konz. HNO <sub>3</sub>	konz. HCl	konz. H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	50-proz. H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>
Toxiferin I Alk. aus Calebasse	braungrün schwach- braun	farblos schwach- gelb	farblos schwach- gelbbraun	gelbrot gelb- orange
	K <sub>2</sub> Cr <sub>2</sub> O <sub>7</sub>	Cer(IV)-sulfat		
Toxiferin I Alk. aus Calebasse	karmin karmin	karmin		
	Brutto- formel	Smp. des Pikrates	Curare-Wirkung (Grenzdosis) bezogen auf 35 g Froschgew. 1 kg Froschgew.	
Toxiferin I Alk. aus Calebasse	C <sub>20</sub> H <sub>23</sub> ON <sub>2</sub> <sup>+</sup> Cl <sup>-</sup>	270 <sup>0</sup>	0,3 γ	0,009 mg
	C <sub>20</sub> H <sub>23</sub> ON <sub>2</sub> <sup>+</sup> Cl <sup>-</sup>	265 <sup>0</sup>	0,2 γ	0,005 mg*)

\*) Da die Frösche je nach Herkunft und klimatischen Bedingungen verschieden auf die Alkaloide ansprechen, werden die Werte stets mit einem Standardpräparat verglichen. So gab z. B. dieses Alkaloid Werte von 0,005 mg/kg Frosch und 0,009 mg/kg Frosch. Im letzten Fall war aber die Empfindlichkeit der Frösche nur halb so gross als im ersten.

<sup>1)</sup> Helv. **29**, 1853 (1946).

<sup>2)</sup> *H. Wieland, K. Bähr und B. Witkop, A. 547*, 156 (1941).

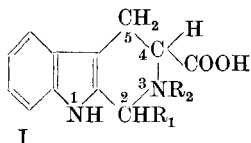
identisch sind. Für diese Ansicht spricht vor allem die einzig dastehende hohe Giftwirkung. Wir möchten daher das Calebassen-Alkaloid als C-Toxiferin I bezeichnen.

Weitere Halochromiereaktionen des C-Toxiferins I sind im experimentellen Teil angeführt.

Das C-Toxiferin I gibt, in konz. Schwefelsäure gelöst, auf Zusatz von festem Eisen(III)-chlorid oder Kaliumhexacyanoferrat(III) eine intensive blaue Farbreaktion, während mit Natriumnitrit zuerst eine rotviolette Farbe auftritt, die später in blauviolett übergeht. Alle anderen von uns isolierten Calebassenalkaloide geben diese Reaktionen nicht. Diese Farbreaktionen bilden daher einen empfindlichen Nachweis des C-Toxiferins I. Die ebenso empfindliche Cer(IV)-sulfat-Farbreaktion wird auch von den anderen Alkaloiden gegeben.

Es sei noch bemerkt, dass die beiden Farbreaktionen offenbar auf verschiedene Gruppierungen der C-Toxiferin I-Molekel ansprechen. Die Färbung mit Eisen(III)-chlorid-Schwefelsäure verblasst nach längerem Stehen fast vollständig, und die Farbe tritt auf erneuten Zusatz von Eisen(III)-chlorid nicht mehr auf. Fügt man aber jetzt einige Tropfen einer Cer(IV)-sulfat-Lösung hinzu, so wird die Lösung intensiv carmin gefärbt.

Die Farbreaktion des C-Toxiferins I scheint in Verbindung zu stehen mit einer ähnlichen, von *Harvey, Miller* und *Robson*<sup>1)</sup> beobachteten Reaktion. Nach diesen Autoren geben 2,3,4,5-Tetrahydro- $\beta$ -carbolin-4-carbonsäure (I) und ihre Derivate mit konz. Schwefelsäure und Eisen(III)-chlorid eine blaue Färbung. Die Reaktion scheint ziemlich spezifisch zu sein, indem z. B. nicht hydrierte Carboline die Reaktion nicht mehr zeigen. Wir glauben darin für unsere Vermutung, dass die Calebassen-Alkaloide mit dem  $\beta$ -Carbolin verwandt sind, eine Stütze gefunden zu haben.



