

45. Über die Herkunft der Calebassen-Curare-Alkaloide.

Untersuchung verschiedener Calebassen.

9. Mitteilung über Calebassen-Alkaloide

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

(30. XII. 52.)

In unseren letzten Mitteilungen über Calebassen-Curare-Alkaloide¹⁾ haben wir gezeigt, dass solches Calebassen-Curare über 30 verschiedene Alkaloide vom Charakter quartärer Basen enthält, von denen wir bisher 21 in reinem Zustand isolierten. Die untersuchten Calebassen stammten teils aus dem Rio-Negro-, teils aus dem Orinocogebiet (Brasilien); von einigen war die genaue Herkunft nicht bekannt.

Man wusste bisher über die Frage, welche Pflanzen den Eingeborenen zur Bereitung des Calebassen-Curare dienen, sehr wenig. Aus den Untersuchungen von *H. King*²⁾ und *H. Wieland* und Mitarbeitern³⁾ geht lediglich hervor, dass die Rinde von *Strychnos toxifera* als Vertreter der Toxiferengruppe C-Toxiferin I und als Vertreter der Calebassingruppe Toxiferin II⁴⁾ enthält. *H. King* isolierte aus der Rinde die Toxiferine I bis XII, deren Einheitlichkeit z. T. aber nicht bewiesen ist. Dagegen war es bisher nicht möglich gewesen, die übrigen in den Calebassen vorkommenden Alkaloide in Pflanzen aufzufinden, so dass ihre Herkunft unbekannt war. Dies gilt insbesondere auch für Curarin.

Qualitativ wurden Rinden verschiedener *Strychnos*arten auf Vorhandensein curarisierend wirkender Substanzen von verschiedenen Forschern untersucht⁵⁾. Dabei liess sich feststellen, dass die Extrakte folgender Arten mehr oder weniger stark aktiv waren: *Strychnos Castelnaena Wedd.*, *Str. guianensis (Aubl.) Mart.*, *Str. toxifera Rob. Schomb.*, *Str. diaboli Sandw.*, *Str. Gardneri A. DC.*, *Str. Jobertiana Baillon*, *Str. „near hirsuta“*, *Str. Mitscherlichii Rich. Schomb.*, *Str. Peckii B. L. Robinson*, *Str. rubiginosa DC.*, *Str. solimoesana Krukoff*, *Str. trinervis (Vell.) Mart.* und *Str. Gubleri G. Planch.*

Durch die Freundlichkeit von Padre *Antonio Giaccone* (Brasilien) erhielten wir Rinde einer *Strychnos*art, die Herr Prof. *A. Frey-Wyssling*, Zürich, Eidg. Techn. Hochschule, als der *Strychnos-Mitscherlichii-Gruppe* angehörend identifizierte. In dem Extrakt dieser Rinde

¹⁾ *H. Schmid, J. Kebrle & P. Karrer*, *Helv.* **35**, 1864 (1952); *J. Kebrle, H. Schmid, P. Waser & P. Karrer*, *Helv.* **36**, 102 (1953).

²⁾ *H. King*, *Soc.* **1949**, 955.

³⁾ *H. Wieland, K. Bär & B. Witkop*, *A.* **547**, 156 (1941).

⁴⁾ Vgl. dazu *Helv.* **36**, 102 (1953).

⁵⁾ Siehe die Zusammenstellung in *Annals of the New York Academy of Sciences* **54**, Art. 3, Pages 297—530, October 30th, 1951.

konnten wir folgende Alkaloide papierchromatographisch und durch ihre Farbreaktionen eindeutig nachweisen:

C-Fluorocurinin, C-Fluorocurarin, C-Curarin, C-Calebassin, C-Alkaloid I und C-Alkaloide der B-, C-, D-Gruppe.

Diese Alkaloide fanden sich in der untersuchten Rinde in ungefähr denselben Mengenverhältnissen wie in den Calebassen; auch in der Rinde waren die Hauptalkaloide C-Curarin und C-Calebassin. Das zweidimensionale Papierchromatogramm der Alkaloide aus *Strychnos Mitscherlichii* (Fig. 1) zeigt grösste Ähnlichkeit mit demjenigen einer Calebasse¹⁾.

