

## 15. Über Curare-Alkaloide aus Calebassen.

8. Mitteilung

von J. Kebrle, H. Schmid, P. Waser und P. Karrer.

(2. XII. 52.)

In der letzten Mitteilung<sup>1)</sup> über Calebassen-Curare-Alkaloide haben wir deren verteilungschromatographische Trennung, Reindarstellung und Farbreaktionen mit Mineralsäuren und Cer(IV)-sulfat beschrieben. Im folgenden soll über die Zimtaldehyd-Salzsäure<sup>2)</sup>- und Eisen(III)-chlorid-Schwefelsäure<sup>3)</sup>-Farbreaktionen, die UV.-Absorptionsspektren, wahrscheinlichsten Bruttoformeln, Toxizitäten und Curare-Wirkung der 21 isolierten Alkaloide berichtet und der Zusammenhang zwischen biologischer Wirksamkeit und Lage im Papierchromatogramm diskutiert werden.

Die Zimtaldehyd-Salzsäure- und die Eisen(III)-chlorid-Schwefelsäure-Farbreaktionen, sowie die Smp. der Pikrate der bisher isolierten Calebassenalkaloide sind in Tab. 1 und 2, ihre Spektren in den Fig. 1–8 wiedergegeben. Die unten angeführten Bruttoformeln der von uns neu<sup>1)</sup> isolierten Alkaloide stützen sich auf die Ergebnisse von C, H und N-Bestimmungen an den Pikraten, Chloriden und in einigen Fällen den Iodiden, ferner auf die mikropotentiometrische Cl<sup>⊖</sup>-Bestimmung in den Chloriden und Äquivalentgewichtsbestimmungen durch spektroskopische Ermittlung des Pikrinsäuregehaltes in den Pikraten<sup>4)</sup>. Wie viele andere quartäre Alkaloide kristallisieren auch die Curare-Alkaloide mit wechselnden Mengen von Kristallwasser, das sich, namentlich bei den Chloriden und Iodiden, durch Trocknen nur unvollständig entfernen lässt. Ferner ist es in manchen Fällen fraglich, ob die Gruppe H<sub>2</sub>O als Kristallwasser oder konstitutionell gebunden vorliegt. Bei einigen, aus obigen Gründen z. T. noch wenig gesicherten Bruttoformeln kann vorläufig nicht entschieden werden, ob die Zahl der Wasserstoffatome infolge der Fehlergrenze in der H-Bestimmung um zwei höher oder tiefer liegt.

Der grösste Teil der bisher bekannten Calebassen-Alkaloide lässt sich auf Grund von Farbreaktionen<sup>5)</sup>, spez. Drehungen<sup>6)</sup> und

<sup>1)</sup> H. Schmid, J. Kebrle & P. Karrer, *Helv.* **35**, 1864 (1952) (7. Mitt.).

<sup>2)</sup> Th. Wieland & H. Merz, *B.* **85**, 731 (1952).

<sup>3)</sup> D. G. Harvey, E. J. Miller & W. Robson, *Soc.* **1941**, 153.

<sup>4)</sup> H. Schmid & P. Karrer, *Helv.* **30**, 2081 (1947); K. G. Cunningham, W. Dawson & F. S. Spring, *Soc.* **1951**, 2305.

<sup>5)</sup> Vgl. auch A. **547**, 179 (1941); B. **85**, 731 (1952); *Helv.* **35**, 1864 (1952).

<sup>6)</sup> Infolge Materialmangel sind spez. Drehungen erst von einer kleinen Anzahl Alkaloid-Chloride bekannt.

Absorptionsspektren in Gruppen einteilen, die nach dem jeweiligen Hauptalkaloid bezeichnet werden können.

Curarin-Gruppe: Hieber gehören das Hauptalkaloid C-Curarin  $C_{20}H_{21}N_2^{\oplus}$ , sowie das C-Alkaloid G  $C_{20}H_{23}ON_2^{\oplus}$  und das Alkaloid E  $C_{19}H_{23}ON_2^{\oplus}$  oder  $C_{20}H_{23}ON_2^{\oplus}$ . Die spez. Rotation der Chloride dieser Gruppe dürfte, wie aus dem Wert für Curarin folgt, etwa  $+70^{\circ}$  (Wasser) betragen. Die drei Stoffe zeichnen sich durch die charakteristische violette Salzsäure-Halochromiereaktion und die grüne Salpetersäure-Farbreaktion aus. Die Cer(IV)-sulfat- und die Zimt-aldehydreaktionen sind blau. Farb- und Verblassungsreaktionen dieser drei Alkaloide sind miteinander vollständig identisch.

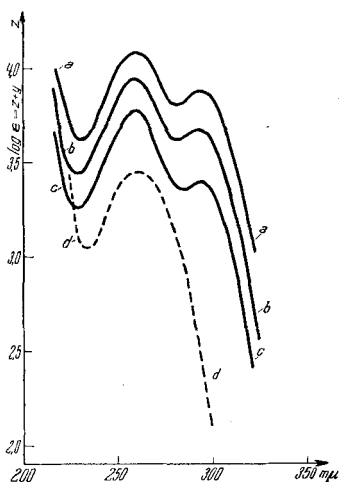
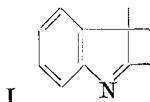


Fig. 1.

- a = C-Curarin-chlorid in  $H_2O$   
( $M = 342$ ),  $c = 4,32 \cdot 10^{-5}$ -m. . .  $y = 0$   
b = C-Alkaloid-E-chlorid in  $H_2O$   
( $M = 367$ ),  $c = 3,815 \cdot 10^{-5}$ -m. . .  $y = 0,1$   
c = C-Alkaloid-G-chlorid in  $H_2O$   
( $M = 367$ ),  $c = 4,687 \cdot 10^{-5}$ -m. . .  $y = 0,3$   
d = 2,3,3-Trimethyl-indolenin<sup>1)</sup> . . .  $y = 0,3$

Ihre Spektren sind in Fig. 1 enthalten. Aus dem Abbau des Norcurarins<sup>2)</sup> weiss man, dass diese Alkaloide dem Indoltypus zugehören. Gleiche Absorptionsspektren konstitutionell bekannter sauerstofffreier Indolabkömmlinge konnten in der Literatur bisher nicht aufgefunden werden. Im IR.-Spektrum der tert. Norcurarinbase fehlt eine NH-Bande, hingegen findet sich die  $\nu$  ( $N=C$ ) Bande bei  $6,22 \mu$  vor<sup>2)</sup>. Da die Absorptionsmaxima von 2,3,3-trisubstituierten Indoleninen wie die Hauptmaxima in den Spektren der Curarinartigen Alkaloide bei  $260 m\mu$  liegen, dürften C-Curarin, C-Alkaloid G und C-Alkaloid E die Indoleningruppierung I enthalten.



<sup>1)</sup> P. Grammaticakis, C. r. **210**, 569 (1940).

<sup>2)</sup> H. Schmid, A. Ebnöther & P. Karrer, Helv. **33**, 1486 (1950).

**Toxiferin-Gruppe:** Diese Gruppe umfasst C-Toxiferin I  $C_{20}H_{23}ON_2^{\oplus}$ , C-Dihydro-toxiferin I (C-Alkaloid K)  $C_{20}H_{23}N_2^{\oplus}$ , C-Iso-dihydro-toxiferin  $C_{20}H_{23}N_2^{\oplus}$ , C-Alkaloid H<sup>1</sup>) und C-Alkaloid 2<sup>2</sup>). Die spez. Rotation dieser Gruppe liegt bei etwa  $-600^{\circ}$ . Alle diese Stoffe geben, soweit geprüft, auf dem Papier mit Salzsäuredämpfen eine Orangefarbe, mit konz. Salpetersäure schwach braunrote Farbreaktionen, eine blaue Eisen(III)-chlorid-Schwefelsäure-Reaktion, eine blaugrüne bis blauviolette Zimtaldehyd- und eine blauviolette Cer(IV)-sulfat-Reaktion.

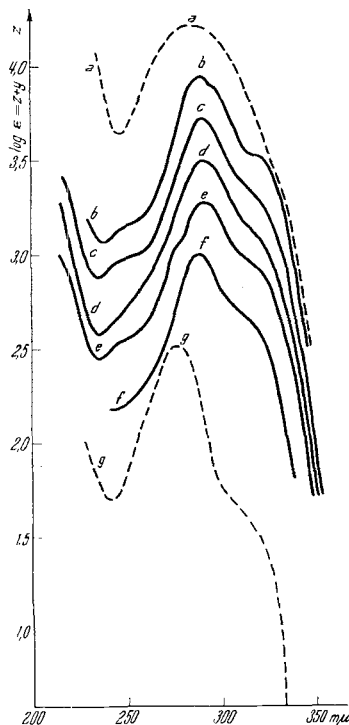


Fig. 2.

a = N-Crotonyl-carbazolin <sup>3</sup> ) . . . . .	y = 0
b = C-Alkaloid-2-chlorid <sup>4</sup> ) . . . . .	y = 0,5
c = C-Alkaloid-K-chlorid (M = 342), c = $4,6 \cdot 10^{-5}$ -m. in H <sub>2</sub> O (Dihydrotoxiferin <sup>5</sup> ) . . . . .	y = 0,6
d = C-Toxiferin-chlorid (M = 361), c = $2,4 \cdot 10^{-5}$ -m. in H <sub>2</sub> O . . . . .	y = 0,8
e = C-Alkaloid-H-chlorid (M = 343), c = $9,72 \cdot 10^{-5}$ -m. in H <sub>2</sub> O . . . . .	y = 1,0
f = C-Isodihydro-toxiferin <sup>5</sup> ) . . . . .	y = 1,2
g = N-Methyl-3,3-dimethyl- 2-methylen-indolin <sup>6</sup> ) . . . . .	y = 1,7

Die Absorptionsspektren dieser Gruppe sind in Fig. 2 enthalten. In der Literatur finden sich keine Spektren, die mit jenen der Toxiferin-Alkaloide nahe verwandt sind. Das ähnlich absorbierende Chromophor des n-Crotonylcarbazolins fällt, da einige Alkaloide dieser Gruppe sauerstofffrei sind, für die Toxiferin-Alkaloide ausser

<sup>1</sup>) Aus Materialmangel konnten noch keine Analysen ausgeführt werden.

