

144. Calebassen-Alkaloide aus der Rinde einer südamerikanischen Pflanze.

21. Mitteilung über Calebassen-Alkaloide¹⁾

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

(17. V. 56.)

Dank der Freundlichkeit von Padre *Dornstauder* erhielten wir aus Diamantino (Brasilien) die Rinde einer Pflanze, die nicht genau bestimmt werden konnte, aber vielleicht zu den Viburnaceen gehört. Es gelang uns, daraus 4 Alkaloide zu isolieren. In kleiner Menge fanden sich darin C-Xanthocurin und C-Alkaloid P, die wir früher²⁾ in Calebassen entdeckt hatten, die vom Indianerstamm Isana im Flussgebiet Iça in Brasilien, nahe der Grenze Kolumbiens, hergestellt worden waren. Es ist daher möglich, dass unsere nicht genauer bestimmte Pflanze von jenen Indianerstämmen bei der Bereitung ihres Curaregiftes mitverwendet wird.

In äusserst kleiner Menge fand sich in der untersuchten Rinde ein rotgelbes Alkaloid, das wir Croceocurin nennen wollen. Sein Spektrum ist in Fig. 1 abgebildet und ist ähnlich demjenigen des Xanthocurins. Zu einer genaueren Untersuchung reichte die Substanz nicht. Sie gibt ein gut kristallisiertes Pikrat.

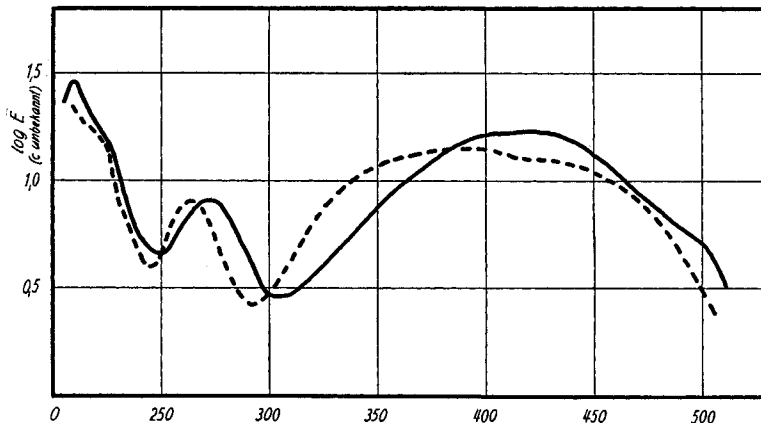


Fig. 1.

----- Croceocurinchlorid in Wasser,
— Croceocurin in 0,05-n. KOH, c unbekannt.

¹⁾ 20. Mitteilung vgl. *Helv.* **38**, 1208 (1956).

²⁾ *E. Giesbrecht, H. Meyer, E. Bächli, H. Schmid & P. Karrer, Helv.* **37**, 1974 (1954).

Das Hauptalkaloid aus der Rinde war eine Verbindung, die den Charakter eines quartären Salzes besitzt und Kryptocurin genannt werden soll. Trotz zahlreicher chromatographischer Reinigungen gelang es nicht, das Chlorid, das Pikrat, das Reineckat oder andere einfache Salze in kristallisierten Zustand überzuführen. Einzig das Tetraphenylborat kristallisierte in schönen Nadeln. Dessen Analysen entsprechen der Formel $(\ominus\text{B}(\text{C}_6\text{H}_5)_4 \cdot \text{C}_{20}\text{H}_{27}\text{O}_2\text{N}_2^{\oplus})_x$ oder $(\ominus\text{B}(\text{C}_6\text{H}_5)_4 \cdot \text{C}_{20}\text{H}_{29}\text{O}_2\text{N}_2^{\oplus})_x$, wobei noch zu bestimmen bleibt, ob $x = 1$ oder $x = 2$ ist. Die Verbindung enthält 1 (bzw. 2) N-Methyl.

