

266. Über herzkaktive Krötengifte (Bufogenine).

5. Mitteilung¹⁾.

Konstitution des Bufotalins

von Kuno Meyer.

(2. IX. 49.)

Nachdem lange Zeit alle Versuche, Krötengifte in reiner Form zu isolieren, erfolglos waren²⁾, konnte *Faust*³⁾ als erster aus der europäischen Kröte einen zwar amorphen aber scheinbar weitgehend einheitlichen Stoff gewinnen, der sich pharmakologisch durch die starke und spezifische Herzwirkung auszeichnete. *Faust* nannte diesen amorphen Giftstoff Bufotalin. Krystallisiertes Bufotalin wurde erstmals im Jahre 1913 von *Wieland* und *Weil*⁴⁾ aus der europäischen Kröte *Bufo bufo bufo* L. = *Bufo vulgaris* L.⁵⁾ gewonnen, nachdem kurz vorher *Abel* und *Macht*⁶⁾ aus der südamerikanischen Kröte *Bufo marinus* (L.) *Schneid.* = *Bufo aqua Seba* das Bufagin (das spätere Marinobufagin) als erstes krystallisiertes herzwirksames Krötengift überhaupt isoliert hatten.

Schon *Faust*⁷⁾ hatte angenommen, dass das Bufotalin zu den Steroiden zu zählen ist. Ein sicherer Konstitutionsbeweis ist aber trotz eingehender Untersuchungen von *Wieland* und seinen Schülern^{b) a) h) i) f) g) 8)} bis heute noch nicht gelungen. *Wieland* und *Weyland*^{a)} stellten im Jahre 1920 für Bufotalin die Formel $C_{26}H_{36}O_6$ auf, und alle weiteren Umsetzungen mit diesem Bufogenin bestätigten diese Summenformel. Wie früher⁹⁾ schon erwähnt, führten aber die Versuche, Bufotalin in die bekannten Steroide Cholangsäure und Dehydro-anhydro-scillardin A überzuführen, zu Produkten, die mit diesen Stoffen isomer aber nicht identisch waren. Immerhin konnten *Wieland* und Mitarbeiter auf Grund ihrer Untersuchungsergebnisse wertvolle Anhaltspunkte für die Natur und die Haftstelle der ver-

¹⁾ 4. Mitt., *K. Meyer*, *Helv.* **32**, 1599 (1949).

²⁾ Vgl. die ältere Literatur bei *H. Behringer*, *Z. angew. Ch.* **56**, 83 (1943).

³⁾ *E. St. Faust*, *Arch. exp. Pathol. Pharmacol.* **47**, 279 (1902); **49**, 1 (1902).

⁴⁾ Die mit Buchstaben bezeichneten Fussnoten siehe Formelseite.

⁵⁾ Nach *K. K. Chen*¹⁰⁾ dürfte es sich bei dieser von *Wieland* und *Weil* untersuchten Krötenspezies in Wirklichkeit um *Bufo viridis viridis* Laur. = *Bufo viridis* L., also um die grüne oder Wechselkröte gehandelt haben.

⁶⁾ *J. J. Abel* und *D. I. Macht*, *J. Pharmacol. and Exp. Therap.* **3**, 319 (1911—1912).

⁷⁾ *Loc. cit.*

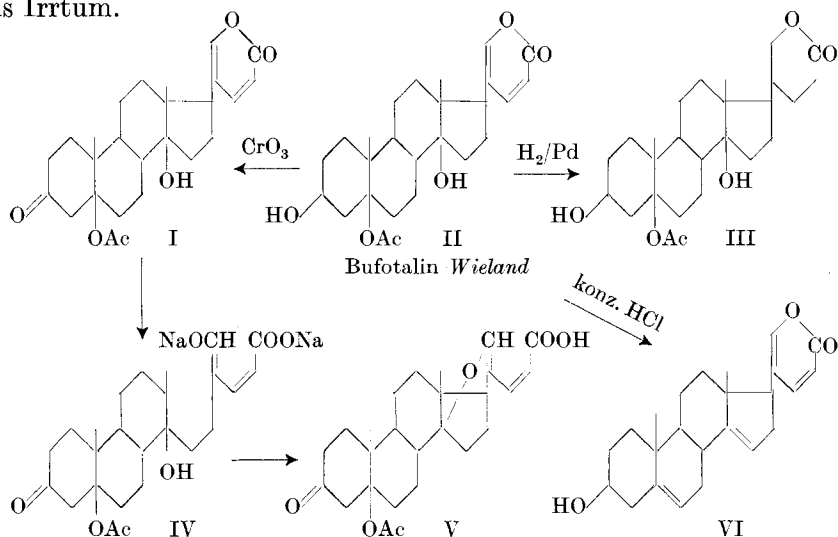
⁸⁾ *H. Wieland*, *G. Hesse* und *R. Hüttel*, *A.* **524**, 203 (1936).

⁹⁾ *K. Meyer*, *Helv.* **32**, 1238 (1949).