<sup>2</sup>) *Th. Wieland & H. Merz*, B. **85**, 731 (1952). Keine Analysen ausgeführt.

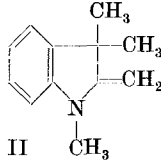
<sup>3</sup>) *V. Prelog, S. Szpiljogel & J. Battegay*, Helv. **30**, 366 (1947).

<sup>4</sup>) *Th. Wieland & H. Merz*, B. **85**, 731 (1952).

<sup>5</sup>) *H. Wieland, B. Witkop & K. Bähr*, A. **558**, 146 (1947).

<sup>6</sup>) *P. Grammaticakis*, C. r. **210**, 569 (1940).

Betracht. Andererseits stellen die Toxiferin-Alkaloide, wie aus dem Abbau von C-Dihydro-toxiferin zum  $\beta$ -Äthyl-indol (und Isochinolin) hervorgeht, Indolabkömmlinge dar<sup>1)</sup>. Unter den bekannten Spektren der verschiedenen Indolderivate lässt sich einzig dasjenige des N-Methyl-3,3-dimethyl-2-methylen-indolins (II) mit den Absorptionskurven der Toxiferin-Alkaloide in Beziehung bringen<sup>2)</sup>.

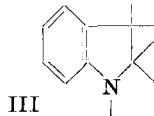


Bemerkenswert ist die blaue Eisen(III)-chlorid-Reaktion dieser Alkaloidgruppe, die in gleicher Weise auch mit 2,3,4,5-Tetrahydro- $\beta$ -carbolinen beobachtet wird<sup>3)</sup>.

Das von uns kürzlich isolierte C-Alkaloid K erwies sich mit C-Dihydro-toxiferin I identisch<sup>4)</sup> 5). Sämtliche Farbreaktionen, die UV.-Spektren, die biologischen Aktivitäten und ein zweidimensionales Papierchromatogramm liessen zwischen den beiden quaternären Basen keine Unterschiede erkennen.

Calebassin-Gruppe: In dieser Gruppe liegen das neben dem C-Curarin in Calebassen-Curare zur Hauptsache enthaltene C-Calebassin (C-Toxiferin II)  $C_{20}H_{25}ON_2^{\oplus}$ , sowie die C-Alkaloide A  $C_{20}H_{23}O_2N_2^{\oplus}$ , F  $C_{20}H_{25}O_2N_2^{\oplus}$ , I  $C_{19}H_{23}N_2^{\oplus}$  oder  $C_{20}H_{25}N_2^{\oplus}$ , C-Curarin II<sup>6)</sup>  $C_{20}H_{25}ON_2^{\oplus}$  und X<sup>7)</sup>. Die spez. Drehungen dieser Basen scheinen etwa  $+70^{\circ}$  zu betragen. Charakteristisch ist hier die intensive karminrote Salpetersäure-Reaktion, nach der man diese Alkaloide auch als „Rotstoffe“<sup>8)</sup> bezeichnen kann. Die Zimtaldehyd-Reaktion ist rotviolett, diejenige mit Cer(IV)-sulfat blauviolett.

Die Spektren dieser Verbindungen (Fig. 3) stimmen weitgehend mit jenen des Strychninsäure-N-oxys und des Strychnidins überein. Den Alkaloiden dieser Gruppe kommt vielleicht das Chromophor III zu.



1) H. Wieland, B. Witkop & K. Bähr, A. 558, 144 (1947).

2) P. Grammaticakis, C. r. 210, 569 (1940). Wie die Toxiferine, färbt sich auch II beim Stehen allmählich rot.

3) D. G. Harvey, E. J. Miller & W. Robson, Soc. 1941, 153. Vgl. G. R. Clemo & G. A. Swan, Soc. 1946, 617. Auch Tetrahydro-alstonin, Corynanthein und Melinonin A zeigen dieselbe Reaktion. 4) H. Wieland, K. Bähr & B. Witkop, A. 547, 156 (1941).

5) Th. Wieland & H. Merz, B. 85, 731 (1952). Herrn Prof. Th. Wieland sind wir für die freundliche Überlassung einer Probe C-Dihydrotoxiferin zu bestem Dank verbunden.

6) A. 536, 76 (1938); 547, 151 (1941); B. 85, 731 (1952).

7) Aus Substanzmangel konnte bisher noch keine Analyse ausgeführt werden.

8) A. 558, 149 (1947).

Diese Zuordnung erfährt eine Stütze durch die Beobachtungen von *T. H. Openshaw & G. F. Smith*<sup>1)</sup>, nach der Verbindungen des Hexahydro-carbazol-Typus eine intensive karminrote Salpetersäure-Farbreaktion zeigen.

- a = Strychninsäure-N-oxyd<sup>2)</sup> . . . y = 0  
 b = Strychnidin<sup>2)</sup> . . . . . y = 0  
 c = C-Alkaloid-F-chlorid (M = 361),  
 c =  $7,32 \cdot 10^{-5}$ -m. in H<sub>2</sub>O . . . y = 0,4  
 d = C-Calebassin-chlorid (M = 381),  
 c =  $3,75 \cdot 10^{-5}$ -m. in H<sub>2</sub>O . . . y = 0,6  
 e = C-Alkaloid-A-chlorid (M = 386),  
 c =  $4,50 \cdot 10^{-5}$ -m. in H<sub>2</sub>O . . . y = 0,8  
 f = C-Alkaloid-X-chlorid<sup>3)</sup> in H<sub>2</sub>O (Skala rechts)  
 g = C-Alkaloid-I-chlorid (M = 329),  
 c =  $7,05 \cdot 10^{-5}$ -m. in H<sub>2</sub>O . . . y = 1,6

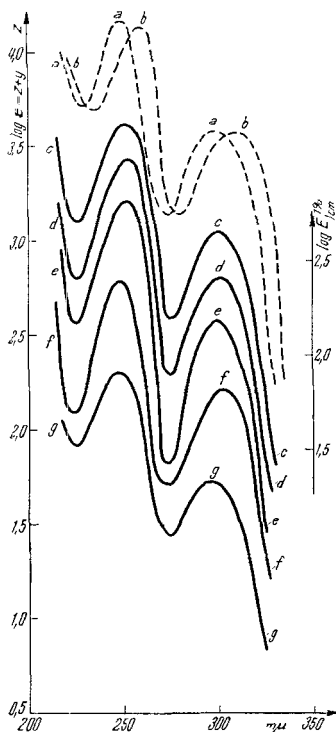


Fig. 3.

Hervorgehoben zu werden verdient noch, dass unter den Spektren dieser Gruppe nur diejenigen von C-Calebassin und der Alkaloide A und F bei Zugabe von Lauge eine momentane Rotverschiebung um etwa  $12 \mu$  erfahren, die beim Ansäuern wieder zurückgeht. Bei diesen drei Alkaloiden fällt auch die vollständige Übereinstimmung sämtlicher Farb- und Verblassungsreaktionen auf.

*H. Wieland* und Mitarbeiter<sup>4)</sup> beschrieben die Isolierung von Toxiferin-II-pikrat aus *Str. toxifera*, das sich beim Zersetzen mit Salzsäure in das weniger aktive Toxiferin-IIa-chlorid umlagert. Dieses ging beim Filtrieren über Aluminiumoxyd in ein drittes, noch weniger wirksames Isomeres, Toxiferin IIb, über. Die beiden ersten Basen sind in grösserer Menge auch aus Calebassen-Curare gewonnen

<sup>1)</sup> Exper. **4**, 428 (1948). Auch Strychnidin zeigt diese Reaktion.

<sup>2)</sup> *V. Prelog & S. Szpilfogel*, *Helv.* **28**, 1671 (1945).

<sup>3)</sup> *H. Schmid & P. Karrer*, *Helv.* **30**, 2085 (1947).

