

*Phényl-1-cyclopentane-carboxylate d'éthyle* [XXXI, n = 2]. Nous avons utilisé le procédé de VAN HEYNINGEN<sup>7)</sup>; Eb. 142–144°/10 Torr, n<sub>20</sub> = 1,5145, rdt. 90%.

*Phényl-1-cyclopropane-carboxylate d'éthyle* [XXXI, n = 0]. Il a été préparé par un procédé analogue; Eb. 117–118°/11 Torr (KONDO<sup>8)</sup>, Eb. 129–133°/21 Torr), n<sub>23</sub> = 1,5085, rdt. 66%.

(*Phényl-1'-cyclopentyl-1'-méthanol* [XXXII, tab. 3] et (*phényl-1'-cyclopropyl-1'-méthanol* [XXXIV, tab. 3]). Synthétisés par réduction des esters correspondants par le butylate sodique.

Les carbamates correspondants [XXXIII et XXXV, tab. 3] ont été préparés par la méthode A décrite antérieurement<sup>1a)</sup>.

#### RÉSUMÉ

La synthèse de trois séries de dérivés du (propyn-2'-yl-1')-1-cyclohexanol-1 (A) est décrite et leur activité hypnotique déterminée.

Laboratoires de Recherches LABAZ

Directeur: Dr G. DELTOUR

Bruxelles 12

<sup>7)</sup> E. VAN HEYNINGEN, J. Amer. chem. Soc. **74**, 4861 (1952).

<sup>8)</sup> H. KONDO, T. NOZOME & H. TSUKAMOTO, Ann. Rep. ITSUU Lab. (Japan) **6**, 53 (1955); Chem. Abstr. **50**, 10110 (1956).

## 259. Die Bufogenine des Paratoidensekretes von *Bufo arenarum* HENSEL<sup>1)</sup>

Über Krötengifte, 20. Mitteilung<sup>2)</sup>

von R. REES, O. SCHINDLER, V. DEULOFEU und T. REICHSTEIN

(17. IX. 59)

Aus dem Sekret der in Argentinien lebenden Kröte *Bufo arenarum* HENSEL haben CHEN, JENSEN & CHEN<sup>3)</sup> sowie JENSEN<sup>4)</sup> Kristalle isoliert, die sie als Arenobufagin bezeichneten. Wenig später haben DEULOFEU<sup>5)</sup>, DUPRAT<sup>6)</sup>, sowie DEULOFEU und Mitarb.<sup>7)</sup> über die Isolierung von Kristallen aus gleichem Material berichtet. Kurz darauf beschrieben WIELAND & BEHRINGER<sup>8)</sup> die Gewinnung von Kristallen aus analogem Sekret, die sie Arenobufagin nannten. Da es sich als unmöglich erwies, festzustellen, ob alle oben erwähnten Präparate im wesentlichen dasselbe Genin enthielten<sup>9)</sup>, haben SCHRÖTER und Mitarb.<sup>10)</sup> kürzlich vorgeschlagen, das Original-

<sup>1)</sup> Auszug aus Diss. R. REES, Basel 1959.

<sup>2)</sup> 19. Mitteilung: M. BHARUCHA, H. JÄGER, K. MEYER, T. REICHSTEIN & O. SCHINDLER, Helv. **42**, 1395 (1959).

<sup>3)</sup> K. K. CHEN, H. JENSEN & A. L. CHEN, J. Pharmacol. & exp. Therap. **49**, 1 (1933).

<sup>4)</sup> H. JENSEN, J. Amer. chem. Soc. **57**, 1765 (1935).

<sup>5)</sup> V. DEULOFEU, Bol. soc. quim. Peru **6** (Nr. 3), 27 (1940); Chem. Abstr. **35**, 1427 (1941).

<sup>6)</sup> E. DUPRAT, Thesis Facultad de Ciencias Exact. Fis. Nat. Buenos Aires 1941.

