

### Zusammenfassung.

Ausgehend von dem Tetraol II wurden durch Wasserabspaltung die drei Polyene IV, V und VI dargestellt, von denen das erstere zwei Acetylenverbindungen, die letzteren eine Acetylen- und eine Kumulengruppe bzw. zwei Kumulengruppierungen enthalten. Die partielle Reduktion des Diacetylen-Derivates führte zum Di-cis-(5, 6 ; 13, 14)-1, 18-diphenyl-3, 7, 12, 16-tetramethyl-octadecanonaen VII; aus V und VI liessen sich bei der partiellen Reduktion andere cis-Formen fassen.

Di-cis-(5, 6 ; 13, 14)-1, 18-diphenyl-3, 7, 12, 16-tetramethyl-octadecanonaen (VII) besitzt cis-Konfiguration an jenen Doppelbindungen, die nach der Theorie von *L. Pauling* keine cis-Konfiguration aufweisen sollten (dasselbe trifft teilweise auch für die anderen isolierten cis-Formen zu).

Zürich, Chemisches Institut der Universität.

### 234. Über Curare-Alkaloide aus Calebassen<sup>1)</sup>.

7. Mitteilung<sup>2)</sup>

von H. Schmid, J. Kehrle und P. Karrer.

(14. VIII. 52.)

In Fortführung unserer Arbeiten über Calebassencurare haben wir es in der vorliegenden Untersuchung unternommen, die biologisch aktiven quaternären Alkaloide — von denen dieses Gift mindestens 30 enthält<sup>3)</sup> — möglichst vollständig und quantitativ aufzutrennen und papierchromatographisch genau zu charakterisieren. Solche Versuche sind aus folgenden Gründen wichtig:

Es wird heute allgemein angenommen, dass zur Bereitung von Calebassencurare in erster Linie südamerikanische Strychnosarten (Loganiaceae) verwendet werden<sup>4)</sup>. Leider wurden bis heute nur Strychnos toxifera und Strychnos Melinoniana näher auf kristallisierte quartäre Basen bearbeitet. Aus ersterer konnten neben anderen quartären Basen die Curare-alkaloide C-Toxiferin und C-Calebassin<sup>5)</sup>,

<sup>1)</sup> Auszugsweise vorgetragen in der Soc. de Chimie Industrielle Paris, am 16. V. 52, und in der Zürcher Chemischen Gesellschaft am 23. V. 1952.

<sup>2)</sup> 6. Mitteilung Helv. **34**, 2042 (1951). <sup>3)</sup> Helv. **33**, 512 (1950).

<sup>4)</sup> Vgl. D. F. Marsh, Annals of the New York Academy of Sciences **54**, Art. 3, 307 (1951); H. King, Soc. **1949**, 955 (dort wird auch die Isolierung des tert. Diabolins aus Str. Diaboli beschrieben).

<sup>5)</sup> H. Wieland, K. Bähr & B. Witkop, A. **547**, 156 (1941); H. King, Soc. **1949**, 3263; H. Schmid, A. Ebnöther & P. Karrer, Helv. **33**, 1486 (1950). Leider konnten die anderen von H. King isolierten Str. toxifera-Basen noch nicht mit den Calebassenalkaloiden verglichen werden.

aus letzterer die biologisch wenig aktiven quartären Alkaloide Melinonin-A und -B<sup>1)</sup> gewonnen werden. Melinonin-A und -B kommen im Calebassencurare aber nicht vor<sup>2)</sup>. C-Curarins, C-Fluorocurins und alle die anderen charakteristischen Calebassenalkaloide wurden noch nie in einer Pflanze nachgewiesen. Sehr wahrscheinlich stammt das Calebassencurare daher aus verschiedenen Pflanzen<sup>3)</sup>. Eine Bestimmung dieser Pflanzen ist von grossem praktischem Interesse, da es immer schwieriger wird, Calebassencurare zu erhalten. Durchführbar wird diese Aufgabe aber erst dann werden, wenn einmal möglichst alle Calebassenbasen isoliert und charakterisiert sind.

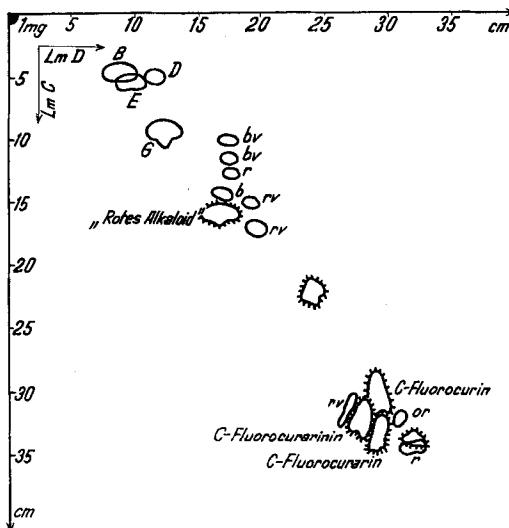


Fig. 1.

Papierchromatogramm von 1 mg Chloride aus einer mittleren Zone eines Reineckat-Chromatogramms von Calebassencurare. Legende siehe Fig. 2. Bezüglich des „roten Alkaloids“ siehe experimentellen Teil.

Zur Gewinnung von Alkaloiden für chemische Untersuchungen ist man, wie oben ausgeführt wurde, auf das von den südamerikanischen Indianern bereitete Calebassengift angewiesen. Die Aufarbeitung einer Calebasse stellt ein schwieriges Problem dar. Zur Abtrennung der Einzelalkaloide wurde bisher stets das von H. Wieland<sup>4)</sup> aufgefundene Verfahren benutzt, das in der Chromatographie der in Aceton gelösten, mehrmals umgefällten Reineckate an Aluminiumoxyd besteht. Für die Isolierung des C-Curarins, welches

<sup>1)</sup> E. Schlittler & J. Hohl, Helv. **35**, 29 (1952).

<sup>2)</sup> Wir danken Herrn Prof. E. Schlittler für die Zusendung von Proben.

<sup>3)</sup> Vgl. dazu die Arbeiten von Oswaldo de Lazzarini-Peckolt, Revista da Sociedade Brasileira de Química XIX, No. 3—4 (1950).

<sup>4)</sup> H. Wieland, W. Kunz & R. Sonderhoff, A. **527**, 160 (1937) und spätere Arbeiten. Auch H. King (l. c.) und E. Schlittler (l. c.) gebrauchten das Verfahren.

die Säule zuerst passiert, ist diese Methode recht günstig. Für die anderen Alkaloide zeigt sie eine wenig befriedigende Trennleistung, wie es ein zweidimensionales Papierchromatogramm einer Einzelzone aus der Mitte eines derartigen Reineckat-Chromatogramms illustriert (Fig. 1). Ferner fallen bei diesem Verfahren auch beträchtliche, durch Ionenaustausch und Zersetzung bedingte Verluste ins Gewicht.

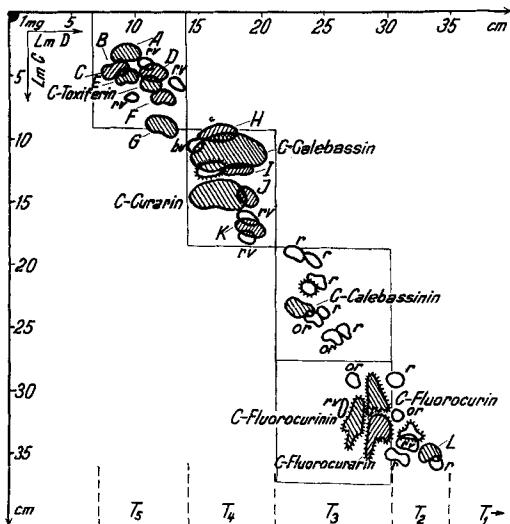


Fig. 2.

