

Die Mikroanalysen wurden teils im mikroanalytischen Laboratorium der Organisch-chemischen Anstalt der Universität Basel (Leitung *E. Thommen*) (OAB), teils im mikroanalytischen Laboratorium der Eidg. Techn. Hochschule, Zürich (Leitung *W. Manser*) (ETH.) ausgeführt. Das UV.-Absorptionsspektrum hat Herr cand. chem. *P. Zoller* aufgenommen.

Zusammenfassung.

Durch Abbau von Telocinobufagin-acetat mit KMnO_4 in Aceton wurde 3β -Acetoxy-5,14-dioxy-14-*iso*-ätiocholansäure und 3β -Acetoxy-5,14-dioxy-20-keto-14-*iso*-pregnan-21-säure-Lacton-(21 \rightarrow 14) erhalten. Damit ist die Konstitution und Konfiguration des Telocinobufagins bewiesen und gezeigt, dass dieses neue Bufogenin bis auf die Natur des Lactonringes auch räumlich genau gleich gebaut ist wie Periplogenin.

Pharmazeutische Anstalt der Universität Basel.

211. Über herzaktive Krötengifte (Bufogenine)

4. Mitteilung¹⁾.

Konstitution des Gamabufotalins

von **Kuno Meyer**.

(19. VI. 49.)

Im Jahre 1928 isolierte *Kotake*²⁾ aus den Häuten der japanischen Kröte (*Bufo vulgaris formosus*³⁾) in beträchtlicher Menge⁴⁾ ein noch unbekanntes Bufogenin, das er Gamabufotalin⁵⁾ nannte. Das nämliche Bufogenin wurde kurze Zeit später auch von *Wieland* und *Vocke*^{d)} aus gleichem Material gewonnen und von diesen Autoren als Gamabufogenin bezeichnet. Die Identität wurde durch direkten Vergleich mehrerer Derivate gut gesichert⁶⁾. *Chen* und Mitarbeiter^{e)} isolierten aus dem Parotissekret der japanischen Kröte ein Bufogenin,

¹⁾ 3. Mitt., *K. Meyer*, *Helv.* **32**, 1593 (1949).

²⁾ Die mit Buchstaben bezeichneten Fussnoten a–f siehe Seite 1601.

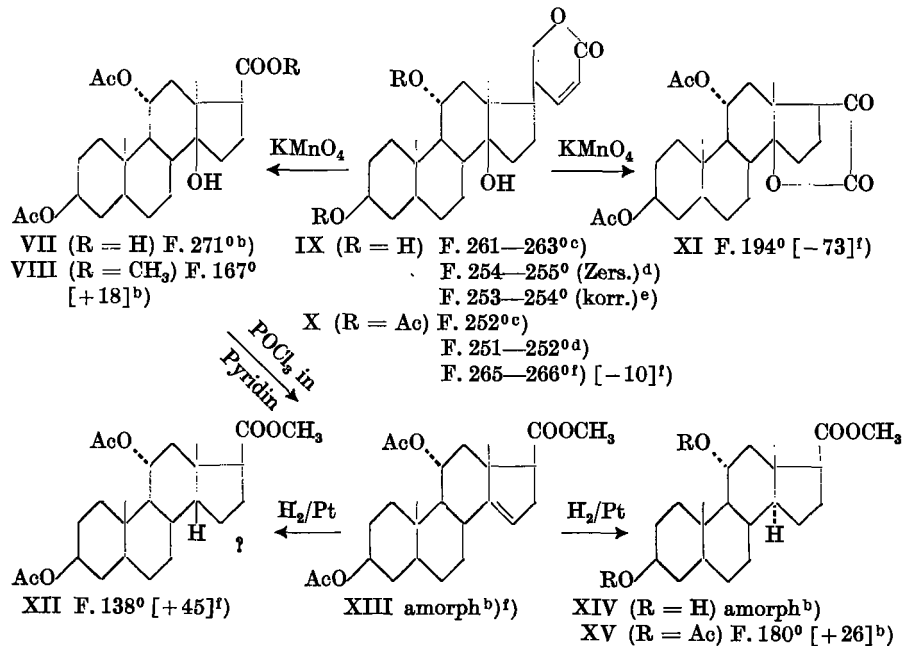
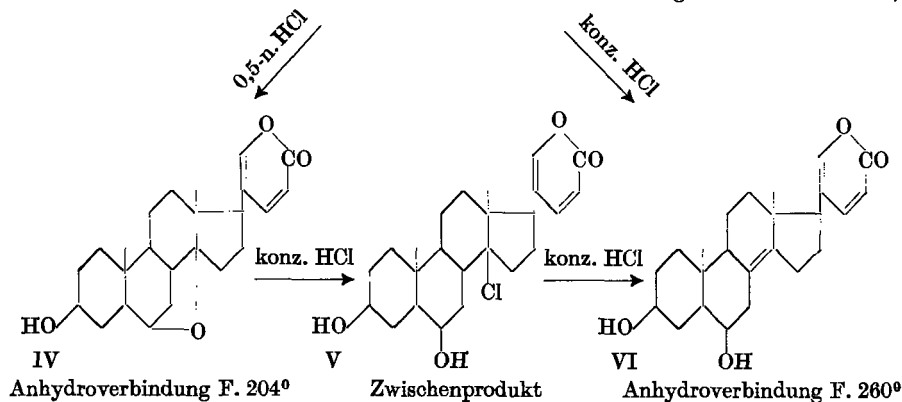
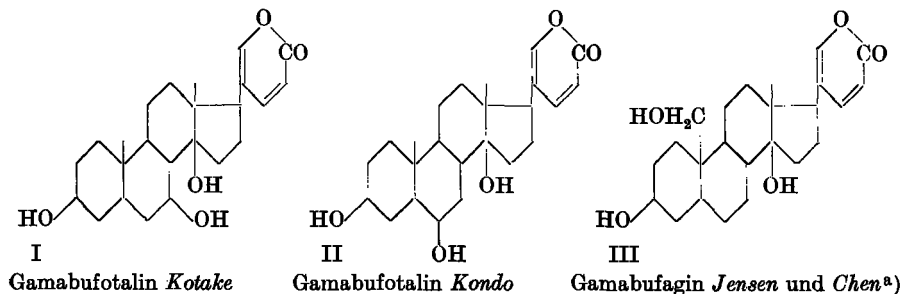
³⁾ *Kotake* hatte zuerst^{e)} die Krötenspezies mit *Bufo bufo japonicus* angegeben. Eine später⁷⁾ durchgeführte exakte zoologische Bestimmung ergab aber, dass es sich um die oben aufgeführte Spezies gehandelt hatte. Nach *O. Gessner*, „Tierische Gifte“ in *Heffter's* Handbuch d. exptl. Pharmakologie, Erg.-Werk, Band VI, p. 38ff. (*J. Springer*, Berlin 1938), wird die von *Kotake* untersuchte Kröte als *Bufo formosus* Boulenger = *Bufo bufo formosus* *Kotake* = *Bufo bufo japonicus* = japanische Erdkröte bezeichnet.