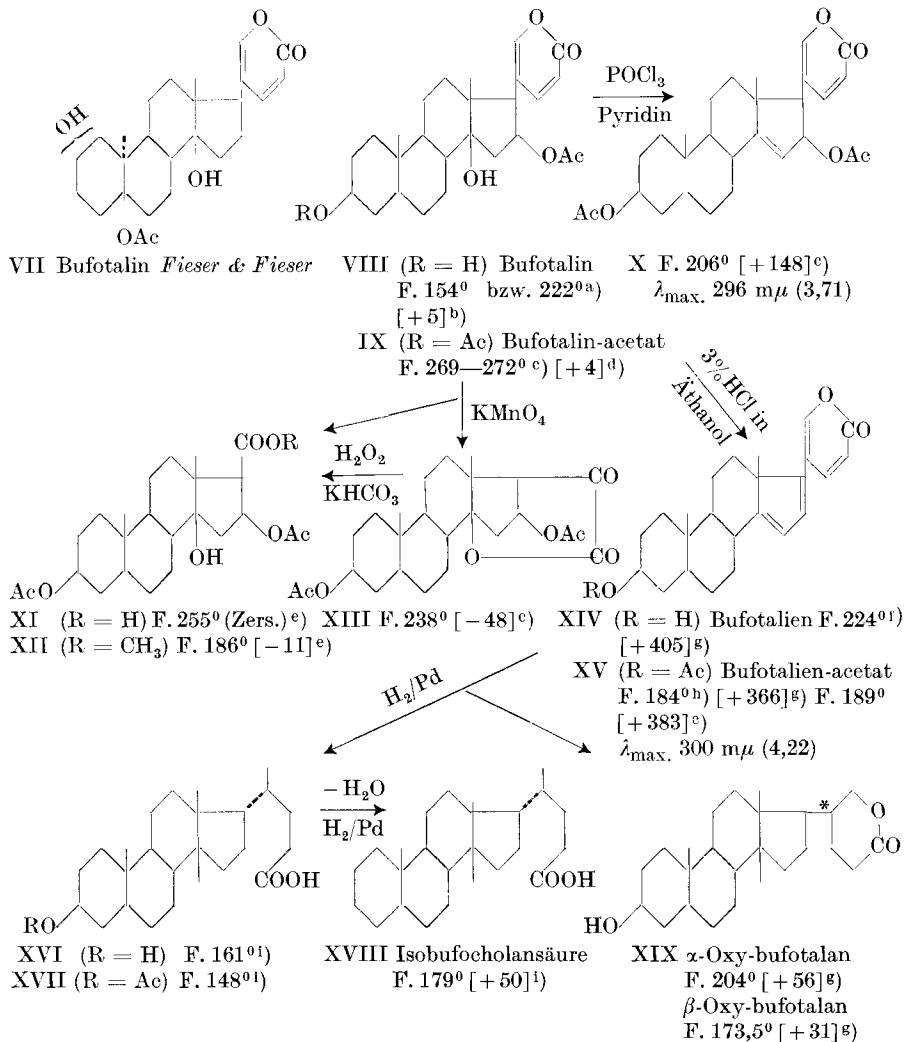
¹⁰⁾ *K. K. Chen*, *H. Jensen* und *A. L. Chen*, *J. Pharmacol. and Exp. Therap.* **47**, 307 (1933); **49**, 548 (1933).

schiedenen funktionellen Gruppen des Bufotalins am hypothetischen Sterinskelett gewinnen, die im Jahre 1941 zum Formelvorschlag II für Bufotalin führten. Es konnte nämlich gezeigt werden, dass Bufotalin nur eine acetylierbare HO-Gruppe besitzt, die sekundär ist, denn die Oxydation mit CrO_3 lieferte ein Monoketon (Bufotalon). Sie wurde in Analogie zu bekannten Oxy-Steroiden an C_3 verlegt. Eine weitere HO-Gruppe liegt in acetylierter Form vor, und ihre scheinbar tertiäre Natur wurde aus folgenden Umsetzungen abgeleitet: Bufotalin lässt sich durch katalytische Hydrierung in zwei an C_{20} isomere Tetrahydrobufotaline (III) überführen. Durch methylalkoholische Kalilauge werden diese beiden Lactone unter gleichzeitiger Verseifung der Acetoxy-Gruppe zu Oxysäuren aufgespalten, wodurch die beiden an C_{20} isomeren 3,5,14,21-Tetroxy-bufocholansäuren entstehen. Erhitzen der freien Oxysäuren auf $150\text{--}160^\circ$ im Hochvakuum gab unter Relactonisierung die beiden isomeren Trioxybufotalane, von denen das eine beim Behandeln mit CrO_3 ein Monoketon lieferte. Wäre die ursprünglich acetylierte HO-Gruppe sekundär gewesen, so hätte ein Diketon erwartet werden sollen. Ausserdem sprach die bei verschiedener Temperatur durchgeführte Bestimmung des aktiven Wasserstoffs nach *Zerewitinoff-Roth*, die nur bei einem dieser beiden Trioxybufotalane durchgeführt wurde, für das Vorliegen einer sekundären und zweier tertiärer HO-Gruppen. Dass die dritte HO-Gruppe tertiär gebunden ist, ergab sich noch aus der Tatsache, dass Bufotalin durch Einwirkung von konz. Salzsäure unter Verlust von je 1 Mol Wasser und Essigsäure in das im Kern doppelt ungesättigte Bufotalin (VI) übergeht. Dabei wird also auch die oben erwähnte acetylierte, von *Wieland* als tertiär angesehene, HO-Gruppe abgespalten. Die Haftstelle der freien tertiären HO-Gruppe wurde von *Wieland* an C_{14} verlegt, was aus folgenden Beobachtungen abgeleitet wurde: wird Bufotalon (I) unter sehr milden Bedingungen mit wässrigem Alkali behandelt, so wird der $\alpha, \beta, \gamma, \delta$ -doppelt ungesättigte Lactonring geöffnet, und nach dem Ansäuern resultiert eine kristallisierte Säure, die isomer mit dem Ausgangsprodukt ist. Da die so gebildete Säure aber keine Aldehyd-Reaktionen zeigt, muss die bei der Aufspaltung des Lactonringes intermediär entstandene Aldehyd- bzw. Enol-Gruppe beim Ansäuern unter Bildung eines Oxido-Ringes verschlossen worden sein, entsprechend den Formeln $\text{I} \rightarrow \text{IV} \rightarrow \text{V}$. Voraussetzung für das Eintreten dieser Isomerisierung ist das Vorliegen einer reaktionsfähigen HO-Gruppe, die den richtigen Abstand vom Lacton-Ring aufweisen muss, wofür nur das C-Atom Nr. 14 in Frage zu kommen schien. Diese Isomerisierung würde ganz analog verlaufen wie die der Meerzwiebel-Glykoside bzw. -Aglykone und entspräche auch bis zu einem gewissen Grad derjenigen der digitaloiden Glykoside und Aglykone der C_{23} -Reihe. Als Haftstelle der acetylierten, vermutlich tertiären HO-Gruppe im