<sup>4)</sup> *H. Wieland, K. Bähr & B. Witkop*, *A.* **547**, 156 (1941).

worden. Die Differenzierung der drei Alkaloide beruhte einzig auf Toxizitätsbestimmungen mittels des stark schwankenden Froschtestes und auf Smp.-Erniedrigungen von Mischproben der bei etwa gleicher Temperatur schmelzenden Pikrate. Wir haben früher festgestellt, dass der Smp. von Calebassinpikrat beim Verreiben deutlich absinkt<sup>1)</sup>, und es wäre vielleicht zu prüfen, ob die beobachteten Smp.-Depressionen nach Vermischen der Pikrate der Toxiferine II, IIa und IIb nicht ähnliche Ursachen haben. Im übrigen weisen die Toxiferine II, IIa und IIb praktisch dieselben Eigenschaften<sup>2)</sup> auf wie das isomere C-Calebassin, das mit C-Toxiferin II identisch ist<sup>3)</sup>.

Bei unserer letzten Aufarbeitung von Calebassen-Curare<sup>4)</sup> wurden die Alkaloide aus salzsaurer Lösung (pH = 2) als Reineckate gefällt und als Chloride über Aluminiumoxyd filtriert. Keines der neu isolierten Calebassine A, F und I dürfte, da sie biologisch stärker aktiv sind als C-Calebassin und Toxiferin IIa und b mit den Toxiferin-II-Alkaloiden identisch sein.

Nach *Th. Wieland & H. Merz* soll sich auch C-Calebassin umlagern. Das isomere Alkaloid soll mit C-Curarin II identisch sein<sup>5)</sup>.

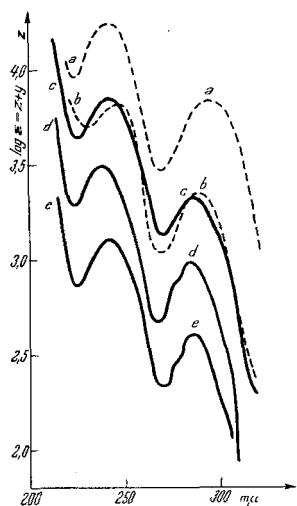


Fig. 4.

- a = Desoxo-tetrahydro-gelsemin<sup>5)</sup> . . . y = -0,45  
 b = Desacetyl-aspidospermin<sup>6)</sup> . . . y = 0  
 c = C-Alkaloid-C-chlorid (M = 343),  
 c =  $6,904 \cdot 10^{-5}$ -m. in H<sub>2</sub>O . . . y = 0  
 d = C-Alkaloid-D-chlorid (M = 386),  
 c =  $4,201 \cdot 10^{-5}$ -m. in H<sub>2</sub>O . . . y = 0,3  
 e = C-Alkaloid-B-chlorid (M = 497),  
 c =  $4,04 \cdot 10^{-5}$ -m. in H<sub>2</sub>O . . . y = 0,6

<sup>1)</sup> Helv. **29**, 1866 (1946).

<sup>2)</sup> Vgl. auch die praktisch identischen UV.-Spektren von C-Calebassin und Toxiferin IIb: A. **558**, 144 (1947).

<sup>3)</sup> *Th. Wieland & H. Merz*, B. **85**, 731 (1952).

<sup>4)</sup> Helv. **35**, 1864 (1952).

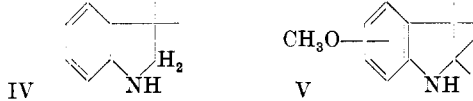
<sup>5)</sup> *R. Goutarel, M.-M. Janot, V. Prelog, R. P. A. Sneed & W. I. Taylor*, Helv. **34**, 1139 (1951).

<sup>6)</sup> *Raymond-Hamet*, C. r. **226**, 2154 (1948).

<sup>7)</sup> *H. T. Openshaw & G. F. Smith*, Exper. **4**, 428 (1948).

C-Alkaloide B, C, D-Gruppe: Die wahrscheinlichste Bruttoformel für C-Alkaloid B ist  $C_{20}H_{23}ON_2^{\oplus}$ , für D  $C_{20}H_{21}ON_2^{\oplus}$ . Von C-Alkaloid C lag für eine Verbrennung zu wenig Substanz vor. Diese quartären Alkaloide geben schwache rotbraune Salpetersäure- und rotviolette Cer(IV)-sulfat-Reaktionen.

Die Spektren dieser Alkaloid-Gruppe (Fig. 4) sind ähnlich denen der Calebassine und stimmen annähernd mit den Spektren des Desoxo-tetrahydro-gelsemins und des Desacetyl-aspidospermins überein, deren Chromophore durch die Strukturen IV bzw. V wiedergegeben werden. C-Alkaloid D erwies sich als methoxylfrei.



C-Fluorocurin-Gruppe: Hierher gehören C-Fluorocurin  $C_{20}H_{23}O_2N_2^{\oplus}$  und C-Fluorocurin  $C_{21}H_{29}O_2N_2^{\oplus}$  (?). C-Fluorocurin besitzt  $[\alpha]_D = +326^{\circ}$ . Diese gelben Alkaloide zeichnen sich durch eine intensive grünelbe Fluoreszenz im UV. aus. Ihre Spektren (Fig. 5) zeigen mit jenen des N-Methyl-2,2-diphenyl- $\psi$ -indoxyls (VI) und des

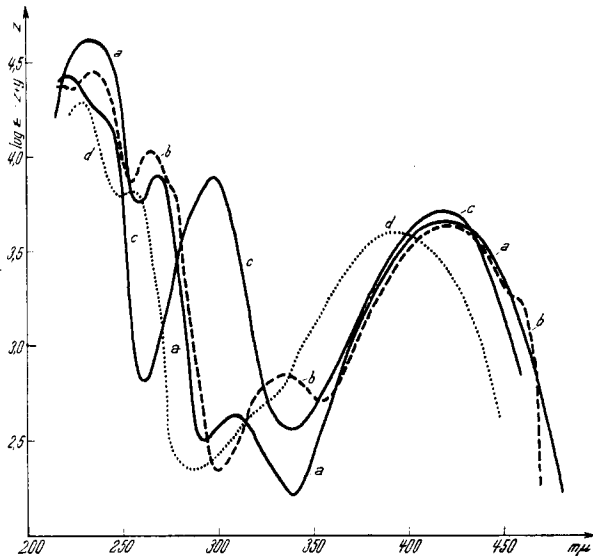


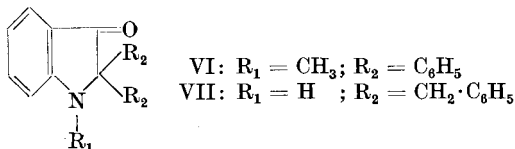
Fig. 5.

a = C-Fluorocurin-jodid <sup>1)</sup> in Wasser	.....	y = 0
b = N-Methyl-2,2-diphenyl- $\psi$ -indoxyl <sup>2)</sup> in Alkohol.	.....	y = 0
c = C-Fluorocurin-chlorid (M = 378; c = $5,9 \cdot 10^{-5}$ -m.) in 50-proz. Methanol.	.....	y = 0
d = 2,2-Dibenzyl- $\psi$ -indoxyl <sup>2)</sup> (c = $6,7 \cdot 10^{-5}$ -m.) in Alkohol.	.....	y = 0

<sup>1)</sup> H. Schmid & P. Karrer, Helv. **30**, 2082 (1947).

<sup>2)</sup> B. Witkop & A. Ek, Am. Soc. **73**, 5664 (1951).

2,2-Dibenzyl- $\psi$ -indoxyls (VII), sowie des Dihydro-isochinamins<sup>1)</sup> Verwandtschaft, so dass sie möglicherweise das Chromophor eines N-alkylierten, in 2,2-Stellung disubstituierten Indoxyls enthalten.



C-Calebassinin-Gruppe: In diese Gruppe kann man C-Calebassinin  $C_{19}H_{23}O_2N_2^+$  ( $[\alpha]_D \sim +60^\circ$ ) und das C-Alkaloid UB  $C_{19}H_{23}O_3N_2^+$  einreihen. Die Verbindungen zeigen einzig mit Cer(IV)-sulfat in konz. Schwefelsäure eine karminrote Farbreaktion. Das Spektrum des Calebassinins (Fig. 6) deutet auf das Vorliegen eines N-substituierten

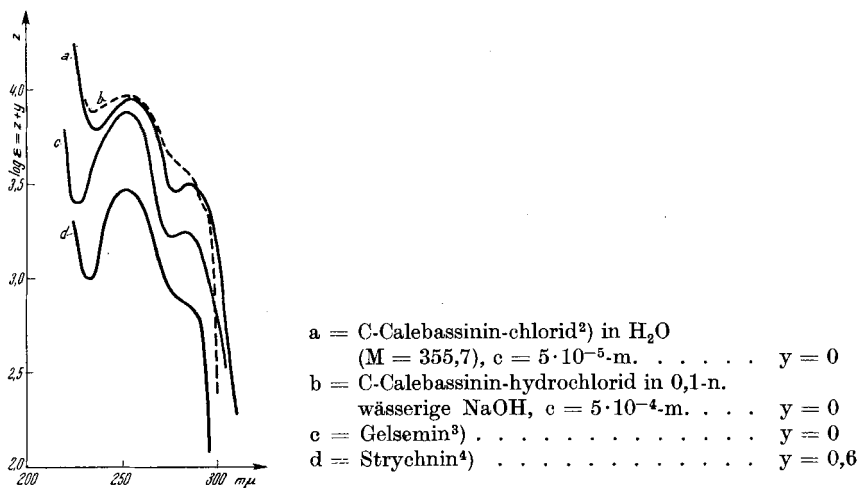
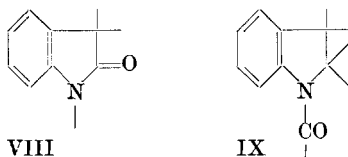


Fig. 6.