⁴⁾ Aus 5000 Häuten wurden 35 g reines Gamabufotalin gewonnen.

⁵⁾ Abgeleitet vom japanischen Wort „gama“ = Kröte und nicht vom griechischen Buchstaben γ = Gamma, wie manchmal irrtümlich angenommen wird.

⁶⁾ *M. Kotake*, *Scient. Pap. Inst. Physic. Chem. Res. (Tokyo)* **24**, 39 (1934); *C.* **1934**, II, 459.

⁷⁾ *M. Kotake*, *Scient. Pap. Inst. Physic. Chem. Res. (Tokyo)* **9**, 233 (1928); *C.* **1929**, I, 916.



Ac = CH₃CO—. Die Zahlen in eckigen Klammern geben die auf ganze Grade auf- oder abgerundete spez. Drehung in Chloroform an.

das sie als identisch mit dem obigen betrachteten und entsprechend ihrem Nomenklaturvorschlag¹⁾ als Gamabufagin bezeichneten.

Hier soll aus historischen Gründen der Name Gamabufotalin verwendet werden, obwohl *Wieland's* Bezeichnung, wenigstens für den deutschen Sprachgebrauch, am besten wäre. Gamabufotalin ist, wie *Kotake* und *Kuwada*²⁾ nachwiesen, auch in der chinesischen Krötengiftdroge Ch'an Su (Senso) enthalten.

Wieland und *Vocke*^{a)} zeigten, dass das Gamabufotalin die Formel $C_{24}H_{34}O_5$ besitzt, bei der Acetylierung eine Diacetylverbindung $C_{28}H_{38}O_7$ und durch Behandeln mit konz. HCl eine Anhydroverbindung $C_{24}H_{32}O_4$ liefert. Letzteres Verhalten machte es wahrscheinlich, dass im Gamabufotalin eine tertiäre HO-Gruppe enthalten ist. Nach *Kotake* und *Kubota*³⁾ sind die beiden acetylierbaren HO-Gruppen sekundär gebunden, da die Dehydrierung des freien Bufogenins mit CrO_3 ein Diketon lieferte. Die japanischen Autoren stellten auf Grund dieser Befunde für Gamabufotalin die hypothetische Formel I auf, wobei die Anordnung der funktionellen Gruppen am Steroidskelett sich nur auf Analogieschlüsse stützte.

