

## Zusammenfassung.

Wässrige Lösungen von Polyvinylalkohol gelieren auf Zusatz von Zucker (65%), ähnlich wie dies Lösungen von Pektin und Tamarindenschleim tun. Der Restacetylgehalt des Polyvinylalkohols ist von grossem Einfluss auf die Gelierfähigkeit. Zuviel Acetylgruppen (z. B. 7,6%) verhindern die Bildung eines durchgehenden Gernetzes. Bei acetylfreiem Polyvinylalkohol tritt infolge erhöhter Assoziations-tendenz zwischen den Fadenmolekeln Ausflockung ein.

Agrikulturehemisches Institut der Eidg. Technischen Hochschule Zürich.

## 167. Über herzkaktive Krötengifte (Bufogenine).

2. Mitteilung<sup>1)</sup>.

### Konstitution des Bufalins

von K. Meyer.

(25. IV. 49.)

In der vorangegangenen Mitteilung<sup>1)</sup> war über die Isolierung einer Reihe von Bufogeninen aus Ch'an Su (Senso) berichtet worden. In dieser Arbeit soll nun der Abbau eines solchen Bufogenins, und zwar des Bufalins beschrieben werden<sup>2)</sup>.

Zum Unterschied von den Krötenbasen, deren chemische Konstitution bei einer Reihe von Vertretern restlos aufgeklärt werden konnte<sup>3)</sup>, war bei den Bufogeninen eine Konstitutionsermittlung bis heute in keinem Fall mit Sicherheit möglich. Faust<sup>4)</sup> gelang es als erstem, aus dem Krötensekret einen allerdings amorphen Stoff zu isolieren, der spezifische Herzwirkung zeigte und den er Bufotalin nannte in Anlehnung an das Digitalin. Er sprach auch schon die Vermutung aus, dass das Bufotalin zu den Steroiden zu zählen ist. Wieland und Mitarbeiter<sup>5)</sup> versuchten, das von ihnen aus der europäischen Kröte erstmals in Krystallen isolierte Bufotalin ( $C_{26}H_{36}O_6$ ) durch Abbau in ein bekanntes Steroid überzuführen. Aus Acetyl-bufotalin ( $C_{28}H_{38}O_7$ ) erhielten sie durch Einwirkung von HCl unter Verlust von je 1 Mol  $H_2O$  und Essigsäure das Acetyl-bufotalin  $C_{26}H_{32}O_4$ . Bei der

<sup>1)</sup> 1. Mitt., K. Meyer, Pharm. acta Helv. **24** (1949), im Druck.

<sup>2)</sup> Über die Ergebnisse dieses Abbaus wurde kurz berichtet: K. Meyer, Exper. **4**, 385 (1948).

<sup>3)</sup> H. Wieland, W. Konz und H. Mittasch, A. **513**, 1 (1934); H. Wieland und Th. Wieland, A. **528**, 234 (1937).

<sup>4)</sup> E. St. Faust, Arch. exp. Pathol. und Pharmakol. **47**, 278 (1902); **49**, 1 (1902).

<sup>5)</sup> H. Wieland, G. Hesse und H. Meyer, A. **493**, 272 (1932).

katalytischen Hydrierung gab dieses einen kristallisierten Neutralstoff (Acetyl-bufotalan) und eine kristallisierte Acetoxysäure der Formel  $C_{26}H_{42}O_4$ , die bei der Verseifung eine Oxysäure  $C_{24}H_{40}O_3$  lieferte. Formeln mit gleicher Anzahl von C- und H-Atomen besitzen auch die Gallensäuren. Die weitere Entfernung der sekundären HO-Gruppe durch Wasserabspaltung und anschliessende Hydrierung führte aber zu einer Säure, die sich als isomer und nicht als identisch mit Cholansäure oder irgend einer anderen bekannten Steroidsäure erwies. Sie wurde deshalb als Isobufocholansäure bezeichnet. — Ganz analoge Reaktionen wurden mit Gamabufotalin und Cinobufagin ausgeführt, doch liessen sich auch hier keine bekannten Cholansäurederivate gewinnen<sup>1)</sup>.