Das Toxiferin ist, soweit wir unterrichtet sind, das Alkaloid mit der stärksten bisher beobachteten pharmakologischen Wirkung. Das giftigste Alkaloid war früher das Aconitin mit einer letalen Dosis von 0,1 mg/kg Ratte (intraperitoneal injiziert)<sup>2)</sup> und etwa 12 mg beim Menschen. Unser, aus Calebassen isoliertes Alkaloid war mit 0,008—0,012 mg/kg Kaninchen (subcutan injiziert; zeitlose Beobachtung) letal wirksam; es ist also etwa 10mal giftiger als Aconitin.

<sup>1)</sup> Soc. **1941**, 153; Vgl. dazu auch *Helv.* **29**, 1856 (1946).

<sup>2)</sup> *J. G. Munch* und *G. S. Giltlinger*, *J. Am. Pharm. Assoc.* **18**, 17 (1929).

Eine ähnlich hohe Toxicität beim Kaninchen zeigte auch das Curare-Alkaloid „B“ mit einer letalen Dosis von 0,005—0,01 mg/kg, während es im Froschtest mit einer Grenzdosis von 0,03—0,05 mg/kg, wie erwähnt, 6—10mal schwächer wirksam war als das C-Toxiferin I. Die letale Dosis von C-Curarin I (Curare-Wirkung am Frosch 0,1 mg/kg) betrug 0,03 mg/kg Kaninchen.

Der genaue pflanzliche Ursprung des Calebassencurare ist bis heute immer noch nicht geklärt. Vor einiger Zeit haben *Wieland* und Mitarbeiter aus Pfeilgift-Calebassen das Toxiferin II [ $C_{20}H_{23}N_2$ ]X gewonnen und dasselbe Alkaloid später neben dem Toxiferin I, auch aus der Rinde von *Strychnos toxifera* isolieren können<sup>1)</sup>. Damit schien erwiesen, dass die Indianer zur Pfeilgiftbereitung die Rinde dieser Pflanze benützen. Gegen diese Annahme sprach aber die Tatsache, dass die Rinde von *Strychnos toxifera* kein C-Curarin I, ein durch seine charakteristischen Halochromiefärbungen leicht nachweisbares Hauptalkaloid der Calebassen, enthielt und dass andererseits das giftigste Alkaloid der Rinde, das Toxiferin I, nicht in Calebassen nachgewiesen werden konnte. Falls sich die sehr wahrscheinliche Annahme bestätigt, dass unser C-Toxiferin I mit dem *Wieland*'schen Alkaloid identisch ist, so hat der erwartete Zusammenhang eine starke Stütze gefunden. Es erscheint allerdings zweifelhaft, ob *Str. toxifera* die einzige Pflanze der Gattung *Strychnos* aus der Familie der Loganiaceen ist, die zur Herstellung von Calebassen-Curare dient.

Im folgenden berichten wir noch über einige Versuche mit dem Calebassin, von dem uns allerdings auch nur bescheidene Mengen zur Verfügung standen.

Das aus der Calebasse isolierte Pikrat lässt sich, wie schon früher beschrieben, an der mit Chlorionen beladenen Wofatit-M-Säule fast quantitativ in das Chlorid überführen. Dieses besitzt eine gewisse Ähnlichkeit mit der von *H. Wieland* und Mitarbeitern aus Calebassen isolierten Gruppe der Toxiferin II-Alkaloide, bei denen Toxiferin IIa durch Chromatographieren an Aluminiumoxyd unter Wirkungsschwächung in Toxiferin IIb umgelagert wird. Unser Calebassinchlorid liess sich dagegen an Aluminiumoxyd nicht isomerisieren. Das chromatographierte Calebassin gab ein mit dem Ausgangsmaterial identisches Pikrat, auch in der pharmakologischen Wirksamkeit (Grenzdosis 0,35 mg/kg Frosch) und im UV-Spektrum waren keine nennenswerte Unterschiede feststellbar.

Aus dem Chlorid gewannen wir noch das gut krystallisierte, in Wasser ziemlich schwer lösliche Jodid. Dessen Analysen bestätigten die für Calebassin aufgestellte Formel [ $C_{20}H_{25}ON_2$ ]<sup>+</sup>X<sup>-</sup>.