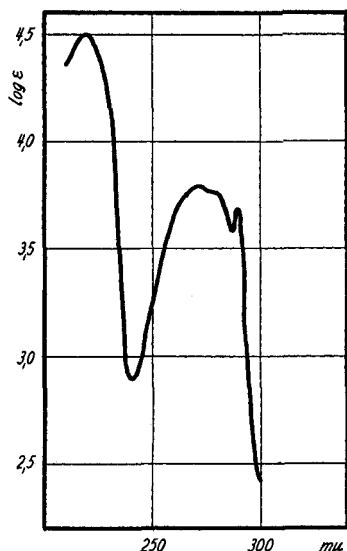


Fig. 2.

Kryptocurinchlorid.

$c = 5,4 \cdot 10^{-5}$ -m. (MG = 363)
(0,987 mg in 50 ml Äthanol).

Die Untersuchung des Kryptocurins wird fortgesetzt.

Herrn Padre *Dornstauder* möchten wir für die Übersendung des Pflanzenmaterials unseren herzlichen Dank aussprechen.

Weiterhin danken wir dem *Schweiz. Nationalfonds zur Förderung der wissenschaftlichen Forschung* für die Unterstützung dieser Untersuchung bestens.

Experimenteller Teil.

I. Extraktion und chromatographische Trennung I. Die feinvermahlene Rinde wurde mit 85-proz. wässrigem Methanol bei Zimmertemperatur so lange extrahiert, bis der Extrakt mit Ce^{IV} -Sulfat nur noch eine schwache Farbreaktion lieferte.

Der Rückstand des gesamten Rohextraktes wog hierauf 160 g, wovon 28 g in Wasser unlöslich waren. Der lösliche Teil wurde nach der üblichen Methode über die

Kryptocurin besitzt das Absorptionsspektrum eines Indolalkaloids (Fig. 2). Es gibt mit HNO_3 eine dunkelgrüne, mit Zimtaldehyd-Salzsäure eine schmutzig violette Farbreaktion. Bei der katalytischen Hydrierung wird eine H_2 -Menge aufgenommen, die 1 Mol für $\text{C}_{20}\text{H}_{27}\text{O}_2\text{N}_2^+$, bzw. 2 Mol H_2 für $(\text{C}_{20}\text{H}_{27}\text{O}_2\text{N}_2^+)_2$ entspricht. Die erste Hälfte Wasserstoff wird sehr schnell, die zweite langsam absorbiert. Das Reduktionsprodukt gibt ebenfalls ein gut kristallisiertes Tetraphenylborat. Sein UV.-Spektrum unterscheidet sich nicht wesentlich von demjenigen der nicht hydrierten Substanz.

Kryptocurin besitzt geringe Toxizität: HD 8 mg, SL 8,9 mg, DML über 13 mg/kg Maus.

Der R_c -Wert des Chlorids im Lösungsmittel „D“³⁾ beträgt 3,10, im Lösungsmittel „C“³⁾ 2,95.

³⁾ Helv. **35**, 1875 (1952).

Reineckate in die Chloride umgewandelt, wobei die Ausbeute 43,4 g Rohchloride betrug. Eine Abtrennung der tertiären Basen, deren Gehalt ca. 5% betrug, wurde nicht durchgeführt. Hingegen schien, wie durch einen Vorversuch festgestellt werden konnte, eine Vorreinigung der Rohchloride durch Filtration über Al_2O_3 vorteilhaft.

Zu diesem Zwecke wurden die in 90-proz. wässrigem Äthanol vollständig gelösten Rohchloride durch eine Säule, gefüllt mit neutralem Al_2O_3 (Aktivität II—III), hindurch laufen gelassen und mit abs. Äthanol nachgewaschen, bis das Filtrat nicht mehr gefärbt war. Die so gereinigten Chloride wogen nunmehr 34,5 g. Mit Methanol und Wasser konnten noch 6,6 g der in der Säule verbliebenen 8,9 g herausgelöst werden. Da diese aber nur noch sehr geringe biologische Aktivität aufwiesen, wurden sie verworfen. Die Toxizität der Chloride blieb bei dieser Prozedur unverändert, nämlich HD 3, SL 3,5, DML 4,5 mg/kg.

Chromatographische Trennung T I: Die gereinigten Rohchloride (34,5 g) konnten in einem Gemisch von 100 cm^3 Lösungsmittel C³) und 45 cm^3 Methanol vollständig gelöst werden. Sie gelangten an einer gut vorklimatisierten Säule zur Auftragung. Durchmesser der Säule 8,2 cm, Höhe 160 cm, Papierpulver 4,7 kg *Whatman* „Standard Degree“, Tropfgeschwindigkeit 60—80 $\text{cm}^3/\text{Std.}$, Lösungsmittel Gemisch „C“, Laufzeit 4 ½ Wochen.