Kurze Zeit nach den Abbauversuchen *Wieland's* und Mitarbeitern machten *Stoll* und Mitarbeiter zunächst analoge Beobachtungen bei der erschöpfenden Hydrierung von Scillaridin A<sup>2)</sup>, Anhydro-scillaridin A<sup>2)</sup>, Scillaren A<sup>3)</sup> und Proscillaridin A<sup>3)</sup>: auch hier entstanden neben perhydrierten Neutralprodukten beträchtliche Mengen gesättigter Säuren. Im Falle des Anhydro-scillaridins A liess sich aus der Säurefraktion aber ein einheitlicher Stoff ( $\alpha$ -Scillansäure) gewinnen, der sich als identisch mit Allocholansäure (I) erwies<sup>4)</sup>. Damit war eine Verknüpfung des Scillarens mit den Gallensäuren erfolgreich durchgeführt. Dem bei der katalytischen Hydrierung des Anhydro-scillaridins A anfallenden Neutralprodukt, welches von *Stoll* und Mitarbeiter<sup>5)</sup> als Decahydro-anhydro-scillaridin A<sup>6)</sup> bezeichnet wurde und ein Lacton darstellt, sollte in Analogie zur Bildungsweise der Allocholansäure (I) die Struktur II zukommen. Da die direkte Verknüpfung des Bufotalins mit den Gallensäuren gescheitert war, ver-

<sup>1)</sup> *M. Kotake* und *T. Kubota*, *Scient. Pap. Inst. physic. chem. Res. (Tokyo)* **34**, 824 (1937/1938); *C.* **1938**, II, 3823, erhielten dabei aus Anhydro-gamabufotalin (Smp. 263<sup>0</sup>) eine „Dioxycholansäure“ ( $C_{24}H_{40}O_4$ ) vom Smp. 211—213<sup>0</sup>. Vermutlich dieselbe Säure (Smp. 210—212<sup>0</sup>) gewannen auch *H. Kondo* und *S. Ohno*, *J. Pharm. Soc. Japan* **59**, 186 (1939); *C.* **1940**, I, 1997, aus Anhydro-gamabufotalin I (Smp. 260<sup>0</sup>), während Anhydro-gamabufotalin II (Smp. 204<sup>0</sup>) eine isomere, ebenfalls unbekannte „Dioxy-cholansäure“ vom Smp. 199—201<sup>0</sup> lieferte. Cinobufagin liess sich über Anhydro-desacetyl-cinobufagin in eine „Cinobufagindioxy-cholansäure“ ( $C_{24}H_{40}O_4$ ) vom Smp. 144—147<sup>0</sup> überführen, deren Diketon (Smp. 191—195<sup>0</sup>) aber mit Dehydro-desoxy-cholsäure eine Depression zeigte: *K. Kuwada* und *M. Kotake*, *Scient. Pap. Inst. physic. chem. Res. (Tokyo)* **35**, 419 (1938); *C.* **1939**, I, 4775.

<sup>2)</sup> *A. Stoll*, *A. Hofmann* und *W. Kreis*, *Helv.* **17**, 1334 (1934).

<sup>3)</sup> *A. Stoll* und *A. Hofmann*, *Helv.* **18**, 401 (1935).

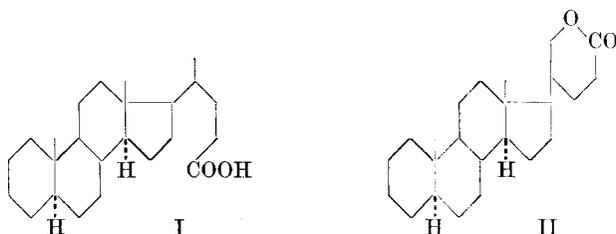
<sup>4)</sup> *A. Stoll*, *A. Hofmann* und *W. Kreis*, *Helv.* **18**, 644 (1935).

<sup>5)</sup> *A. Stoll*, *A. Hofmann* und *W. Kreis*, *Helv.* **17**, 1334 (1934).

<sup>6)</sup> *Wieland* und *Behringer*<sup>7)</sup> bezeichneten diesen Stoff wohl der Einfachheit halber als Scillan, obwohl dieser Name von *Stoll* und Mitarbeiter nie benützt worden war. *H. Behringer*, *Z. angew. Ch.* **56**, 83 (1943), präzisiert und gibt demselben Stoff noch das Präfix  $\alpha$  ( $\alpha$ -Scillan), was irreführend ist und zur Annahme berechtigt, dass mindestens noch eine zweite (isomere) Verbindung unter dem Namen  $\beta$ -Scillan bekannt wäre, was aber nicht der Fall ist.

<sup>7)</sup> *H. Wieland* und *H. Behringer*, *A.* **549**, 209 (1941).

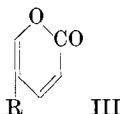
suchten *Wieland* und *Behringer*<sup>1)</sup>, dieses durch Überführung in II an das chemisch so nahe verwandte Scillaren anzuschliessen.



Bei der katalytischen Hydrierung von Bufotalien ( $C_{24}H_{30}O_3$ ) wurden nun neben dem wie üblich entstehenden Säuregemisch zwei diastereoisomere Verbindungen ( $\alpha$ - und  $\beta$ -Oxy-bufotalan) erhalten, die sich weiter zu den hydroxylfreien Grundlactonen  $\alpha$ - und  $\beta$ -Bufotalan abbauen liessen, die wohl isomer aber nicht identisch mit *Stoll's* Decahydro-anhydro-scillaridin A (II) waren.