Bufotalin wählten *Wieland* und *Behringer*⁵⁾ das C-Atom Nr. 5. Hierfür waren die folgenden Überlegungen massgebend: das schon oben erwähnte im Kern doppelt ungesättigte Bufotalien (VI) lässt sich leicht perhydrieren, es besitzt somit keine schwer oder nicht hydrierbare Doppelbindung. Bufotalien weist ausserdem im Ultraviolett dasselbe Spektrum auf wie Bufotalin (II), woraus geschlossen wurde, dass die beiden Doppelbindungen in VI nicht konjugiert sind (siehe weiter unten). Da eine Doppelbindung sich aus den oben ausgeführten Gründen an C₁₄—C₁₅ befinden muss, käme als Haftstelle der acetylierten tertiären HO-Gruppe einzig C₅ in Frage. *Wieland* und *Behringer*⁵⁾ versuchten, für diese Annahme auch einen exakten Beweis zu liefern. Das aus dem Keton Bufotalon (I) leicht zu gewinnende Bufotalienon sollte, wenn die von *Wieland* und *Behringer*⁵⁾ vorgeschlagene Formel II für Bufotalin richtig ist, im Ultraviolett 2 Maxima zeigen, das eine bei ca. 300 m μ ($\alpha, \beta, \gamma, \delta$ -doppelt ungesättigter Lactonring) und das andere bei ca. 240 m μ , wie es für die α, β -ungesättigte Ketongruppierung typisch ist. Bufotalienon gibt aber ein Ultraviolett-Absorptionsspektrum, das mit demjenigen von Bufotalien praktisch identisch ist. *Wieland* und *Behringer*⁵⁾ waren daher gezwungen anzunehmen, dass entweder das für die α, β -ungesättigte Ketongruppierung typische Maximum durch das sehr ausgesprochene von 300 m μ nicht in Erscheinung treten kann, oder dass infolge der stark ungesättigten Natur des Bufotalienons die Doppelbindung sich nicht wie üblich von C₄ nach C₅, sondern von C₅ nach C₆ ausbildet. Die erste Annahme erwies sich inzwischen, wie kürzlich am Beispiel des Telocinobufagins¹⁾ exakt bewiesen werden konnte, als Irrtum.



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



a) *H. Wieland* und *P. Weyland*, Sitzungsber. d. Bayr. Akad. d. Wiss. (math.-physikal. Klasse) **1920**, 329.

b) *H. Wieland* und *F. J. Weil*, B. **46**, 3315 (1913).

c) Vgl. exp. Teil dieser Arbeit.

d) *K. Meyer*, Pharm. acta Helv. **24**, 222 (1949).

e) *K. Meyer*, Helv. **29**, 718 (1946).

1) *H. Wieland* und *G. Hesse*, A. **517**, 22 (1935).

§) *H. Wieland* und *H. Behringer*, A. **549**, 209 (1941).

1b) *H. Wieland* und *R. Alles*, B. **55**, 1789 (1922).

1) *H. Wieland*, *G. Hesse* und *H. Meyer*, A. **493**, 272 (1932).

Vor kurzem sind *Fieser* und *Fieser*¹⁾ auf Grund der experimentellen Befunde von *Wieland* und Mitarbeitern sowie unter Berücksichtigung der Drehungsverschiebungen beim Übergang des Bufotalins in die Mono- bzw. Dianhydro-Verbindung zu einer andern Interpretation gekommen und schlugen für dieses bekannteste Bufogenin die hypothetische Formel VII vor.

Wie in der ersten Mitteilung^{a)} dieser Reihe berichtet wurde, konnte aus einem Extrakt aus Ch'an Su das *Wieland'sche* Bufotalin, allerdings nur als Mischkrystalliat mit Cinobufagin, isoliert werden. Nach Acetylierung des Gemisches liessen sich aber die Acetate dieser beiden Bufogenine glatt trennen, und ausserdem gelang es, nach Dehydrierung mit CrO_3 das Keton des Bufotalins in reiner Form zu gewinnen. Bufotalin-acetat und Bufotalon konnten mit den analogen Derivaten aus authentischem Bufotalin²⁾ verglichen werden und erwiesen sich nach Mischprobe, spez. Drehung, Analyse und Farb-reaktion mit konz. H_2SO_4 als völlig identisch mit diesen^{a)}. Mit dem so gewonnenen Bufotalin-acetat gelang es, den folgenden sicheren Konstitutionsbeweis durchzuführen.