Von *Kondo* und *Ohno*⁴⁾ wurde kurz darauf die Formel II für Gamabufotalin vorgeschlagen. Diese wurde aus folgenden Beobachtungen abgeleitet: schon *Wieland* und *Vocke*^{a)} hatten bei der Einwirkung von 0,5-n. HCl auf Gamabufotalin eine Anhydroverbindung vom Smp. 204° erhalten, die sich durch konz. HCl in die isomere Anhydroverbindung vom Smp. 260° überführen liess. Die japanischen Autoren konnten zeigen, dass die Anhydroverbindung vom Smp. 204° nur eine Monoacylverbindung, die Anhydroverbindung vom Smp. 260° dagegen eine Diacylverbindung lieferte. Bei der Isomerisierung (Anhydrogenin Smp. 204° → Anhydrogenin Smp. 260°) liess sich also die Acylierungsfähigkeit einer HO-Gruppe wieder herstellen und diese

a) *K. K. Chen*, Ann. Rev. Physiol. **7**, 677 (1945), verwendete infolge eines Versehens statt des $\alpha, \beta, \gamma, \delta$ -ungesättigten Lacton-6-Ringes, der für alle Bufogenine typisch ist, einen β, γ -ungesättigten Lacton-5-Ring. Um die Diskussion, die sich ja in erster Linie mit der Natur und der Haftstelle der HO-Gruppen am Steroidskelett befasst, nicht unnötig zu komplizieren, wurde in obiger Formel der allgemeingültige α -Pyrone-Ring der Krötenherzgifte benützt, im übrigen aber nichts an *Chen's* Formelvorschlag geändert.

b) *A. Katz*, Helv. **31**, 993 (1948).

c) *M. Kotake*, A. **465**, 11 (1928).

d) *H. Wieland* und *F. Vocke*, A. **481**, 215 (1930).

e) *K. K. Chen*, *H. Jensen* und *A. L. Chen*, J. Pharmacolog. and Exp. Therap. **49**, 26 (1933).

f) Vgl. exp. Teil dieser Arbeit.

1) *K. K. Chen*, Ann. Rev. Physiol. **7**, 677 (1945).

2) *M. Kotake* und *K. Kuwada*, Scient. Pap. Inst. Physic. Chem. Res. (Tokyo) **32**, 79 (1937); C. **1937**, II, 2690.

3) *M. Kotake* und *T. Kubota*, Scient. Pap. Inst. Physic. Chem. Res. (Tokyo) **34**, 824 (1938); C. **1939**, I, 4775.

4) *H. Kondo* und *S. Ohno*, J. Pharmac. Soc. Japan **59**, 186 (1939); C. **1940**, I, 1997.

muss eine der beiden sekundären, nicht aber eine tertiäre gewesen sein. Diese Befunde deuteten *Kondo* und *Ohno* im Sinne der Formelbilder IV \rightarrow VI und glaubten ausserdem, wegen der leichten Bildung des Hydrofuranringes beim Übergang ins Anhydrogenin IV, die beiden HO-Gruppen an C-6 und C-14 räumlich als cis-ständig angeordnet annehmen zu dürfen. Ob die Lage der Doppelbindung in der Anhydroverbindung VI im Sterinkern an C-14-C-15 oder an C-8-C-14 liegt, wird in der zitierten Arbeit von *Kondo* und *Ohno* offen gelassen. Da aber bekannt ist, dass die C-8-C-14 Doppelbindung nicht hydrierbar ist, beide Anhydro-gamabufotaline sich aber glatt katalytisch perhydrieren lassen¹⁾, wobei neben den gesättigten Lactonen zwei verschiedene aber isomere „Dioxy-cholansäuren“ entstehen, wäre zum mindesten die Lage der Doppelbindung in Formel VI nach C-14-C-15 zu verschieben.

Vor kurzem hat *Chen*^{a)} in Amerika für sein Gamabufagin die hypothetische Formel III vorgeschlagen, die sich auf Untersuchungen von *Jensen*²⁾ stützte. Dieser konnte nämlich zeigen, dass Gamabufotalin und Marinobufagin bei der Einwirkung von starken Mineralsäuren oder starkem Alkali Formaldehyd abspalten und deutete dies dahin, dass in diesen beiden Bufogeninen eine HOCH₂-Gruppe enthalten ist, die bei dieser Reaktion als CH₂O abgespalten wird. Nun müsste aber Gamabufotalin, wenn es eine primäre HO-Gruppe an C-18 oder C-19 besässe, bei der Einwirkung von CrO₃ normalerweise eine Säure und höchstens unter besonders schonenden Bedingungen einen Aldehyd liefern³⁾. Im Falle des Gamabufotalins konnte, wie oben erwähnt, bei der CrO₃-Oxydation aber ein Diketon und keine Säure erhalten werden. Das Entstehen von CH₂O unter den von *Jensen* benützten äusserst drastischen Bedingungen dürfte wohl kaum als Beweis für das Vorliegen einer primären HO-Gruppe angesehen werden⁴⁾. Falls *Jensen's* Gamabufagin tatsächlich eine primäre HO-Gruppe enthalten sollte, so müsste auf Grund der Dehydrierung mit CrO₃ geschlossen werden, dass sein Präparat nicht identisch war mit dem Gamabufotalin der andern Bearbeiter, was aber unwahrscheinlich ist.