Aufschlussreicher, wenn auch nicht streng beweisend für die Steroidnatur, waren die Ergebnisse der Selendehydrierung verschiedener Bufogenine: so wurde Chrysen aus Bufotalin<sup>2)</sup>, und  $\gamma$ -Methylcyclopenteno-phenthren aus einem Gemisch von Cinobufagin und Cinobufotalin<sup>3)</sup>, aus Pseudo-desacetyl-bufotalin<sup>4)</sup> und aus Marino-bufagin<sup>5)</sup> gewonnen. Ausserdem hat *Crowfoot*<sup>6)</sup> auf Grund röntgenographischer Messungen geschlossen, dass die Bufogenine in die Klasse der Steroide einzuordnen sind.

Alle Bufogenine besitzen als integrierenden Bestandteil einen doppelt ungesättigten  $\delta$ -Lactonring vom Cumalinsäuretypus, der für das charakteristische U. V.-Absorptionsspektrum mit einem Maximum bei 290—300  $m\mu$  verantwortlich ist. Derselbe Lactonring findet sich auch bei den Herzgiften der Meerzwiebelgruppe und beim Hellebrin<sup>7)</sup> und wurde erstmals von *Stoll* und Mitarbeitern<sup>8)</sup> in der noch heute gültigen Weise III formuliert. In den bisherigen für die Bufogenine vor-



geschlagenen hypothetischen Formeln wurde aus Analogiegründen als Haftstelle des Lactonringes das Atom C-17 angenommen. Eine Reihe

<sup>1)</sup> *H. Wieland* und *H. Behringer*, A. **549**, 209 (1941).

<sup>2)</sup> *H. Wieland* und *G. Hesse*, A. **517**, 22 (1935).

<sup>3)</sup> *R. Tschesche* und *H. A. Offe*, B. **68**, 1998 (1935); *H. Jensen*, Am. Soc. **57**, 2733 (1935).

<sup>4)</sup> *S. Ikawa*, J. Pharm. Soc. Japan **55**, 144 (1935); C. **1935**, II, 2963.

<sup>5)</sup> *H. Jensen*, Am. Soc. **59**, 767 (1937).

<sup>6)</sup> *D. Crowfoot*, Chem. and Ind. **54**, 568 (1935); C. **1935**, II, 1190.

<sup>7)</sup> *W. Karrer*, Helv. **26**, 1353 (1943).

<sup>8)</sup> *A. Stoll*, *A. Hofmann* und *A. Helfenstein*, Helv. **18**, 644 (1935).

von Versuchen zur Konstitutionsermittlung der Bufogenine waren nun darauf gerichtet, durch oxydativen Abbau dieses Lactonringes zu einer bekannten Ätiosäure zu gelangen, was aber in allen Fällen ebenfalls erfolglos war<sup>1)</sup>. Im folgenden wird über die Konstitutionsaufklärung des Bufalins nach dieser Methode berichtet.

Bufalin wurde zum ersten Male von *Kotake* und *Kuwada*<sup>2)</sup> aus Ch'an Su isoliert und ist in der vorangegangenen Mitteilung dieser Reihe weiter beschrieben worden. Auf Grund der Untersuchungen der japanischen Autoren besitzt es die Bruttoformel  $C_{24}H_{34}O_4$ . Es ist somit, soweit bis jetzt bekannt, das einfachst gebaute Bufogenin und daher für die Konstitutionsermittlung dieser Naturstoffklasse besonders geeignet. *Kotake* und *Kuwada*<sup>2)</sup> gaben diesem Bufogenin aus Analogiegründen die hypothetische Strukturformel V (ohne nähere sterische Präzisierung).

Bufalin-acetat (VI) wurde nach der Methode von *Steiger* und *Reichstein*<sup>3)</sup> mit  $KMnO_4$  in Aceton oxydiert. Die Aufarbeitung des Oxydationsproduktes lieferte saure und neutrale Anteile. Die sauren Anteile wurden methyliert und chromatographisch gereinigt. Dabei konnte in recht guter Ausbeute eine krystallisierte Verbindung erhalten werden, die sich nach Schmelzpunkt, Mischprobe, spez. Drehung, Analyse und Farbreaktion mit konz.  $H_2SO_4$  als völlig identisch mit dem erstmals aus Digitoxigenin<sup>4)</sup> und dann auch auf anderem Wege<sup>5)</sup> erhalten  $3\beta$ -Acetoxy-14-oxy-14-iso-ätiocholansäure-methyl-