Papierchromatogramm von 1 mg gereinigter Cloride aus Calebassencurare N III. Das C-Fluorocurinin kam in dieser Calebasse nicht vor. Da es aber in den meisten der von uns untersuchten Calebassen enthalten war, wurde es zum Vergleich trotzdem eingezeichnet. Die einzelnen Flecke wurden durch Ansprühen mit Cer(IV)-sulfat- bzw. mit Jodlösung kenntlich gemacht.

\* = Fluoreszenz im UV. r = rote, bv = blauviolette, rv = rotviolette, or = orange Cer(IV)-sulfat-Reaktion. C-Calebassinin liess sich nur durch Besprühen mit Jodlösung nachweisen. Die schraffierten Flecke repräsentieren isolierte Alkaloide. Ihre Farbreaktionen sind in Tab. 3 verzeichnet.

Wir haben deshalb ein neues präparatives Trennverfahren entwickelt, das ungleich bessere Trenneffekte zeitigt und Substanzverluste auf ein Minimum reduziert, nämlich die Verteilungschromatographie an Cellulosepulver<sup>1)</sup>. Es gelang damit, aus Calebassencurare bisher 21 verschiedene, einheitliche quartäre Alkaloide in kristallisierter Form zu isolieren.

<sup>1)</sup> Unsere Versuche waren bereits vorgeschritten, als wir Kenntnis eines Vortrages von Th. Wieland (Angew. Ch. 63, 379 (1951)) erhielten, in dem eine ähnliche Methode zur Aufarbeitung von Calebassencurare angegeben wird. Th. Wieland konnte neben „anderen Alkaloiden“ auch das Toxiferin II von H. Wieland isolieren und es auf Grund der Curare-Aktivität und physikalischer Eigenschaften mit unserem C-Calebassin identifizieren. Eine solche Identität haben wir schon früher vermutet (Helv. 30, 1166 (1947)). Im übrigen möchten wir vorschlagen, die Bezeichnung „Calebassin“ beizubehalten, da es unpraktisch ist, wohldefinierte Alkaloide mit Nummern zu bezeichnen. Auf die Frage nach den Isomerisierungen von Calebassin werden wir später zurückkommen.

Für unsere Versuche stand uns folgendes Material zur Verfügung: eine grössere Menge (450 g) Calebassencurare (N III)<sup>1)</sup> aus der Gegend des oberen Amazonasgebietes (Rio Uaupés — Estado de Amazonas) mit der relativ geringen Toxicität von: HD = 1,6; DML = 2,2<sup>2)</sup>. Sein Papierchromatogramm, das für Calebassencurare recht charakteristisch ist, ist in Fig. 2 wiedergegeben. Die geringe biologische Aktivität ist durch den kleinen Alkaloidgehalt, namentlich von C-Curarin, bedingt. Gesondert aufgearbeitet wurde ein kleines Töpfchen<sup>3)</sup> Calebassencurare (N IV, 25 g). Dieses Muster (HD = 0,7; DML = 1,2) zeichnet sich durch seine verhältnismässig einfache Zusammensetzung und den hohen C-Curarin-Gehalt aus (Fig. 3). Ferner wurden Alkaloidmischungen aus Reineckatchromatogrammen früherer Aufarbeitungen mitverarbeitet, indem sie sinngemäss in den Trennungsgang eingegliedert wurden.

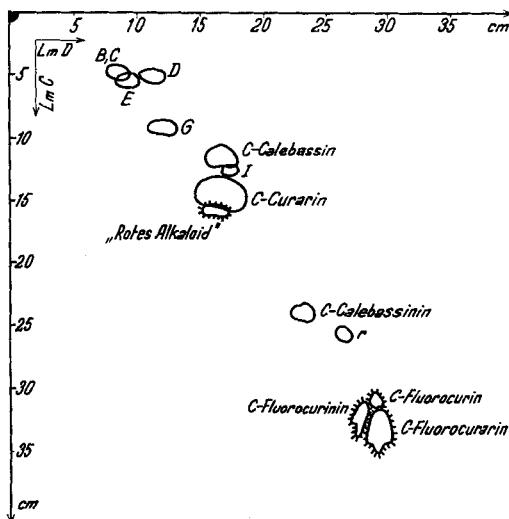


Fig. 3.

Papierchromatogramm von 1 mg Chloride aus Calebassencurare N IV.  
Legende siehe Fig. 2.

<sup>1)</sup> Wir danken der Fa. F. Hoffmann-La Roche & Co. AG., Basel, bestens für das wertvolle Material.

<sup>2)</sup> HD: Headdrop-Dosis; DML: Dosis letalis in mg/kg Maus, intravenös injiziert. Calebassencurare „Roche“ gab vergleichsweise die folgenden Werte: HD = 0,8; DML = 1,2. Wir danken Herrn Dr. P. Waser (Pharmakologisches Institut der Universität Zürich) bestens für die Toxicitätsbestimmungen.

<sup>3)</sup> Das Pfeilgift, das wir in den letzten Jahren erhielten und das sich auf Grund von Toxicitätsbestimmungen und von Papierchromatogrammen als „Calebassen-curare“ erwies, war mehrheitlich nicht in Kürbisse, sondern in unglasierte Tongefässer eingefüllt. Nach H. Böhm unterscheiden sich Topf- und Calebassencurare, bedingt durch verschiedene geographische und botanische Herkunft, in chemischer Hinsicht voneinander. Diese Gliederung dürfte demnach heute nicht mehr ganz zutreffend sein.

Wir haben das Curarematerial zuerst mit wässrigem Methanol, dann mit methanolischer Essigsäure extrahiert, aus diesen Extrakten die tert. Basen abgetrennt und anschliessend die quaternären Alkalioide als Reineckate nach J. J. Panouse<sup>1)</sup> gefällt. Auf eine Umfällung dieser Reineckate wurde verzichtet, da damit nur eine geringe selektive Anreicherung bestimmter Alkalioide verbunden ist. Die Reineckate hat man dann in die Chloride umgewandelt und diese durch Filtration über saurem Aluminiumoxyd von dunklen Begleitstoffen befreit. Aus N III erhielt man so 15 g Chloride. Vorversuche haben gezeigt, dass bei Verwendung derselben Lösungsmittel die Trennwirkung einer sorgfältig gestopften und gut „klimatisierten“ Cellulose-Kolonnen qualitativ und quantitativ mit der entsprechender Papierchromatogramme übereinstimmt. Als Lösungsmittel verwendeten wir, ähnlich wie früher<sup>2)</sup>, wassergesättigtes Methyläthylketon mit 1—3 % Methanol („C“) und ein Gemisch aus Essigester: Pyridin: Wasser = 7,5:2,3:1,65 („D“). Auf diese Weise war es möglich, einen systematischen präparativen Trennungsgang auszuarbeiten.

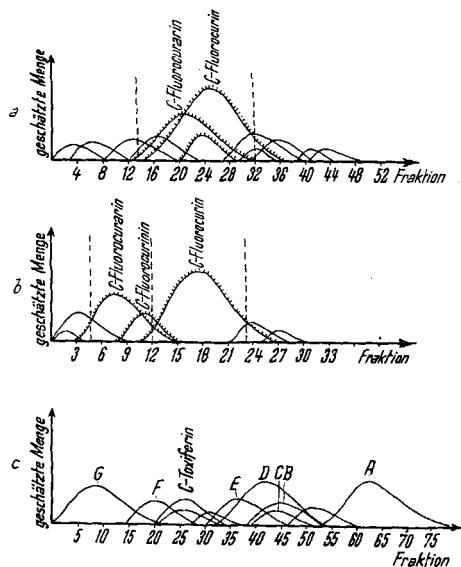


Fig. 4.