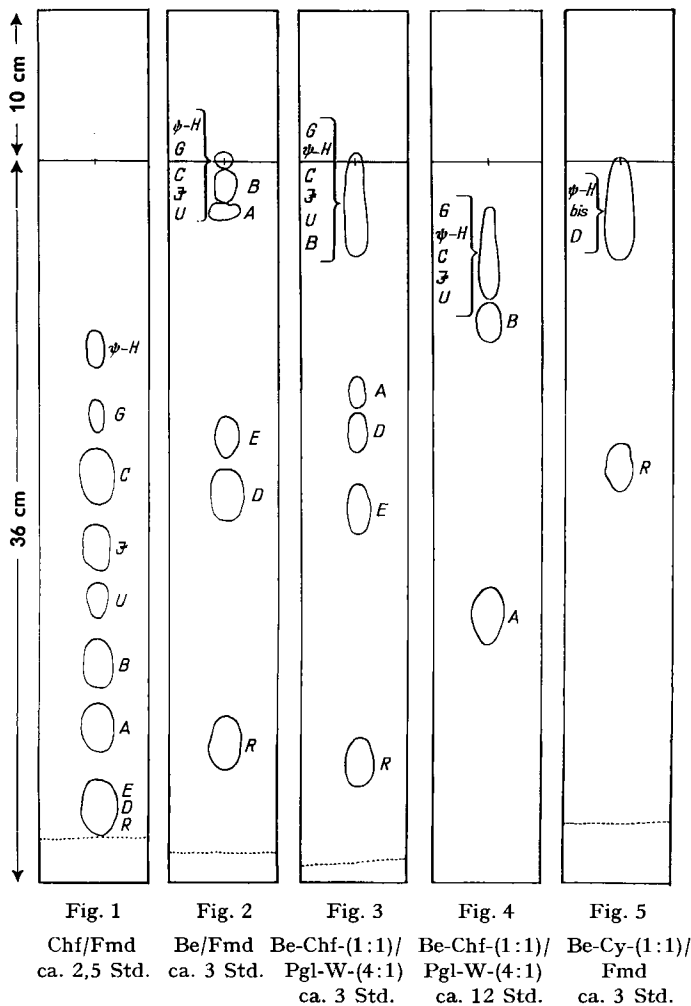
<sup>7)</sup> V. DEULOFEU, E. DUPRAT & R. LABRIOLA, Nature **145**, 671 (1940).

<sup>8)</sup> H. WIELAND & H. BEHRINGER, Liebigs Ann. Chem. **549**, 209 (1941), bes. S. 234.

<sup>9)</sup> Ohne chromatographische oder ähnliche Methoden ist es sehr schwer, einheitliche Bufogenine aus Gemischen zu isolieren. Zur Reinheitskontrolle ist das Paperchromatogramm besonders wertvoll. Diese Methode war zur Zeit der Isolierung der früheren Präparate kaum bekannt.

<sup>10)</sup> H. SCHRÖTER, CH. TAMM, T. REICHSTEIN & V. DEULOFEU, Helv. **41**, 140 (1958).

präparat von DEULOFEU<sup>5)</sup> (das mit demjenigen von DUPRAT<sup>6)</sup> übereinstimmt) als Arenobufagin zu bezeichnen und als Vergleichssubstanz zu benutzen. Es war das einzige der alten Präparate, das zur Verfügung stand. Nach Papierchromatogramm war es weitgehend einheitlich und enthielt nur eine geringe Menge einer langsamer laufenden Verunreinigung<sup>11)</sup>. Dieselben Autoren stellten ferner fest, dass das Sekret



von *Bufo arenarum* ausser Arenobufagin noch andere Bufogenine enthält, die in Papierchromatogrammen Laufstrecken zeigten wie Marinobufagin, Bufotalinin, Telocinobufagin, Bufotalidin = Hellebrigenin und Gamabufotalin.

<sup>11)</sup> Die Angabe bei SCHRÖTER *et al.*<sup>10)</sup>, Fussnote 29a, dass diese Verunreinigung, die wir jetzt als Bufarenogin (= ψ-H) bezeichnen, im Chf/Fmd-System langsamer laufe als Gamabufotalin, beruht auf einem Irrtum.