<sup>1)</sup> Durch Einwirkung von Ozon auf Diacetyl-gamabufotalin und Verkothen des Ozonids mit Wasser erhielten *Kotake* und *Kubota*<sup>6)</sup> eine Säure („Diacetyl-ätio-gamabufotalinsäure“) der Formel  $C_{24}H_{36}O_7$  vom Smp. 225°, die aber nicht weiter abgebaut wurde. Demgegenüber gewann *Ohno*<sup>7)</sup> ebenfalls aus Diacetyl-gamabufotalin bei der Oxydation mit  $KMnO_4$  in Aceton nach der Methode von *Steiger* und *Reichstein*<sup>8)</sup> eine Säure (Diacetoxy-oxy-ätiocholansäure) derselben Zusammensetzung, aber vom Smp. 253°<sup>9)</sup>. *Ohno*<sup>7)</sup> erhielt nach der gleichen Methode aus Acetyl-pseudo-desacetyl-bufotalin eine Säure  $C_{22}H_{34}O_8$  („Pseudoätiocholansäure“) vom Smp. 180–183°. Die nämliche Säure erhielt er durch Ozonolyse und Nachoxydation mit Peressigsäure und  $H_2O_2$ .

<sup>2)</sup> *M. Kotake* und *K. Kuwada*, *Scient. Pap. Inst. phys. chem. Res. (Tokyo)* **36**, 106 (1939); *C.* **1939**, II, 1681.

<sup>3)</sup> *M. Steiger* und *T. Reichstein*, *Helv.* **21**, 828 (1938).

<sup>4)</sup> *F. Hunziker* und *T. Reichstein*, *Helv.* **28**, 1472 (1945).

<sup>5)</sup> *L. Ruzicka*, *Pl. A. Plattner*, *H. Heusser* und *Kd. Meier*, *Helv.* **30**, 1342 (1947).

<sup>6)</sup> *M. Kotake* und *T. Kubota*, *Scient. Pap. Inst. phys. chem. Res. (Tokyo)* **34**, 824 (1937/1938); *C.* **1938**, II, 3823.

<sup>7)</sup> *S. Ohno*, *J. Pharm. Soc. Japan*, **60**, 236 (1940); *C.* **1941**, II, 1399.

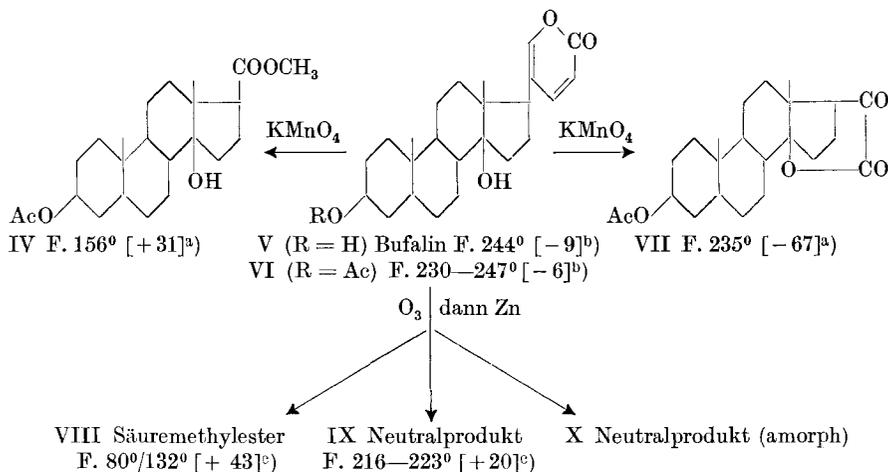
<sup>8)</sup> *M. Steiger* und *T. Reichstein*, *Helv.* **21**, 828 (1938).

<sup>9)</sup> Man könnte auf Grund der Tatsache, dass der Ozonabbau und der  $KMnO_4$ -Abbau deutlich verschiedene (Smp.) aber anscheinend isomere Säuren liefern, vermuten (ein direkter Vergleich scheint nach der Literatur nicht vorgenommen worden zu sein), dass es sich um verschiedene Krystallmodifikationen handelte. Wie in dieser Arbeit am Beispiel des Bufalin-acetates noch gezeigt wird, geben Ozonolyse und  $KMnO_4$ -Oxydation tatsächlich zwei eindeutig verschiedene, aber scheinbar isomere Säuren. Wird aber im Anschluss an die Ozonolyse mit Peressigsäure und  $H_2O_2$  nachoxydiert, so scheint, wie *Ohno*<sup>1)</sup> am Beispiel des Acetyl-pseudo-desacetyl-bufotalins gezeigt hat, dieselbe Säure wie mit  $KMnO_4$  zu entstehen.

ester (IV) erwies. Aus dem Neutralteil konnte in mässiger Ausbeute 3 $\beta$ -Acetoxy-14-oxy-14-*iso*-20-keto-pregnan-21-säure-Lacton-(21  $\rightarrow$  14) (VII)<sup>a)</sup> isoliert werden.