(keine Rotverschiebung mit 0,1-n. Lauge!) 3,3-disubstituierten Oxindols (VIII) hin. Vergleichssubstanz: Gelsemin-hydrochlorid (VIII) oder ein substituiertes N-Acyl-dihydro-indol (IX) wie z. B. Strychnin.



<sup>1)</sup> C. C. J. Culvenor, L. J. Goldsworthy, K. S. Kirby & Sir Robert Robinson, Soc. 1952, 1485.

<sup>2)</sup> H. Schmid & P. Karrer, Helv. 30, 2084 (1947).

<sup>3)</sup> R. Goutarel, M.-M. Janot, V. Prelog, R. P. A. Sneed & W. I. Taylor, Helv. 34, 1146 (1951).

<sup>4)</sup> V. Prelog & S. Szpilfogel, Helv. 28, 1671 (1945).



Das C-Alkaloid J  $C_{19}H_{21}N_2^{\oplus}$  besitzt das Spektrum eines disubstituierten Indols (Fig. 7) (X). Für das Indolskelett spricht

- a = 1,2,3,4-Tetrahydrocarbazol<sup>1)</sup> in Alkohol . . . . .  $y = 0$   
 b = C-Mavacurin-chlorid<sup>2)</sup> aus Pikrat (c =  $3,2 \cdot 10^{-3}\%$  Pikrat) in  $H_2O$  (Skala rechts) . . . . .  $y = 0$   
 c = Tetrahydro-norharman<sup>3)</sup> . . . . .  $y = 0,85$   
 d = Melinin-B-chlorid in Alkohol<sup>4)</sup> . . . . .  $y = 1,15$   
 e = C-Alkaloid-J-chlorid (M = 313), c =  $6,899 \cdot 10^{-5}$ -m. in  $H_2O$  . . . . .  $y = 1,4$   
 f = C-Alkaloid-L-chlorid aus Pikrat (c =  $3,873 \cdot 10^{-3}\%$  Pikrat) in  $H_2O$  (Skala rechts) . . . . .  $y = 1,4$

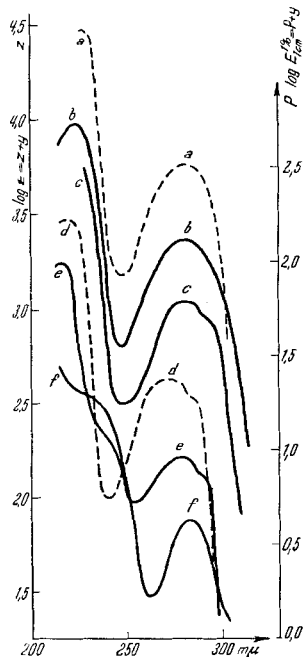
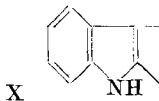


Fig. 7.

auch die Salpetersäure-Farbreaktion<sup>5)</sup>. Dasselbe Chromophor besitzen zweifellos auch das C-Mavacurin<sup>6)</sup> und das Melinin B aus *Str. melinoniana*<sup>7)</sup>. Eine ähnliche<sup>8)</sup> Absorption weist ferner das C-Alkaloid L<sup>9)</sup> auf (Spektrum Fig. 7).



<sup>1)</sup> R. J. S. Beer, L. McGrath & A. Robertson, Soc. 1950, 2118.

<sup>2)</sup> Th. Wieland & H. Merz, B. 85, 731 (1952).

<sup>3)</sup> Raymond-Hamet, C. r. 232, 508 (1951).

<sup>4)</sup> E. Schlittler & J. Hohl, Helv. 35, 29 (1952).

<sup>5)</sup> H. T. Openshaw & G. F. Smith, Exper. 4, 428 (1948).

<sup>6)</sup> Th. Wieland & H. Merz, B. 85, 731 (1952). Wir danken für die Zusendung einer Probe C-Mavacurin-pikrat.

<sup>7)</sup> E. Schlittler & J. Hohl, Helv. 35, 29 (1952).

<sup>8)</sup> Ein Indolchromophor scheinen auch das Toxiferin III aus *Str. toxifera* (H. King, Soc. 1949, 3263) und das C-Alkaloid I  $C_{20}H_{21}N_2^{\oplus}$  (Th. Wieland & H. Merz, B. 85, 731 (1952)) zu besitzen.

<sup>9)</sup> Aus Substanzmangel konnten noch keine Analysen ausgeführt werden.

C-Alkaloid J, C-Alkaloid I und Melininon B geben die für 2,3,4,5-Tetrahydro- $\beta$ -carboline charakteristische blaue Eisen(III)-chlorid-Schwefelsäure-Farbreaktion.

Das schwach gelb gefärbte, im UV. in verd. Lösung blau fluoreszierende C-Fluorocurarin  $C_{20}H_{23}ON_2^{\oplus}$  besitzt ein recht charakteristisches Spektrum (Fig. 8), das sich in verd. Alkali unter deutliche Rotverschiebung verändert. Mit Säure wird wieder die ursprüngliche Kurve gefunden. Auf Grund der Spektren (Fig. 8), der Farbreaktionen und von Mischpapierchromatogrammen erwies es sich als identisch mit dem C-Curarin III von *H. Wieland* und Mitarbeitern<sup>1)</sup>.

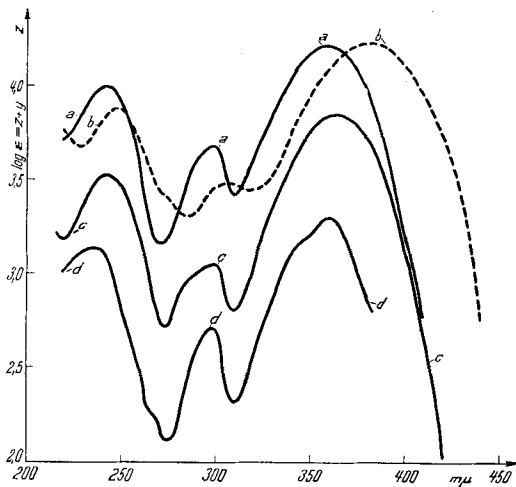


Fig. 8.

- a = C-Fluorocurarin-chlorid (M = 352), c =  $3,918 \cdot 10^{-5}$ -m. (in  $H_2O$ ) . . . . . y = 0
- b = C-Fluorocurarin-chlorid (M = 352), c =  $3,918 \cdot 10^{-5}$ -m. (in  $H_2O + 4\%$  0,1-n. NaOH) . . . . . y = 0
- c = C-Fluorocurarin-chlorid in Alkohol, c =  $3,9 \cdot 10^{-5}$ -m. . . . . y = 0,4
- d = C-Curarin-III-chlorid<sup>2)</sup> in Alkohol . . . . . y = 0,9

Zur Feststellung der pharmakologischen Wirkung von relativ geringen Alkaloidmengen (0,5–2,0 mg) benützten wir die früher für weisse Mäuse entwickelte Testmethode<sup>3)</sup>.

Da es sich um Warmblüter handelt, ist ihre Reaktionslage zum Unterschied von Fröschen nicht von der Jahreszeit abhängig. Weitere Vorteile bestehen in der intravenösen Injektion (Schwanzvene) einer entsprechend kleinen Dosis, indem bei gleicher Wirksamkeit statt eines Kaninchens 100 Mäuse verwendet werden können, sowie der zeitlich genauen Feststellung des Eintritts von mehreren Lähmungssymptomen. Die Genauigkeit der Testierung ist dadurch gegenüber Fröschen erhöht.

<sup>1)</sup> *H. Wieland, H. J. Pistor & K. Bähr, A. 547, 140 (1941)*. Wir danken Herrn Prof. *Th. Wieland* auch für ein Präparat von C-Curarin III verbindlichst.

<sup>2)</sup> *H. Wieland, B. Witkop & K. Bähr, A. 558, 146 (1947)*.

<sup>3)</sup> *P. Waser, Helv. physiol. pharmacol. Acta 8, 342 (1950)*. — Die pharmakologischen Untersuchungen unserer Calebassen-Alkaloide sind von *P. Waser* im Pharmakologischen Institut der Universität Zürich (Direktor: Prof. *H. Fischer*) ausgeführt worden.

