

143. Weitere neue Calebassenalkaloide (C-Alkaloide Q, R, S und Pseudo-fluorocurin).

20. Mitteilung über Calebassenalkaloide¹⁾

von H. Meyer, H. Schmid und P. Karrer.

(17. V. 56.)

Aus dem Curare-Gift, das in zwei gleichen, aus Venezuela stammenden Calebassen enthalten war, konnten wir in grösseren Mengen verschiedene Alkaloide isolieren, die als Calebassenalkaloide schon bekannt sind, nämlich Dihydro-toxiferin, Curarin, Calebassin und Fluorocurarin; ausserdem wurden darin aber in kleinen Mengen 4 weitere Alkaloide gefunden, die wir mit den Namen C-Alkaloid Q, C-Alkaloid R, C-Alkaloid S und Pseudo-fluorocurin bezeichnen wollen.

C-Alkaloid Q ist eine tertiäre Base, Smp. 276–283° (Zers.). Die Analysen stimmen am besten auf die Verhältnisformel $(C_{22}H_{27}O_3N_3)_x$, wobei die Frage zunächst offen bleibt, ob der Faktor x eins oder zwei ist. Das Absorptionsspektrum der Verbindung (Fig. 1) lässt eine Zuordnung dieser Base zu den Indolalkaloiden zu.

C-Alkaloid R hat den Charakter eines quartären Salzes. Es gibt ein gut kristallisiertes Chlorid, das sich bei ca. 312° zersetzt und ein ebenfalls gut kristallisiertes Perchlorat vom Zersetzungspunkt 317°. Sein Spektrum ist dasjenige eines Indolins vom Typus der C-Alkaloide B, C, D²⁾ (Fig. 2). Die Analysen sprechen für die Zusammensetzung $(C_{21}H_{27}N_2O_2^+)_x \cdot Rc^3)$ in Lösungsmittel „D“³⁾ beträgt 0,92, in Lösungsmittel „C“³⁾ 0,68.

C-Alkaloid S, eine tertiäre Base, konnte als kristallisiertes Pikrat isoliert werden, das bei 250° schmilzt. Es besitzt ein ähnliches Spektrum wie Toxiferin (und N-Methyl-3,3-dimethyl-2-methylen-indolin²⁾) (Fig. 3). Die Analyse lässt auf die Formel $C_{19}H_{22}N_2$ oder $C_{20}H_{24}N_2$ schliessen. Es ist von Nor-dihydro-toxiferin verschieden.

Eine eigenartige Base ist das Pseudo-fluorocurin. In der Analyse, im Rc-Wert, im UV.-Spektrum (Fig. 4), in den Farbreaktionen und im Smp. des Pikrates lässt es sich von Fluorocurin kaum unterscheiden, dagegen bildet es – im Gegensatz zu letzterem – kein schwer lösliches p-Nitrophenylhydrazon und kein schwer lösliches Jodid. Es liess sich erst nach zahlreichen chromatographischen Reini-

¹⁾ 19. Mitteilung vgl. Helv. **38**, 913 (1956).

²⁾ J. Kebrle, H. Schmid, P. Waser & P. Karrer, Helv. **36**, 102 (1953).

³⁾ H. Schmid, J. Kebrle & P. Karrer, Helv. **35**, 1864 (1952).

⁴⁾ H. Asmis, P. Waser, H. Schmid & P. Karrer, Helv. **38**, 1661 (1955).

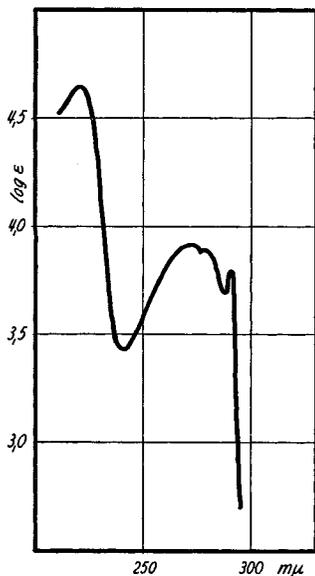


Fig. 1.

C-Alkaloid Q.

$c = 5,1 \cdot 10^{-5}$ -m. (MG = 381)
(0,978 mg in 50 ml Äthanol)

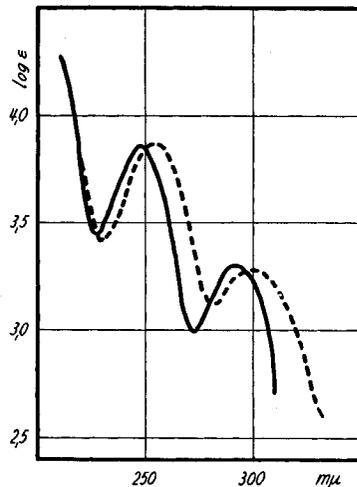


Fig. 2.