Vor dem Auftragen musste der obere Teil der Adsorptions Säule dem höheren Methanolgehalt der aufzutragenden Lösung angepasst werden. Nach dem Auftragen spielte sich derselbe Vorgang in umgekehrter Reihenfolge ab.

Es wurden insgesamt 166 Fraktionen à 300 g gesammelt (Totalgewicht 29,8 g), sowie nach Erhöhung des Methanol- und Wassergehaltes des Lösungsmittels ein Nachlauf (1,5 g).

Um die Fraktionen sinngemäss zusammenfassen zu können, haben wir von ihnen allen Proben auf Papierstreifen laufen gelassen. Zur Sichtbarmachung der Flecken diente, mit Ausnahme derer des Hauptalkaloides, eine 1-proz. Lösung von Cer(IV)-Sulfat in 2-n. Schwefelsäure. Ausserdem wurden die Papierstreifen im UV.-Licht untersucht.

II. Gewinnung des Hauptalkaloides. Da es nicht gelang, aus den Fraktionen 16—27, welche die meiste Substanz enthielten, ein kristallisiertes Produkt direkt zu erhalten, wurden sie zur Reinigung ein zweites Mal über Papierpulver chromatographiert.

Chromatographische Trennung II: Durch Vorversuche hatte man festgestellt, dass sich für eine zweite Trennung das Lösungsmittelgemisch D³) am besten eignete. Auf dem Papier konnte von dieser Substanz im UV.-Licht zwar nach wie vor nur ein Fleck beobachtet werden, doch schien es, dass bei Anwendung von Lösungsmittel D die Spitze des Flecks anders fluoreszierte als dessen Kern. (Später zeigte es sich, dass das Alkaloid selbst keine Fluoreszenz im UV.-Licht aufwies.)

Die Substanz (Fraktionen 16—27 aus T I) konnten in 64 cm^3 Gemisch D und 13 cm^3 Pyridin vollständig gelöst werden. Diese Lösung wurde auf die dem Lösungsmittel angepasste Säule aufgetragen. Höhe der Säule 80 cm, Durchmesser 6,5 cm, Papierpulver 1,5 kg, Tropfgeschwindigkeit 20—30 $\text{cm}^3/\text{Std.}$, Lösungsmittel Gemisch „D“, Laufzeit 10 Tage.

Es wurden insgesamt 70 Fraktionen à ca. 35 cm^3 gesammelt (Totalgewicht 11,2 g), nebst einem Nachlauf, eluiert mit einem Gemisch von Wasser und Methanol (0,7 g). Die Fraktionen haben wir auf Grund von orientierenden Papierchromatogrammen in 7 Gruppen zusammengefasst (T II 1—7). Hierbei erwiesen sich die Fraktionen 3—6 ziemlich einheitlich, so dass auch sie zusammengefasst werden konnten. Bei sämtlichen folgenden Versuchen wurde immer mit der Substanz aus diesen Fraktionen gearbeitet. Sie enthalten das Hauptalkaloid dieser Pflanze, das als Kryptocurin bezeichnet werden soll.

Kryptocurin: Versuche mit kleinen Proben zeigten, dass durch weitere chromatographische Trennungen an Cellulosepulver kein reineres Produkt mehr erhalten werden konnte. Hingegen lieferte ein zweimaliges Chromatographieren über eine Säule von neutralem Al_2O_3 (Aktivität II—III, Lösungsmittel Chloroform/Äthanol 50:1) ein beinahe farbloses, amorphes Produkt. Ein vollkommen farbloses Präparat konnte schliesslich durch Behandeln mit Tierkohle erhalten werden. Es gelang aber zunächst nicht, von diesem reinsten Chlorid ein kristallisiertes Derivat zu erhalten. Schliesslich konnten wir aber ein ausgezeichnet kristallisierendes Salz mit Teträphenylbornatrium gewinnen.