Weder das Chlorid noch das Jodid konnten in der beim C-Curarin I beschriebenen Weise in die Norbase übergeführt werden. Stets

<sup>1)</sup> *H. Wieland, K. Bähr und B. Witkop, A. 547, 156 (1941).*

trat dabei tiefgreifende Zersetzung ein. Die Nitrierung und Nitrosierung führten zu stark gefärbten amorphen Produkten. Hingegen liess sich das Calebassinchlorid glatt bromieren. Vermutlich wird dabei ein in der Molekel vorhandener Benzolring substituiert.

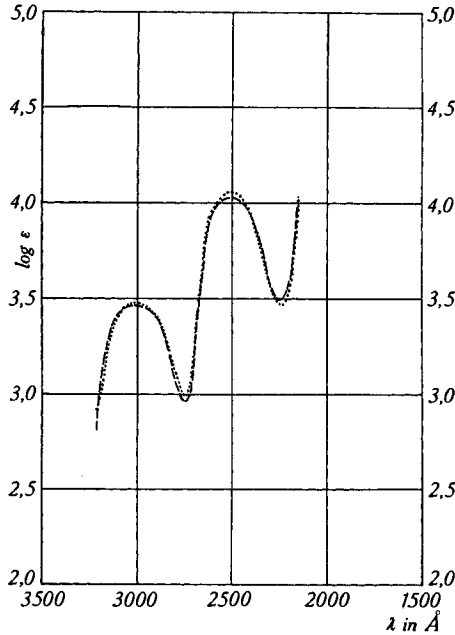


Fig. 2.

- Calebassin in Wasser.  $\epsilon$ -Werte mit  $MG = 380,7$  berechnet.  
 ..... Dihydro-calebassin in Wasser.  $\epsilon$ -Werte mit  $MG = 382,7$  berechnet.

C-Curarin I geht mit Barytlauge und Silberoxyd in eine dimere Base der Formel  $C_{40}H_{42}ON_4$  über. Das gleiche Verhalten konnten wir beim Calebassinchlorid feststellen. Neben einem festen, amorphen Produkt entstand die krystallisierte dimere, ditertiäre Base  $C_{40}H_{46}ON_4 \cdot H_2O$  nur in geringer Ausbeute. Beide Stoffe zeigten die für Calebassin charakteristische Rotfärbung mit konz. Salpetersäure nicht mehr, es trat nur eine schwache braun-grüne Farbreaktion auf. Hingegen sind die Färbungen mit Kaliumdichromat und Cer(IV)-sulfat unverändert erhalten.

Aus der amorphen Base entstand mit Methyljodid das Bijodmethylat  $[C_{40}H_{46}ON_4 \cdot (CH_3)_2]^{++}J_2^{--}$  als farbloses Pulver und daraus das pulvrige Pikrat  $[C_{40}H_{46}ON_4(CH_3)_2] \cdot [C_6H_2O_7N_3]_2$ . Die Farbreaktionen dieser Salze sind die gleichen wie bei der dimeren Ausgangsbasis.

Calebassinchlorid konnte mit Platinoxid in wässriger Lösung hydriert werden. Nach Aufnahme von etwa 1,1 Mol Wasserstoff liess sich in guter Ausbeute ein krystallisiertes Dihydro-calebassinchlorid

$[C_{20}H_{27}ON_2]^+Cl^-$  isolieren. Die Farbreaktionen sowie das UV-Absorptionsspektrum (Fig. 2) stimmten mit denjenigen des Ausgangsmaterials überein. Die Wasserstoffaufnahme lässt sich, wenn auch bedeutend langsamer, weitertreiben. Unter den höheren Hydrierungsprodukten fanden sich solche, die, wie das C-Toxiferin I, mit Schwefelsäure und Eisen(III)-chlorid eine blaue Farbreaktion gaben.

Das weitere Studium dieser interessanten Reaktionen muss bis zur Beschaffung von neuen Curare-Alkaloiden zurückgestellt werden.

### Experimenteller Teil.

Weitere Aufarbeitung des „ersten Reineckat-Chromatogramms“ mit den Fraktionen S II—S VI.