Es interessierte uns, dieses provisorische Resultat auch durch eine präparative Trennung sicherzustellen. Wir beschreiben im folgenden eine solche Trennung, die in allen Stufen papierchromatographisch kontrolliert wurde.

Insgesamt standen uns 42,36 g trockenes Sekret zur Verfügung, das aus ca. 600 Tieren stammte. Davon wurden 20,8 g für die Untersuchung eingesetzt. Zur Vor-

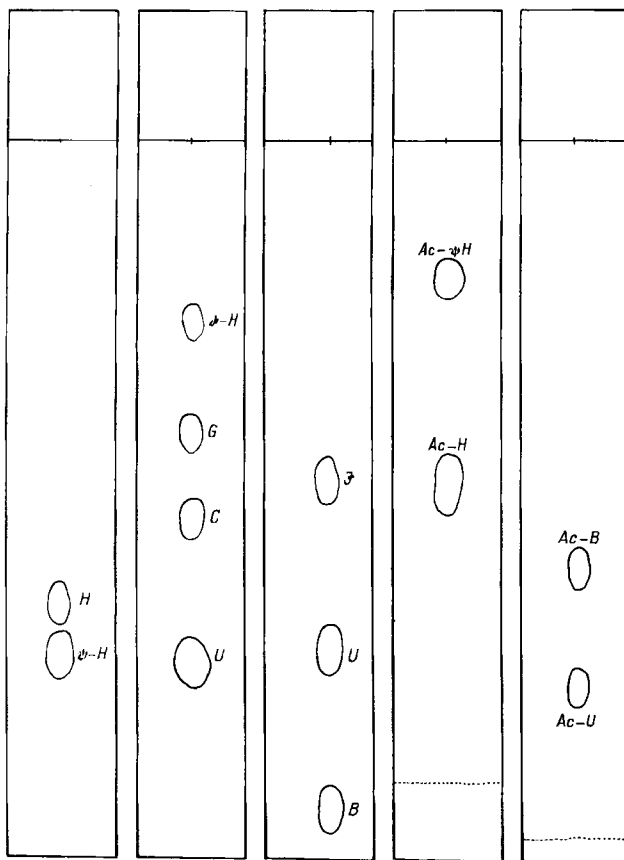


Fig. 6 Chf/Fmd ca. 7 Std.  
 Fig. 7 Chf/Fmd ca. 4 Std.  
 Fig. 8 Be-Chf-(7:5)/Fmd ca. 15 Std.  
 Fig. 9 Be-Cy-(1:1)/Fmd ca. 3 Std.  
 Fig. 10 Be/Fmd ca. 3 Std.  
 präp. Trog. 2,5 Std. präp. Trog. 6 Std.

trennung diente eine grobe Verteilungschromatographie<sup>12)</sup> an Kieselgur mit Wasser als ruhender Phase. Die mit Chloroform eluierbaren Anteile (3,80 g; 18,3%) enthielten die Sterine und Bufogenine. Mit Chloroform-Butanol-(1:1) liessen sich noch 1,57 g (7,55%) Material eluieren, das die Toxine enthielt. Bisher wurden nur die Bufogenine untersucht.

<sup>12)</sup> H. R. URSCHELER, CH. TAMM & T. REICHSTEIN, Helv. **38**, 883 (1955).

*Untersuchung der Bufogenine.* Im genannten Chloroformextrakt liessen sich (teilweise erst nach präparativer Vorreinigung) durch Papierchromatographie in 5 Systemen (Fig. 1–8) insgesamt 10 Bufogenine nachweisen. Sie wurden zunächst mit den Buchstaben R, D, E, A, B, U, J, C, G und  $\psi$ -H bezeichnet<sup>13)</sup>. Zur Erkennung diente dabei die direkte Photokopie im gefilterten UV.-Licht<sup>14)</sup>, sowie anschliessendes Spritzen mit  $SbCl_3$ -Lösung<sup>15)16)17)</sup>. Die beim Erhitzen mit  $SbCl_3$  entstehenden Färbungen (vgl. Tab. 1) erlauben teilweise eine zusätzliche Differenzierung. Durch die im folgenden beschriebenen Trennungen liessen sich alle 10 Stoffe in einheitlichen Kristallen isolieren (vgl. Tab. 3). Acht davon (R, D, E, A, B, J, C und G) liessen sich mit bekannten Geninen identifizieren (vgl. Tab. 3). Die zwei weiteren (U und  $\psi$ -H) stellen neue Stoffe dar, die wir als Argentinogenin (U) und Bufarenogin ( $\psi$ -H) bezeichnen.