Schematische Diagramme von präparativen Verteilungschromatogrammen der Curarealkaloide an Cellulosepulver.

Fig. 4a: Diagramm der Fluorocuringruppe aus den „wasserlöslichen Reineckaten“ mit Lösungsmittel „F“.

Fig. 4b: Diagramm der erneut mit Lösungsmittelgemisch „C“ chromatographierten Fraktionen 13—32 aus Fig. 4a.

Fig. 4c: Diagramm der Gruppe T<sub>5</sub> (aus Calebasse N III) mit Lösungsmittel „C“.

<sup>1)</sup> Bl. 16, 594 (1949).

<sup>2)</sup> Helv. 33, 512 (1950).

Die erwähnten 15 g Chloride hat man an einer 1,4 m langen Säule von 1,7 kg Cellulosepulver mit dem Lösungsmittel „D“ nach der Durchlaufmethode chromatographiert. Die Eluate wurden mit Hilfe eines Fraktionensammlers in Fraktionen von 20 cm<sup>3</sup> aufgefangen. Dieses Chromatogramm lief ohne Unterbrechung fast 10 Tage lang. Die einzelnen Fraktionen haben wir auf Grund von Tüpfelreaktionen und von Papierchromatogrammen entsprechend den in Fig. 2 angegebenen Hauptgruppen T<sub>1</sub>–T<sub>5</sub> zusammengenommen. Die einzelnen Gruppen wurden weiter mit dem Gemisch „C“, evtl. mit Essigester-Essigsäure-Wasser rechromatographiert. Fig. 4a gibt schematisch die Zusammensetzung der Hauptgruppe T<sub>3</sub> wieder. Die Hauptalkaloide stellten hier das gelbe C-Fluorocurin und das blau fluoreszierende C-Fluorocurarin dar. Sie waren aber noch nicht genügend getrennt. Neuerliche Chromatographie (Fig. 4b) lieferte sie in solcher Reinheit, dass sie sofort kristallisierten. Komplizierter gestaltete sich die Auftrennung der Gruppe T<sub>5</sub>, die nach der Verteilung mit „C“ das Bild Fig. 4c gab. Hier waren wiederholte Verteilungchromatogramme nötig, um die einzelnen Fraktionen, teils als Chloride, teils als Pikrate, kristallin abzuscheiden. Aus N III gewannen wir von den Hauptalkaloiden C-Curarin und C-Calebassin 1,3 bzw. 1,7 g und die anderen in Tab. 2 aufgeföhrten quartären Alkaloide in Mengen von 500 mg bis zu wenigen mg hinab. Von den insgesamt 21 in Zürich aus Calebassencurare gewonnenen, papierchromatographisch einheitlichen Alkaloiden, wurden mehr als  $\frac{2}{3}$  erst mit Hilfe des neuen Trennverfahrens isoliert. Die neuen Substanzen werden in dieser Arbeit zum grossen Teil noch provisorisch mit Buchstaben (C-Alkaloid A usw.) bezeichnet. Auf die Analysen, Spektren, Toxizitäten usw. werden wir in einer folgenden Mitteilung zurückkommen.

Wir haben schon früher betont, dass für die quartären Alkaloide aus Calebassen der einzige zuverlässige Test auf Einheitlichkeit ihr Verhalten im Papierchromatogramm darstellt. Eine genügende Trennung wird besonders bei den um das Toxiferin angeordneten Stoffen nur mit Durchlaufchromatogrammen erzielt. Normale Rf-Werte lassen sich daher nicht angeben. An ihrer Stelle sind in Tab. 1 die Re-Werte

zurückgelegter Weg des zu bestimmenden Alkaloids<sup>1)</sup>  
zurückgelegter Weg des C-Curarins

angeführt. Mit angegeben sind auch die Re-Werte von Galaktose, einer allgemein zugänglichen Vergleichssubstanz.

Auf Grund der Re-Werte kann man die Alkaloide um das jeweilige Hauptalkaloid gruppieren und so in die Toxiferin-, die Curarin-, die Calebassinin-, die Fluorocuringruppe und die Gruppe T<sub>2</sub> einordnen (Fig. 2).

<sup>1)</sup> Als Bezugspunkt wurde nicht die Front, sondern der Schwerpunkt des Farbfleckens gewählt. Für die Chromatogramme wurden stets die Alkaloid-chloride verwendet.

Tabelle 1.

Re-Werte.

Bezeichnung des Alkaloids	Re mit Lösungsmittel C (1% $\text{CH}_3\text{OH}$ )	Re mit Lösungsmittel D
C-Alkaloid A . . . . .	0,23	0,55
C-Alkaloid B . . . . .	0,34	0,51
C-Alkaloid C . . . . .	0,34	0,51
C-Alkaloid D . . . . .	0,35	0,68
C-Alkaloid E . . . . .	0,36	0,58
C-Toxiferin . . . . .	0,42	0,67
C-Alkaloid F . . . . .	0,49	0,73
C-Alkaloid G . . . . .	0,65	0,73
C-Alkaloid H . . . . .	0,71	0,99
C-Calebassine . . . . .	0,80	1,03
C-Alkaloid I . . . . .	0,89	1,06
C-Curarin . . . . .	1,00	1,00
C-Alkaloid J . . . . .	1,04	1,12
C-Alkaloid K . . . . .	1,22	1,14
C-Alkaloid UB . . . . .	—	1,13
C-Calebassinin . . . . .	1,68	1,38
C-Fluorocurarin . . . . .	2,10	1,70
C-Fluorocurarinin . . . . .	2,23	1,65
C-Fluorocurarin . . . . .	2,25	1,71
C-Alkaloid L . . . . .	2,50	1,99
Galaktose . . . . .	0,37	1,03

Man erkennt aus Tab. 1, dass sich manche Alkaloide nur sehr wenig in den Re-Werten unterscheiden. Zur näheren Bestimmung ist man daher unbedingt auf ihre Farbreaktionen angewiesen. Bei den Farbreaktionen auf der Tüpfelpalette (Tab. 2) ist die zeitliche Änderung der Farbe, bei denjenigen auf dem Papier (Tab. 3) sind vor allem die Verblassungsreaktionen charakteristisch. Mit Hilfe der Tab. 1—3 erscheint es auch mit kleinen Substanzmengen möglich, die einzelnen Alkaloide auseinanderzuhalten. Diese Hilfsmittel waren unumgänglich, um ein solch komplexes Gemisch, wie es das Calebassencurare darstellt, so weit aufzuspalten. Bei zukünftigen Untersuchungen, namentlich an südamerikanischen Pflanzen, wird man sich auf diese genau bestimmten Werte und Eigenschaften stützen können.

Wir können nicht sagen, ob, mit Ausnahme von C-Curarin, C-Calebassine und C-Toxiferin, das eine oder andere unserer Curarealkaloide mit Alkaloiden von *H. Wieland* und *H. King* identisch sind, da von diesen Autoren keine Papierchromatogramme und Re-Werte in der Literatur angegeben wurden.