Mit Gamabufotalin wurden noch die folgenden Abbauversuche ausgeführt, ohne dass dabei exakte Anhaltspunkte für den Bau dieses Bufogenins gewonnen werden konnten. *Kotake* und *Kubota*⁵⁾ erhielten

¹⁾ *H. Kondo* und *S. Ohno*, J. Pharmac. Soc. Japan **59**, 186 (1939); C. **1940**, I, 1997.

²⁾ *H. Jensen*, Am. Soc. **59**, 767 (1937).

³⁾ Dies ist möglicherweise bei Marinobufagin der Fall, wo nach *Jensen's* Angaben ein Aldehyd entstehen soll.

⁴⁾ Auch Anhydro-ouabagenin verliert unter ähnlich drastischen Bedingungen CH₂O, was ebenfalls als Beweis für das Vorliegen einer angulären HOCH₂-Gruppe angesehen wird. Vgl. *W. H. Strain* in *H. Gilman's Organic Chemistry* 2nd ed., Vol. II, p. 1447 (*J. Wiley & Sons*, New York, 1943).

⁵⁾ *M. Kotake* und *T. Kubota*, Scient. Pap. Inst. Physic. Chem. Res. (Tokyo) **34**, 824 (1937/38); C. **1938**, II, 3823.

bei der katalytischen Hydrierung von Anhydro-gamabufotalin vom Smp. 263° eine „Dioxycholansäure“ (C₂₄H₄₀O₄) vom Smp. 211—213°. Vermutlich dieselbe Säure (Smp. 210—212°) gewannen auch *Kondo* und *Ohno*¹⁾ aus derselben Anhydroverbindung, während Anhydro-gamabufotalin vom Smp. 204° eine isomere, ebenfalls unbekannte „Dioxy-cholansäure“ vom Smp. 199—201° lieferte. Durch Einwirkung von Ozon auf Diacetyl-gamabufotalin und Verkochen des Ozonids mit Wasser erhielten *Kotake* und *Kubota*²⁾ eine „Diacetyl-ätio-gamabufotalinsäure“ der Formel C₂₄H₃₆O₇ vom Smp. 225°, die aber nicht weiter abgebaut wurde. Demgegenüber gewann *Ohno*³⁾ aus Diacetyl-gamabufotalin bei der Oxydation mit KMnO₄ in Aceton nach der Methode von *Steiger* und *Reichstein*⁴⁾ eine Diacetoxy-oxy-ätiocholansäure derselben Zusammensetzung, aber vom Smp. 253°⁵⁾.

In der ersten Arbeit dieser Reihe⁶⁾ wurde unter anderem die Isolierung eines Bufogenins in acetylierter Form aus Ch'an Su beschrieben und die Gründe angeführt, warum dieses als Gamabufotalin-diacetat angesprochen wurde. Bei der Oxydation dieses Diacetates vom Smp. 265—266° (korr.) mit KMnO₄ in Aceton nach der Methode von *Steiger* und *Reichstein*⁷⁾ konnte neben einem krystallisierten Neutralstoff eine krystallisierte Diacetoxy-oxy-ätiocholansäure (C₂₄H₃₈O₇) erhalten werden, die nach zweimaligem Umkrystallisieren aus Aceton bei 256—269° (korr.) schmolz. Praktisch denselben Smp. (253° uncorr.) besass die von *Ohno*³⁾ nach derselben Methode aus Diacetyl-gamabufotalin erhaltene Säure; sie zeigte auch die nämliche Zusammensetzung. Dies lässt den Schluss zu, dass diese beiden Säuren identisch sind und liefert darüber hinaus noch einen zusätzlichen Beweis, dass das hier abgebaute Bufogenin-diacetat vom Smp. 265—266° (korr.) wirklich Gamabufotalin-diacetat ist. Die in der vorliegenden Arbeit erhaltene Säure wurde zur weiteren Reinigung und Charakterisierung methyliert und der Methylester chromatographiert. Der so gewonnene Methylester erwies sich nach Schmelzpunkt, Mischprobe, spez. Drehung, Analyse und Farbreaktion mit konz. H₂SO₄ als völlig identisch mit 3β, 11α-Diacetoxy-14-oxy-14-iso-ätiocholansäure-methylester (VIII), der zum ersten Male von *Katz*^{b)} durch Abbau von Sarmetogenin-diacetat erhalten worden war. Dass dem Neutralprodukt des KMnO₄-Abbaus höchstwahrscheinlich die Konstitution des 3β, 11α-

1) *H. Kondo* und *S. Ohno*, J. Pharmac. Soc. Japan **59**, 186 (1939); C. **1940**, I, 1997.