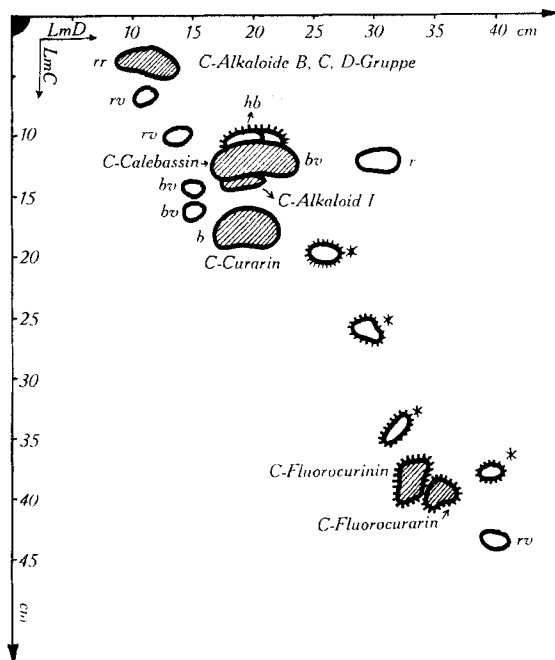


Fig. 1.

Papierchromatogramm von 1,3 mg gereinigter Alkaloid-Chloride aus der Rinde von *Str. Mitscherlichii*. Die einzelnen Flecken wurden durch Ansprühen mit Cer(IV)-sulfat- bzw. Jodlösung, sowie durch ihre Fluoreszenz im UV.-Licht kenntlich gemacht. * : Fluoreszenz im UV.; r = rote, rv = rotviolette, b = blaue, bv = blauviolette, hb = hellblaue Cer(IV)-sulfat-Reaktion. Die fluoreszierenden, mit einem * markierten Flecken sprachen auf Cer(IV)-sulfat- und Jodlösung nicht an. Die schraffierten Flecken repräsentieren Alkaloide, die früher in kristallisierter Form aus Calebassen-Curare isoliert worden sind.

Die nachgewiesenen Alkaloide aus der Rinde von *Strychnos Mitscherlichii* sind Vertreter von 5 der 8 Gruppen bzw. Typen, in die wir die Calebassen-Alkaloide eingeteilt haben²⁾. Es fehlen, wie in vielen

¹⁾ Vgl. Fig. 3, *Helv.* **35**, 1867 (1952).

²⁾ *Helv.* **36**, 102 (1953).

Calebassen, die Vertreter der Toxiferengruppe, die in *Strychnos toxifera* vorkommen.

Es kann daher jetzt mit Sicherheit gesagt werden, dass die Eingeborenen des Rio-Negro-Gebietes bei der Bereitung des Calebassen-Curare von der Rinde von *Strychnos Mitscherlichii* Gebrauch machen und, soweit solche Calebassen-Alkaloide der Toxiferin-Gruppe führen, auch von *Strychnos toxifera*. Welche weiteren Pflanzen mitverarbeitet werden, muss durch die Untersuchung anderer Rinden noch ermittelt werden.

Die Tatsache des Vorkommens der quartären Alkaloidsalze in der Rinde von *Strychnos Mitscherlichii* zeigt, dass die Annahme von *Oswaldo de Lazzarini-Peckolt*¹⁾, die quartären Basen würden erst bei der Herstellung (Eindampfen) des Curare durch Methylierung tertiärer Basen gebildet, in unseren Beobachtungen keine Stütze findet.

Die Extraktion der quartären Curare-Alkaloide aus der Rinde liess sich übrigens durch Einstellen schwach saurer Reaktion verbessern.

Untersuchung von verschiedenen Calebassen-Mustern: Im vorigen Jahr haben wir sieben verschiedene Muster von Calebassen-Curare untersucht (N I – N VII), von welchen sich nur die Calabasse N IV (Tontöpfchen) in Originalverpackung befand. Alle Muster zeigten papierchromatographisch ähnliche Zusammensetzung.