**Tabelle 2.**  
Farbreaktionen auf der Tüpfelplatte<sup>1)</sup>.

Bezeichnung des Alkaloids	konz. H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	50-proz. H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	1 Tropfen konz. H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> + 1 Tropfen 1-proz. Cer(IV)-sulfat in 2-n. H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>		konz. Salzpetersäure	
			sofort beobachtet	nach 20 Minuten	sofort	nach 15 Minuten
C-Alkaloid A . .	nil . .	nil	blau-violett 10,0 P 3/10	karmin 5,0 R 4/10	karmin 10,0 RP 4/10	karmin 10,0 RP 4/10
C-Alkaloid B . .	nil . .	nil	rot-violett 5,0 RP 4/12	blass-braun 10,0 YR 7/6	((braungrün)) ((weinrot)) 10,0 Y 6/6 5,0 R 6/6	blassgelb 10,0 Y 8/4
C-Alkaloid C. . .	nil . .	nil	rot-violett 5,0 RP 4/12	blass-braun 10,0 RP 7/6	weinrot 10,0 RP 5/6	blassweinrot 10,0 RP 6/6
C-Alkaloid D . .	nil . .	nil	rot-violett 5,0 RP 4/12	blass-gelb 10,0 YR 6/10	gelbbraun 5,0 YR 6/10	gelblich 10,0 Y 7/6
C-Alkaloid E . .	braun . .	violett 5,0 P 4/12	blau 10,0 B 3/8	chrom-grün 10,0 Y 5/6	chromgrün 10,0 GY 6/10	gelbgün 5,0 GY 3/6
C-Toxiferin . .	5,0 YR 4/8	blass-orange 10,0 R 7/8	rot-violett 5,0 RP 4/12	blass-rot braun 10,0 Y 7/10	((braungrün)) weinrot 5,0 Y 5/6 5,0 R 4/3	weinrot 5,0 R 4/3
C-Alkaloid F . .	nil . .	nil	blau-violett 10,0 P 3/10	karmin 5,0 R 4/10	karmin 10,0 RP 4/10	karmin 10,0 RP 4/10
C-Alkaloid G . .	braun . .	violett 5,0 P 4/12	blau 5,0 PB 3/12	chrom-grün 10,0 G 4/2	chromgrün 5,0 G 5/8	gelbgün 10,0 GY 8/6
C-Alkaloid H . .	5,0 YR 4/8	nil	rot-violett 5,0 RP 4/12	rot-violett 5,0 RP 4/12	grünlichbraun 5,0 Y 5/6	gelbbraun 10,0 YR 7/8
C-Calebassine . .	nil . .	nil	blau-violett 10,0 P 3/10	karmin 5,0 R 4/10	karmin 10,0 RP 4/10	karmin 10,0 RP 5/10

<sup>1)</sup> Die einfach eingeklammerten Farben sind nur etwa 1 bis 3 Min. beständig. Die doppelt eingeklammerten höchstens wenige Sek. Unter den Farbbezeichnungen sind die Indices nach dem Munsell-System (*Munsell Book of Colour, Munsell Colour Comp.*, Baltimore 1941), aufgeführt.

**Tabelle 2** (Fortsetzung).  
Färbreaktionen auf der Tüpfelplatte<sup>1)</sup>.

Bezeichnung des Alkaloids	konz. H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	50-proz. H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	1 Tropfen konz. H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> + 1 Tropfen 1-proz. Cer(IV)-sulfat in 2-n. H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>		konz. Salpetersäure	
			sofort beobachtet	nach 20 Minuten	sofort	nach 15 Minuten
C-Alkaloid I . . .	nil	nil	blau-violett 10,0 P 3/10	karmen 5,0 R 4/10	blaustichig karmen 5,0 RP 4/12	karmen 5,0 RP 4/12
C-Curarin . . .	braun 5,0 YR 4/8	violett 5,0 P 4/12	blau 10,0 B 3/8	chrom.-grün 5,0 G 5/8	chrom.-grün 5,0 G 6/6	gelbgrün 5,0 G 6/6
C-Alkaloid J . . .	nil	nil	rötlich-orange 5,0 RP 4/12	blass-rötlich-orange 10,0 R 5/8	gelbbraun 5,0 Y 6/8	gelbbraun 10,0 Y 8/6
C-Alkaloid K . . .	nil	nil	violett 10,0 P 3/10	blass-braun 10,0 YR 7/6	(rotbraun) 5,0 YR 6/12	hellgelb 10,0 Y 8/6
C-Alkaloid UB . . .	nil	nil	(karmen) nil	blass-braun 10,0 YR 7/6	nil	nil
C-Calebassinin . . .	nil	nil	(karmen) 10,0 RP 4/10	blass-braun 10,0 YR 7/6	nil	nil
C-Fluorourin . . .	blass-orange 10,0 R 7/8	gelb	(rot-violett) 5,0 RP 4/12	braunlich 5,0 YR 6/8	((braungrün)) 5,0 R 4/6	gelb 10,0 Y 8/8
C-Fluorourin . . .	karmen 10,0 RP 4/10	rotorange 10,0 R 6/10	(karmen) 5,0 R 5/6	weinrot 5,0 YR 7/6	((orange)) (orangebraun) 10,0 R 5/10 5,0 YR 6/12	braunlich-gelb 10,0 YR 7/10
C-Fluorourin . . .	zitronengelb 10,0 Y 8/8	zitronengelb 10,0 Y 8/8	(blaugrün) 5,0 B 4/8	gelbgrün 5,0 Y 5/4	gelb 10,0 Y 8/6	gelb 10,0 Y 8/6
C-Alkaloid L . . .	nil	nil	rot 10,0 RP 4/10	rot 10,0 RP 4/10	nil	nil
C-Alkaloid X . . .	nil	nil	((orange))	rot 5,0 R 5/12	intensiv rot 5,0 R 5/12	intensiv rot 5,0 R 5/12

<sup>1)</sup> Die einfach eingeschweiften Farben sind nur etwa 1 bis 3 Min. beständig. Die doppelt eingeklammerten höchstens wenige Sek. Unter den Farbbezeichnungen sind die Indices nach dem Munsell-System (*Munsell Book of Colour, Munsell Colour Comp.*, Baltimore 1941), aufgeführt.

Tabelle 3. Farbreaktion auf dem Papier<sup>a)</sup>.

Bezeichnung des Alkaloids	sofort	nach 5—10 Sek.	nach 20 Min.	nach 24 Std.
C-Alkaloid A <sup>b)</sup> . . .	blau-violett 10,0 P 3/10	rot-orange 10,0 R 6/10	orange-gelb 10,0 YR 7/8	grau-grün 10,0 GY 5/2
C-Alkaloid B . . .	rot-violett 10,0 P 5/10	farblos	farblos	farblos
C-Alkaloid C . . .	rot-violett 10,0 P 5/10	farblos	farblos	farblos
C-Alkaloid D . . .	rot-violett 10,0 P 5/10	farblos	hellgelblich 5,0 Y 8/4	gelblich 5,0 Y 8/6
C-Alkaloid E . . .	blau 5,0 PB 4/10	hellgrün 5,0 GY 8/4	farblos	rosa 5,0 R 8/4
C-Toxiferin . . .	rot-violett 10,0 P 5/10	farblos	farblos <sup>c)</sup>	blassrot-violett 5,0 P 8/4
C-Alkaloid F . . .	blau-violett 10,0 P 3/10	rot-orange 10,0 R 6/10	orange-gelb 10,0 YR 7/8	grau-grün 10,0 GY 5/2
C-Alkaloid G . . .	blau 5,0 PB 4/10	hellgrün 5,0 GY 8/4	farblos	rosa 5,0 R 8/4
C-Alkaloid H . . .	blassrot-violett 10,0 P 6/6	farblos	farblos	farblos
C-Calebassine . . .	blau-violett 10,0 P 3/10	rot-orange 10,0 R 6/10	orange-gelb 10,0 YR 7/8	grau-grün 10,0 GY 5/2
C-Alkaloid I . . .	blau-violett 10,0 P 3/10	rot 5,0 RP 5/10	rötlich-orange 10,0 RP 7/8	grau-grün 10,0 GY 5/2
C-Curarin . . .	blau 5,0 PB 4/10	hellgrün 5,0 GY 8/4	farblos	rosa 5,0 R 8/4
C-Alkaloid J . . .	blassrot-violett 10,0 P 6/6	farblos	farblos	blassbräunlich 10,0 YR 8/4
C-Alkaloid K . . .	blau-violett 10,0 P 4/10	farblos	farblos	blassbräunlich 10,0 YR 8/4
C-Alkaloid UB . . .	nil	nil	nil	nil
C-Calebassinin . . .	nil	nil	nil	nil
C-Fluorocurin <sup>d)</sup> . .	(rot-orange) 5,0 R 5/8	blassorange 10,0 R 8/4	farblos	farblos
C-Fluorocurinin <sup>e)</sup> .	(blasskarmin) 5,0 R 6/8	nil	nil	nil
C-Fluorocuranin <sup>f)</sup> .	(blasshellblau) 10,0 B 6/6	nil	nil	nil
C-Alkaloid L . . .	rot 10,0 RP 4/10	rot 10,0 RP 6/10	blassrot 10,0 RP 6/8	blassbräunlich 10,0 YR 8/4
C-Alkaloid X <sup>b)</sup> . .	rot 7,5 RP 5/10	rot 7,5 RP 5/10	blassorange 2,5 YR 7/8	blassbräunlich 10,0 YR 8/4