2) Loc. cit.

3) *S. Ohno*, J. Pharmac. Soc. Japan **60**, 236 (1940); C. **1941**, II, 1399.

4) *M. Steiger* und *T. Reichstein*, Helv. **21**, 828 (1938).

5) Wie am Beispiel des Bufalin-acetates früher⁸⁾ gezeigt wurde, geben Ozonolyse und KMnO₄-Oxydation zwei deutlich verschiedene Säuren, deren Analyse ungefähr dieselben C- und H-Werte liefern und so das Vorliegen von isomeren Säuren vortäuschen.

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

7) Loc. cit.

8) *K. Meyer*, Helv. **32**, 1238 (1949).

Diacetoxy-14-oxy-14-*iso*-20-keto-pregnan-21-säure-Lactons-(21 → 14) (XI) zukommt, konnte in Analogie zu den Abbauresultaten von Bufalin-acetat¹⁾ und Telocinobufagin-acetat²⁾ und auf Grund der Analysenwerte und der spez. Drehung vermutet werden. Durch weiteren Abbau konnte diese Annahme auch exakt bewiesen werden: das Ketolacton XI liess sich nämlich durch Behandeln mit H₂O₂ und KHCO₃ in wässrigem tertiärem Butanol in ausgezeichneter Ausbeute zu einer Säure abbauen. Zur Charakterisierung wurde sie methyliert und noch acetyliert. Der so entstandene Ester war wieder identisch mit 3 β , 11 α -Diacetoxy-14-oxy-14-*iso*-ätiocholansäure-methylester (VIII). Da die Bildung des Lactons XI nur möglich ist, wenn die tertiäre HO-Gruppe an C-14 β -ständig angeordnet ist, ergibt sich für die beiden Abbauprodukte VIII und XI und damit auch für Gamabufotalin selbst 14-*iso*-Konfiguration. Zur weiteren Charakterisierung wurde XI mit POCl₃ und Pyridin erhitzt³⁾, wobei der amorphe Ester XIII entstand, der, wie Katz^{b)} schon feststellen konnte, bei der Hydrierung 2 eindeutig verschiedene aber scheinbar isomere Produkte lieferte, die mit den aus Sarmentogenin^{b)} erhaltenen Präparaten ebenfalls völlig übereinstimmten. Bei dem höher schmelzenden Isomeren handelt es sich um den 3 β ,11 α -Diacetoxy-ätiocholansäure-methylester (XV)⁴⁾^{b)}, während dem tiefer schmelzenden Ester möglicherweise die Konstitution des 3 β ,11 α -Diacetoxy-14-*iso*-ätiocholansäure-methylesters (XII) zukommt. Während bisher bei der Absättigung einer C-14-C-15-Doppelbindung bei normaler Konfiguration an C-17 immer Steroide mit trans-Verknüpfung der Ringe C/D erhalten wurden, scheint im vorliegenden Fall die 11-ständige HO-Gruppe dem Gang der Hydrierung wenigstens teilweise einen anderen Verlauf zugeben. Ob diese Annahme zu Recht besteht, soll noch untersucht werden. Es ist bekannt, dass eine 11-ständige HO- oder Oxo-Gruppe den Hydrierungsverlauf von Δ^4 -3-Ketosteroiden sehr stark beeinflusst. Während normalerweise vorwiegend Koprostan-Derivate gebildet werden, entstehen bei Steroiden mit Sauerstoff in 11-Stellung ausschliesslich Cholestan-Derivate⁵⁾.

Der *Stiftung für Stipendien auf dem Gebiete der Chemie* danke ich für die Unterstützung dieser Arbeit und Herrn Prof. *T. Reichstein* für seine Ratschläge.

Experimenteller Teil.

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

¹⁾ *K. Meyer*, *Helv.* **32**, 1238 (1949).

²⁾ *K. Meyer*, *Helv.* **32**, 1593 (1949).

³⁾ Eigentümlicherweise gelang die H₂O-Abspaltung zum Unterschied von früher^{b)} erst beim Erhitzen auf 115°. Vgl. dazu *K. Meyer*, *Helv.* **30**, 1976 (1947).