*Ausführung der Trennung.* Das Gemisch (3,80 g) wurde zunächst an  $Al_2O_3$  chromatographiert, worauf sich etwas Material abtrennen liess, das im UV. bei 300 m $\mu$  keine starke Absorption zeigte. Aus den ersten Fraktionen liessen sich ca. 40 mg Kristalle (vermutlich Steringemisch) isolieren, die nicht weiter untersucht wurden. Von den Bufogeninen liessen sich D und E in einheitlichen Kristallen gewinnen. Alle übrigen Fraktionen waren Gemische. Sie wurden nach dem Ergebnis der papierchromatographischen Prüfung in drei Gruppen zusammengefasst (vgl. Tab. 4).

*Erläuterungen zu den Figuren 1–10.* Die Fig. 1–10 stellen schematisierte, aber massgetreue Beispiele von Papierchromatogrammen dar. Davon betreffen Fig. 1–8 freie Genine und Fig. 9–10 O-Acetylderivate. Ausführung wie früher beschrieben<sup>12)14)17)</sup>, aber mit verfeinerten

Tabelle 1. Färbungen der Flecke mit  $SbCl_3$  nach Erhitzen<sup>15)16)17)</sup>

Stoff	Tageslicht	UV.-Licht
R Resibufogenin	hell violett	grauviolett
D Bufalin	blassgelb-grünblau	schwach orangebraun
E Marinobufagin	graubraun-violett	gelborange
A Bufotalinin	orange-gelbgrün	gelb
B Telocinobufagin	violett	violett
U Argentinogenin	farblos	farblos
J Arenobufagin	farblos	farblos
C Hellebrigenin	orange-grüngelb	gelb
G Hellebrigenol	braungelb	braungelb
$\psi$ -H Bufarenogin	farblos-blaugrau	farblos-gelbbraun
H Gamabufotalin	gelb-blau	gelbbraun
Ac-B O-Acetyl-telo-	violett	schwarz-violett
Ac- $\psi$ -H O-Acetyl-bufareno-	farblos	farblos
Ac-J O-Acetyl-areno-	farblos	farblos
Ac-U O-Acetyl-argentino-	schwach graungelb	gelb
Ac-H O-Acetyl-gama-	blaugrau	schwach gelbbraun

<sup>13)</sup> Die Reihenfolge entspricht abnehmender Laufstrecke im System von Fig. 1.

<sup>14)</sup> R. BERNASCONI, H. P. SIGG & T. REICHSTEIN, *Helv.* **38**, 1767 (1955).

<sup>15)</sup> R. NEHER & A. WETTSTEIN, *Helv.* **34**, 2278 (1951).

<sup>16)</sup> D. LAWDAY, *Nature* **170**, 415 (1952).

<sup>17)</sup> R. BOLLIGER & K. MEYER, *Helv.* **40**, 1659 (1957).

Systemen<sup>18)</sup>. Bedeutung der Buchstabenbezeichnungen vgl. Tab. 1. Bei den Systemen ist das *vor* dem schrägen Strich stehende Lösungsmittel<sup>20)</sup> oder Gemisch die bewegliche, das *nach* dem schrägen Strich stehende die ruhende Phase. Bei krist. Einzelstoffen wurden jeweils 0,05 mg aufgetragen, bei Gemischen etwas mehr, bei amorphen Fraktionen etwa 0,2 mg. Bei Identifizierungen wurden die zu vergleichenden Proben jeweils auf demselben Papier nebeneinander laufen gelassen.