<sup>a)</sup> Etwa 20 γ Alkaloid pro cm<sup>2</sup> Papier werden mit 1-proz. Cer(IV)-sulfat in 2-n. H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> angesprühlt, und es werden in der angegebenen Zeit die Farbreaktionen beobachtet. In der Tabelle sind unter den Farbbezeichnungen die Indices nach dem *Munsell Book of Color, Munsell Color Comp.*, Baltimore 1941), aufgeführt.

<sup>b)</sup> Diese Alkaloide geben auch auf dem Papier mit konz. HNO<sub>3</sub> eine intensiv rote Farbreaktion; die anderen Vertreter der Rotstoffgruppe lassen dabei nur eine schwache braunrote Reaktion erkennen.

<sup>c)</sup> Nach nochmaligem Anspritzen verblasst die rotviolette Farbe über blassziegelrot (5,0 R 7/8), während die Farben aller anderen Alkaloide der Toxiferingruppe wie nach dem ersten Anspritzen ausbleichen. <sup>d)</sup> Grün-gelbe Fluorescenz im UV.

<sup>e)</sup> Gelb-grüne Fluorescenz im UV.

<sup>f)</sup> Himmelblaue Fluorescenz im UV.

Wir danken bestens für die Unterstützung dieser Arbeit durch die *Arbeitsbeschaffungskredite des Bundes* und die *Eidg. Volkswirtschaftsstiftung*. Ferner danken wir der Firma *F. Hoffmann-La Roche & Co. AG.*, Basel, und Herrn Dr. H. Saemann (*Bally Schuhfabriken AG.*, Schönenwerd) für die Beschaffung und Überlassung von Calebassene aufs beste.

### Experimenteller Teil.

Aufarbeitung des Calebassencurare. 450 g Calebassencurare N III hat man fein verrieben, mit 200 ml Wasser angeteigt und unter Rühren mit 1,5 l Methanol während 8 Std. extrahiert. Diese Operation wiederholte man so oft, bis der Extrakt nur noch wenig Material enthielt. Die vereinigten Methanol-Extrakte hat man bei 40° im Vakuum eingedampft (210 g). Das mit Methanol bereits extrahierte Material wurde anschliessend noch dreimal mit je 1,5 l Methanol ausgezogen, dem 3% Eisessig zugesetzt worden waren<sup>1)</sup>. Auch diese Extrakte hat man im Vakuum zur Trockene gebracht. Sämtliche Auszüge wurden vereinigt, in 600 ml Wasser gelöst, mit Ammoniak auf pH 8 gebracht und portionenweise mit Chloroform ausgeschüttelt. Das Chloroform nahm einen grossen Teil der tertiären Basen auf, die wir aber noch nicht näher untersucht haben. Die wässrige Phase hat man im Vakuum auf etwa 450 ml eingeengt und daraus nach *J. J. Panouse*<sup>2)</sup> die quartären Alkaloide als Reineckate gefällt und abzentrifugiert. Die getrockneten Reineckate wurden nun mit Aceton ausgezogen. Die Aceton-lösliche Fraktion wog 90 g. Der unlösliche Rest wurde verworfen. Die in Aceton löslichen Reineckate lieferten nach *J. Kapphammer*<sup>3)</sup> 48 g braune Chloride. Vorversuche zeigten, dass dieses Material noch zu viele harzige Begleitstoffe enthält, um direkt der Verteilungschromatographie unterworfen werden zu können. Man löste daher die Chloride in Alkohol auf und filtrierte die Lösung durch eine breite Säule von 1 kg mit verd. Salzsäure vorbehandeltem, bei 100° getrocknetem Aluminiumoxyd. Es wurde so lange mit Alkohol nachgewaschen, bis das Eluat nur noch eine schwache Reaktion mit Cer(IV)-sulfat gab. Die gelb-orange gefärbten Chloride wogen jetzt 15 g.

In analoger Weise haben wir auch das Curare-Muster N IV (25 g) aufgearbeitet. Die nachfolgende Tabelle zeigt den grossen qualitativen Unterschied der beiden Calebassencurare auf:

	Methanol-Extrakt	Aceton-löslich. Reineckate	gereinigte Chloride	isoliertes C-Curarin-chlorid
C-Curare N III . .	48%	20%	3,3%	0,38%
C-Curare N IV . .	87%	50%	12,5%	2,8%

Ausführung eines Verteilungchromatogramms. Als hydrophiles Trägermaterial verwendeten wir aschefreies Cellulosepulver „*Whatman*, Standard Grade“. In der Regel wurden auf 1 Gewichtsteil Substanz 200 Teile Cellulosepulver angewendet; bei schwer trennbaren Gemischen stieg das Verhältnis bis auf 1:500, um bei leicht trennbaren Stoffgemischen auf 1:100 zu fallen. Die Säule haben wir durch portionenweises Einfüllen des Cellulosepulvers in ein passendes Rohr aus Glas oder rostfreiem Stahl zubereitet, wobei nach jedem Einfüllen gleichmässig festgestampft wurde. In einer richtig gestopften Säule nimmt 1 g Cellulosepulver ein Volumen von etwa 2 cm<sup>3</sup> ein. Vor dem Auftragen der Substanz hat man die Säule mit einer Lösung von 8-Oxychinolin<sup>4)</sup> im gewählten Lösungsmittel vorgewaschen und anschliessend während 12—16 Std. mit dem reinen Lösungsmittelgemisch nachgewaschen. Dieses sorgfältige „Klimatisieren“ d. h. Einstellen des Gleichgewichtes zwischen den zwei Phasen, ist ganz unerlässlich.

<sup>1)</sup> Vgl. *E. Schlittler & J. Hohl*, *Helv.* **35**, 29 (1952).

<sup>2)</sup> Bl. **1949**, 595.

<sup>3)</sup> Z. physiol. Ch. **191**, 182 (1932).

<sup>4)</sup> *J. G. Buchanan, A. W. Johnson, J. A. Mills & A. R. Todd*, *Soc.* **1950**, 2850.