Bufotalin-acetat (IX) wurde mit KMnO_4 in Aceton oxydiert und lieferte neben einem krystallisierten Neutralstoff eine krystallisierte Säure, die nach dem Umkrystallisieren bei 256—262° (unter Gelbfärbung und Zersetzung) schmolz. Bei der Methylierung mit Diazomethan gab sie einen Methylester, der sich nach Schmelzpunkt, Mischprobe, spez. Drehung, Analyse und Farb-reaktion mit konz. H_2SO_4 als identisch mit 3 β ,16-Diacetoxy-14-oxy-14-*iso*-ätiocholan-säure-methylester (XII) erwies, der zum erstenmal^{e)} durch Abbau von Gitoxigenin-diacetat erhalten worden war. Das krystallisierte Neutralprodukt des KMnO_4 -Abbaus schmolz unscharf bei 215—250° und dürfte noch unverändertes Ausgangsmaterial IX enthalten haben. Nach erneuter Oxydation liess sich neben etwas Säure XI ein scharf schmelzendes Neutralprodukt gewinnen, dem auf Grund der Analysenergebnisse und in Analogie zu den früheren Befunden beim Abbau des Bufalins, Telocinobufagins und Gamabufotalins die Konstitution eines 3 β ,16-Diacetoxy-14-oxy-14-*iso*-20-keto-preganan-21-säure-Lactons-(21 \rightarrow 14) (XIII) zukommen sollte. Diese Vermutung liess sich experimentell wie folgt beweisen: das Ketolacton XIII gab beim Behandeln mit H_2O_2 und KHCO_3 in wässrigem tert. Butanol ein rohes Säuregemisch, aus dem sich nach Methylieren und Acetylieren in mässiger Ausbeute der Ester XII gewinnen liess.

Aus diesen Abbauresultaten ergibt sich einwandfrei, dass Bufotalin-acetat die Strukturformel IX besitzt und mit Ausnahme des

¹⁾ *L. F. Fieser* und *M. Fieser*, „Natural Products Related to Phenanthrene“, 3^d ed., p. 568 (*Reinhold Pub. Corp.*, New-York 1949).

²⁾ Herrn Prof. *H. Wieland*, München, sei auch hier nochmals bestens für die Überlassung einer Substanzprobe seines Präparates von Bufotalin gedankt.

Lactonringes auch räumlich genau gleich gebaut ist wie Gitoxigenindiacetat.

Da Bufotalin eine Acetylverbindung ist, stellt sich nun noch die Frage, welche der 3 HO-Gruppen in VIII in acetylierter Form vorliegt. Eine eindeutige Entscheidung lässt sich auch hier treffen. Bufotalin gibt, wie oben ausgeführt, ein Monoketon, das durch Behandlung mit konz. HCl leicht unter Verlust von je einem Mol H₂O und Essigsäure in das im Kern doppelt ungesättigte Bufotalienon übergeht. Auf Grund der oben eindeutig bewiesenen Strukturformel IX für Bufotalin-acetat müssen diese beiden neuen Doppelbindungen im Bufotalienon an C₁₄—C₁₅ und C₁₆—C₁₇ liegen. Bufotalienon stimmt also — wenn man vom Lactonring absieht — vollständig mit dem Dianhydro-gitoxigenon überein. Daraus folgt, dass die 16-ständige HO-Gruppe im Bufotalin acetyliert sein muss. Bufotalin ist somit bis auf die Natur des Lactonringes genau gleich gebaut wie das pflanzliche digitaloide Aglykon Oleandrigenin¹⁾.

Da Acetylbufotalien (XV) zu Vergleichszwecken benötigt wurde (siehe weiter unten), wurde versucht, Bufotalin-acetat (IX) mit POCl₃ in Pyridin in XV überzuführen. Überraschenderweise erwies sich aber das dabei erhaltene Produkt als verschieden vom *Wieland*'schen Acetylbufotalien. Die Analyse zeigte deutlich, dass es sich dabei um das 14-Monoanhydro-bufotalin-acetat handelte, und da die Wasserabspaltung an C₁₄ mit POCl₃ in Pyridin bisher immer zu Δ^{14} -Steroiden führte, dürfte diesem Monoanhydroprodukt Formel X zukommen. XV liess sich dagegen durch 1 1/2-stündiges Erhitzen von IX in 3-proz. alkoholischer HCl und Nachacetylieren des Rohproduktes ohne besondere Schwierigkeiten gewinnen. Es stimmte nach Schmelzpunkt, spez. Drehung und Ultraviolett-Absorptionsspektrum sehr gut mit dem Acetylbufotalien von *Wieland* überein.

Nachdem nun die Konstitution des Bufotalins eindeutig bewiesen ist, lässt sich rückblickend manches, was an seinen Reaktionen ungeklärt geblieben ist oder zu falschen Auslegungen geführt hat, richtigstellen. Es sollen im folgenden nur die wichtigsten Umsetzungen erwähnt werden.

Bufotoxin. *Wieland* und *Alles*¹⁾ gelang es, aus dem vorsichtig getrockneten Sekret der europäischen Kröte den Paarling des Bufotalins mit Suberylarginin zu isolieren. Nach *Wieland* und *Behringer*²⁾ lässt sich Bufotoxin mit CrO₃ zu einem Keton, dem Bufotoxinon, dehydrieren. Auf Grund ihres Formelvorschlags II für Bufotalin folgerten sie, dass der Suberylargininrest mit der tertiären HO-Gruppe an C₁₄ verestert sein muss. Diese Annahme steht auch mit Formel VIII des Bufotalins in Einklang.

¹⁾ *W. Neumann*, B. **70**, 1547 (1937); *R. Tschesche*, B. **70**, 1554 (1937); *G. Hesse*, B. **70**, 2264 (1937).

