

0.5 g Kaliumacetat in 2 ccm Wasser beim Stehenlassen und Reiben mit einem Glasstäbchen Semicarbazon-Krystalle. Sie wurden abfiltriert und aus Wasser umgelöst. Ihr Schmp. 179⁰ zeigte auch in der Mischprobe mit Bernsteinsäure-halbaldehyd-Semicarbazon keine Depression.

Die Konstitution der beim Verseifen der Tricarbonsäure-ester erhaltenen ungesättigten Säuren wird in einer folgenden Mitteilung erörtert werden.

390. R. Tschesche und Hans-A. Offe: Über Krötengifte, I. Mittel.: Die Selen-Dehydrierung des Cinobufagins.

[Aus d. Allgem. Chem. Universitäts-Laborat. in Göttingen.]

(Eingegangen am 25. September 1935.)

Die Arbeiten von Wieland und Mitarbeitern¹⁾ über die Giftstoffe der einheimischen Kröte, *Bufo vulgaris*, haben zu dem Ergebnis geführt, daß diese Stoffe sehr wahrscheinlich als Derivate des hydrierten Cyclopentano-phenanthrens aufzufassen sind, also aufs engste mit den Sterinen und Gallensäuren in Beziehung stehen. Dieser Auffassung von Wieland haben sich auch die Bearbeiter der Giftstoffe verschiedener ausländischer Kröten, Jensen und Chen²⁾, Kondo und Ikawa³⁾ angeschlossen. Die Ähnlichkeit der pharmakologischen Wirkung der Krötengifte mit der der pflanzlichen Herzgifte ließ eine Verwandtschaft recht nahe liegend erscheinen, durch die Erkennung der Aglykone der pflanzlichen Herzgifte als Abkömmlinge des hydrierten Cyclopentano-phenanthrens hat die Annahme von Wieland in letzter Zeit eine neue Stütze erfahren.

Indessen gelang es bisher nicht, einen einwandfreien Beweis für die Auffassung von Wieland zu bringen. Zwar war es Wieland, Hesse und Meyer¹⁾ gelungen, das Bufotalin aus der *Bufo vulgaris* zu einer Cholan-säure $C_{24}H_{40}O_2$ abzubauen, aber die erhaltene Iso-bufocholansäure war mit keiner der bisher bekannten Gallensäuren identisch. In einer vor kurzem erschienenen Arbeit haben Wieland und Hesse¹⁾ auch die Methode der Selen-Dehydrierung von O. Diels auf das Bufotalin angewandt, die in letzter Zeit bei der Konstitutions-Ermittlung der Genine der pflanzlichen Herzgifte und der Genine der neutralen Saponine so wichtige Aufschlüsse geliefert hat. Es gelang ihnen aber nicht, das typische Dehydrierungsprodukt der Sterine und Gallensäuren, das Methyl-cyclopentano-phenanthren, zu erhalten, statt dessen wurde ein anderer Kohlenwasserstoff gewonnen, der wahrscheinlich Chrysen ist.

Durch die Liebenswürdigkeit von Hrn. Dr. K. K. Chen sind wir in den Besitz einer größeren Menge Ch'an Su gelangt, einer chinesischen Droge, die aus dem Parotis-Sekret der chinesischen Kröte *Bufo gargarizans* gewonnen wird. Ein wesentlicher Bestandteil dieser Droge ist das Cino-bufagin, $C_{25}H_{32}O_6$, das besonders von Jensen und Chen²⁾ näher unter-

¹⁾ H. Wieland, G. Hesse u. M. Meyer, A. **493**, 272 [1932]; H. Wieland u. G. Hesse, A. **517**, 22 [1935].

²⁾ H. Jensen u. K. K. Chen, Journ. biol. Chem. **82**, 397 [1929], **87**, 741 [1930].