Versetzt man eine wässrige Lösung des reinsten amorphen Kryptocurin-chlorids mit einer wässrigen Lösung von Tetraphenylbornatrium, so entsteht ein weisser, gallertiger Niederschlag, der sich nur sehr schwer filtrieren lässt. Deshalb wurde darauf verzichtet und der Niederschlag mit möglichst wenig Aceton unter Erwärmen gerade eben wieder aufgelöst. Beim Stehenlassen und Abkühlen kristallisierte das Salz in sehr schönen Nadeln aus. Nach dreimaligem Umkristallisieren aus Aceton/Wasser zeigte das rein weisse Salz den Smp. 127°. Es kann leicht, wie ein Reineckat, über das Sulfat wieder in das Chlorid zurückverwandelt werden, indem nämlich das Ag-Salz des Tetraphenylbornatriums in Aceton und Wasser schwer löslich ist. Ein solchermaßen regeneriertes Chlorid erwies sich mit dem amorphen Ausgangsmaterial völlig identisch, nicht zuletzt auch im Fehlen jeder Kristallisationstendenz. Kryptocurinchlorid ist ein quartäres Ammoniumsalz.

Analysen wurden mit dem reinsten, über Al_2O_3 chromatographierten und mit Tierkohle behandelten Chlorid ausgeführt. Zur Analyse wurde dieses 6 Std. über P_2O_5 bei 60° zur Gewichtskonstanz getrocknet.

| | | | | | |
|---|--------------|--------|--------|---------------------------|-------|
| $(\text{C}_{20}\text{H}_{27}\text{O}_2\text{N}_2\text{Cl})_x$ | Ber. C 66,20 | H 7,45 | N 7,74 | 1 $\text{CH}_3(\text{N})$ | 4,14% |
| (362,7) _x | Gef. „ 66,53 | „ 7,46 | „ 7,88 | „ | 4,40% |

Methoxylgruppen kommen im Kryptocurin nicht vor.

Das Tetraphenylborsalz des Alkaloides ergab nach Trocknung während 12 Std. im Hochvakuum über P_2O_5 folgende Resultate:

| | | | | |
|--|----------|--------------|--------|---------|
| $(-\text{B}(\text{C}_6\text{H}_5)_4 \text{C}_{20}\text{H}_{27}\text{O}_2\text{N}_2^+)_x$ | (646,66) | Ber. C 81,72 | H 7,33 | N 4,32% |
| $(-\text{B}(\text{C}_6\text{H}_5)_4 \text{C}_{20}\text{H}_{29}\text{O}_2\text{N}_2^+)_x$ | (648,66) | Ber. C 81,47 | H 7,61 | N 4,32% |
| | | Gef. „ 81,60 | „ 7,43 | „ 4,33% |

Das UV.-Spektrum des Kryptocurins ist dasjenige eines Indolalkaloids (Fig. 2).

Farbreaktionen auf der Tüpfelplatte: H_2SO_4 nil; $\text{H}_2\text{SO}_4 + \text{Ce}^{\text{IV}}$ -Sulfat nil; HNO_3 2,5 GY 4/4⁴) (dunkelgrün), 2,5 Y 5/6 (nach 5"). — Zimtaldehydreaktion: Sofort schwach schmutzig violett, nach 1 Std. grünblau.

Zur Erkennung der Flecken auf den Papierchromatogrammen wurden die Streifen nacheinander mit Ce^{IV} -Sulfatlösung und *Dragendorff*-Reagenz bespritzt. Jede einzelne dieser Lösungen ergibt keine gut sichtbare, beide zusammen aber deutliche rötliche Flecken.

Biologische Aktivitäten: Mit Kryptocurinchlorid wurden im Mäusetest folgende Resultate erhalten: HD 8 mg/kg Maus, SL 8,9 mg, DML über 13 mg.

Acetylierungsversuch: 5 mg vom reinsten Chlorid wurden 20 Std. bei Zimmertemperatur in einer Lösung von 2 cm³ Essigsäureanhydrid mit Spuren von Perchlorsäure stehengelassen. Auf dem Papier konnte anschliessend neben wenig Ausgangsmaterial ein rascher wanderndes neues Produkt nachgewiesen werden, das kein krist. Tetraphenylborat mehr gab.