**Tabelle 1.**  
Farbreaktionen auf dem Papier<sup>1)</sup>.

Bezeichnung des Alkaloids	in Salzsäure-atmosphäre	Zimtaldehyd-Salzsäure-Reaktion	Eisen(III)-chlorid-Schwefelsäure-Reaktion
C-Alkaloid A	schwach bräunlich	rotviolett 10,0 P 4/10	nil
C-Alkaloid B	gelblich	blauviolett 2,5 P 4/8	nil
C-Alkaloid C	nil	nil	nil
C-Alkaloid D	nil	nil	nil
C-Alkaloid E	violett	blau 10,0 B 4/8	nil
C-Toxiferin	orange	blauviolett 10,0 PB 2/6	blau
C-Alkaloid F	schwach bräunlich	rotviolett 10,0 P 4/10	nil
C-Alkaloid G	violett	blau 10,0 10,0 B 4/8	nil
C-Alkaloid H	orange	blauviolett 10,0 PB 2/6	blau
C-Calebassin	schwach bräunlich	rotviolett 10,0 P 4/10	nil
C-Alkaloid I	schwach bräunlich	rotviolett 10,0 P 3/10	rot
C-Curarin	violett	blau 10,0 B 4/8	nil
C-Alkaloid J	braun	braun 10,0 YR 4/4	blaugrün
C-Dihydro-toxiferin (=C-Alkaloid K)	schwach orange	blaugrün 5,0 BG 4/6	blau
C-Calebassinin	schwach bräunlich	grauviolett 7,5 P 5/2	nil
C-Fluorocurin	gelb	gelb 7,5 Y 8/8	nil
C-Fluorocurinin	gelb	gelb 7,5 Y 8/8	nil
C-Fluorocurarin (=C-Curarin III)	gelb	gelb 7,5 Y 8/8	nil
C-Alkaloid L	nil	hellviolett 2,5 P 6/6	nil
C-Alkaloid X	nil	hellviolett 10,0 P 4/10	nil

Die Maus wird zur Beobachtung auf einer Glasplatte laufen gelassen. Die ersten Paralysezeichen zeigen sich in einem unsicheren, zittrigen Watschgang, in dem sich das Tier stossweise ataktisch bewegt. Dann tritt, wie beim Kaninchen, der Head-drop (HD) ein, der besonders beim Herabfallen des Kopfes über die Kante der Glasplatte deutlich ist. Dieses Sympton muss für die positive Bewertung minimal 20 Sek. dauern. Bei fortschreitender Lähmung folgt die Seitenlage (SL), in die sich das Tier ohne Abwehr bringen lässt. Entweder tritt nun der Tod durch Atemlähmung ein, oder die Erholung durchläuft rückwärts die gleichen Paralysestufen über Aufrichten aus der Seitenlage und Kopfhoben zum aufrechten Laufen. Die Bewegungen sind in der Folgezeit noch unsicher und unkoordiniert. Die Auswertung der Versuche erfolgt durch Aufzeichnen dieser Zeitpunkte für die verwendeten Dosen in ein Zeit-Dosis-Koordinationsystem. Man erhält für die einzelnen Symptome hyperbelförmige Kurven, deren gegenseitige Lage die Intensität, Dauer der Wirkung und therapeutische Breite (ohne künstliche Beatmung) erkennen lassen. Umgekehrt ist mit diesen Kurven entsprechend dem zeitlichen Eintritt der Wirkung die Alkaloidkonzentration einer unbekanntem Lösung bestimmbar.

Die therapeutische Breite ist definiert durch den Quotienten  $DML/HD$ . Wenn das Tier künstlich beatmet werden kann, erträgt es viel grössere Dosen, die häufig auch die Beobachtung der Läh-

<sup>1)</sup> Vgl. *Th. Wieland & H. Merz*, B. **85**, 731 (1952) und *H. Schmid, J. Kebrle & P. Karrer*, Helv. **35**, 1873 (1952). Die Zahlen bedeuten Farbindices nach dem *Munsell Book of Color, Munsell Color Comp.*, Baltimore 1941.

**Tabelle 2.**Schmelzpunkte von Alkaloid-Pikraten<sup>1)</sup>.

C-Curarin . . . . .	306—307°	
C-Alkaloid G . . . . .	285—286°	
C-Alkaloid E . . . . .	272°	
C-Toxiferin . . . . .	270°	
C-Isodihydro-toxiferin . . . . .	242°	
C-Alkaloid H . . . . .	189—192°	
C-Dihydro-toxiferin . . . . .	185°	
C-Alkaloid A . . . . .	228—229°	
C-Calebassin . . . . .	210—212°	
C-Alkaloid F . . . . .	209—210°	
C-Curarin II . . . . .	204°	
C-Alkaloid I . . . . .	194°	
C-Alkaloid B . . . . .	} allmähliche Zersetzung oberhalb 270°	
C-Alkaloid C . . . . .		
C-Alkaloid D . . . . .		
C-Calebassinin . . . . .		260°
C-Alkaloid UB . . . . .	238—240°	
C-Fluorocurinin . . . . .	213°	
C-Fluorocurin . . . . .	179°	
C-Alkaloid J . . . . .	allmähliche Zersetzung oberhalb 260°	
C-Fluorocurarin . . . . .	189°	
C-Mavacurin . . . . .	172—176°	
C-Alkaloid L . . . . .	171°	

mung anderer Synapsen, von Kreislaufwirkungen, cholinergischen Effekten, der Ausscheidungsgrösse usw. erlauben können. Für solche Versuche wurden Kaninchen und Katzen verwendet. Im Hinblick auf die Anwendung in der Humanmedizin ist die Feststellung der Wirkung einer Überdosierung sehr wesentlich. Bei Katzen konnte die Lähmungsdauer nach 10 und mehr (bis 100) toxischen Dosen oder die letale Dosis bei künstlicher Beatmung für einzelne Alkaloide bestimmt werden. Über die Resultate soll an anderer Stelle ausführlich berichtet werden.

Um schon mit dem Mäusetest etwas über die Intensität der Lähmung aussagen zu können, bestimmen wir die Dauer der Lähmung, (d. h. des HD) bei einer Dosis, die in der Mitte zwischen HD und toxischer Dosis liegt. Aus den Mauskurven sind diese charakteristischen Daten gut ablesbar.

Zur Ermittlung der Aktivitäten der in Mengen von 0,5—3 mg zur Verfügung stehenden 19 Alkaloide verwendeten wir ungefähr 1000 Mäuse (Gewicht 16—28 g). Sämtliche Chloride der Alkaloide waren leicht wasserlöslich und wurden in Volumen bis 0,25 ml in die Schwanzvene injiziert.

Die Auswertung der Aktivitätskurven ergab die in Tab. 3 (S. 116) angeführten Werte in  $\gamma$ /kg Mausgewicht.

<sup>1)</sup> Vgl. experimenteller Teil.

In Fig. 9 sind die gleichen Zahlenwerte graphisch so dargestellt, dass in der Abszisse mit logarithmischer Teilung HD-Dosis und Letaldosis, in der Ordinate (mit logarithmischem Masstab) die Lähmungsdauer einer dazwischen liegenden Dosis eingetragen sind.

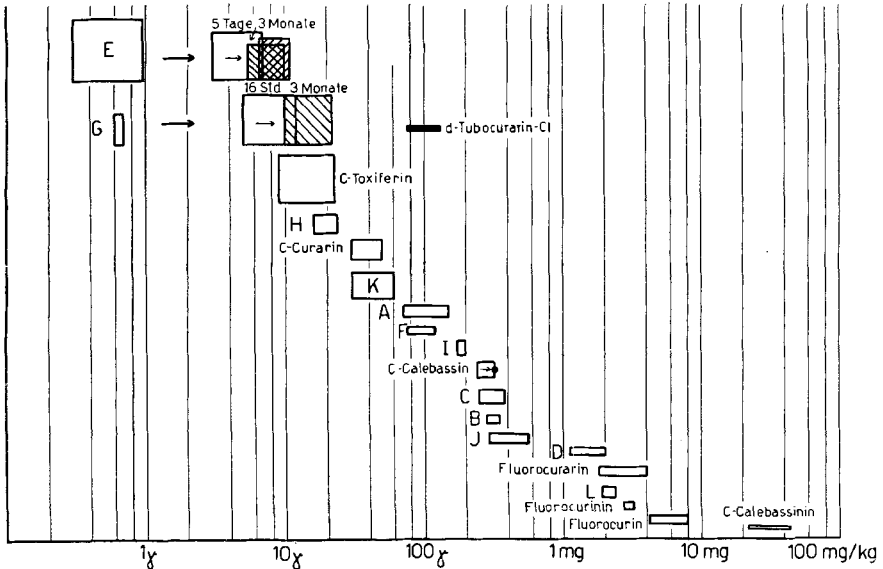


Fig. 9.

Jedem Alkaloid entspricht daher eine rechteckige Fläche, deren Abszisse die therapeutische Breite und deren Ordinate die Intensität der Lähmung charakterisiert. Alkaloide mit grossen Flächen sind für die Curarisierung von Mäusen besonders geeignet, da sie eine starke paralytische Wirkung und eine grosse therapeutische Breite zeigen. Dies betrifft vor allem C-Curarin, C-Toxiferin I und die C-Alkaloide E, G, K. 7 der untersuchten Alkaloide sind stärker wirksam als d-Tubocurarin-chlorid, z. B. C-Alkaloid E 250 mal, C-Alkaloid G 120 mal.