Lösungsmittel, die beim durchlaufenden Papierchromatogramm gute Trenneffekte zeigten ( $R_f$ -Werte = 0,05—0,25), eigneten sich auch für die präparative Verteilung. Die einzelnen Komponenten, die keine zu hohen Siedepunkte haben sollen, wurden vor Versuchsbeginn frisch destilliert. Das Methyläthylketon musste zuerst von Peroxyden befreit werden. Alle Chromatogramme, besonders diejenigen mit Methyläthylketon, wurden wegen der Lichtempfindlichkeit einiger Alkaloide im Dunkeln ausgeführt. Zur Trennung der Calebassen-alkaloide haben sich vor allem die Mischungen „C“ und „D“, daneben auch „E“ und „F“ bewährt:

Mischung C: wassergesättigtes Methyläthylketon mit 1—3% Methanol.

Mischung D: Essigester-Pyridin-Wasser = 7,5 : 2,3 : 1,65.

Mischung E: Essigester-Eisessig-Wasser = 7,5 : 0,9 : 0,9.

Mischung F: n-Butanol-Chloroform-Wasser = 10 : 10 : 0,6.

Für das gute Gelingen eines Chromatogramms ist das Auftragen der Substanz auf die Säule von grosser Bedeutung. Die quartären Alkaloidchloride lösten sich in den angegebenen Lösungsmitteln meistens nur unvollständig. Die aufzubringende Lösung sollte aber möglichst konzentriert sein (grösser als 1—5%). Zwei Wege erwiesen sich hier als brauchbar: War die Säule z. B. mit dem Gemisch „C“ gesättigt, so fügte man zur teilweisen Lösung der Substanz in „C“ so viel eines abgemessenen Volumen Methanol zu, bis gerade vollständige Lösung eintrat. Diese Lösung darf aber nicht direkt auf die Säule gegeben werden, da sonst in der Säule ein Teil des gelösten Materials wieder ausfällt. Würde man die methanolhaltige Lösung mit Wasser sättigen und dann auftragen, so würde sich in der Säule Wasser ausscheiden und damit das Chromatogramm unbrauchbar gemacht werden. Diese Schwierigkeit liess sich vermeiden, wenn die obersten cm der Säule stufenweise dem Methanol-reicheren Lösungsmittel angepasst würden. Jetzt konnte die Lösung der Substanz aufgegossen werden. Nach dem Einsaugen hat man mit „C“, dessen Methanolgehalt allmählich wieder auf den Normalgehalt herabgesetzt worden ist, nachgewaschen und dann weiter mit dem zum Klimatisieren gebrauchten Lösungsmittelgemisch entwickelt.

Der zweite Weg ist allgemeiner verwendbar und liefert fast noch besser getrennte Zonen. Die methanolische Lösung der Chloride hat man in  $1/_{15}$ — $1/_{20}$  der zur Herstellung der Säule gebrauchten Cellulosemenge aufsaugen lassen und anschliessend unter gelegentlichem Umrühren im Vakuum getrocknet. Nach dem Verreiben und Sieben wurde das präparierte Pulver 12—16 Std. lang den Dämpfen des Lösungsmittels (z. B. „D“) ausgesetzt. Anschliessend wurde das „klimatisierte“ Pulver auf die wie üblich vorbereitete feuchte Säule gleichmässig aufgetragen und vorsichtig eingestampft. Nun wurde mit dem Lösungsmittelgemisch entwickelt, das zum Klimatisieren der Säule verwendet worden war.

Zur Erzielung einer guten Trennwirkung war es notwendig, das Chromatogramm langsam und mit konstanter Tropfgeschwindigkeit zu entwickeln (Einregulierung der Tropfgeschwindigkeit mittels Hahnen oder Kapillare; konstantes Lösungsmittelniveau). Enthielt das Substanzgemisch auch Stoffe mit sehr kleinen  $R_f$ -Werten, so wurde gegen den Schluss das Lösungsmittel „verstärkt“, d. h. sein Wassergehalt graduell erhöht, so dass schliesslich sämtliche Stoffe die Säule passierten. Die Eluate hat man mit Hilfe eines Fraktionsammlers in einzelnen, nicht zu grossen Fraktionen aufgefangen.

Nach beendigtem Chromatogramm wurde die Säule gründlich mit Methanol und/oder mit Wasser gewaschen. Nach entsprechendem „Klimatisieren“ kann sie erneut verwendet werden.

An Hand eines vorgängig ausgeführten Papierchromatogramms war man über die Reihenfolge, in der die einzelnen Substanzen die Säule passierten, orientiert. Zur Klassifizierung der einzelnen Durchlaufraktionen wurden von jeder (bei grösseren Chromatogrammen von jeder dritten bis fünften)  $100 \text{ } \mu\text{l}$ <sup>1)</sup>, natürlich mit einem anderen Lösungsmittel als dem beim präparativen Chromatogramm angewandten, einem Papierchromatogramm unterworfen. Wenn sich die Alkaloide in ihren Farbreaktionen allein genügend unterscheiden, so genügte es, die nach dem Auftragen von  $100 \text{ } \mu\text{l}$  Lösung auf Papier er-

<sup>1)</sup> Unter Umständen auch mehr, aber immer genau dasselbe Volumen.

haltenen Flecken mit den entsprechenden Reagentien anzusprühen (Tab. 3). Die in 100  $\lambda$  enthaltene Substanzmenge hat man aus der Intensität der Farbreaktion geschätzt. Nach mehrmaligem Besprühen sprechen zum Schluss nur noch die substanzreichsten Flecken an. Man erhält dann orientierende Diagramme, wie sie in Fig. 4 wiedergegeben sind.

Im Falle einer starken Überlappung einzelner Alkaloidzonen z. B. A, B, C, sind wir stets so vorgegangen, dass wir die Eluate nicht in drei, sondern nur in zwei Fraktionen zusammengenommen haben, die alles A und etwa die Hälfte B, und das gesamte C und die andere Hälfte von B enthielten. Nach neuerlicher Chromatographie der beiden Fraktionen gewann man dann reines A und C und aus den letzten Fraktionen des ersten Chromatogramms und aus den ersten Fraktionen des zweiten Chromatogramms fast reines B.

Die Fraktionen, welche fast reine Alkaloide enthielten, hat man sinngemäss vereinigt und bei 30–40° im Vakuum zur Trockene eingedampft. Der Rückstand wurde dann als Chlorid oder als Pikrat zur Kristallisation gebracht. Die Pikrate wurden aus der wässerigen Lösung der Chloride mit überschüssiger wässriger Pikrinsäure gefällt, nach längerem Stehen abgesaugt, mit Pikrinsäurelösung und dann mit kaltem Wasser gewaschen.