Hydrierung: Kryptocurinchlorid nahm bei der Hydrierung (in Äthanol mit PtO_2) knapp ein Mol Wasserstoff auf, wenn man als Molekulargewicht 362 einsetzt. Dabei wurde innerhalb 4 Min. die erste, in über 6 Std. langsam die zweite Hälfte Wasserstoff aufgenommen. Bei Annahme des verdoppelten Molekulargewichtes würde dies bedeuten, dass eine Kohlenstoff-Doppelbindung schneller als die zweite hydriert wird.

Das hydrierte Produkt zeigte ebenfalls keine Kristallisationstendenz. Es weist gegenüber dem Ausgangsmaterial dieselben Rc-Werte und Farbreaktionen auf. Das ebenfalls ausgezeichnet kristallisierende Tetraphenylborsalz schmilzt etwas höher als das entsprechende Salz des Kryptocurins, nämlich bei 147—152° (Ausgangsmaterial 127°). Trotz viermaligem Umkristallisieren gelang es nicht, einen schärferen Smp. zu erhalten. Das Absorptionsspektrum unterscheidet sich von demjenigen des Kryptocurins nicht wesentlich.

III. Xanthocurin und C-Alkaloid P. Aus den Fraktionen 79—100 der ersten Trennung konnten durch eine erneute Trennung an Papierpulver (Lösungsmittel D³) geringe Mengen der C-Alkaloide Xanthocurin ²) und P²) gewonnen werden, die durch ihre Absorptionsspektren und Farbreaktionen identifiziert wurden.

⁴) Farbenindices vgl. *Munsell Book of Colour*, *Munsell Colour Comp.*, Baltimore 1941.

IV. *Croceocurin*. Die zusammengefassten Fraktionen 36—47 der ersten Trennung lieferten nach erneuter Chromatographie an Papierpulver (Lösungsmittel D³) ein stark rotgelb gefärbtes Alkaloid, das in Form seines gut kristallisierenden Pikrates isoliert werden konnte. Leider betrug dessen Gesamtmenge nur 1,5 mg, so dass man sich damit begnügen musste, ein Absorptionsspektrum des Chlorids aufzunehmen (Fig. 1). Dieses zeigt bei Alkalizusatz eine deutliche bathochrome Verschiebung, die bei Säurezusatz wieder zurückgeht.

Zusammenfassung.

Aus der Rinde einer brasilianischen Pflanze, die nicht genau bestimmt werden konnte, liessen sich die als Calebassen-Alkaloide bekannten Verbindungen C-Xanthocurin und C-Alkaloid P isolieren. Daneben wurde in sehr kleiner Menge ein rotgelbes Alkaloid gefunden, welchem der Name *Croceocurin* zugeteilt werden soll. Als Hauptalkaloid enthält die Rinde eine neue Verbindung vom Charakter eines quartären Ammoniumsalzes, die *Kryptocurin* genannt werden soll. Dieses neue Alkaloid wird vorläufig durch einige Eigenschaften charakterisiert und ist zurzeit in genauerer Bearbeitung.

Zürich, Chemisches Institut der Universität.

145. Über das Verhalten von komplexen Ionen bei der Papierchromatographie III.

Retentionschromatographie mit Komplexbildner in der mobilen Phase

von B. Erdem und B. Prijs.

(23. V. 56.)

In einer vorangegangenen Mitteilung¹⁾ berichteten wir über das Verhalten von verschiedenen Aminosäure-Kupfer-Komplexen bei der *Wieland'schen* Retentionschromatographie unter Anwendung verschiedener Lösungsmittelgemische. Um nun weitere Einblicke in die Auswirkung von Komplexbildungsreaktionen auf die Ausbildung von Chromatogrammen zu erhalten, wurden Versuche unternommen, bei denen ein zu diesen Retentionschromatogrammen „reziprokes“ System untersucht wurde.

Es wurden Metallsalze auf die Startlinie aufgetragen und durch Eintauchen in eine aminosäurehaltige Lösung ein Chromatogramm entwickelt. Wir benützten das leicht lösliche Leucin als Komplexbildner, da sich die anderen von uns untersuchten Aminosäuren als in den verwendeten Lösungsmittelgemischen schwer löslich erwiesen.

¹⁾ B. Erdem, B. Prijs & H. Erlenmeyer, *Helv.* **38**, 267 (1955).