Vor kurzem hatten wir Gelegenheit, weitere fünf Calebassen und zwei Tontöpfchen zu bearbeiten. Vier der Calebassen zeigten in der Zusammensetzung sowie in den Mengenverhältnissen der einzelnen Alkaloide grosse Ähnlichkeit, ebenso mit den früher untersuchten Mustern. Eine Calabasse (N IX) fällt aus dem Rahmen, indem die Fluorocurin-Gruppe nur spurenweise, Curarin aussergewöhnlich wenig und Calabassin überhaupt nicht vertreten ist.

Eine grosse Ähnlichkeit zeigten die Inhalte der drei Tontöpfchen (N IV, N XVI und N XVII), die sich von den Calebassen wesentlich nur in der Fluorocurin-Gruppe unterschieden, indem sie neben Spuren von Fluorocurin zur Hauptsache Fluorocurinin und Fluorocurarin enthielten. Die zwei Töpfchen N XVI und N XVII unterschieden sich vom Töpfchen N IV durch den Gehalt geringer Mengen zweier neuer Alkaloide, die intensive blaue Cer(IV)-sulfat-Reaktionen gaben. Wir werden über diese neuen Alkaloide, die wir inzwischen auch in der Rinde einer anderen südamerikanischen Pflanze fanden, in einer folgenden Mitteilung berichten.

Tab. 1 enthält die Resultate der Untersuchung verschiedener Calebassen in bezug auf die Hauptalkaloide und leicht nachweisbaren Nebenalkaloide zusammengefasst.

¹⁾ Revista da Sociedade Brasileira de Quimica **19**, nos. 3–4 (1950).

Tabelle 1.

Muster	Verpackung	HD-Dosis der Calebassen ²⁾	C-Fluoro- curinin	C-Fluoro- curin	C-Fluoro- curarin
N I	—	1,1	nil	++	++
N II	—	1,3	nil	++	++
N III	—	1,6	nil	++	++
N IV	Töpfchen	0,7	++	Spuren	++
N VI	—	0,6	++	nil	++
N VII	—	0,9	++	nil	++
N VIII	Calebasse	3,0	nil	+	+
N IX	Calebasse	1,8	nil	Spuren	Spuren
N X	Calebasse	1,1	nil	++	++
N XII	Calebasse	3,5	nil	++	++
N XIV	Calebasse	1,5	nil	++	++
N XVI	Töpfchen	0,5	++	Spuren	++
N XVII	Töpfchen	0,6	++	Spuren	++
Rinde von Str. Mitscher- lichii		4.2	++	nil	+
Muster	C-Curarin	C-Calebassin	C-Alkaloide BCD-Gruppe	C-Toxiferin I	C-Alkaloid I
N I	++++	+++++	++	+	+
N II	++++	+++++	++	+	+
N III	++	+++++	++	+	+
N IV	+++++	+++++	++	Spuren	+
N VI	+++++	+++++	++	?	+
N VII	+++++	+++++	++	?	+
N VIII	++++	+++++	+	nil	+
N IX	++	nil	nil	+	nil
N X	++++	+++++	++	?	+
N XII	++++	+++++	++	nil	+
N XIV	++++	+++++	++	nil	?
N XVI	+++++	+++++	++	nil	+
N XVII	+++++	+++++	++	nil	+
Rinde von Str. Mitscher- lichii	++++	+++++	++	nil	+

Wir danken Herrn Padre *Antonio Giaccone* für die Beschaffung der untersuchten Rinde aufs beste. Ferner haben wir zu danken Herrn *Dr. H. Saemann* (Schönenwerd), der Firma *Cortume Carioca* (Rio de Janeiro), der Firma *Produtos Roche S.A.* (Rio de Janeiro) für ihre Hilfe bei der Spedition des Pflanzenmaterials sowie der Firma *F. Hoffmann-Lu Roche & Co. AG.* (Basel) für die Überlassung von Calebassen-Curare. Endlich schulden wir Herrn Prof. *Frey-Wyssling* (Zürich) für die Bestimmung der Rinde unseren besten Dank.