Trennung der Chloride aus N III: Die 15 g vorgereinigte Alkaloidchloride hat man in 200 ml Methanol gelöst und mit 120 g Cellulosepulver angeteigt. Nach dem Trocknen wurde das präparierte Pulver über Nacht den Dämpfen des Lösungsmittelgemisches „D“ ausgesetzt und dann auf eine Säule (140  $\times$  6 cm) aus 1,7 kg Cellulosepulver, die vorher mit „D“ klimatisiert worden war, aufgetragen. Das Chromatogramm lief bei einer Tropfgeschwindigkeit von 60 ml pro Stunde etwa 10 Tage und lieferte etwa 800 Fraktionen zu 20 ml. Die Eluate wurden entsprechend Fig. 2 in 5 Gruppen zusammengekommen:

$T_1$	2,0 g Chloride	$T_4$	4,5 g Chloride
$T_2$	1,7 g „	$T_5$	2,4 g „
$T_3$	4,1 g „		

Auf trennung der Gruppe  $T_5$ : Diese Gruppe zeichnet sich durch den Gehalt an Alkaloiden mit sehr ähnlichen Rf-Werten und Farbreaktionen aus. Die 2,4 g Cloride wurden zuerst an 600 g Cellulosepulver mit dem Gemisch „C“ chromatographiert. Das Diagramm dieser Verteilung ist in Fig. 4c wiedergegeben. Es gelang erst nach weiteren, abwechselungsweise mit „C“ und „D“ durchgeführten Chromatogrammen die in der nachfolgenden Tabelle aufgeführten Alkaloide zu gewinnen:

Bezeichnung des Alkaloids	kristallisiert als	aus Lösungsmittel	Menge
C-Alkaloid A	Pikrat	Aceton-Wasser	325 mg
C-Alkaloid B	Chlorid	Methanol-Äther od. Propanol	69 mg
C-Alkaloid C	Pikrat	Aceton-Wasser	88 mg
C-Toxiferin	Chlorid	Isopropylalkohol	98 mg
C-Alkaloid D	Pikrat	Methanol	430 mg
C-Alkaloid E	Chlorid	Methanol-Äther	25 mg
C-Alkaloid F	Pikrat	Methyl-äthylketon	82 mg
C-Alkaloid G	Chlorid	Aceton-Wasser	41 mg
		Methanol-Äther	143 mg

Auf trennung der Gruppe  $T_4$ : In dieser Gruppe sind die beiden Curare-Hauptalkaloide C-Curarin und C-Calebassine enthalten. Die 4,5 g Chloride dieser Gruppe hat man zunächst an 700 g Cellulosepulver mit dem Lösungsmittel „C“ chromatographiert, wodurch eine glatte Trennung von Curarin und Calebassine erreicht werden konnte. Die das C-Curarin enthaltenden Fraktionen lieferten direkt 1,3 g kristallisiertes Chlorid. An-

schliessend folgten die Calebassin-Fraktionen. Etwa die erste Hälfte davon enthielt noch wenig Curarin, während die zweite Hälfte der Calebassinfractionen so rein war, dass daraus sofort 0,403 g C-Calebassinchlorid gewonnen werden konnten. Die Mutterlauge dieser Chlorid-Kristallisation hat man mit der ersten Hälfte der Calebassinfractionen vereinigt. Das zunächst amorphe Pikrat lieferte aus Aceton-Wasser 3,1 g reines C-Calebassinpikrat. Die Pikrate dieser Mutterlauge wurden mit Hilfe von Amberlit IRC 400 in die Chloride umgewandelt und zusammen mit der Mutterlauge des C-Curarin-chlorids nach Filtration über Aluminiumoxyd erneut mit Lösungsmittel „C“ chromatographiert. Die ersten Fraktionen gaben 35 mg C-Alkaloid K als Chlorid. Anschliessend trennte man noch einige mg C-Curarin-chlorid und 100 mg C-Calebassinpikrat ab. Nach weiteren Chromatogrammen mit Lösungsmittel „C“ und „D“ liessen sich in kleiner Menge noch drei weitere Alkaloide isolieren, so dass man aus der Curarin-Gruppe die folgenden Alkaloide erhielt:

	kristallisiert als	Lösungsmittel	Menge
C-Curarin	Chlorid	Methanol-Äther	1700 mg
C-Calebassim	Chlorid	Methanol-Äther	403 mg
	Pikrat	Aceton-Wasser	3200 mg
C-Alkaloid H	Pikrat	Aceton-Wasser	7 mg
C-Alkaloid I	Pikrat	Aceton-Wasser	85 mg
C-Alkaloid J	Pikrat	Aceton-Wasser	8 mg
C-Alkaloid K	Chlorid	Isopropylalkohol	35 mg

Auf trennung der Gruppe T<sub>3</sub>: Diese Gruppe wurde bisher noch nicht als solche weiter bearbeitet, da die darin in isolierbaren Mengen vorkommenden Alkaloide auch in der Fraktion der „wasserlöslichen Reineckate“<sup>1)</sup> früherer Calebassencurare-Aufarbeitungen enthalten sind. Unsere ersten Versuche mit der präparativen Verteilungschromatographie wurden an dieser Fraktion ausgeführt, wobei die C-Alkaloide Calebassinin, Fluorocurin, Fluorocurinin und Fluorocurarin isoliert werden konnten.

Gruppe T<sub>2</sub> und T<sub>1</sub>: Diese beiden Gruppen, die vermutlich zum Teil tertiäre Alkaloide enthalten, liessen sich mit den angewandten Lösungsmittelgemischen nicht befriedigend fraktionieren. Sie sollen später, zusammen mit den tertiären Calebassensalkaloiden, eingehend untersucht werden.

Aufarbeitung von „wasserlöslichen Reineckaten“ mittels Verteilungschromatographie. Diese Fraktion gab seinerzeit bei der Trennung durch Chromatographie der Reineckate an Aluminiumoxyd die folgenden C-Alkaloide: Fluorocurin, Calebassinin, die Alkaloide UB und X<sup>1)</sup>.

Als Ausgangsmaterial standen uns jetzt 31 g „wasserlösliche Reineckate“ aus früheren Aufarbeitungen verschiedener Calebassen zur Verfügung. Davon waren 26 g löslich in Aceton, die 10 g rohe Chloride gaben. 7,5 g im Gemisch „F“ (erhöhte Butanol-Konzentration) lösliche Chloride hat man an 1 kg Cellulose mit „F“ chromatographiert. Zuerst passierten tert. Alkaloide die Säule. Das Diagramm der um das Fluorocurin gruppierten quartären Alkaloide ist in Fig. 4a wiedergegeben. Anschliessend folgten Fraktionen, die u. a. Calebassinin enthielten. Ein grosser Teil der eingesetzten Substanz blieb als braune Harzzone am oberen Ende der Cellulosekolonne haften. Die in Fig. 4a markierten, die Hauptalkaloide enthaltenden Fraktionen wurden erneut mit „C“ verteilt (Fig. 4b). Das Fluorocurin hat man als kristallisiertes Pikrat abgetrennt (420 mg). Auch aus der Fluorocurarinzone hat man das Pikrat bereitet; es kristallisierte aber nicht. Nach Rückverwandlung in die Chloride zeigte ein neuerliches Chromatogramm die Abwesenheit von Fluorocurarin an; dieses Alkaloid muss daher bei der Pikratherstellung oder Zer-

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

legung verändert worden sein. Das Fluorocururinin blieb aber erhalten und konnte jetzt leicht aus Methyl-propylketon als kristallisiertes Pikrat abgetrennt werden (15 mg). An Stelle des Fluorocurarins erhielten wir eine Zone, die auf dem Papier keine Fluorescenz und keine Cer(IV)-sulfat-Reaktion zeigte, sich aber mit Jodlösung anfärben liess. Wir haben dieses Alkaloid (UFC) noch weiter gereinigt, doch blieben alle Versuche, es als Pikrat, Chlorid und Perchlorat zu kristallisieren, bisher ohne Erfolg. Es gelang später, das Fluorocurarin aus der Calebasse N IV direkt als Chlorid abzuscheiden. Aus den vor dem Fluorocururinin liegenden Fraktionen kristallisierten nach längerem Stehen im Eisschrank 8 mg C-Alkaloid-L-Pikrat (aus Methylpropylketon). Aus den dem Fluorocururin folgenden Fraktionen gewannen wir ferner 27 mg Calebassinin-pikrat (aus Methyl-äthylketon). Die früher in sehr kleinen Mengen isolierten C-Alkalioide „UB“ und „X“<sup>1)</sup> konnten nicht aufgefunden werden.