Tabelle 2. Färbungen mit  $H_2SO_4$  auf weisser Porzellanplatte

Zeit	Arenobufagin (I)	Argentinogenin (VII)	Bufarenogin (III)
mit 84-proz. $H_2SO_4$			
0'	blass gelb	blass gelb	farblos
5-15'	ocker	ocker	blass gelb
30'	ocker	schmutzig gelb	blass gelb
60'	schmutzig gelb	blass grau	farblos
2-3 Std.	braungrau	farblos	farblos
mit konz. $H_2SO_4$			
0'	schmutzig gelb	grüngelb	farblos
5-15'	gelborange	gelborange	gelb
30'	grüngelb	hellgrün	rötlich gelb
60'	grüngelb	hellgrün	rötlich gelb
2-3 Std.	grün	braungrau	braungrau
	Di-O-acetyl- arenobufagin (II)	Di-O-acetyl- argentinogenin (VIII)	Di-O-acetyl- bufarenogin (IV)
mit 84-proz. $H_2SO_4$			
0'	farblos	grünbraun	farblos
1-5'	blassgelb	gelbbraun	blass gelb
15-30'	hell gelbbraun	gelbbraun	blass gelb
60'	gelb mit Grünstich	braun	farblos
2-3 Std.	farblos	dunkelgrün	farblos
mit konz. $H_2SO_4$			
0'	schmutzig gelb	braungelb	farblos
5'	gelborange	grünbraun	farblos
15'	gelborange	graugrün	hellgrün
30'	grüngelb	schmutzig grün	farblos
60'	grüngelb	schmutzig grün	farblos
2-3 Std.	grün	grau	farblos

*Trennung der Gruppe I.* Zweimalige Wiederholung der Chromatographie an  $Al_2O_3$  lieferte R, D und E in reiner kristallisierter Form. Dabei wurde noch 240 mg Material (letzte Fraktionen) erhalten, das die Flecke E, J und  $\psi$ -H zeigte; es wurde mit Gruppe II vereinigt.

<sup>18)</sup> Schwer trennbare Stoffe werden in der Regel am besten in Systemen getrennt, in denen sie nur eine geringe Laufgeschwindigkeit zeigen, wobei entsprechend lang chromatographiert werden muss<sup>19)</sup>.

<sup>19)</sup> F. H. CARPENTER & G. P. HESS, J. Amer. chem. Soc. **78**, 3351 (1956), vgl. auch O. RENKONEN, O. SCHINDLER & T. REICHSTEIN, Helv. **42**, 182 (1959).

<sup>20)</sup> Abkürzungen für Lösungsmittel vgl. Einleitung zum Exper. Teil.

*Trennung der Gruppe II.* Dies Material, das 6 Bufogenine enthielt, wurde zunächst durch Verteilungschromatographie<sup>29)</sup> in 121 Fraktionen aufgetrennt (vgl. Tab. 10 im Exp. Teil). Dazu diente Propylenglykol-Wasser-(4:1) als ruhende Phase

Tabelle 3. Die zehn aus dem Sekret von *Bufo arenarum* isolierten Bufogenine sowie Gamabufotalin (H) zum Vergleich