Damit ist es zum ersten Mal<sup>2)</sup> geglückt, ein herzaktives Bufogenin durch einfachen Abbau der Lactonseitenkette in zwei Steroidderivate bekannter Struktur überzuführen und einwandfrei zu zeigen, dass Bufalin (V) bis auf die Natur des Lactonringes auch räumlich genau gleich gebaut ist wie Digitoxigenin.

Obwohl sich die verwendete Methode zum Abbau des doppelt ungesättigten Sechsrings somit durchaus bewährt hatte, schien es doch wünschenswert, an diesem einfachen Modell auch den Verlauf der Ozonolyse<sup>3)</sup> zu studieren. Diese Versuche sind zwar nicht abgeschlossen worden, doch sollen die vorläufigen Ergebnisse angegeben werden. Bufalin-acetat (VI) wurde in Essigester bei  $-80^{\circ}$  mit einem geringen Überschuss von Ozon behandelt und das rohe Ozonid mit Zinkstaub reduziert. Dabei entstanden saure und neutrale Anteile.



Ac = CH<sub>3</sub>CO-. Die Zahlen in eckigen Klammern geben die auf ganze Grade auf- oder abgerundete spez. Drehung für Na-Licht in Chloroform an.

a) F. Hunziker und T. Reichstein, Helv. **28**, 1472 (1945).

b) K. Meyer, Pharm. acta Helv. **24** (1949), im Druck.

c) Vgl. exp. Teil dieser Arbeit.

1) K. Meyer, Helv. **30**, 1976 (1947).

2) Anm. bei der Korrektur: in den Chem. Abstr. **41**, 6296 (1947) ist eine Arbeit von M. Kotake und K. Kuwada, Scient. Pap. Inst. Physic. Chem. Res. (Tokyo) **39**, 361 (1942) referiert worden (das Original ist mir leider nicht zugänglich), die leider bisher übersehen wurde. Danach haben die beiden japanischen Autoren durch Oxydation von Bufalin-acetat (VI) u. a. eine Säure erhalten, die nach Abspaltung von Wasser, Verseifung und Hydrierung eine 3-Oxy-ätiocolansäure von Smp. 224—225° lieferte. CrO<sub>3</sub>-Behandlung gab 3-Keto-ätiocolansäure vom Smp. 244—246°. Bei der Oxysäure von Kotake und Kuwada dürfte es sich nach dem Smp. und auf Grund der hier beschriebenen Resultate um 3-Oxy-ätiocolansäure gehandelt haben.

3) Zur Methodik vgl. K. Meyer und T. Reichstein, Helv. **30**, 1508 (1947).

Das Hauptreaktionsprodukt war sauer und der daraus mit Diazomethan bereitete Methylester VIII liess sich leicht chromatographisch reinigen und kristallisieren. Er schmolz zuerst bei 80–83°, später immer bei 132–134°. Er war damit deutlich verschieden von IV und zeigte ausserdem eine etwa um 10° höhere spez. Drehung. Die Analysen von VIII stimmten dagegen sehr gut auf die Formel  $C_{23}H_{36}O_5$  oder  $C_{26}H_{38}O_6$ . Da VIII auch nicht identisch mit 3 $\beta$ -Acetoxy-14-oxy-14-iso-17-iso-ätiocholansäure-methylester<sup>1)</sup> war, dürfte VIII eher eine kohlenstoffreichere Bruttoformel zukommen<sup>2)</sup>. — Aus dem Neutralprodukt der Ozonisierung liess sich in geringer Ausbeute ein kristallisierter Stoff IX vom Smp. 215–223° gewinnen, der sich gegen alkalische Silberdiamminlösung bei 20° als indifferent erwies. Die amorphen Mutterlaugen von IX reduzierten dagegen alkalische Silberdiamminlösung bei 20° rasch und stark. An diesem Punkt mussten die Versuche vorläufig abgebrochen werden. Über die bei der Ozonolyse des  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ,  $\delta$ -ungesättigten Lactonringes entstehenden Produkte soll gelegentlich weiter berichtet werden.

Der *Stiftung für Stipendien auf dem Gebiete der Chemie* danke ich wiederum für die Unterstützung dieser Arbeit und Herrn Prof. T. Reichstein für sein Interesse an diesen Untersuchungen und seine wertvollen Ratschläge.

### Experimenteller Teil.

Alle Schmelzpunkte sind auf dem *Kofler*-Block bestimmt und korrigiert; Fehlergrenze bis 200° ca.  $\pm 2^\circ$ , darüber ca.  $\pm 3^\circ$ . „Schweinchchen“ bedeutet, dass die unmittelbar vor der Verbrennung getrocknete Substanz im Schweinchchen eingewogen wurde.