Aufarbeitung der Calebasse N IV (Isolierung des C-Fluorocurarin-chlorids). Diese Calebasse (25 g) lieferte 5,3 g rohe Chloride, die, trocken aufgetragen, an 700 g Cellulosepulver mit dem Lösungsmittelgemisch „D“ chromatographiert wurden. Diese Calebasse war viel einfacher zusammengesetzt als die übrigen. Die erste quartäre Fraktion dieses Chromatogramms lieferte sofort 25 mg reines C-Fluorocurarin-chlorid. Die zweite Fraktion gab kristallisiertes Fluorocururin-pikrat (aus Methyl-propylketon) (30 mg). Aus der Curaringruppe gewannen wir direkt 700 mg C-Curarin-chlorid (aus Methanol-Äther). Die Mutterlauge lieferte nach der Überführung in das Pikrat 460 mg C-Calebassinpikrat. Aus der Toxiferingeruppe kristallisierten aus Alkohol 17 mg C-Alkaloid-G-chlorid. Die Mutterlauge wurde nochmals mit dem Lösungsmittel „C“ chromatographiert, wobei man aus Alkohol 5 mg C-Toxiferin-chlorid und 7 mg C-Alkaloid-B-chlorid erhielt.

Versuche zur Isolierung eines rot gefärbten Calebassenalkaloids: Es ist uns aufgefallen, dass viele Calebassen, hauptsächlich in der Curarin-Gruppe, rot gefärbte, stark blutrot fluoreszierende Zonen geben. Eine Reineckatzone aus einer früheren Aufarbeitung, die relativ reich an den roten Stoffen zu sein schien, haben wir nach der Überführung in das Chlorid (255 mg) näher untersucht. Bei der Cellulose-Chromatographie mit dem Lösungsmittel „C“ trat Aufspaltung in mehrere rote und gelbe Zonen ein. Die rote Hauptzone wurde herausgeschnitten, mit 90-proz. Methanol eluiert und mit „D“ rechromatographiert. Die hauptsächliche rote Zone wurde nochmals mit „E“ chromatographiert, wobei sie sich in mehrere rote Komponenten aufspalten liess. Die Hauptzone verhielt sich jetzt beim erneuten Chromatographieren einheitlich. Ausbeute etwa 2 mg eines amorphen Pulvers. Hellblaue Cer(IV)-sulfat-Reaktion in 2-n.  $H_2SO_4$ ; mit konz.  $HNO_3$ , grünblau. Der Stoff zeigte in Alkohol Maxima bei 269, 450 und 508  $\mu\mu$ . Inflection bei 340  $\mu\mu$ . Minima bei 237, 380 und 465  $\mu\mu$ .

Bestimmung der R<sub>c</sub>-Werte: Die Durchlaufpapierchromatogramme wurden mit 50  $\gamma$  des Alkaloidchlorids ausgeführt. Wo die Alkalioide als Pikrate vorlagen, wurden sie zuerst an einer mit Chlorionen beladenen Amberlite IRC 400-Säule in die Chloride umgewandelt. Die Alkalioide hat man am gleichen Bogen Filtrerpapier (*Whatman* Nr. 1) absteigend chromatographiert. Die in der Tab. 1 aufgeführten R<sub>c</sub>-Werte gelten für folgende, von C-Curarin-chlorid zurückgelegten Weglängen: in „C“ = 11 cm für alle Alkalioide; in „D“ = 24 cm für Alkalioide mit R<sub>c</sub>-Werten < 1; für Alkalioide mit R<sub>c</sub>-Werten > 1 wanderte das C-Curarin-chlorid in „D“ 18 cm weit. War der von C-Curarin-chlorid zurückgelegte Weg kleiner, so stiegen die R<sub>c</sub>-Werte der oberhalb Curarin liegenden Alkalioide an, während sie bei den unterhalb von Curarin liegenden Basen kleiner wurden. Die umgekehrten Verhältnisse fand man bei einem längeren Curarin-Weg. Alkalioide, die keine Farbreaktionen mit Cer(IV)-sulfat zeigen, wurden durch Ansprühen mit verd. wässriger Jodlösung kenntlich gemacht (brauner Fleck auf farbloser Grundlage nach 10 Minuten langem Verweilen). Das Zentrum diffuser Flecke liess sich wie folgt feststellen: Beim Ansprühen mit dem Cer(IV)-sulfat-Reagens verblasst die Farbe zuerst dort, wo

<sup>1)</sup> Anmerkung bei der Korrektur: Inzwischen konnten etwa 3 mg kristallisiertes C-Alkaloid-X-chlorid isoliert werden. R<sub>c</sub>(„C“) = 3,5; R<sub>c</sub>(„D“) = 4,9 bei Weglängen von C-Curarin-chlorid von 6 bzw. 5 cm.

die Konzentration des Alkaloids am grössten ist. Nach mehrmaligem Anspritzen spricht am Schluss nur noch das am meisten Substanz enthaltende Zentrum des Flecks an.

**Farbreaktionen auf der Tüpfelpalette.** Pikrate oder Chloride geben dieselben Farbreaktionen. Bruchteile eines mg Substanz wurden unter gutem Umschwenken mit 1 Tropfen des Reagens versetzt. Die in den Tab. 2 und 3 mitaufgeführten Farbindices nach dem *Munsell*-System erlauben eine weitgehend objektive Kennzeichnung der auftretenden Farben. Dies ist für spätere Untersuchungen wichtig, da die Farbreaktionen sehr charakteristisch und gut reproduzierbar sind.

### Zusammenfassung.

Zur Aufarbeitung des komplex zusammengesetzten Calebassen-curare haben wir ein neues Verfahren entwickelt, das in der Verteilungschromatographie der Alkaloidchloride an Cellulosepulver besteht. Die neue Methode erwies sich als viel wirksamer als die Chromatographie der Alkaloid-Reineckate an Aluminiumoxyd. Es gelang damit, neben den schon früher isolierten Alkaloiden eine grössere Zahl neuer quartärer Basen in kristallisiertem Zustand abzutrennen, so dass die Zahl der in Zürich aus Calebassen isolierten Alkaloide auf 21 stieg. Diese Alkaloide haben wir durch Farbreaktionen und papierchromatographisch durch ihre R<sub>c</sub>-Werte charakterisiert.

Zürich, Chemisches Institut der Universität.

## 235. Zur Kenntnis der Claisen-Umlagerung I.

(Versuche mit <sup>14</sup>C, 2. Mitteilung<sup>1)</sup>)

von H. Schmid und K. Schmid.

(14. VIII. 52.)

Die heute allgemein angenommene Theorie über den Reaktionsverlauf der Umlagerung von Phenol- oder Enol-allylättern zu ortho-C-Allylverbindungen, bekannt unter dem Namen „Claisen-Umlagerung“, basiert im wesentlichen auf folgenden Beobachtungen und Ansichten<sup>2)</sup>:

1. Die Umlagerungsaktion verläuft intra- und nicht intermolekular.
2. Zumindest in der Reihe der Aryl-allyläther ist die Umlagerung stets von einer Allylverschiebung der wandernden Allylgruppe begleitet, d. h. dasjenige Kohlenstoffatom, das im Äther mit dem Sauer-

<sup>1)</sup> 1. Mitt. Helv. **34**, 2042 (1951).

<sup>2)</sup> Ziffgen. über die Claisen-Umlagerung: G. W. Wheland in Advanced Organic Chemistry, II. Aufl., John Wiley & Sons, New York 1949, Seite 544ff. D. S. Tarbell in R. Adams „Organic Reactions“, Bd. II, John Wiley & Sons, New York 1944, Seite 1; D. S. Tarbell, Chem. Rev. **27**, 495 (1940).