³⁾ H. Kondo u. S. Ikawa, C. **1933**, II 723, **1934**, I 3753; S. Ikawa, C. **1935**, II 1040.

sucht worden ist. Wir haben das Cinobufagin der Selen-Dehydrierung unterworfen und in sehr kleiner Ausbeute einen Kohlenwasserstoff erhalten, der sich in allen Eigenschaften mit Methyl-cyclopenteno-phenanthren identisch erwies. Der Kohlenwasserstoff schmolz wie der Dielssche Kohlenwasserstoff $C_{18}H_{16}$ bei 125—126° und gab, mit ihm gemischt, keine Schmelzpunkts-Erniedrigung. Es wurde das Absorptionsspektrum gemessen, das gegenüber dem Dielsschen Kohlenwasserstoff keinen wesentlichen Unterschied zeigte; auch der krystall-optische Vergleich bestätigte die Identität der beiden Kohlenwasserstoffe. Wir sehen darin einen Beweis, daß das Cinobufagin das Ringsystem der Sterine und Gallensäuren enthält, ein Schluß, der sehr wahrscheinlich auch für die anderen Krötengifte zutreffen dürfte.

Der andersartige Befund von Wieland und Hesse am Bufotalin dürfte wohl auf die zu hohe Dehydrierungs-Temperatur zurückzuführen sein.

Wir danken Hrn. Dr. K. K. Chen von den Lilly Research Laboratories, Eli Lilly and Comp., Indianapolis, für das zur Verfügung gestellte Ch'an Su und eine Probe Cinobufagin.

Beschreibung der Versuche.

Reindarstellung des Cinobufagins aus Ch'an Su.

Die Gewinnung des Cinobufagins aus dem Ch'an Su wurde zuerst nach dem von K. K. Chen und A. Ling Chen²⁾ angegebenen Verfahren durchgeführt, jedoch zeigten sich bald die von den früheren Bearbeitern angegebenen Schwierigkeiten, das Cinobufagin zu krystallisieren. Wir haben daher nach einer neuen Darstellungsweise gesucht und konnten auf folgendem Wege schnell zu einem gut krystallisierenden Material gelangen: Die Droge wurde im Soxhlet-Apparat mit Chloroform so lange extrahiert, bis das Lösungsmittel beim Abfließen keine Färbung mehr zeigte. Der Extrakt wurde auf dem Wasserbade zu einem braunen Öl eingeengt, das so lange mit Benzol versetzt wurde, wie kein Niederschlag erfolgte. Die braune Chloroform-Benzol-Lösung wurde über eine Säule von Aluminiumoxyd nach Brockmann filtriert; dabei schied sich der größte Teil der farbigen Verunreinigungen im oberen Viertel der Säule ab. Gewöhnlich waren 3 oder 4 gelbe Ringe zu beobachten, die während der Filtration allmählich nach unten wanderten. In der Gegend des ersten Ringes befand sich das meiste Bufagin, wie durch eine Elution der einzelnen Abschnitte der Säule festgestellt werden konnte. Es wurde jedoch solange mit derselben Säule gearbeitet, bis die dunkelbraune Zone bis fast an das untere Ende der Säule gelangt war. Die durchgelaufene goldgelbe Lösung wurde dann vollständig zur Trockne eingedampft und der Rückstand mit einer kleinen Menge Essigester angerührt. Nach Anreiben oder Animpfen krystallisierte das Cinobufagin alsbald aus. Zur Reinigung wurden die erhaltenen Krystalle mehrmals aus Alkohol umgelöst; sie schmolzen dann bei 223°. Aus 2.5 kg Ch'an Su wurden so bisher 15 g Cinobufagin erhalten.

4.603 mg Subst.: 11.770 mg CO_2 , 3.140 mg H_2O .

$C_{25}H_{32}O_6$. Ber. C 70.10, H 7.47. Gef. C 69.74, H 7.63.

Die Selen-Dehydrierung des Cinobufagins.