#### KMnO<sub>4</sub>-Abbau von Bufalin-acetat.

3 $\beta$ -Acetoxy-14-oxy-14-iso-ätiocholansäure-methylester (IV) aus VI.

200 mg Bufalin-acetat (VI) (Smp. 230–248°<sup>3)</sup>) wurden in 10 cm<sup>3</sup> Aceton<sup>4)</sup> gelöst, mit 200 mg fein gepulvertem KMnO<sub>4</sub> versetzt, wobei sehr rasch Ausscheidung von MnO<sub>2</sub> und Erwärmung eintrat. Nach halbstündigem Schütteln auf der Maschine war kein KMnO<sub>4</sub> mehr nachweisbar. Ein weiterer Zusatz von 100 mg KMnO<sub>4</sub> war nach 45 Minuten ebenfalls verbraucht. Hierauf wurden nochmals 50 mg KMnO<sub>4</sub> zugefügt und noch 2 1/2 Stunden geschüttelt. Die nach dieser Zeit noch unverändertes KMnO<sub>4</sub> enthaltende Lösung wurde im Vakuum bei ca. 30° eingedampft, der Rückstand bei 0° mit verdünnter H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> bis zur eben kongosäuren Reaktion versetzt und die wässrige Suspension erschöpfend mit Chloroform ausgeschüttelt. Die vereinigten Chloroformauszüge wurden auf 10 cm<sup>3</sup> eingeeengt, mit der 4-fachen Menge Äther versetzt und im Scheidetrichter mit Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>-Lösung in saure (142 mg) und neutrale (55 mg) Anteile zerlegt.

Die sauren Anteile gaben aus Aceton dünne, längliche Plättchen vom Smp. 205–245° (Zers.). Krystalle und Mutterlaugen wurden gemeinsam mit ätherischer Diazomethanlösung methyliert und chromatographiert. Benzol- und Benzol-Chloroform (19:1) eluierten 72 mg. Aus Äther-Pentan glänzende, lange Prismen, Smp. 156–158°.  $[\alpha]_D^{17} = +32,1^\circ \pm 1^\circ$  ( $c = 2,556$  in Chloroform)<sup>5)</sup> (Trocknung 1 Stunde bei 90–100° im Hochvakuum).

25,60 mg Subst. zu 1,0015 cm<sup>3</sup>;  $l = 1$  dm;  $\alpha_D^{17} = +0,82^\circ \pm 0,02^\circ$ .

<sup>1)</sup> L. Ruzicka, Pl. A. Plattner, H. Heusser und Kd. Meier, Helv. **30**, 1342 (1947); K. Meyer, Helv. **30**, 1976 (1947). <sup>2)</sup> Vgl. Anm. 9, S. 1241 dieser Arbeit.

<sup>3)</sup> Bufalin-acetat hat einen sehr unscharfen Smp.

<sup>4)</sup> Zweimal langsam von gepulvertem KMnO<sub>4</sub> abdestilliert.

<sup>5)</sup> Früher<sup>a)</sup> wurde  $[\alpha]_D = +30,7^\circ \pm 2^\circ$  (in Chloroform) gefunden.

Die Mischprobe mit 3 $\beta$ -Acetoxy-14-oxy-14-*iso*-ätiocholansäure-methylester (IV) (Smp. 156—158<sup>o</sup>)<sup>1)</sup> schmolz ebenso.

Zur Analyse wurde 3 Stunden im Hochvakuum bei 100<sup>o</sup> getrocknet.

3,160 mg Subst. gaben 8,161 mg CO<sub>2</sub> und 2,617 mg H<sub>2</sub>O

C<sub>23</sub>H<sub>36</sub>O<sub>5</sub> (392,52) Ber. C 70,37 H 9,25% (Gef. C 70,48 H 9,27%)

Die Färbungen beider Ester mit konz. H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> waren genau gleich: blassgelb  $\rightarrow$  bläulichgelb (1 Stunde)  $\rightarrow$  ockergelb (2 Stunden)  $\rightarrow$  graugrünlichgelb (3 Stunden)  $\rightarrow$  graugrün (3½ Stunden)  $\rightarrow$  grünblau (4 Stunden)  $\rightarrow$  smaragdgrün (7 Stunden).

3 $\beta$ -Acetoxy-14-oxy-14-*iso*-20-keto-pregnan-21-säure-Lacton-(21  $\rightarrow$  14)  
(VII).