1. Die Fraktion S II (2,72 g) hat man in 30 cm<sup>3</sup> Aceton und 10 cm<sup>3</sup> Wasser gelöst und mit 85 cm<sup>3</sup> einer heissen Silbersulfatlösung (1,90 g Ag<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> in 250 cm<sup>3</sup> Wasser) tropfenweise versetzt. Das ausgeschiedene Silberreineckat wurde abzentrifugiert, mit Wasser gut nachgewaschen und die vereinigten Lösungen mit 18 cm<sup>3</sup> einer Bariumchloridlösung (5,954 g BaCl<sub>2</sub>·2 H<sub>2</sub>O in 200 cm<sup>3</sup> Wasser) versetzt. Nach längerem Stehen trennte man vom Bariumsulfat ab und dampfte das Filtrat bei 35° (Badtemperatur) im Vakuum ein. Das mit Äther ausgekochte und getrocknete Chlorid (SS II) wog 1,212 g.

Da direkte Krystallisationsversuche mit diesem Salz scheiterten, führte man die gesamte Fraktion SS II durch Fällen mit überschüssiger, wässriger Pikrinsäurelösung in die Pikrate über. Diese wurden nach dem sorgfältigen Waschen, zuerst mit Pikrinsäurelösung und dann mit Wasser, gut getrocknet und öfters mit Äther ausgekocht. Beim Lösen in wenig Aceton und Abkühlen trat teilweise Krystallisation ein (385 mg). Weitere 10 mg liessen sich noch aus der eingeengten Mutterlauge gewinnen.

Die 395 mg Pikrate löste man zur Reinigung zweimal aus Aceton unter Benützung eines Soxhlet-Apparates um. Smp. (unter dem Mikroskop) 189—191°. Im Gemisch mit authentischem Calebassinpikrat (Smp. 193—195°) lag der Smp. bei 189—192°. Auch die Farbreaktion mit konz. Salpetersäure und die biologische Aktivität (0,45 mg/kg Frosch) spricht für die Identität mit Calebassin.

Die Mutterlauge des krystallisierten Calebassinpikrates haben wir, wie früher beschrieben, an einer mit Cl-Ionen beladenen Wofatit-M-Säule (23,0 × 3,0 cm) in das Chlorid zurückverwandelt (0,73 g). Man nahm in wenig absolutem Methanol auf und trennte durch vorsichtige Zugabe von absolutem Äther eine dunkle, schwerlösliche Fraktion ab. (Aktivität = 0,02 mg/kg Frosch). Aus der Lösung (LSN II) liess sich trotz vieler Versuche keine krystallisierte Verbindung gewinnen. (Aktivität = 0,025 mg/kg Frosch.)

Man nahm deshalb die Fraktion LSN II in 12 cm<sup>3</sup> absolutem Alkohol auf, versetzte mit 30 cm<sup>3</sup> trockenem Aceton und chromatographierte an Aluminiumoxyd (17,0 × 2,2 cm). Die nach dem Waschen mit Aceton-Alkohol (6:1) erhaltenen Durchlaufaktionen (20 und 30 cm<sup>3</sup>) wurden, da Krystallisationsversuche ergebnislos waren, vereinigt und im Vakuum eingedampft. Nach dem Lösen in wenig Wasser und Filtrieren versetzte man mit einer bei 30—40° gesättigten wässrigen Lösung von Methylorange in geringem Überschuss. Nach dem Erkalten wurde abzentrifugiert und gründlich mit Wasser nachgewaschen. Das getrocknete Helianthat kochte man zur Reinigung mehrmals mit Äther und Aceton aus. Es stellte ein gelbrotes Pulver dar, liess sich aber nicht in krystalliner Form gewinnen. Die wirksame Grenzdosierung betrug 0,1—0,05 mg/kg Frosch, woraus sich für das Chlorid ein Wert von etwa 0,05—0,025 mg/kg Frosch errechnen lässt.

Zur Analyse wurde 20 Stunden bei 100° über P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> im Hochvakuum getrocknet.

$C_{20}H_{23}ON_2 \cdot C_{14}H_{14}O_3N_3S \cdot H_2O$ (629,42)	Ber. C 64,82	H 6,25	N 11,13	S 5,09%
	Gef. „ 65,09	„ 6,19	„ 11,16	„ 4,99%

„Helianthat SN II“

Auch das Perchlorat dieser Base liess sich nicht krystallisieren.