Buchstabenbezeichnung	Identifizierung bzw. neuer Name	Smp.		[ $\alpha$ ] <sub>D</sub>	
		nach Lit.	hier gefunden	nach Lit.	hier gefunden
R	Resibufogenin	85–169° <sup>21)</sup>	90–120°	– 5,4 Chf <sup>22)</sup>	– 6,1 Chf
	O-Acetyl- „	218–230° <sup>22)</sup>	220–234°	– 1,1 Chf <sup>22)</sup>	– 1,5 Chf
D	Bufalin	244–248° <sup>23)</sup>	242–244°	– 8,7 Chf <sup>23)</sup>	– 8,5 Chf
	O-Acetyl- „	230–247° <sup>23)</sup>	240–243°	– 6,0 Chf <sup>23)</sup>	– 6,5 Chf
E	Marinobufagin	224–225° <sup>24)</sup>	220–224°	+ 10,0 Chf <sup>24)</sup>	+ 10,1 Chf
	O-Acetyl- „	194–220° <sup>24)</sup>	196–224°	+ 25,7 Chf <sup>24)</sup>	+ 23,7 Chf
A	Bufotalinin	195–201° <sup>12)</sup>	200–220°	+ 19,2 Chf <sup>12)</sup>	+ 18,8 Chf
	O-Acetyl- „	235–243° <sup>12)</sup>	246–254°	+ 30,6 Chf <sup>12)</sup>	+ 29,4 Chf
B	Telocinobufagin	160–175°/ 210–211° <sup>23)</sup>	210–212°	+ 4,4 Chf <sup>23)</sup>	+ 4,9 Chf
	O-Acetyl- „	270–278° <sup>23)</sup>	270–278°	+ 22,9 Chf <sup>23)</sup>	+ 23,6 Chf
U Ac-U	Argentinogenin Di-O-acetyl- „	neu —	227–230° amorph	— —	– 20,6 Chf nicht bestimmt
J	Arenobufagin	231–233° <sup>5)7)</sup>	218–224°	+ 53,0 Me <sup>21)</sup>	+ 69,2 Chf + 54,5 Me
Ac-J	Di-O-acetyl- „	246–248° <sup>6)</sup>	230–240°	—	+ 40,4 Chf
C	Bufotalidin = Hellebrigenin	150/237° <sup>25)</sup>	234–236°	+ 18,0 An <sup>25)</sup>	+ 16,6 An
	O-Acetyl- „	242–247° <sup>25)</sup>	248–251°	+ 33,7 Chf <sup>25)</sup>	+ 32,6 Chf
G	Hellebrigenol	146–153° <sup>26)</sup>	158–165°/ 240–245°	+ 5,3 Me <sup>26)</sup>	nicht bestimmt
	Di-O-acetyl- „	126–129° <sup>25)</sup>	nicht krist.	+ 36,3 Chf <sup>25)</sup>	nicht bestimmt
$\psi$ -H Ac- $\psi$ H	Bufarenogin Di-O-acetyl- „	neu neu	230–233° 288–290°	— —	+ 11,3 Me + 25,7 Chf
H Ac-H	Gamabufotalin Di-O-acetyl- „	254–260° <sup>27)</sup> 257–259° <sup>27)</sup>	— —	+ 1,3 Me <sup>27)</sup> – 13,0 Me <sup>27)</sup> – 11,4 Chf <sup>27)</sup>	

<sup>21)</sup> H. LINDE & K. MEYER, *Pharmac. Acta Helv.* **33**, 327 (1958).

<sup>22)</sup> K. MEYER, *Helv.* **35**, 2444 (1952).

<sup>23)</sup> K. MEYER, *Pharmac. Acta Helv.* **24**, 222 (1949); *Helv.* **32**, 1238 (1949).

<sup>24)</sup> K. MEYER, *Helv.* **34**, 2147 (1951).

<sup>25)</sup> J. SCHMUTZ, *Helv.* **32**, 1442 (1949).

<sup>26)</sup> A. KATZ, *Helv.* **40**, 831 (1957).

<sup>27)</sup> J. P. RUCKSTUHL & K. MEYER, *Helv.* **40**, 1270 (1957).

<sup>28)</sup> In Klammern = Schwache Flecke.

<sup>29)</sup> Ausführung nach H. HEGEDÜS, CH. TAMM & T. REICHSTEIN, *Helv.* **36**, 357 (1953).

und Benzol-Chloroform-Gemische (von (1:1) auf (4:1) steigend), dann reines Chloroform als bewegliche Phase<sup>30)</sup>.