⁴⁾ *A. Katz*, *Helv.* **30**, 883 (1947).

⁵⁾ *M. Steiger* und *T. Reichstein*, *Helv.* **21**, 161 (1938).

3 β , 11 α -Diacetoxy-14-oxy-14-iso-ätiocholansäure-methylester (VIII) aus X.

400 mg Gamabufotalin-diacetat (Smp. 260—265°) wurden in 20 cm³ reinem Aceton gelöst, mit 500 mg fein gepulvertem KMnO₄ versetzt. Nach halbstündigem Schütteln auf der Maschine war kein KMnO₄ mehr nachweisbar. Ein weiterer Zusatz von 200 mg KMnO₄ war nach 2 Stunden ebenfalls verbraucht. Hierauf wurden noch 50 mg KMnO₄ zugefügt und noch 2 Stunden geschüttelt. Die nach dieser Zeit noch unverändertes KMnO₄ enthaltende Lösung wurde im Vakuum bei ca. 30° eingedampft, der Rückstand bei 0° mit verdünnter H₂SO₄ bis zur eben kongosauren Reaktion versetzt und die wässrige Suspension erschöpfend mit Chloroform ausgeschüttelt. Die vereinigten Chloroformauszüge wurden auf 10 cm³ eingeeengt, mit der 4-fachen Menge Äther versetzt und im Scheidetrichter mit Na₂CO₃-Lösung in saure (270 mg) und neutrale (90 mg) Anteile zerlegt.

Die sauren Anteile gaben aus Aceton längliche Blättchen, die nach nochmaligem Umlösen aus Aceton bei 256—269° (Zers. unter Gelbfärbung) schmolzen. Die Mischprobe mit der aus Sarmetogenin^{b)} erhaltenen 3 β , 11 α -Diacetoxy-14-oxy-14-iso-ätiocholansäure vom Smp. 265—272° schmolz bei 256—270°. Krystalle und Mutterlauge wurden gemeinsam mit ätherischer Diazomethanlösung methyliert und chromatographiert. Benzol-Petroläther (1:1) und Benzol eluierten total 197 mg farbloses Material. Aus Äther 150 mg flache zu Rosetten vereinigte Prismen vom Smp. 167—168°. Aus der Mutterlauge liessen sich noch 15 mg Krystalle vom Smp. 158—162° gewinnen. $[\alpha]_D^{15} = +16,8^\circ \pm 1^\circ$ ($c = 2,018$ in Chloroform)¹⁾ (Trocknung 1 Stunde bei 90° im Hochvakuum).

20,210 mg Subst. zu 1,0015 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{15} = +0,34^\circ \pm 0,02^\circ$

Zur Analyse wurde 3 Stunden im Hochvakuum bei 100° über P₂O₅ getrocknet.

3,346 mg Subst. gaben 8,18 mg CO₂ und 2,55 mg H₂O (S.W.)

2,899 mg Subst. verbr. 1,77 cm³ 0,05-n. Na₂S₂O₃ (Zeisel-Vieböck) (S.W.)

3,611 mg Subst. verbr. 1,83 cm³ 0,01-n. NaOH (Acetoxybestimmung²⁾) (S.W.)

C₂₅H₃₈O₇ Ber. C 66,64 H 8,50 —OCH₃ 6,89 —COCH₃ 19,11%
(450,55) Gef. „ 66,72 „ 8,53 „ 6,33 „ 21,81%

Die Mischprobe mit 3 β , 11 α -Diacetoxy-14-oxy-14-iso-ätiocholansäure-methylester (VIII) (Smp. 165—167°, stark verrieben) schmolz bei 165—167°.

Die Färbungen beider Ester mit konz. H₂SO₄ waren genau gleich: zitronengelb → gelb (30 Minuten) → braungelb (1 Stunde) → braun mit Grüntich (2 Stunden) → braungrün (4 Stunden) → grasgrün (5—8 Stunden).

**3 β , 11 α -Diacetoxy-14-oxy-14-iso-20-keto-pregnan-21-säure-Lacton-
(21 → 14) (XI).**

Die 90 mg neutralen Anteile des KMnO₄-Abbaues (siehe oben) krystallisierten nach längerem Stehen und gaben nach mehrmaligem Umkrystallisieren aus Aceton-Äther 40 mg zu kleinen Drusen vereinigte flache Prismen vom Smp. 194—197°. $[\alpha]_D^{18} = -72,7^\circ \pm 1^\circ$ ($c = 2,1333$ in Chloroform) (Trocknung 1 Stunde bei 100° im Hochvakuum).

21,365 mg Subst. zu 1,0015 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{18} = -1,55^\circ \pm 0,02^\circ$

Zur Analyse wurde 3 Stunden im Hochvakuum bei 100° über P₂O₅ getrocknet (Schweinchen).