2 Alkaloide (E und G) sind aktiver als C-Toxiferin, das bis dahin wirksamste bekannte Alkaloid. Ihre Lähmungswirkung war jedoch nicht konstant, sondern nahm für beide während eines Versuches anfänglich rasch, später langsam bis zu einem ziemlich stabilen Endwert ab. Fig. 10 zeigt den Aktivitätsabfall der bei +2° C aufbewahrten Lösung von C-Alkaloid E (ausgezogene Kurven), wobei für das HD-Symptom die Menge in  $\gamma$ /kg logarithmisch auf der Abszisse, und die Zeitdauer bis zum Eintritt des HD auf der Ordinate in Min. eingetragen sind. Schon nach 5 Std. war die Aktivität auf die Hälfte abgesunken, nach 5 Tagen betrug sie noch  $\frac{1}{10}$  und blieb erst nach etwa 2–3 Monaten einigermaßen konstant. Dieser in einem Versuch beobachtete Aktivitätsabfall liess sich aber vorerst

nicht mehr reproduzieren. Die gestrichelte HD-Kurve der 14 Tage nach dem ersten Test aufgelösten kristallinen Verbindung fällt ungefähr mit der nach 2 Monaten aufgenommenen HD-Kurve der ersten Testlösung zusammen<sup>1)</sup>. Die Lösung des Alkaloids G änderte in einem Versuch ihre Toxizität ebenfalls. Bei diesem Aktivitätsabfall, der sich für das C-Alkaloid G in analoger Weise wie bei Alkaloid E, aber etwas rascher (in 16 Std. auf  $\frac{1}{10}$ , in 3 Monaten auf  $\frac{1}{15}$ ) vollzog, wurde auch die Wirkungscharakteristik (therapeutische Breite und Lähmungsdauer) verändert (Fig. 9). Aber auch dieser Aktivitätsabfall des Alkaloids G konnte in späteren Versuchen nicht mehr reproduziert werden, so dass die Ursache seines einmaligen Auftretens unbekannt ist.

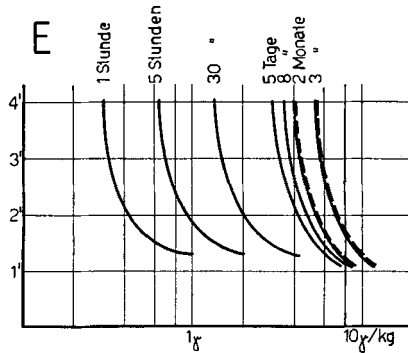


Fig. 10.

Aktivitätsabfall des C-Alkaloids E.

Für die drei wirksamsten Calebassen-Alkaloide E, G und Toxiferin ist, verglichen mit den anderen Alkaloiden, besonders auffallend, dass die Lähmung der Maus nach der Injektion von kleinen Dosen sehr langsam eintritt und überaus lange dauert.

Auch die C-Alkaloide Curarin I, H und K haben eine bedeutende Aktivität, C-Curarin I hat sich gegenüber früher nicht verändert.

C-Toxiferin und das im Hochvakuum getrocknete C-Calebassin zeigten gegenüber 1950 eine etwas verminderte Wirkung.

C-Calebassinin lähmt nur für kurze Zeit (ca. 30–60'').

Die fluoreszierenden Alkaloide (C-Fluorocurarin, C-Fluorocurin und C-Fluorocurinin) bewirken die schon früher beschriebene Erregung mit Krämpfen, bevor die Tiere bei genügender Dosierung vollständig gelähmt sind. Es kann noch nicht entschieden werden, ob es sich um zentrale oder periphere Effekte handelt.

Die 19 untersuchten Alkaloide sind pharmakologisch keineswegs gleich: Die Aktivitäten liegen in einem Intervall von 0,3  $\gamma$  bis 20 mg/kg,

<sup>1)</sup> Diese zweite Lösung veränderte sich mit gleicher Geschwindigkeit wie die erste, so dass die Aktivitäten nach 2½ bzw. 3 Monaten übereinstimmten.

was einem Verhältnis von  $1:10^5$  entspricht. Wie in einer folgenden Arbeit beschrieben werden soll, sind auch andere Eigenschaften, wie Charakter der Lähmung, Nebenwirkungen usw. verschieden.

Tabelle 3.

Wirkungsdosen von Curare-Alkaloiden im Maustest<sup>1)</sup>.

C-Alkaloid-Chloride	HD	SL	DML	Therap. B.	Lähmungs- dauer
E	0,3—4,0	0,5—5,0	0,95—8,0	3,2	18 Min.
G	0,6—5,0	0,65—7,0	0,7—12,0	1,2	7 Min.
Toxiferin	9	12	23	2,5	12 Min.
H	16	21	24	1,5	3,7 Min.
Curarin	30	35	50	1,7	4 Min.
Dihydro-toxiferin (K)	30	40	60	2,0	5,5 Min.
A	70	100	150	2,1	2 Min.
F	75	85	120	1,6	1,3 Min.
I	174	180	195	1,1	2,75 Min.
Calebassin	240	260	320	1,3	3 Min.
C	240	280	380	1,6	2,75 Min.
B	280	310	350	1,25	1,3 Min.
J	290	460	560	1,9	1,5 Min.
D	1100	1600	2000	1,8	1,3 Min.
Fluorocurarin	1800	2100	4000	2,2	2 Min.
L	1900	2200	2400	1,3	2 Min.
Fluorocurinin	2750	2900	3250	1,2	1,2 Min.
Fluorocurin	4400	5500	8000	1,8	1,5 Min.
Calebassinin	22000	25000	44000	2	0,3 Min.
d-Tubocurarinchlorid	75	100	130	1,7	1 Min.

Von Interesse ist noch die Beobachtung (siehe Tab. 4), dass die stark wirksamen Alkaloide im Papierchromatogramm kleine  $R_c$ -Werte<sup>2)</sup> besitzen, d. h. nur kurz wandern. Die rasch wandernden Alkaloide, wie C-Fluorocurarin, C-Fluorocurin, C-Fluorocurinin, Calebassinin, C-Alkaloid, L- und C-Mavacurin, zeigen nur sehr geringe oder überhaupt keine curarisierende Wirkung. Innerhalb der einzelnen Gruppen von stark wirksamen Alkaloiden nimmt die biologische Aktivität mit steigenden  $R_c$ -Werten bzw. zunehmenden Verteilungskoeffizienten zwischen organischer Phase/Wasser ab.

Anlässlich der letzten Arbeit<sup>2)</sup> hatten wir Gelegenheit, während der Isolierung von kristallisierten Alkaloiden aus einer bestimmten Calebasse die pharmakologische Wirksamkeit bzw. Toxizität der einzelnen Fraktionen zu bestimmen. Bei der Gewinnung des Gemisches der vorgereinigten Alkaloid-Chloride (Extraktion des Calebassen-

<sup>1)</sup> HD = Headdrop, SL = Seitenlage, DML = Dosis minima letalis. Alle Dosen in  $\gamma$  Alkaloid pro kg Maus.

<sup>2)</sup> Helv. 35, 1864 (1952).

eurare, Reineckatfällung, Umwandlung in Chloride und Filtration über Aluminiumoxyd) ging praktisch keine Aktivität verloren. Nach der Verteilungschromatographie an Cellulose fanden sich 98% der ursprünglichen Aktivität in den Trenngruppen T<sub>4</sub> und T<sub>5</sub>. Die Gruppe T<sub>3</sub> enthielt 1%, die Gruppen T<sub>2</sub> und T<sub>1</sub> zusammen besaßen 0,6% der Ausgangsaktivität. Von dem in den Trenngruppen T<sub>4</sub> und T<sub>5</sub> enthaltenen Material wurden 67% als kristallisierte Alkaloid-Chloride abgetrennt, die etwa 80% der Aktivität der Calebasse repräsentieren. 38% der Totalaktivität sind durch C-Curarin, 20% durch C-Alkaloid G, 12% durch C-Calebassin und etwa 5% durch C-Toxiferin bedingt.

**Tabelle 4.**

Zusammenhang zwischen Lähmungswirkung<sup>1)</sup> und R<sub>c</sub>-Werten<sup>2)</sup> von Curare-Alkaloiden.

Gruppe	C-Alkaloid-Chloride	HD	R <sub>c</sub>
Curaringruppe . .	E	0,3—4,0	0,36
	G	0,6—5,0	0,65
	Curarin	30	1,0
Toxiferingruppe . .	Toxiferin	9	0,42
	H	16	0,71
	Dihydro-toxiferin (K)	30	1,22
Calebassingruppe .	A	70	0,23
	F	75	0,49
	I	174	0,89
	Calebassin	240	0,80
B, C, D-Gruppe . .	C	240	0,34
	B	280	0,34
	D	1100	0,35

Die vorliegende Arbeit wurde durch Mittel unterstützt, die uns von den *Arbeitsbeschaffungskrediten des Bundes*, der *Eidg. Volkswirtschafts-Stiftung* sowie von der *Fritz Hoffmann-La Roche-Stiftung zur Förderung wissenschaftlicher Arbeitsgemeinschaften in der Schweiz* freundlicherweise gewährt worden sind. Wir sprechen den genannten Donatoren unseren verbindlichsten Dank aus.

### Experimenteller Teil.

Allgemeine Bemerkungen: Zur Analyse hat man die Präparate unter verschiedenen Bedingungen getrocknet:

Ia: Eine Woche trocknen bei 20° über P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> im Hochvakuum.