¹⁾ Die Anzahl der + bezeichnet die relativen Mengen der gefundenen Alkaloide.

²⁾ Head Drop Dosis in mg/kg Maus.

Experimenteller Teil.

Untersuchung der Calebassen: Je 1 g Calebassen-Curare hat man mit 1 ml Wasser angefeuchtet und hierauf zweimal mit insgesamt 15 ml Methanol extrahiert. Der Extrakt wurde eingedampft, in Wasser gelöst und über eine kleine Säule von mit Chlorionen beladenem Amberlit IRA 400 filtriert. Das Filtrat wurde im Vakuum eingedampft, in Methanol gelöst und über eine Säule (20 × 8 mm) von mit HCl vorbehandeltem und neutral gewaschenem, bei 110° getrocknetem Aluminiumoxyd filtriert. Vom eingedampften Filtrat hat man mit je 1–1,5 mg ein- bzw. zweidimensionale Papierchromatogramme (*Whatman*-Papier Nr. 1) mit den Lösungsmitteln „D“ und „C⁽¹⁾“ ausgeführt.

Untersuchung der Rinde von *Strychnos Mitscherlichii*: 60 g getrocknete, fein zermahlene Rinde hat man dreimal mit je 300 ml Wasser durch Schütteln bei 20° extrahiert. Der in Methanol nur teilweise lösliche Extrakt wog nach dem Eindampfen 2 g. Nach der Wassereextraktion wurde das Rindenpulver noch erschöpfend mit Methanol, dem 3% Essigsäure zugesetzt worden waren (1 l) extrahiert. Der eingedampfte Methanolauszug wog 1,5 g. Der wässrige, in Wasser gelöste, und der methanolische, in 50-proz. wässrigem Methanol gelöste Extrakt wurden getrennt mit *Reinecke*-Säure nach *J. J. Panouse*²⁾ behandelt¹⁾. Aus dem wässrigen Extrakt gewann man schliesslich 210 mg, aus dem Methanolextrakt 340 mg acetonlösliche Reineckate. Die Reineckate wurden nach Umwandlung in die Alkaloid-Chloride¹⁾ mit den Lösungsmitteln „D“ und „C⁽¹⁾“ zweidimensionalen Papierchromatogrammen an *Whatman*-Papier Nr. 1 unterworfen. Die einzelnen Alkaloide hat man durch ihre Lage in zweidimensionalen Chromatogrammen, durch den direkten Vergleich mit den entsprechenden Calebassen-Alkaloiden in eindimensionalen Chromatogrammen (Lösungsmittel „C“ und „D“) und durch ihre charakteristischen Farb- und Halochromie-Reaktionen sowie ihre Fluoreszenz im UV. identifiziert¹⁾. Es zeigte sich, dass im Wassereextrakt hauptsächlich die C-Alkaloide Fluorocurinin und Fluorocurarin, im Methanolextrakt dagegen C-Curarin und C-Calebassin angereichert waren.

Das Holz von *Str. Mitscherlichii* enthielt keine Alkaloide.

Zusammenfassung.

Es wird gezeigt, dass in der Rinde von *Strychnos Mitscherlichii* die Calebassen-Curare-Alkaloide: C-Fluorocurinin, C-Fluorocurarin, C-Curarin, C-Calebassin, C-Alkaloid I und C-Alkaloide der B-, C-, D-Gruppe vorkommen, und zwar in ungefähr denselben Mengenverhältnissen wie in vielen Calebassen. Die Eingeborenen müssen daher bei der Bereitung des Calebassen-Curare von dieser Rinde Gebrauch machen.

Im weiteren werden Angaben über die Zusammensetzung der Alkaloid-Gemische aus sieben verschiedenen Calebassen mitgeteilt.

Zürich, Chemisches Institut der Universität.

¹⁾ Helv. **35**, 1864 (1952).

²⁾ Bl. **1949**, 595.