4,300 mg Subst. gaben 10,583 mg CO₂ und 2,982 mg H₂O (OAB)

C₂₅H₃₄O₇ (446,52) Ber. C 67,24 H 7,67% Gef. C 67,16 H 7,76%

Mit konz. H₂SO₄ gab das Ketolacton (XI) folgende Färbungen: hellgelb → tiefgelb (30 Minuten) → braun (1 Stunde und 2 Stunden) → graubraun (3 und 4 Stunden) → schmutziggrau (5—8 Stunden).

¹⁾ Früher^{b)} wurde $[\alpha]_D^{15} = +18,2^\circ \pm 2^\circ$ (in Chloroform) gefunden.

²⁾ Nach E. Wiesenberger, Mikroch. **33**, 51 (1946).

3 β , 11 α -Diacetoxy-14-oxy-14-*iso*-ätiocholansäure-methylester (VIII) aus XI.

55 mg Krystalle XI aus Mutterlauge wurden in 10 cm³ tert. Butylalkohol gelöst, mit 50 mg KHCO₃ in 1,5 cm³ Wasser und 0,8 cm³ 30-proz. H₂O₂ versetzt und 16 Stunden bei 32—34° stehen gelassen. Hierauf wurde im Vakuum (bei ca. 30°) auf etwa 1 cm³ eingengt, mit verdünnter H₂SO₄ kongosauer gemacht und mit Chloroform extrahiert. Der nach Verdampfen des Chloroforms verbliebene Rückstand wurde in Chloroform-Äther (1:4) gelöst und mit Na₂CO₃-Lösung in saure (40 mg) und neutrale (8 mg) Anteile zerlegt. Letztere waren amorph und konnten auch nach Animpfen mit Ausgangsmaterial (XI) nicht zur Krystallisation gebracht werden. Die sauren Anteile wurden 10 Minuten mit überschüssiger ätherischer Diazomethanlösung stehen gelassen, im Vakuum zur Trockne gebracht, in 0,6 cm³ absolutem Pyridin und 0,4 cm³ Acetanhydrid 2 Stunden bei 80° nachacetyliert und nach üblicher Aufarbeitung an 1,2 g Al₂O₃ chromatographiert. Benzol-Petroläther (1:1) und (3:1) und Benzol allein eluierten 36 mg reinen Ester VIII vom Smp. 166—168°. Mischprobe mit dem oben beschriebenen Präparat von VIII ebenso. Mit Benzol-Chloroform (9:1) wurden noch 4 mg Öl von der Säule abgelöst.

3 β , 11 α -Diacetoxy-14-*iso*-ätiocholansäure-methylester (XII)? und 3 β , 11 α -Diacetoxy-ätiocholansäure-methylester (XV) aus VIII.

135 mg Ester VIII vom Smp. 167—168° und 15 mg Ester VIII vom Smp. 158—162° wurden in einer Glasampulle in 3 cm³ absolutem Pyridin gelöst, mit 0,3 cm³ POCl₃ und 0,05 cm³ Wasser eingeschmolzen und 1½ Stunden auf ca. 115° erhitzt (Toluoldampf). Nach dem Erkalten wurde im Vakuum eingedampft, der dunkel gefärbte Rückstand in Äther aufgenommen, mit verdünnter HCl, Na₂CO₃-Lösung und Wasser gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und eingedampft. Der hellgelbe Rückstand (140 mg) wurde an 4 g Al₂O₃ chromatographiert. Petroläther-Benzol (9:1), (4:1) und (1:1) eluierten 132 mg amorphes Material, das nicht krystallisierte. Mit Benzol und Benzol-Chloroform (9:1) und (4:1) liessen sich noch 8 mg krystallisiertes Ausgangsmaterial VIII ablösen. Das amorphe Produkt wurde in 1,6 cm³ Eisessig mit 30 mg PtO₂·H₂O hydriert. Das nach üblicher Aufarbeitung erhaltene Hydrierungsprodukt wurde an 4,0 g Al₂O₃ chromatographiert. Die zwei ersten mit Petroläther-Benzol (9:1) eluierten Fraktionen (35 mg) gaben aus Äther-Pentan ca. 30 mg kleine Drusen. Sublimation im Hochvakuum bei 110—130° und Umkrystallisieren aus Äther-Pentan lieferte schöne Prismen vom Smp. 138—141°. $[\alpha]_D^{20} = +44,7^{\circ} \pm 2^{\circ}$ ($c = 1,9013$ in Chloroform) (Trocknung 1 Stunde im Hochvakuum bei 70°).

$$19,035 \text{ mg Subst. zu } 1,0015 \text{ cm}^3; l = 1 \text{ dm}; \alpha_D^{20} = +0,85^{\circ} \pm 0,02^{\circ}$$

Die Mischprobe mit dem früher^b) erhaltenen Präparat vom Smp. 136—141° schmolz bei 137—141°. Mit Tetranitromethan (in wenig Chloroform) gab der Ester XII? keine Färbung.