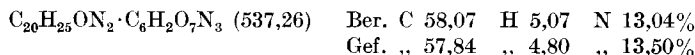
2. Die Fraktionen S III—S VI hat man, zusammen mit den entsprechenden Fraktionen eines kleinen Vorversuches vereinigt (10,44 g), in Aceton gelöst und von graubraunen Zersetzungsprodukten (1,2 g) abgetrennt. Die Reineckatlösung wurde nun auf eine Aluminiumoxyd-Säule (48 × 4,0 cm<sup>3</sup>) gegossen und mit Aceton nachgewaschen. Man setzte das Entwickeln mit Aceton so lange fort, bis sich die Mischzone I sowie der Hauptteil der Fraktion Ia im Filtrat befanden. Die Säule wurde dann entsprechend der Zonenausbildung zerschnitten und, wie in der ersten Mitteilung beschrieben, weiter vorgegangen.

## Chromatogramm.

oben	braun	N. Cr. VIII . . . .	0,409 g
	gelb	N. Cr. VII . . . .	0,252 g
	taubengrau	N. Cr. VI . . . .	0,574 g
	schwachrosa	N. Cr. V . . . .	0,249 g
	Mischzone	N. Cr. IV . . . .	1,09 g + 1,66 g
	gelbbraun	N. Cr. III . . . .	0,49 g
	rot	N. Cr. II . . . .	0,507 g
	rosa	N. Cr. Ia . . . .	1,44 g
unten	Mischzone	N. Cr. I . . . .	0,34 g

## Fraktion Ia:

Aus dieser Fraktion gewannen wir nach der Zerlegung der Reineckate und Überführung in die Pikrate 313 mg Calebassinpikrat. Smp. nach dem Umkrystallisieren aus Aceton 190—192° (Zersetzung). Der Mischmp. mit Calebassinpikrat lag bei derselben Temperatur. Wirksame Grenzdosis: 0,25 mg/kg Frosch.



## Fraktion II:

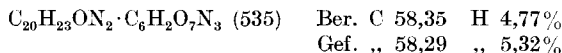
Diese Fraktion haben wir in wässrig-acetonischer Lösung mit 18 cm<sup>3</sup> Silbersulfat und 4,0 cm<sup>3</sup> Bariumchloridlösung in die Chloride übergeführt. Diese liessen sich zum Teil aus absolutem Alkohol und wenig Äther krystallisieren. Nach nochmaligem Umkrystallisieren aus absolutem Alkohol erhielt man nach dem Stehen im Kälteschrank das C-Toxiferin I-chlorid in Form schöner, kleiner Prismen. Ausbeute etwa 15 mg.

Zur Analyse wurde mehrere Stunden bei 100° im Hochvakuum über P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> getrocknet.



Die wirksame Grenzdosis am Frosch betrug 0,005 mg/kg. Die letale Dosis am Kaninchen, bei zeitloser Beobachtung und intravenöser Injektion geprüft, betrug 0,008–0,012 mg/kg. Farbreaktionen siehe theoretischer Teil. Das in üblicher Weise gewonnene Pikrat schmolz nach einmaligem Umlösen aus wässrigem Aceton bei 265° (Zersetzung).

Zur Analyse wurde wie oben bei 100° getrocknet.



## Fraktion III:

Aus dieser Fraktion konnten wir in der bei Fraktion II beschriebenen Weise noch etwa 8 mg C-Toxiferin I-chlorid gewinnen. Die Farbreaktionen waren mit dem ersten Produkt identisch, und die Wirksamkeit betrug 0,0045 mg/kg Frosch. Eine Probe in konz. Schwefelsäure gelöst gibt auf Zusatz von Eisessig zuerst eine gelb-orange, dann schwach rotviolette und mit viel Eisessig fast wieder farblose Lösung.



## Fraktion IV:

Aus dieser Fraktion konnte bisher noch kein kristallisiertes Alkaloid gewonnen werden. Ein aus Wasser umgelöstes Jodid (Jodid  $H_1/IV$ ) war amorph, es zeigte die folgenden Farbreaktionen:

mit Cer(IV)-sulfat oder Dichromat:	intensiv rotviolett
mit konz. Salzsäure:	keine
mit konz. Schwefelsäure:	bräunlich
mit konz. Salpetersäure:	rotbraun

Die Wirksamkeit des Jodides betrug 0,3 mg/kg Frosch.