Bufotalien. Beim Übergang von Bufotalin (VIII) in Bufotalien (XIV) wurde von *Wieland* und *Behringer*²⁾ eine sehr starke Verschiebung der spez. Drehung nach der positiven Seite hin beobachtet. Dieser Befund hat, wie erwähnt, *Fieser* und *Fieser* bewogen, Formel VII für Bufotalin vorzuschlagen. Es ist auf Grund der neuen Formel sehr gut verständlich, denn das hohe Drehungsvermögen ist geradezu typisch für Steroide mit doppelt ungesättigtem Ring D. Für Dianhydro-gitoxigenin fand *Kiliani*¹⁾ z. B. eine spez. Drehung von $[\alpha]_D = +454^{\circ}$ (in 95-proz. Alkohol) und das acetylierte Produkt zeigt nach *Cloëtta*²⁾ sogar $[\alpha]_D^{20} = +576^{\circ}$ (in Methanol)³⁾. — Das Ultraviolett-Absorptionsspektrum des Bufotaliens (XIV) besitzt besonderes Interesse. *Wieland* und Mitarbeiter²⁾ hatten, wie eingangs schon erwähnt, für die beiden Kerndoppelbindungen in XIV eine Konjugation zueinander als unwahrscheinlich angesehen, da Bufotalien — abgesehen von einer etwas höheren Extinktion — praktisch dasselbe Kurvenbild liefert wie Bufotalin (VIII). Eine erneute Aufnahme des Ultraviolett-Spektrums von Acetylbufotalien (XV) (siehe Kurve) gab in dieser Beziehung völlige Übereinstimmung mit *Wieland's* Befunden. Daraus folgt, dass das ganze gekreuzt-konjugierte System in XIV offenbar fast bei denselben Wellenlängen nur etwas stärker absorbiert wie in VIII der doppelt ungesättigte Lactonring allein.

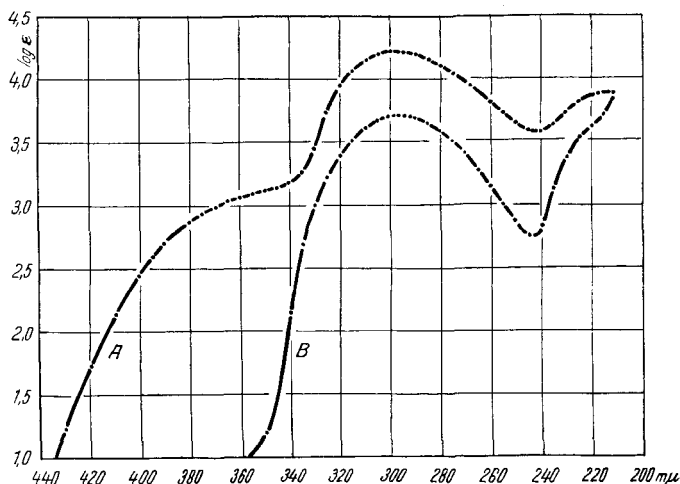


Fig. 1.

- A 16-Desacetyl-14,16-dianhydro-bufotalin-acetat (XV)
= Acetylbufotalien *Wieland* in Alkohol.
B 14-Monoanhydro-bufotalin-acetat (X) in Alkohol.

¹⁾ *H. Kiliani*, B. **53**, 240 (1920).

²⁾ *M. Cloëtta*, Arch. exp. Pathol. Pharmacol. **112**, 261 (1926).

³⁾ Vgl. hierzu auch *Ruzicka* und *Plattner* und Mitarbeiter, Helv. **29**, 727, 935 (1946); **30**, 385 (siehe hier besonders Fussnote 3 auf pag. 390), 395, 905, 1342; **31**, 249 (1948).

Oxy-isobufocholansäure und Isobufocholansäure. Die endgültige Formel für Bufotalin gestattet auch für die Konstitution der Oxy-isobufocholansäure¹⁾ und Isobufocholansäure¹⁾ begründete Vorschläge zu machen. Bei der katalytischen Hydrierung von Acetylbufotalin (XV) erhielten *Wieland* und Mitarbeiter¹⁾ neben einem krystallisierten Neutralstoff (α -Acetylbufotalan) eine krystallisierte Acetoxysäure der Formel $C_{26}H_{42}O_4$, die bei der Verseifung die Oxyisobufocholansäure ($C_{24}H_{40}O_3$) lieferte. Durch Wasserabspaltung und anschliessende Hydrierung wurde daraus die Isobufocholansäure (XVIII) erhalten. Auf Grund der nun gesicherten Formel für Bufotalin (XIV) und der in den letzten Jahren gemachten Beobachtungen²⁾ bei der Hydrierung von $\Delta^{14,16}$ -doppelt ungesättigten Steroiden dürfte es sich bei der Oxyisobufocholansäure höchst wahrscheinlich um eine 3β -Oxy-14-*iso*-17-*iso*-cholansäure entsprechend Formel XVI handeln und bei der Isobufocholansäure um eine 14-*iso*-17-*iso*-cholansäure (XVIII), wobei jedoch die Konfiguration an C_{20} als unbestimmt anzusehen ist.

α - und β -Oxy-bufotalan. Aus den gleichen Gründen sollten α - und β -Oxy-bufotalan die Formel XIX besitzen und sich lediglich durch Raumisomerie an C_{20} unterscheiden. Dagegen ist es kaum möglich, eine gut begründete Erklärung dafür zu erbringen, warum das α -Trioxo-bufotalan⁴⁾ bei der Dehydrierung mit CrO_3 nur ein Monoketon liefert.

Herrn Prof. *T. Reichstein* danke ich für sein dieser Arbeit entgegengebrachtes Interesse und seine Ratschläge.

Experimenteller Teil.