Die Verteilungschromatographie erlaubte, die Genine E, B und  $\psi$ -H in reiner krist. Form zu gewinnen. Ferner wurden Mischungen von jeweils 2–3 Komponenten erhalten, die wir in 4 Untergruppen zusammenfassten (vgl. Tab. 5). Von diesen wurden IIb und IIc nicht getrennt. Aus Untergruppe IIa liessen sich nach Chromatographie an  $\text{Al}_2\text{O}_3$  die Genine E und A in Kristallen gewinnen. Die Trennung von

Tabelle 4. Unterteilung der Geningemische in drei Gruppen<sup>30) 28)</sup>

Gruppe	Vorhandene Menge aus 3,80 g Chf-Extr.	Flecke im Pchr	Zum Nachweis verwendetes System
I	910 mg	R, D, E	Fig. 2 und 5
II	1530 mg + 240 mg aus Trennung von Gruppe I	E, A, B, U, J, $\psi$ -H	Fig. 1 und 3
III	370 mg	U, C, G, ( $\psi$ -H)	Fig. 7

Tabelle 5. Aus Gruppe II abgetrennte Untergruppen

Gruppe	Menge	Flecke im Pchr	Weitere Verarbeitung
IIa	208 mg	E, A	Chromatogr. an $\text{Al}_2\text{O}_3$
IIb	114 mg	E, A, B	nicht getrennt
IIc	637 mg	B, U, J	Präparative Pchr
IId	41 mg	J, $\psi$ -H	nicht getrennt

Untergruppe IIc erfolgte durch präparative Papierchromatographie<sup>31)</sup> im System von Fig. 8, das die Stoffe B, U und J sehr gut trennt. B und J konnten aus den entsprechenden Eluaten direkt, U nach chromatographischer Reinigung an  $\text{Al}_2\text{O}_3$  kristallisiert werden.

*Trennung der Gruppe III.* Dies Material wurde ebenfalls durch präparative Papierchromatographie getrennt, wobei wir das System von Fig. 7 benützten. Auf die Eluierung der  $\psi$ -H-Zonen wurde verzichtet, da nur wenig dieses Stoffes vorhanden war. Die drei anderen Genine (U, C und G) wurden nach Reinigung an  $\text{Al}_2\text{O}_3$  in Kristallen isoliert.

In Tab. 6 sind die Ausbeuten an den 10 genannten Geninen zusammengestellt. Ausserdem wird eine Schätzung<sup>32)</sup> der wirklich im Sekret nach Kontakt an  $\text{Al}_2\text{O}_3$  vorhandenen Menge gegeben<sup>33)</sup>.

<sup>30)</sup> Dieses System hat sich früher<sup>12)</sup> als günstig erwiesen. Es ist auch leichter, die erhaltenen Eluate von Propylenglykol zu befreien als von Formamid, das bei Verwendung dieses Stoffes als ruhender Phase in die Eluate gelangt.

<sup>31)</sup> E. VON ARX & R. NEHER, *Helv.* **39**, 1664 (1956).

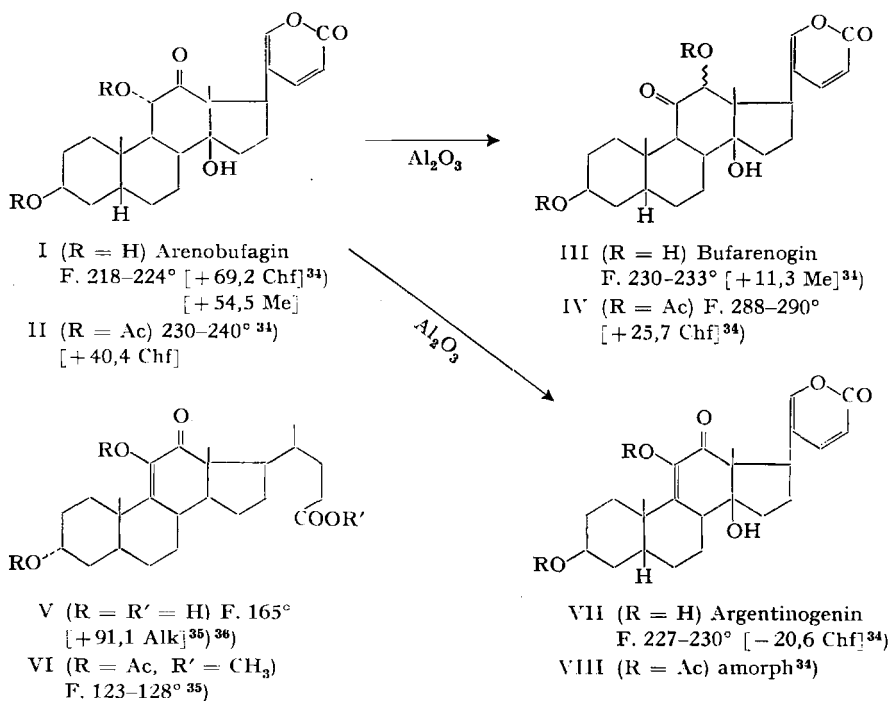
<sup>32)</sup> Es handelt sich um eine grobe Schätzung, wobei neben den erhaltenen Mengen auch die Kristallisierbarkeit sowie die Grösse der Flecke im Papierchromatogramm berücksichtigt sind. Ferner auch nicht getrennte Mischfraktionen.