Die übrigen Fraktionen hinterliessen nach der Überführung in die Chloride nur sehr wenig eines meist dunkelbraun gefärbten Pulvers. Sie wurden deshalb nicht mehr weiter untersucht.

## Versuche mit dem Calebassin.

Da das Calebassin mit den Alkaloiden der Toxiferin II-Gruppe Ähnlichkeit besitzt, haben wir sein Verhalten gegenüber Aluminiumoxyd noch näher untersucht:

Das Chlorid, aus 200 mg Pikrat durch Zerlegen an der Wofatitsäule hergestellt, haben wir in 10 cm<sup>3</sup> absolutem Alkohol und 40 cm<sup>3</sup> Aceton gelöst und durch eine Säule von Aluminiumoxyd (*Brockmann*) (10 × 1,3 cm) filtriert. Man wusch so lange mit Alkohol: Aceton (1:10) nach, bis die Cer(IV)-sulfatreaktion im Filtrat fast negativ geworden war.

Nach dem Eindampfen des Lösungsmittels führte man den Rückstand sogleich in das Pikrat über, welches aus Aceton umkristallisiert wurde (101 mg); Smp. 191–192° (Zers.). Der Mischschmelzpunkt mit authentischem Calebassinpikrat zeigte keine Erniedrigung (Schmelzpunkt unter dem Mikroskop bestimmt).

Als man das Pikrat wieder an der Wofatit-M-Säule zerlegte, erhielt man das kristallisierte Calebassinchlorid: Das UV-Spektrum und die pharmakologische Aktivität (0,35 mg/kg Frosch) zeigten im Vergleich mit denjenigen des Calebassinchlorids praktisch keinen Unterschied. Auch die Farbreaktionen waren identisch.

Eine Probe wurde 6 Wochen über  $P_2O_5$  im Hochvakuum aufbewahrt.

$C_{20}H_{25}ON_2Cl \cdot H_2O$ (362,70)	Ber. C 66,17	H 7,51	N 7,74%
	Gef. ,, 65,63	,, 7,36	,, 8,01%

Eine Isomerisierung des Calebassins hat also an Aluminiumoxyd nicht stattgefunden.

## Bromierung von Calebassin-chlorid.

32,0 mg des Chlorides gelöst in 0,3 cm<sup>3</sup> Wasser wurden mit 15,6 mg Brom (1,15 Mol) in 1,25 cm<sup>3</sup> Wasser versetzt. Es bildete sich zunächst ein Perbromid, das nach kurzem Schütteln wieder in Lösung ging. Die Lösung brachte man dann im Exsikkator zur Trockene und kristallisierte den Rückstand aus Methanol-Äther um. Das Produkt war mit 0,75 mg/kg Frosch aktiv. Das Produkt stellte ein Gemisch aus viel Mono- und wenig Dibromsubstitutionsprodukt dar, wie aus der Analyse des aus Aceton umkristallisierten Pikrates hervorging:

$C_{20}H_{24}ON_2Br \cdot C_6H_2O_7N_3$ (616,18)	Ber. C 50,68	H 4,25%
	Gef. ,, 48,59	,, 3,82%

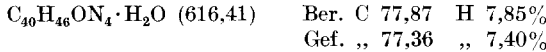
## Calebassinjodid.

70 mg Calebassinchlorid in 0,5 cm<sup>3</sup> Wasser wurden mit 80 mg Kaliumjodid in 0,6 cm<sup>3</sup> Wasser versetzt. Das amorphe Jodid saugte man nach längerem Stehen im Eisschrank ab und wusch mit wenig Eiswasser sorgfältig nach. Nach dem Trocknen kristallisierte man zweimal aus Methanol-Äther um, woraus das Calebassinjodid in Form schöner, farbloser Plättchen herauskam. Zur Analyse trocknete man bei 110–120° im Hochvakuum über  $P_2O_5$  bis zur Gewichtskonstanz.

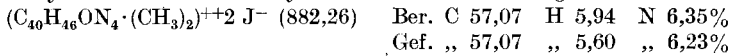
$C_{20}H_{25}ON_2 \cdot J + H_2O$ (454,15)	Ber. C 52,85	H 5,99	N 6,18%
	Gef. ,, 52,80	,, 5,77	,, 6,16%

Dimere tertiäre Base aus Calebassinchlorid.