Alle Schmelzpunkte sind auf dem *Kofler*-Block bestimmt und korrigiert; Fehlergrenze bis 200° ca. $\pm 2^\circ$, darüber ca. $\pm 3^\circ$.

$3\beta, 16$ -Diacetoxy-14-oxy-14-*iso*-ätiolcholansäure-methylester (XII) aus IX.

600 mg Bufotalin-acetat (IX) vom Smp. 264 – 269° ⁵⁾ wurden in 30 cm^3 Aceton gelöst, mit 600 mg fein gepulvertem $KMnO_4$ versetzt und $6\frac{1}{2}$ Stunden auf der Maschine geschüttelt. Die Tüpfelprobe gab noch wenig unverbrauchtes $KMnO_4$. Es wurden hierauf noch 400 mg $KMnO_4$ zugegeben und noch weitere 14 Stunden geschüttelt. Nach dieser Zeit konnte noch wenig $KMnO_4$ nachgewiesen werden. Die Aufarbeitung geschah wie früher⁶⁾ und lieferte 330 mg saure und 260 mg neutrale Anteile.

¹⁾ Bei der Hydrierung des freien Bufotaliens erhielten *Wieland* und *Behringer*⁶⁾ ausser α -Oxy-bufotalan noch das voraussichtlich in 20-Stellung isomere β -Oxy-bufotalan.

²⁾ *K. Meyer*, *Helv.* **29**, 718, 1908 (1946).

³⁾ *Pl. A. Plattner*, *L. Ruzicka* und Mitarbeiter, *Helv.* **29**, 942 (1946); **30**, 385, 395 (1947).

⁴⁾ Vgl. *H. Wieland* und *H. Behringer*⁶⁾ besonders Seite 228.

⁵⁾ Durch mehrfaches Umkrystallisieren aus Aceton-Äther liess sich der Smp. bis auf 269 – 272° hinauftreiben.

⁶⁾ *K. Meyer*, *Helv.* **32**, 1238 (1949).

Die sauren Anteile gaben aus Aceton-Äther Krystalle, die nach 2maligem Umkrystallisieren aus denselben Lösungsmitteln 170 mg kurze, dicke Prismen vom Smp. 256—262° (Zersetzung und Gelbfärbung) lieferten (XI). Sie wurden mit wenig Methanol übergossen und mit überschüssiger ätherischer Diazomethanlösung 10 Minuten bei 20° stehen gelassen. Nach Verdampfen des Lösungsmittels wurde der rohe Methylester direkt chromatographisch an Al_2O_3 gereinigt. Die mit Benzol-Petroläther (1 : 1) und (3 : 1) und mit reinem Benzol eluierten Anteile (total ca. 160 mg) gaben nach 2maligem Umkrystallisieren aus Aceton-Äther 120 mg wasserklare, meist zu Drusen vereinigte Prismen vom Smp. 188—190°; $[\alpha]_{\text{D}}^{13} = -10,3^{\circ} \pm 1^{\circ}$ ($c = 2,5323$ in Chloroform)¹⁾ (Trocknung 1 Stunde im Hochvakuum bei 100°).

25,355 mg Subst. zu 1,0015 cm^3 ; $l = 1$ dm; $\alpha_{\text{D}}^{13} = -0,26^{\circ} \pm 0,02^{\circ}$

Die Mischprobe mit 3 β ,16-Diacetoxy-14-oxy-14-*iso*-ätiocolansäure-methylester (XII) aus Gitoxigenin-diacetat¹⁾ vom Smp. 188—190° schmolz genau gleich.

Zur Analyse wurde 2 Stunden im Hochvakuum bei 100° über P_2O_5 getrocknet.

3,166 mg Subst. gaben 7,71 mg CO_2 und 2,43 mg H_2O (*S.W.*)

$\text{C}_{25}\text{H}_{33}\text{O}_7$ (450,55) Ber. C 66,64 H 8,50% Gef. C 66,46 H 8,59%

Die Färbungen beider Ester mit konz. H_2SO_4 waren genau gleich: hellzitronengelb \rightarrow gelb (15 Minuten) \rightarrow grüngelb (3 Stunden) \rightarrow gelbgrün (3½ Stunden) \rightarrow grasgrün (4 Stunden) \rightarrow smaragdgrün (4½ Stunden).

Die Mutterlaugen der Säure XI wurden analog wie die Krystalle methyliert, im Vakuum zur Trockene gebracht und durch 48-stündiges Stehen bei 20° in 1,5 cm^3 absolutem Pyridin und 1,0 cm^3 Acetanhydrid nachacetyliert. Durch chromatographische Reinigung liessen sich 70 mg XII vom Smp. 187—189° gewinnen. Es wurden somit aus 600 mg IX total 190 mg analysenreiner Ester XII erhalten.

3 β ,16-Diacetoxy-14-oxy-20-keto-14-*iso*-pregnan-21-säure-Lacton-
(21 \rightarrow 14) (XIII).

Die 260 mg neutralen Anteile des Abbauproduktes (siehe oben) gaben aus Methanol 150 mg Krystalle vom Smp. 215—250°. Umkrystallisieren aus Aceton-Äther änderte den Schmelzpunkt nicht. Da das Produkt noch unverändertes Ausgangsmaterial IX enthalten haben dürfte, wurden 120 mg dieses krystallisierten Gemisches in 5 cm^3 Aceton gelöst, mit 100 mg fein gepulvertem KMnO_4 versetzt und 20 Stunden auf der Maschine geschüttelt. Die Aufarbeitung gab 40 mg saure und 60 mg neutrale Anteile. Die neutralen Anteile krystallisierten leicht und gaben nach 2maligem Umlösen aus Aceton-Äther kurze, dicke Prismen vom Smp. 238—241° (Sintern ab 232°); $[\alpha]_{\text{D}}^{15} = -48,4^{\circ} \pm 1^{\circ}$ ($c = 2,5606$ in Chloroform) (Trocknung 1 Stunde im Hochvakuum bei 100°).