5 g Cinobufagin wurden mit der gleichen Menge roten gefällten Selens zuerst 3 Stdn. auf 270° und dann 15 Stdn. auf 320° erhitzt. Zwischendurch

wurde 1-mal die Temperatur für 3 Stdn. auf 335° gesteigert. Das erhaltene Öl wurde mit Äther aufgenommen, das unverbrauchte Selen abfiltriert und das Öl in einer kleinen Retorte gesammelt. Bei der Destillation unter 15 mm Druck ging zwischen 200° und 230° ein Öl über, aus dem sich weiße Plättchen abschieden. Sie wurden durch Filtration über eine kleine Glasfilter-Nutsche vom Öl befreit; Ausbeute etwa 5 mg. Zur Reinigung wurden die Krystalle im Vakuum (14 mm) bei 95—100° sublimiert und dann noch 2-mal aus Äthanol umkrystallisiert. Es wurden so Plättchen erhalten, die bei 125—126° schmolzen und mit einer Probe des Kohlenwasserstoffs $C_{18}H_{16}$ keine Schmelzpunkts-Erniedrigung ergaben.

Krystall-optischer Vergleich⁴⁾: Das Präparat aus Cinobufagin zeigt unter dem Mikroskop Aggregate blättchen-förmiger Kryställchen, von denen einfache unregelmäßige Bruchstücke, zur Beobachtung geeignet, 0.01—0.03 mm groß sind. Im konvergenten Licht zeigen sie stets das Bild einer positiven Mittellinie. Gemessen wurden die beiden Brechungsquotienten α und β für Na-Licht bei 18.5—19° durch Einbetten und Vergleich zu abgestimmter wäßriger Kaliumquecksilberjodid-Lösung:

$$\alpha = 1.5538 \pm 6 \qquad \beta = 1.6753 \pm 6$$

Ein Unterschied im krystall-optischen Verhalten gegenüber dem von Th. Ernst⁵⁾ untersuchten Präparat aus Cholesterin:

$$\alpha = 1.554 \qquad \beta = 1.676$$

ist somit nicht festzustellen.

Die Identität der Präparate aus Cholesterin und aus Cinobufagin ist damit wahrscheinlich gemacht.

Absorptionsmessung: Gemessen an einer 0.002-proz. Lösung des erhaltenen Kohlenwasserstoffs von Hrn. cand. chem. A. Hagedorn⁶⁾.

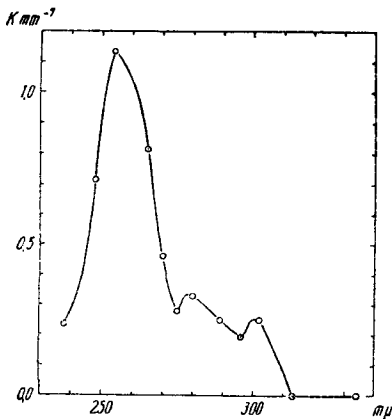


Fig. 1. Kohlenwasserstoff aus Cholesterin 0.0022¹⁰-Lösung in Äther.

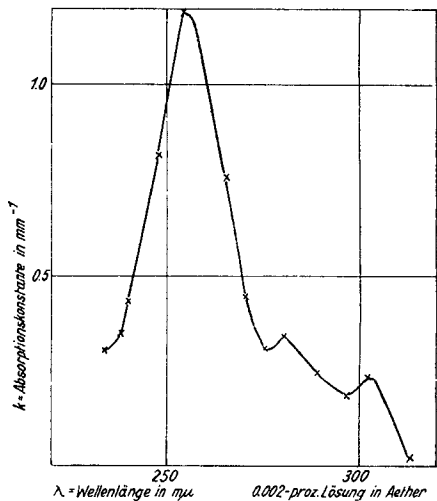


Fig. 2. Absorptionsspektrum des Kohlenwasserstoffs aus Cinobufagin.

⁴⁾ ausgeführt von Hrn. Dr. Trommsdorff, Göttingen, Mineralog. Institut.

⁵⁾ Dissertat. H. Knick, Beitr. Konstitut. pflanzl. Herzgifte, Göttingen 1934.

⁶⁾ Wir danken Hrn. cand. chem. A. Hagedorn auch an dieser Stelle für die Ausföhrung der Messung.