C-Alkaloid R-chlorid

— neutral
- - - in 0,01-n.äthanolischer KOH
 $c = 5,2 \cdot 10^{-5}$ -m. (MG = 374)
(0,966 mg in 50 ml Äthanol)

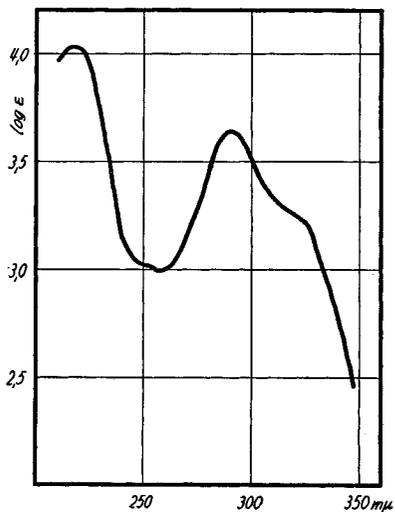


Fig. 3.

C-Alkaloid S.

Hydrochlorid aus 1,565 mg Pikrat in 50 ml Äthanol

gungen als Pikrat kristallisieren. Sein charakteristisches Spektrum lässt kaum einen Zweifel zu, dass Pseudo-fluorocurin ein Indoxyl-derivat ist.

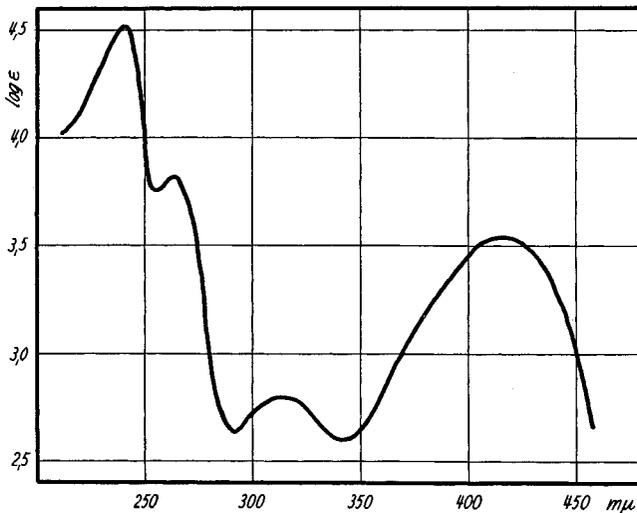


Fig. 4.

ψ -Fluorocurinchlorid.

0,987 mg in 50 ml Äthanol. $c = 5,5 \cdot 10^{-5}$ -m. (MG = 360)

	Wahrscheinliche Bruttoformel	Rc-Wert Lösgm. „D“	Farbreaktionen ⁵⁾		
			Cer(IV)-sulfat	FeCl ₃ in konz. H ₂ SO ₄	konz. HNO ₃
C-Alkaloid Q	(C ₂₂ H ₂₇ O ₃ N ₃) _x	4,92	nil		gelb 2,5 Y 8/10 ⁵⁾
C-Alkaloid R	(C ₂₁ H ₂₇ N ₂ O ₂ ⁺) _x	0,92 0,68 (Lösgm. C)	violett 7,5 RP 3/8		schwach rotgelb 2,5 YR 6/10
C-Alkaloid S (Rc als Chlormethylat)	C ₁₈ H ₂₂ N ₂ oder C ₂₀ H ₂₄ N ₂	1,35 0,51 (Lösgm. C)	rotviolett 5,0 RP 3/10	blaugrün BG 4/10	braungelb 5,0 YR 5/8
Pseudo-fluorocurin	C ₂₀ H ₂₅ O ₂ N ₂ ⁺	2,10 (Lösgm. C)	rotorange 5,0 r 5/8		blaugrün 5,0 R 4/6

Herrn Dr. *W. G. Jaffé*, Caracas, danken wir herzlich für die Calebassen, deren Inhaltsstoffe in dieser Mitteilung beschrieben werden.

Ferner danken wir dem *Schweiz. Nationalfonds zur Förderung der wissenschaftlichen Forschung* für die uns gewährte Unterstützung.

⁵⁾ Farbenindices nach *Munsell Book of Colour, Munsell Colour Comp.* Baltimore 1941.

Experimenteller Teil.

1. Extraktion und chromatographische Trennung I. Vorproben zeigten, dass die beiden Calebassen ungefähr gleichartigen Inhaltes waren, so dass sie zur Aufarbeitung zusammengefasst werden konnten.