Ib: Trocknen bis zur Gewichtskonstanz bei 100—115° über P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> im Hochvakuum.

Ic: Stehenlassen des nach Ia getrockneten Präparates im Analysenzimmer bis zur Gewichtskonstanz.

Die Chlorionen-Bestimmung hat man mit 1—2 mg Substanz potentiometrisch mittels Silberelektrode ausgeführt. Die Äquivalentgewichts-Bestimmungen an den Pi-

<sup>1)</sup> Headdrop-Dosen.

<sup>2)</sup> Helv. **35**, 1869 (1952). R<sub>c</sub> mit Lösungsmittel „C“.



kraten wurden wie früher beschrieben ausgeführt<sup>1)</sup>. Zur Bestimmung des Smp. der Pikrate hat man eine Probe in einem Röhrchen aus Pyrexglas zunächst bei 60° getrocknet und dann im Hochvakuum eingeschmolzen. Die Probe wurde bei einer Temperatur, die 10° unter der Schmelztemperatur lag, in den Kupferblock gebracht und dann die Temperatur des Blockes um etwa 3°/Min. gesteigert. Die Smp. sind empirisch korrigiert.

Zur Aufnahme des UV.-Absorptionsspektrums von Alkaloiden, die nur als Pikrate vorliegen, hat man 1,5—2 mg Pikrat (auf der Mikrowaage genau eingewogen!) in 1—2 ml 50—80-proz. wässrigem Aceton gelöst und über die neutral gewaschene Chloridform von 300—500 mg Amberlit IRA 400 filtriert. Die Säule wurde vorher mit dem Aceton-Wasser-Gemisch vorgewaschen. Anschliessend hat man mit 2—3 ml wässrigem Aceton nachgewaschen und das Filtrat im Exsikkator verlustfrei eingedunstet und den Rückstand in 50 ml Wasser gelöst. Parallel dazu hat man stets mit denselben Mengen Lösungsmittel und Austauschharz eine Blindprobe ausgeführt und den Eindampfrückstand der Blindprobe nach dem Aufnehmen in 50 ml Wasser als spektroskopische Vergleichslösung verwendet, womit die Absorption von evtl. aus der Austauschersäule stammenden Verunreinigungen ausgeschaltet wurde. Die Aufnahmen wurden in einem *Beckman*-Apparat Model DU vorgenommen. Die Zuverlässigkeit dieses Verfahrens wurde durch Kontrollversuche bestätigt.

Auch für die präparative Umwandlung von Alkaloidpikraten in die entsprechenden Chloride wurde dasselbe Verfahren angewendet. Auf diese Weise lassen sich auch kleinste Mengen Pikrate quantitativ als Chloride biologisch austesten.

C-Alkaloid A: Das *Pikrat* wurde viermal aus 80-proz. Aceton umkristallisiert. Smp. der orangeroten Nadeln 228—229° (Zers.). Beim Trocknen im Hochvakuum tritt unter Abspaltung von Kristallwasser Gelbfärbung ein; beim Stehen an der Luft nimmt das gelbe Pikrat sofort wieder Wasser unter Rotorangefärbung auf.

$C_{20}H_{23}O_2N_2, C_6H_2O_7N_3$ (551,50)	Ber. C 56,62 Gef. ,, 56,62	H 4,57 ,, 5,18	N 12,70% ,, 12,57% (Ia, im Schweinchen eingewogen)
$C_{20}H_{23}O_2N_2, C_6H_2O_7N_3, H_2O$ (569,52)	Ber. C 54,83 Gef. ,, 54,73 Gef. ,, 54,71 Gef. ,, 54,50	H 4,78 ,, 4,67 ,, 4,47 ,, 4,66	N 12,30% — (Ia, offen eingewogen) — (Ib, offen eingewogen) N 12,16% (Ic)

Äquivalentgewicht: Gef. 556, 556.

30 mg C-Alkaloid-A-Pikrat haben wir wie vorher geschildert mit Hilfe von Amberlit IRA 400 in der Chlorid-Form in das *C-Alkaloid-A-chlorid* umgewandelt. Nach zweimaligem Umlösen aus Methanol-Äther farblose Prismen (12 mg).

$C_{20}H_{23}O_2N_2Cl, H_2O$ (376,88)	Ber. C 63,73 Gef. ,, 63,59	H 6,69 ,, 7,36	N 7,44 ,, 7,85	Cl 9,41% ,, 9,39% (Ia, im Schweinchen eingewogen)
$C_{20}H_{23}O_2N_2Cl, 1\frac{1}{2} H_2O$ (385,88)	Ber. C 62,25 Gef. ,, 61,94	H 6,79% ,, 6,95%	(Ia, nach 7tägigem Stehen im nicht evakuierten Exsikkator)	

C-Alkaloid B: Das sehr schwer lösliche *Pikrat* wurde aus 80-proz. Aceton umgelöst. Die gelb gefärbten Prismen zersetzten sich beim Erhitzen oberhalb 270° ohne zu schmelzen.

$C_{20}H_{23}ON_2, C_6H_2O_7N_3$ (535,50)	Ber. C 58,31 Gef. ,, 58,89 ,, ,, 58,03	H 4,71 ,, 4,72 ,, 4,17	N 13,08% ,, 12,78% (Ia) ,, 13,27% (Ic)
--	--	------------------------------	--

Äquivalentgewicht: Gef. 529, 533.

Das direkt isolierte Chlorid liess man zunächst in wässriger Lösung längere Zeit im Eisschrank stehen. Anschliessend hat man die inzwischen ausgeflockten Verunreinigungen abfiltriert und das in kaltem Wasser ziemlich schwer lösliche Chlorid aus Wasser

<sup>1)</sup> Helv. **30**, 2081 (1947).

umgelöst. Die reine Verbindung lässt sich auch aus Methanol-Äther-Gemisch umkristallisieren. Farblose Nadelchen.

$C_{20}H_{23}ON_2Cl, 3 H_2O$ (396,91)	Ber. C 60,52 Gef. ,, 61,34 ,, ,, 60,45	H 7,37 ,, 7,28 ,, 6,98%	N 7,06 ,, 7,15	Cl 8,94% ,, 9,19% (Ia)
--	--	-------------------------------	-------------------	---------------------------

Das C-Alkaloid-B-Jodid wurde aus der wässrigen Lösung des Chlorids mit reinstem Kaliumjodid gefällt. Das zunächst amorphe Salz wandelte sich nach längerem Stehen in feine, seidenglänzende Blättchen um. Zur Analyse wurde zweimal aus siedendem Wasser umgelöst.

$C_{20}H_{23}ON_2J, 1\frac{1}{2} H_2O$ (456,84)	Ber. C 52,58 Gef. C 52,41	H 5,63% H 5,51%	(Ib)
---	------------------------------	--------------------	------

C-Alkaloid C: Das schwer lösliche *Pikrat* wurde aus 80-proz. Aceton umgelöst. Beim Erhitzen über 270° allmähliche Zersetzung ohne Schmelzen. Äquivalentgewicht: Gef. 572.

C-Alkaloid D: Dieses Alkaloid wurde als *Pikrat* gewonnen, das sich in siedendem Methanol verhältnismässig leicht löste. Es liess sich aber nur schwer aus Methanol umlösen. Noch ungeeigneter erwiesen sich andere Lösungsmittel. Das *Pikrat* wurde deshalb in das Chlorid umgewandelt, das aus Methanol-Äther oder besser Aceton-Wasser in farblosen, kleinen Nadeln herauskommt. Auch aus konz. wässriger Lösung ist es kristallisierbar.

$C_{20}H_{23}ON_2Cl, 3\frac{1}{2} H_2O$ (405,92)	Ber. C 59,17 Gef. .. 58,60	H 7,45 ,, 6,91	N 6,90 ,, 6,94	Cl 8,74% ,, 8,49% (Ic)
$C_{20}H_{21}ON_2Cl, 4 H_2O$ (412,91)	Ber. C 58,17 Gef. .. 58,60	H 7,08 ,, 6,91	N 6,79 ,, 6,94	Cl 8,59% ,, 8,49% (Ic)
$C_{20}H_{23}ON_2Cl, 2\frac{1}{2} H_2O$ (387,90)	Ber. C 61,92	H 7,28	N 7,22%	
$C_{20}H_{21}ON_2Cl, 2\frac{1}{2} H_2O$ (385,88)	Ber. C 62,23 Gef. ,, 61,93	H 6,79 ,, 7,46	B 7,26% ,, 7,86%	(Ia)

Das C-Alkaloid-D-*Pikrat* wurde in üblicher Weise aus dem reinen Chlorid gewonnen und aus Methanol umgelöst. Allmähliche Zersetzung oberhalb 260°, ohne bis 320° zu schmelzen.

$C_{20}H_{23}ON_2, C_6H_2O_7N_3$ (535,51)	Ber. C 58,31 Gef. C 58,48	H 4,71% H 5,23%	(Ib)
$C_{20}H_{21}ON_2, C_6H_2O_7N_3$ (533,49)	Ber. C 58,53	H 4,35%	

Äquivalentgewicht: Gef. 540.

C-Alkaloid E: Das in Aceton gut lösliche *Pikrat* kristallisierte aus Wasser-Aceton-Gemisch in feinen, in Drusen angeordneten Nadeln. Smp. 272°.