Die 55 mg neutraler Anteile des Abbauproduktes (siehe oben) krystallisierten z. T. aus Aceton in feinen Nadelchen vom Smp. 220—232<sup>o</sup>. Nach zweimaligem Umkrystallisieren stieg der Smp. auf 235—239<sup>o</sup>.  $[\alpha]_D^{16} = -66,8^{\circ} \pm 2^{\circ}$  ( $c = 1,167$  in Chloroform)<sup>2)</sup> (Trocknung 1 Stunde bei 90—100<sup>o</sup> im Hochvakuum).

11,690 mg Subst. zu 1,0015 cm<sup>3</sup>;  $l = 1$  dm;  $\alpha_D^{16} = -0,78^{\circ} \pm 0,02^{\circ}$

Zur Analyse wurde 3 Stunden im Hochvakuum bei 80<sup>o</sup> getrocknet.

3,709 mg Subst. gaben 9,672 mg CO<sub>2</sub> und 2,787 mg H<sub>2</sub>O

C<sub>23</sub>H<sub>32</sub>O<sub>5</sub> (388,48) Ber. C 71,10 H 8,30% Gef. C 71,16 H 8,40%

Die Mischprobe mit 3 $\beta$ -Acetoxy-14-oxy-14-*iso*-20-keto-pregnan-21-säure-Lacton (21  $\rightarrow$  14)<sup>3)</sup> (VII) vom Smp. 236—239<sup>o</sup> schmolz bei 235—239<sup>o</sup>.

Die Farbreaktionen beider Ketolactone mit konz. H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> waren genau gleich: orange  $\rightarrow$  rotorange (30 Minuten)  $\rightarrow$  braunorange (1 Stunde)  $\rightarrow$  rostbraun (2 Stunden)  $\rightarrow$  dunkelbraun (3 Stunden)  $\rightarrow$  schwarzbraun (5 Stunden)  $\rightarrow$  dunkelgrauviolett (7 Stunden).

### Ozonolyse von Bufalin-acetat.

470 mg Bufalin-acetat (VI) (Smp. 230—248<sup>o</sup>) wurden in 30 cm<sup>3</sup> Essigester gelöst, auf -80<sup>o</sup> abgekühlt und so lange ozonisierter Sauerstoff (ca. 4 Vol.-% O<sub>3</sub>) eingeleitet, bis die Lösung bläuviolett war (ca. 15 Minuten). Nach 20 Minuten langem Stehen bei -80<sup>o</sup> wurde im Vakuum bei ca. 25<sup>o</sup> eingedampft, der Rückstand in 2 cm<sup>3</sup> Eisessig gelöst und so lange mit Zinkstaub versetzt und geschüttelt, bis angefeuchtetes Kaliumjodidstärkepapiert nicht mehr gebläut wurde. Nach Abfiltrieren und gründlichem Nachwaschen mit Chloroform wurde im Vakuum eingedampft, der Rückstand in Chloroform-Äther aufgenommen, mit verdünnter HCl und Wasser gewaschen und im Scheidetrichter mit Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>-Lösung in saure (265 mg) und neutrale (205 mg) Anteile zerlegt.

### Ester VIII.

Die 265 mg rohe Säure wurden bis zur bleibenden Gelbfärbung mit ätherischer Diazomethanolösung versetzt, 10 Minuten bei 18<sup>o</sup> stehen gelassen und hierauf im Vakuum zur Trockene gebracht. Der Rückstand wurde an 9 g Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> chromatographiert. Benzol-Petroläther (1:1), (3:1), Benzol, Benzol-Chloroform (19:1) und (9:1) eluierten 155 mg Substanz. Aus Äther-Pentan 100 mg kurze, dicke und in Äther äusserst leicht lösliche Prismen vom Smp. 80—83<sup>o</sup>, die sich aber beim Aufbewahren in eine etwas schwerer lösliche Krystallmodifikation vom Smp. 132—134<sup>o</sup> umwandelten. Bei einem spätern Versuch wurden nur die hochschmelzenden Krystalle (prismatische Nadeln aus Äther-Petroläther) erhalten.  $[\alpha]_D^{13} = +43,4^{\circ} \pm 2^{\circ}$  ( $c = 1,1633$  in Chloroform) (Trocknung 1 Stunde im Hochvakuum bei 80—90<sup>o</sup>).

11,650 mg Subst. zu 1,0015 cm<sup>3</sup>;  $l = 1$  dm;  $\alpha_D^{17} = +0,505^{\circ} \pm 0,02^{\circ}$

Zur Analyse wurde 3 Stunden im Hochvakuum bei 80<sup>o</sup> über P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> getrocknet.

3,298 mg Subst. gaben 8,505 mg CO<sub>2</sub> und 2,677 mg H<sub>2</sub>O

3,494 mg Subst. gaben 8,946 mg CO<sub>2</sub> und 2,747 mg H<sub>2</sub>O

5,490 mg Subst. verbr. 3,730 cm<sup>3</sup> 0,05-n. Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub> (Zeisel-Vieböck)

<sup>1)</sup> Die mit Buchstaben bezeichneten Fussnoten siehe Formelseite.