25,645 mg Subst. zu 1,0015 cm^3 ; $l = 1$ dm; $\alpha_{\text{D}}^{15} = -1,24^{\circ} \pm 0,02^{\circ}$

Zur Analyse wurde 3 Stunden im Hochvakuum bei 100° über P_2O_5 getrocknet.

3,958 mg Subst. gaben 9,780 mg CO_2 und 2,730 mg H_2O (OAB)

$\text{C}_{25}\text{H}_{34}\text{O}_7$ (446,52) Ber. C 67,24 H 7,67% Gef. C 67,43 H 7,72%

Mit konz. H_2SO_4 zeigte das Ketolacton XIII die folgenden Färbungen: orange (während des Verreibens) \rightarrow rosa (2 Minuten) \rightarrow hellblutrot (10 Minuten) \rightarrow dunkelblutrot (30 Minuten) \rightarrow violettrot (70 Minuten) \rightarrow purpur (2½ Stunden).

3 β ,16-Diacetoxy-14-oxy-14-*iso*-ätiocolansäure-methylester (XII)
aus XIII.

40 mg Krystalle und krystallisierte Mutterlauge von XIII wurden in 10 cm^3 tert. Butylalkohol gelöst, mit 50 mg KHCO_3 in 1,5 cm^3 Wasser und 0,5 cm^3 30-proz. H_2O_2 versetzt und 40 Stunden bei 20° stehengelassen. Hierauf wurde im Vakuum bei ca. 30° auf etwa 1 cm^3 eingengt, mit verdünnter H_2SO_4 kongosauer gemacht und mit Chloro-

¹⁾ Früher^{a)} wurde $[\alpha]_{\text{D}}^{21} = -10,6^{\circ}$ (in Chloroform) gefunden.

form extrahiert. Der nach Verdampfen des Chloroforms verbleibende Rückstand wurde in Chloroform-Äther (1:4) gelöst und mit Na_2CO_3 -Lösung in saure (22 mg) und neutrale (18 mg) Anteile zerlegt. Die sauren Anteile wurden 10 Minuten mit überschüssiger ätherischer Diazomethanlösung stehen gelassen, im Vakuum zur Trockne gebracht, in $0,5 \text{ cm}^3$ absolutem Pyridin und $0,3 \text{ cm}^3$ Acetanhydrid 48 Stunden bei 20° stehengelassen und nach üblicher Aufarbeitung an $1,0 \text{ g Al}_2\text{O}_3$ chromatographiert. Benzol-Petroläther (1:1) und (3:1) und reines Benzol eluierten ca. 10 mg kristallisierte Substanz, die nach 2maligem Umkristallisieren aus Äther 6 mg Prismen vom Smp. $188-190^\circ$ gab. Die Mischprobe mit dem oben beschriebenen Präparat von XII gab keine Depression. Die späteren Eluate mit Benzol-Chloroform (9:1), (4:1) und (1:1) gaben ca. 10 mg öliges Material.

14-Monoanhydro-bufotalin-acetat (X).

60 mg Bufotalin-acetat (Smp. $262-269^\circ$) wurden in $0,7 \text{ cm}^3$ Pyridin gelöst, mit $0,34 \text{ cm}^3$ reinstem POCl_3 und ca. 20 mg H_2O 16 Stunden bei 18° stehen gelassen. Das Reaktionsgemisch färbte sich dabei tiefgelb, und es hatten sich reichlich Krystalle abgeschieden. Eindampfen im Vakuum, Versetzen mit Wasser, Aufnehmen in Äther-Chloroform (4:1), Neutralwaschen mit verdünnter HCl, verdünnter Sodalösung und Wasser, Trocknen über Na_2SO_4 und Eindampfen gab ca. 50 mg gelbbraun gefärbtes Material, das an $2 \text{ g Al}_2\text{O}_3$ chromatographiert wurde. Benzol-Petroläther (1:1), (3:1) und reines Benzol eluierten ca. 40 mg leicht gelb gefärbte Substanz, die aus Aceton-Äther in flachen, farblosen Nadeln vom Smp. $206-208^\circ$ (Sintern bei 204°) kristallisierte; $[\alpha]_{\text{D}}^{17} = +148,0^\circ \pm 1^\circ$ ($c = 1,993$ in Chloroform) (Trocknung 1 Stunde im Hochvakuum bei 60°).

19,960 mg Subst. zu $1,0015 \text{ cm}^3$; $l = 1 \text{ dm}$; $\alpha_{\text{D}}^{17} = +2,95^\circ \pm 0,02^\circ$

Zur Analyse wurde 3 Stunden im Hochvakuum bei 60° über P_2O_5 getrocknet.

3,650 mg Subst. gaben 9,62 mg CO_2 und 2,58 mg H_2O (S.W.)

$\text{C}_{28}\text{H}_{38}\text{O}_6$ (468,57) Ber. C 71,77 H 7,74% Gef. C 71,92 H 7,91%

$\text{C}_{26}\text{H}_{32}\text{O}_4$ (408,52) Ber. „ 76,44 „ 7,90%

Das Ultraviolett-Absorptionsspektrum ist im theoretischen Teil wiedergegeben.

16-Desacetyl-14,16-dianhydro-bufotalin-acetat (XV) = Acetylbufotalien *Wieland*.