Der Gang der Aufarbeitung wich in keiner Weise von der nun bei Curarextrakten üblich gewordenen Methode ab: 1. Extraktion mit Methanol/Wasser 10:1; 2. Fällung der Alkaloide als Reineckate; 3. Umwandlung der acetonlöslichen Reineckate in Chloride.

So wurden aus 199 g Calebasseninhalt 33 g Rohchloride gewonnen.

Zur Trennung der Rohchloride haben wir eine Säule mit folgenden Daten verwendet: Füllhöhe 121 cm, Radius 42 mm, Papierpulver 2,8 kg.

Als Lösungsmittel gelangte das Gemisch C (wassergesättigtes Methyläthylketon + 1,5% Methanol) zur Anwendung.

Die 33 g Rohchloride konnten vollständig in 200 cm³ des Lösungsmittels C+95 cm³ Methanol aufgelöst und, nach entsprechendem Vor- und Rückklimatisieren der Säule, auf diese aufgetragen werden.

Die Säule lief während rund 8 Wochen und lieferte 105 Fraktionen (T₁1—105), deren Volumina von 200—1500 cm³ (je nach ausgeflossenen Substanzmengen) variierte.

2. Isolierung der drei Hauptalkaloide. Aus den Fraktionen T₁26—31 konnten 1,2 g Dihydro-toxiferin als Pikrat gewonnen werden. Das Rohpikrat wurde zweimal aus Aceton/Wasser umkristallisiert.

In gleicher Weise haben wir aus den Fraktionen T₁36—42 1,5 g Curarinpikrat und aus den Fraktionen T₁46—71 4,1 g Calebassinpikrat gewonnen.

3. Ein neues tertiäres Alkaloid: C-Alkaloid Q. Bei der Bearbeitung der Fraktion T₁12 fiel es auf, dass sich ein Teil in Methanol nicht löste. Die Beobachtung, wonach bei den ersten Fraktionen oftmals kleinere oder grössere Mengen in Methanol ungelöst bleiben, ist nicht neu.

Nachdem nun die Hauptmenge der Fraktion T₁12 mit Methanol weggelöst werden konnte, wurde diesmal versucht, den an den Wänden haftenden weissen Belag in Lösung zu bringen. Dies gelang durch längeres Kochen mit 50 cm³ Methanol/Wasser (ca. 1:10). Aus der Lösung kristallisierte nach dem Abkühlen eine Substanz in schönen Nadelchen aus (40 mg). Auch aus den beiden Nachbarfraktionen konnten auf diese Weise noch 10 mg der gleichen Verbindung gewonnen werden. Sie wurde noch zweimal aus Methanol/Wasser umkristallisiert.

Diese, als C-Alkaloid Q bezeichnete Substanz erwies sich als äusserst schwer löslich in Methanol, Äthanol, Äther, Chloroform, Aceton und Wasser. Nur in saurer wässriger Lösung ist sie etwas besser löslich. Da bei der Analyse kein Cl gefunden wurde, muss angenommen werden, dass eine tertiäre Base vorliegt, welche sich in Chloroform und Äther nur sehr schwer löst. Eigenschaften: Smp. 276—283° (Zersetzung), Farbreaktionen: Ce^{IV}-Sulfat nil, H₂SO₄ konz. nil, HNO₃ 2,5 Y 8/10 (gelb)⁵. — Das Analysenpräparat wurde 5 Std. über P₂O₅ im Hochvakuum bis zur Gewichtskonstanz getrocknet.

C ₂₂ H ₂₇ O ₃ N ₃	Ber. C 69,26	H 7,14	N 11,02	CH ₃ (N) 3,96%
	Gef. „ 69,04	„ 7,12	„ 10,94	„ 4,17%

Es wurde kein O—CH₃ gefunden.

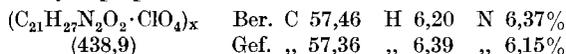
Rc-Wert: 4,92 (Gemisch D). Der Fleck konnte mit aufgespritzter J₂-Lösung sichtbar gemacht werden.

Das Absorptions-Spektrum (Fig. 1) verändert sich auf Zusatz von Alkali oder Säure nicht.

4. Ein neues C-Alkaloid R aus den Fraktionen T₁101—104. Die Fraktionen T₁101—104 lieferten nach einer erneuten Trennung über Papierpulver ein gut kristallisiertes Alkaloid:

Die zusammengefassten Fraktionen T₁101—104 konnten ganz in Lösungsmittel D gelöst werden. Sie wurden auf eine Säule (Höhe 40 cm, Durchmesser 3 cm, Papierpulver 136 g) aufgetragen. Das Chromatogramm lief 13 Tage und lieferte 202 Fraktionen zu

ca. 8 cm³. Von diesen kristallisierten die Fraktionen T₂112—155. Das Chlorid liess sich aus n-Propanol umkristallisieren (78 mg). Besser kristallisierte das Perchlorat aus Aceton/Wasser. — Das Analysenpräparat wurde 7 Std. im Hochvakuum über P₂O₅ getrocknet.