$C_{19}H_{23}ON_2, C_6H_2O_7N_3$ (523,49)	Ber. C 57,36 Gef. .. 57,27 Gef. .. 57,07	H 4,81 ,, 4,61 ,, 4,71%	N 13,38% N 12,86% ,, 12,99% (Ia)
$C_{20}H_{23}ON_2, C_6H_2O_7N_3, \frac{1}{2} H_2O$ (544,48)	Ber. C 57,35 Gef. .. 57,27 Gef. .. 57,07	H 4,81 ,, 4,61 ,, 4,71%	N 12,86% ,, 12,99% (Ia) (Ib)

Äquivalentgewicht: Gef. 530.

Das *Chlorid* kristallisierte aus Methanol-Äther in farblosen Nadeln. Die Analysenprobe enthielt noch etwas Rückstand ( $BaCl_2$  ?), für den Korrekturen angebracht sind.

$C_{19}H_{23}ON_2Cl, 2 H_2O$ (366,87)	Ber. C 62,20 Gef. .. 62,63	H 7,42 ,, 7,01	Cl 9,67% ,, 9,92% (Ia)
$C_{20}H_{23}ON_2Cl, 2\frac{1}{4} H_2O$ (383,40)	Ber. C 62,65 Gef. .. 62,63	H 7,23 ,, 7,01	Cl 9,25% ,, 9,92% (Ia)

Das in üblicher Weise bereitete *Jodid* kristallisierte aus Wasser in feinen Blättchen.

$C_{19}H_{23}ON_2J, 1\frac{1}{2} H_2O$ (444,83)	Ber. C 51,30 Gef. C 51,07	H 5,78% H 5,79%	(Ib)
$C_{20}H_{23}ON_2J, 2 H_2O$ (470,36)	Ber. C 51,07	H 5,79%	Gef. C 51,16 H 5,46%

C-Alkaloid F: Das Pikrat kristallisierte aus Aceton-Wasser nach mehrmaligem Umlösen in derben orangeroten Nadeln. Smp. 209—210° (Zers.).

$C_{20}H_{25}O_2N_2, C_6H_2O_7N_3$	Ber. C 56,41	H 4,92	N 12,65%
(553,52)	Gef. ,, 56,06	,, 4,98	,, 12,44% (Ia)

Äquivalentgewicht: Gef. 544.

C-Alkaloid G: Das Chlorid wurde aus Methanol-Äther in derben, farblosen Nadeln gewonnen.

$C_{20}H_{23}ON_2Cl, H_2O$	Ber. C 66,56	H 6,98	N 7,76	Cl 9,83%
(366,88)	Gef. ,, 66,03	,, 6,79	,, 8,25	,, 9,83% (Ia)

Das C-Alkaloid-G-Jodid wurde aus wenig Wasser umgelöst.

$C_{20}H_{23}ON_2J, 1\frac{1}{2} H_2O$	Ber. C 52,06	H 5,68%
(461,35)	Gef. ,, 52,22	,, 5,32% (Ib)

Das aus dem Chlorid bereitete Pikrat kristallisierte aus Aceton-Wasser in kleinen Nadeln. Smp. 285—286° (Zersetzung).

$C_{20}H_{23}ON_2, C_6H_2O_7N_3$	Ber. C 58,36	H 4,71	N 13,09%
(535,50)	Gef. ,, 58,33	,, 4,72	,, 13,27% (Ia)

Äquivalentgewicht: Gef. 535.

C-Alkaloid H: Das Pikrat gab beim Umlösen aus Aceton-Wasser in Drusen kristallisierende, derbe rote Nadeln vom Smp. 189—192°. Äquivalentgewicht: Gef. 571.

Das aus dem Pikrat hergestellte Chlorid kristallisierte in langen, farblosen Nadeln.

C-Alkaloid I: Das aus Aceton-Wasser in kurzen Prismen kristallisierende Pikrat schmolz bei 194°.

$C_{19}H_{23}N_2, C_6H_2O_7N_3$	Ber. C 59,16	H 4,97	N 13,80%
(507,49)			
$C_{20}H_{25}N_2, C_6H_2O_7N_3$	Ber. C 59,88	H 5,22	N 13,43%
(521,52)	Gef. ,, 59,29	,, 5,13	,, 13,11% (Ia)
	,, ,, 59,40	,, 5,02%	(Ib)

Äquivalentgewicht: Gef. 516.

C-Alkaloid J: Das aus Aceton-Wasser mikrokristallin ausgeschiedene, relativ schwerlösliche Pikrat begann sich beim Erhitzen ab 240° zu verfärben, ohne bis 320° zu schmelzen.

$C_{19}H_{21}N_2, C_6H_2O_7N_3$	Ber. C 59,40	H 4,59	N 13,86%
(505,48)	Gef. ,, 59,62	,, 4,34	,, 13,66% (Ia)

Äquivalentgewicht: Gef. 506.

C-Alkaloid K (C-Dihydro-toxiferin): Das Chlorid wurde am besten aus n-Propanol umgelöst. Die farblosen Nadeln färbten sich beim Stehen am Licht schwach rötlich.

$C_{20}H_{23}N_2Cl, \frac{3}{4} H_2O$	Ber. C 70,57	H 7,26	N 8,23	Cl 10,42%
(340,37)	Gef. ,, 70,55	,, 7,10	,, 8,37	,, 9,91% (Ia)

C-Fluorocurarin: Das aus Methyl-n-propylketon umgelöste Pikrat schmolz bei 213° (in Büschel angeordnete gelbe Nadeln).

$C_{21}H_{29}O_2N_2, C_6H_2O_7N_3$	Ber. C 56,93	H 5,49	N 12,29%
(569,56)	Gef. ,, 56,85	,, 5,67	,, 11,96% (Ia)
	,, ,, 56,94	,, 5,52	,, 11,92% (Ib)

Die Eigenfarbe des Chlorids erlaubte keine Äquivalentgewichtsbestimmung.

C-Fluorocurarin (C-Curarin III): Das Chlorid kristallisierte aus Methanol-Äther oder Methanol allein in hellgelben Nadeln.

$C_{20}H_{23}ON_2Cl, \frac{1}{2} H_2O$	Ber. C 68,26	H 6,88	N 7,96	Cl 10,08%
(351,88)	Gef. ,, 68,32	,, 6,67	,, 8,41	,, 10,14%

C-Alkaloid L: Das Pikrat kristallisierte aus Aceton-Wasser in kurzen, würfelförmigen Prismen vom Smp. 171°.

### Zusammenfassung.

In der vorstehenden Abhandlung wird über die UV.-Absorptionsspektren, wahrscheinlichsten Bruttoformeln, Toxizitäten und Curare-Wirkung sowie über die Zimtaldehyd-Salzsäure- und Eisen(III)-chlorid-Schwefelsäure-Farbreaktionen der 21 Alkaloide berichtet, die aus Calebassen in unserem Laboratorium isoliert worden sind.

Es wird zunächst gezeigt, dass sich diese Alkaloide auf Grund ihrer UV.-Absorptionsspektren in 6 Gruppen und 3 Einzelalkaloide aufteilen lassen und dass die einer Gruppe angehörenden Alkaloide sehr ähnliche Absorptionsspektren aufweisen. Diese Gruppen werden unterschieden als C-Curarin-Gruppe, C-Toxiferin-Gruppe, C-Calebassin-Gruppe, Gruppe der C-Alkaloide B, C, D, C-Fluorocurin-Gruppe, C-Calebassinin-Gruppe, C-Alkaloid J, L und C-Fluorocurarin. Die Absorptionsspektren der Alkaloide der einzelnen Gruppen konnten z. T. in Beziehung gesetzt werden mit den Spektren von Verbindungen mit bekannten Chromophoren.

Die Alkaloide wurden auf ihre Toxizitäten und Curare-Wirkung an der Maus untersucht. Sie unterscheiden sich in ihrer Wirkung sehr stark. Die Toxizitäten erstrecken sich über den Bereich von 0,3  $\gamma$ –20 mg pro kg Tiergewicht (Toxizitätsverhältnis 1 : 10<sup>5</sup>). Die stärkste Wirkung besitzen die C-Alkaloide E, G und Toxiferin; schwach wirksam erwiesen sich Fluorocurin, Fluorocurin, Calebassinin. Die stark wirksamen Alkaloide besitzen im Papierchromatogramm kleinere  $R_c$ -Werte, d. h. sie wandern kurz. Innerhalb der einzelnen Gruppen von stark wandernden Alkaloiden nimmt die biologische Aktivität mit steigenden  $R_c$ -Werten bzw. zunehmenden Verteilungskoeffizienten zwischen organischer Phase und Wasser ab. Genauere Angaben orientieren über die quantitativen Ausbeuten der wirksamen Alkaloide bei der Aufarbeitung der Calebassen.

Schliesslich werden Analysen von Pikraten, Chloriden und Jodiden und die ermittelten Molekulargewichte, ferner ihre Farbreaktionen mit Zimtaldehyd-Salzsäure und Eisen(III)-chlorid-Schwefelsäure mitgeteilt.

Zürich, Chemisches Institut der Universität.