100 mg Bufotalin-acetat (Smp. $262-269^\circ$) wurden in $3,0 \text{ cm}^3$ 3-proz. alkoholischer HCl $1\frac{1}{2}$ Stunden auf dem Wasserbad gekocht. Eindampfen im Vakuum, Neutralwaschen in Äther-Chloroform (4:1) und Verdampfen gab ca. 70 mg gelbbraunen Rückstand, der nach dem Trocknen im Vakuum in $1,0 \text{ cm}^3$ Pyridin und $0,7 \text{ cm}^3$ Acetanhydrid während zwei Stunden bei $60-70^\circ$ nachacetyliert wurde. Nach üblicher Aufarbeitung wurde das rohe Acetat direkt an $2,5 \text{ g Al}_2\text{O}_3$ chromatographiert. Benzol-Petroläther (1:1), (3:1) und reines Benzol eluierten total ca. 70 mg Substanz, die stark gelb gefärbt war. Aus Aceton auf Zusatz von peroxydfreiem Äther gelb gefärbte, flache Nadeln, die nach zweimaligem Umlösen aus Methanol rein hellzitronengelb gefärbt waren. Smp. $191-193^\circ$; $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = +382,8^\circ \pm 1^\circ$ ($c = 1,8183$ in Chloroform) (Trocknung 1 Stunde im Hochvakuum bei 70°)¹.

18,210 mg Subst. zu $1,0015 \text{ cm}^3$; $l = 1 \text{ dm}$; $\alpha_{\text{D}}^{20} = +6,96^\circ \pm 0,02^\circ$

Eine im Hochvakuum bei ca. 140° sublimierte Probe von XV zeigte das im theoretischen Teil reproduzierte Absorptionsspektrum.

Die Mikroanalysen wurden teils bei Frau Dr. *M. Sobotka* und Herrn Dr. *E. Wiesenberg* (S. W.) in Graz, teils im mikroanalytischen Laboratorium der Organisch-chemischen Anstalt der Universität Basel (Leitung *E. Thommen*) (OAB) ausgeführt. Die beiden UV-Absorptionsspektren hat Herr cand. chem. *P. Zoller* (OAB) aufgenommen.

¹) *Wieland* und *Alles*^h) fanden für dieses Produkt den Smp. 184° (unkorr.) und $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = +366,3^\circ$ (in Chloroform)^g).

Zusammenfassung.

Bufotalin-acetat gab beim Abbau mit KMnO_4 3 β ,16-Diacetoxy-14-oxy-14-*iso*-ätiocholansäure. Damit ist die Konstitution und Konfiguration des Bufotalin-acetates bewiesen und gezeigt, dass dieses bis auf die Natur des Lactonringes auch räumlich genau gleich gebaut ist wie Gitoxigenin-diacetat. Das freie Bufotalin entspricht — mit Ausnahme des Lactonringes — dem digitaloiden Aglykon Oleandrigenin = 16-Acetoxy-gitoxigenin. Das bei der oben genannten Oxydation erhaltene krystallisierte, neutrale Nebenprodukt besitzt die Konstitution des 3 β ,16-Diacetoxy-14-oxy-14-*iso*-20-keto-pregnan-21-säure-Lactons-(21 \rightarrow 14).

Pharmazeutische Anstalt der Universität Basel.

267. Die Konfiguration der optisch aktiven β -Methoxy-adipinsäuren und des Calciferols. Vorläufige Mitteilung. Steroide.

4. Mitteilung ¹⁾

von A. Lardon und T. Reichstein.

(2. IX. 49.)

Calciferol-methyläther liefert beim oxydativen Abbau linksdrehende β -Methoxy-adipinsäure²⁾¹⁾). Um seine Konfiguration am C-3 an das in der Zuckerreihe gebräuchliche System anzuschliessen, war es nötig, die Konfiguration der optisch aktiven β -Methoxy-adipinsäure in eindeutiger Weise mit einem Stoff bekannter Konfiguration zu verknüpfen. Wir wählten die Synthese ausgehend von optisch aktiver L-Äpfelsäure (I)³⁾, deren Konfiguration nach *Freudenberg* und *Brauns*⁴⁾ bewiesen ist. Sie wurde in L-Methoxy-bernsteinsäure-dimethylester⁵⁾ übergeführt. Dieser lieferte mit LiAlH_4 ⁶⁾ das Glykol III. Die Ausbeute war sehr gut, aber die Trennung von den relativ grossen Mengen Al-Hydroxyd mühsam, so dass es sich als vorteilhaft erwies, das Glykol als Acetat IV abzutrennen und dies wieder zu

¹⁾ 3. Mitteilung, *S. Bergström*, *A. Lardon* und *T. Reichstein*, *Helv.* **32**, 1617 (1949).

²⁾ *S. Bergström*, *Helv.* **32**, 3 (1949).

³⁾ Wir danken Herrn Prof. *H. Rupe*, Basel, für die Überlassung von 25 g L-Äpfelsäure.

⁴⁾ *K. Freudenberg* und *F. Brauns*, *B.* **55**, 1340 (1922). Weitere Literatur vgl. *Beilsteins* Handbuch der Organ. Chemie, vierte Aufl., 2. Erg. III, 276.

⁵⁾ *T. Purdie* und *G. B. Neave*, *Soc.* **97**, 1517 (1910).

⁶⁾ *A. E. Finholt*, *A. C. Bond*, jun. und *H. J. Schlesinger*, *Am. Soc.* **69**, 1199 (1947); *R. F. Nystrom* und *W. G. Brown*, *Am. Soc.* **69**, 1197, 2549 (1947); *J. A. Krynitzky*, *J. E. Johnson* und *H. W. Carhart*, *Am. Soc.* **70**, 486 (1948).