Farbreaktionen: Diese Proben wurden mit dem Chlorid ausgeführt, das aus dem Analysenpräparat durch Umwandlung über Amberlit IRA 400 hergestellt worden war: Ce^{IV}-Sulfat violett 7,5 RP 3/8, verblasst nach 5 Sek. über braun nach grün. H₂SO₄ konz. nil. HNO₃ schwach rotgelb 2,5 YR 6/10, verblasst hellgelb.

Smp. des Chlorids 312° (Zersetzung), des Perchlorates 317° (Zers.).

R-Werte: 0,90 (Lsgm. D); 0,68 (Lsgm. C).

Spektrum (Fig. 2): Für das Spektrum wurde das aus Analysesubstanz hergestellte Chlorid zweimal aus n-Propanol umkristallisiert. Die bathochrome Verschiebung geht auf Säurezusatz wieder zurück.

5. Die Fluorocuringruppe. Die Fraktionen T₁15—23 wurden zur Isolierung des Fluorocurins, welches im Papierchromatogramm deutlich nachgewiesen werden konnte, zusammengefasst. Eine Probe davon konnte als Pikrat direkt kristallisiert werden. Hingegen erhielt man ein leicht kristallisierbares Jodid beim Versetzen mit KJ-Lösung. Dieses Jodid erwies sich aber als Dihydro-toxiferinjodid, welches diesen Fraktionen noch beigemengt war.

Wir haben daraufhin die Hauptmenge der Lösung mit KJ-Lösung versetzt und daraus noch 305 mg Dihydro-toxiferinjodid gewonnen. Die eingeengte Mutterlauge lieferte weitere 70 mg rohes Jodid, welches aber grösstenteils als Fluorocurarin erkannt werden konnte. Durch zweimaliges Umkristallisieren aus Aceton/Wasser konnten 48 mg reines Fluorocurarinjodid erhalten werden.

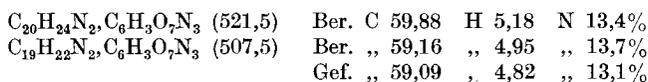
Nach dem Abtrennen des Dihydro-toxiferins und des Fluorocurarins wurden sämtliche Mutterlauen wieder zusammengefasst und über Amberlit IRA 400 in Chloride zurückverwandelt. Durch mehrmaliges Eindampfen und Wiederaufnehmen in abs. Äthanol konnte auch das überschüssige KCl grösstenteils entfernt werden.

Eine Probe dieser Lösung hat man mit Pikrinsäure versetzt. Diesmal gelang es, ein kristallisiertes Pikrat zu erhalten. Bei diesem aus Aceton/Wasser kristallisierten Pikrat handelte es sich aber wiederum nicht um Fluorocurin. Mit der Hauptmenge wurde nun gleich verfahren, worauf 120 mg des neuen Pikrates gewonnen werden konnten. Dieses neue C-Alkaloid S zeigt ein Toxiferin ähnliches Spektrum. Es ist tertiär.

Eigenschaften: Für die folgenden Proben und das Spektrum wurde aus dem reinsten Pikrat etwas Chlorid hergestellt. Dieses konnte nicht kristallisiert werden.

Farbreaktionen: Ce^{IV}-Sulfat rotviolett 5,0 RP 3/10, verblasst nach 5 Sek. H₂SO₄ konz. nil; id. 50% nil. HNO₃ braungelb 5,0 YR 5/8, nach 15 Min. hellgelb. FeCl₃ blaugrün BG 4/10.

Smp. des Pikrates 250°.



Eine kleine Menge des C-Alkaloids S wurde über das Jodmethylat in das Chlormethylat verwandelt. Letzteres gab die gleichen Farbreaktionen wie die tertiäre Base (C-Alkaloid S). Die Rc-Werte lagen im Lösungsmittel D bei 1,35, im Lösungsmittel C bei 0,51.

Nach Abtrennung dieses tertiären Alkaloides haben wir wiederum sämtliche Mutterlauen zusammengefasst und in Chloride umgewandelt. Diese wurden einer erneuten chromatographischen Trennung an Papierpulver unterworfen (Trennung 3); Lösungsmittel D. Man fing 140 Fraktionen auf, wobei sich die Hauptmenge, welche schön grün-gelb fluoreszierte, in den Fraktionen T₃16—48 befand (407 mg). Es wurde nur diese weiter untersucht.