<sup>2)</sup> Früher<sup>3)</sup> wurde  $[\alpha]_D = -68,7^{\circ} \pm 2^{\circ}$  (in Chloroform) gefunden.

$C_{23}H_{36}O_5$ (392,52)	Ber. C 70,37	H 9,25	– OCH <sub>3</sub> 7,90%
$C_{26}H_{38}O_5$ (446,56)	„ „ 69,93	„ 8,58	„ 6,95%
$C_{26}H_{40}O_6$ (448,58)	„ „ 69,61	„ 8,99	„ 6,93%
	Gef. „ 70,37	„ 9,08	
	„ „ 69,87	„ 8,80	„ 7,01%

Die Substanz färbte sich mit konz.  $H_2SO_4$ : blassgelb → grüngelb (4 Stunden) → hellgrasgrün (6 Stunden) → blassblaugrün (24 Stunden). Mit Tetranitromethan gab sie (in wenig Chloroform gelöst) keine Färbung.

#### Neutralprodukte IX und X.

Die 205 mg neutraler Anteile aus der Ozonolyse wurden in Äther gelöst und mit Pentan versetzt. Nach einiger Zeit schieden sich feine Nadelchen ab (30 mg) (IX), die abfiltriert und aus Äther-Pentan umkrystallisiert wurden. Smp. 216–223°;  $[\alpha]_D^{18} = +20,1^0 \pm 2^0$  ( $c = 1,5442$  in Chloroform) (Trocknung 1 Stunde im Hochvakuum bei 100°).

15,465 mg Subst. zu 1,0015 cm<sup>3</sup>;  $l = 1$  dm;  $\alpha_D^{18} = +0,31^0 \pm 0,02^0$

Zur Analyse wurde 3 Std. im Hochvakuum bei 80° über  $P_2O_5$  getrocknet.

3,522 mg Subst. gaben 9,31 mg CO<sub>2</sub> und 2,86 mg H<sub>2</sub>O (*S. W.*)

$C_{26}H_{40}O_5$  (432,58) Ber. 72,18 H 9,32% Gef. C 72,13 H 9,09%

Die Substanz gab in wenig Chloroform gelöst auf Zusatz des doppelten Volumens Tetranitromethan keine Gelbfärbung und reduzierte (in wenig Methanol gelöst) alkalische Silberdiamminlösung bei 20° auch nach 1 Stunde nicht.

Mit konz.  $H_2SO_4$ : blassocker → hellocker (½ Stunde) → ockerrot (4 Stunden) → rosaviolett (Graustich) (24 Stunden).

Der Mutterlaugenrückstand X der obigen Substanz vom Smp. 216–223° blieb amorph. Eine Probe reduzierte (in wenig Methanol gelöst) alkalische Silberdiamminlösung bei Zimmertemperatur rasch und stark.

Die Mikroanalysen wurden im mikroanalytischen Laboratorium der Organisch-chemischen Anstalt der Universität Basel (Leitung *E. Thommen*) ausgeführt und die letzte bei Frau Dr. *M. Sobotka* und Herrn Dr. *E. Wiesenberger* in Graz.

#### Zusammenfassung.

Abbau von Bufalin-acetat mit  $KMnO_4$  in Aceton gab  $3\beta$ -Acetoxy-14-oxy-14-*iso*-ätiocolansäure und  $3\beta$ -Acetoxy-14-oxy-14-*iso*-20-ketopregnan-21-säure-Lacton-(21 → 14). Damit ist es zum ersten Mal<sup>1)</sup> gelungen, ein herzaktives Krötengift in zwei Steroidderivate bekannter Struktur überzuführen und einwandfrei zu zeigen, dass Bufalin bis auf die Natur des Lactonringes auch räumlich genau gleich gebaut ist wie Digitoxigenin.

Ozonolyse von Bufalin-acetat und reduktive Spaltung des Ozonids mit Zinkstaub in Eisessig gab ebenfalls saure und neutrale Stoffe. Aus den sauren Anteilen wurde ein krystallisierter Methylester vom Smp. 132–134° erhalten und aus den Neutralteilen in kleiner Menge ein krystallisierter Stoff vom Smp. 216–223°. Nur die amorphen Neutralteile reduzierten alkalische Silberdiamminlösung. Die beiden krystallisierten Stoffe waren verschieden von denjenigen, die beim  $KMnO_4$ -Abbau erhalten wurden.

Pharmazeutische Anstalt der Universität Basel.

<sup>1)</sup> Vgl. Fussnote 2, Seite 1242.