Man schüttelte 90,9 mg Calebassinchlorid in 4 cm<sup>3</sup> kalt gesättigter Barytlauge mit 200 mg frisch gefälltem Silberoxyd in 2 cm<sup>3</sup> Barytlauge. Nach 5 Minuten filtrierte man ab und wusch mit Wasser, dem 1 Tropfen der Barytlauge zugesetzt worden war, sorgfältig nach. Nach dem Eindampfen im Exsikkator zog man den Rückstand unter Kohlendioxydausschluss so lange mit heissem Chloroform aus, bis dieses mit Cer(IV)-sulfatlösung keine Farbreaktion mehr gab. Nach dem Abdampfen des Lösungsmittels wurde erneut in wenig Chloroform aufgenommen, filtriert und vorsichtig mit Methanol versetzt. Im Eischrank krystallisierten nach längerer Zeit etwa 15 mg der dimeren Base aus, die bei 100° wie üblich getrocknet, zur Analyse gelangten. Beim Erhitzen beobachtete man ab 220° Dunkelfärbung ohne Schmelzen.



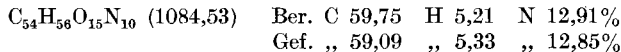
Die Base gab mit Cer(IV)-sulfat die gleiche Farbreaktion wie das Ausgangsmaterial, hingegen trat mit konz. Salpetersäure nur eine schwache braungrüne Farbreaktion auf. Aus der Mutterlauge konnten keine krystallisierten Anteile mehr erhalten werden. Man dampfte deshalb im Vakuum ein und liess die Substanz mit 1 cm<sup>3</sup> Methyljodid und 1 Tropfen Methanol 12 Stunden im Bombenrohr bei 30° stehen. Dann wurde noch 2 Stunden auf 60° erwärmt (Lichtausschluss!). Das nach dem Abdampfen des überschüssigen Methyljodids anfallende Pulver wurde 2-mal aus heissem Wasser umgelöst. Das anfallende, farblose Jodmethylat haben wir zur Analyse bei 100° zur Konstanz getrocknet.



Farbreaktionen:

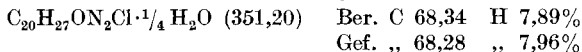
mit konz. Salpetersäure . . . . .	schwach braunrot, mit Wasser gelblich
mit Cer(IV)-sulfat in 2-n. Schwefelsäure	intensiv karmin
mit Dichromat . . . . .	man beobachtete zuerst eine Trübung, worauf die Lösung klar wurde und über rot in karmin übergang.

Das dimere Jodmethylat wurde wie üblich in das Pikrat umgewandelt und dieses zweimal aus Aceton-Wasser umgefällt. Zur Analyse wurde wie oben verfahren. Im Smp.-Apparat erhitzt, zeigte es ab 170–172° Verfärbung und schmolz unter Zersetzung bei 197–200°.



Hydrierungen des Calebassinchlorids:

Dihydro-calebassinchlorid: 30,537 mg Calebassinchlorid (2 Stunden bei 20° über Phosphorpentoxyd im Hochvakuum getrocknet) wurden mit 55 mg aushydriertem Platinoxyd in 5 cm<sup>3</sup> Wasser in der Mikrohydrierungsapparatur mit Wasserstoff geschüttelt. Nach der Aufnahme von 2,41 cm<sup>3</sup> H<sub>2</sub> (22,5°, 726 mm) d. h. 1,1 Mol bezogen auf M = 353, wurde die Hydrierung unterbrochen. Man filtrierte vom Katalysator ab, wusch sorgfältig mit Wasser nach und dampfte das Filtrat im Exsikkator über konz. Schwefelsäure ein. Der farblose Rückstand wurde zweimal aus Methanol-Äther umkrystallisiert. Ausbeute 22 mg. Zur Analyse trocknete man wie üblich bei 100° zur Konstanz. Die Substanz enthielt etwas Rückstand, der bei den Analysenwerten berücksichtigt ist.



Auch bei einem zweiten, analog ausgeführten Versuch konnte das Dihydro-calebassin in Form farbloser Nadelchen erhalten werden. Es besitzt das gleiche UV-Spektrum wie das Ausgangsmaterial und zeigt auch in seinen Farbreaktionen gegenüber Calebassinchlorid keine nennenswerten Unterschiede.