Die folgenden mit Petroläther Benzol, sowie mit reinem Benzol eluierten Fraktionen (ca. 80 mg) des obigen Chromatogramms gaben aus Äther 63 mg rautenförmige Plättchen, Smp. 179—181° (verr. ieben). Die Mischprobe mit 3 β , 11 α -Diacetoxy-ätiocholansäure-methylester (XV)^b) schmolz ebenso.

Die Mikroanalysen wurden teils bei Frau Dr. *M. Sobotka* und Herren Dr. *E. Wiesberger* (*S. W.*) in Graz, teils im mikroanalytischen Laboratorium der Organisch-chemischen Anstalt der Universität Basel (Leitung *E. Thommen*) (OAB) ausgeführt.

Zusammenfassung.

Die durch Abbau von Gamabufotalin-diacetat mit KMnO₄ erhaltene Säure konnte eindeutig als 3 β , 11 α -Diacetoxy-14-oxy-14-*iso*-ätiocholansäure identifiziert werden. Damit ist die Konstitution und

Konfiguration des Gamabufotalins bewiesen. Bei der oben genannten Oxydation entsteht ein krystallisiertes neutrales Nebenprodukt, dem die Konstitution des $3\beta,11\alpha$ -Diacetoxy-14-oxy-14-iso-20-keto-pregnan-21-säure-Lactons-(21 \rightarrow 14) zukommt.

Pharmazeutische Anstalt der Universität Basel.

212. Gofrusid, ein krystallisiertes Glykosid aus den Samen von *Gomphocarpus fruticosus* (L.) R. Br.¹⁾

Glykoside und Aglykone, 49. Mitteilung²⁾

von M. Keller und T. Reichstein.

(20. VI. 49.)

Durch die Bemühungen von Herrn Dr. *J. Gerstner* in Johannesburg (Südafrika) kamen wir in den Besitz von Samen sowie getrockneten Wurzeln von *Gomphocarpus fruticosus* (L.) R. Br.³⁾ Dies ist eine besonders in Südafrika, aber nach *Engler*⁴⁾ auch durch die wärmeren Gegenden der ganzen Erde sehr verbreitete, milchsafführende, krautige Asclepiadacee. Soweit wir feststellen konnten, ist aus dieser Species noch nie ein herzwirksames Glykosid isoliert worden. Die Wurzeln zeigten keinen merklich bitteren Geschmack, wohl aber die Samen, und es gelang auf folgendem Wege, daraus in geringer Ausbeute (0,06 %) ein gut krystallisiertes, neues Glykosid zu isolieren, das wir Gofrusid nennen.

Die Samen wurden gemahlen, mit Petroläther entfettet und der Rückstand zunächst mit Wasser angeteigt und in Gegenwart von etwas Toluol 5 Tage stehen gelassen⁵⁾. Dann wurde mit Alkohol fertig extrahiert. Der in üblicher Weise mit Pb(OH)_2 gereinigte wässerig-alkoholische Extrakt wurde analog wie bei der Isolierung der Glykoside aus *Strophanthussamen*⁶⁾ vom Alkohol befreit und der wässrige Rückstand zunächst mit viel Äther, dann mit Chloroform und schliesslich mit Chloroform-Alkohol-Gemisch (2:1)⁷⁾ ausgeschüttelt, worauf die wässrige Lösung nicht mehr bitter war und verworfen wurde.

¹⁾ Auszug aus Diss. *Max Keller*, Basel (1949).

²⁾ 48. Mitt., *J. Schmutz*, Helv. **32**, 1442 (1949).

³⁾ Wir möchten auch hier Herrn Dr. *Gerstner* für dieses Material bestens danken, ebenso der Direktion der Firma *N. V. Organon*, Holland, für die Vermittlung seiner Hilfe.

⁴⁾ *A. Engler* und *K. Prantl*, Die natürlichen Pflanzenfamilien (Leipzig, Wilhelm Engelmann, 1897), Teil IV, 2, p. 236.

⁵⁾ Ob dabei eine fermentative Spaltung eintritt, wurde noch nicht untersucht.

⁶⁾ Vgl. *J. v. Euw* und *T. Reichstein*, Helv. **31**, 883 (1948).

⁷⁾ Von *A. Stoll*, *J. Renz* und *W. Kreis*, Helv. **20**, 1487 (1937), zum Ausschütteln stark wasserlöslicher Glykoside empfohlen.