<sup>33)</sup> Arenobufagin wird an  $\text{Al}_2\text{O}_3$  teilweise in Argentinogenin und Bufarenogenin übergeführt (siehe unten). Im ursprünglichen Sekret war daher sicher mehr Arenobufagin und weniger Argentinogenin sowie Bufarenogenin vorhanden.

Die Identifizierung der bekannten Genine erfolgte durch Smp., Drehung, Mischprobe, Papierchromatogramm und Farbreaktionen mit  $\text{SbCl}_3$  auf Papier sowie 84-proz.  $\text{H}_2\text{SO}_4$  auf Tüpfelplatte. Ferner wurden in allen Fällen auch die O-Acetyl-Verbindungen hergestellt und mit authentischem Material verglichen. Die Übereinstimmung der physikalischen Daten ist aus Tab. 3 ersichtlich.

Im folgenden werden noch die zwei neuen Genine kurz besprochen.

Wir glauben, dass Bufarenogin und Argentinogin die Formeln III und VII besitzen. Diese Vermutung stützt sich auf folgende Befunde: Arenobufagin wird durch



Die Zahlen in eckigen Klammern geben die spez. Drehung für Na-Licht in den vermerkten Lösungsmitteln<sup>20)</sup> an.

Kontakt an  $\text{Al}_2\text{O}_3$  teilweise verändert; dabei entstehen zwei Stoffe, die im Papierchromatogramm genau gleiche Laufstrecken und gleiches Verhalten beim Erhitzen mit  $\text{SbCl}_3$  zeigten wie Bufarenogin und Argentinogin. Wenn es sich tatsächlich um diese zwei Stoffe handelt<sup>37)</sup>, so dürften sie daher dasselbe C-Skelett und dieselbe Verteilung der O-Atome besitzen wie Arenobufagin. Für letzteres ist von HOFER, LINDE

<sup>34)</sup> Exper. Teil dieser Arbeit.

<sup>35)</sup> O. WINTERSTEINER & M. MOORE, J. biol. Chem. **162**, 725 (1946).

<sup>36)</sup> Vgl. auch die in 3-Stellung nicht substituierte Säure bei J. BARNETT & T. REICHSTEIN, Helv. **21**, 926 (1938) und frühere Lit. daselbst, sowie Diss. J. KÖLLERSTRÖM-BARNETT, Zürich 1953.

<sup>37)</sup> Der Versuch soll, sobald dies möglich wird, auch in präparativem Maßstab durchgeführt werden. Sobald die Identität der zwei aus Arenobufagin entstehenden Stoffe gesichert ist, können die Formeln III und VII als bewiesen angesehen werden.



& MEYER<sup>38)</sup> die Formel I bewiesen worden. Sie entspricht im tetracyclischen Anteil genau dem Sinogenin<sup>39)</sup> und unterscheidet sich von diesem lediglich durch die Hexadienolid-Seitenkette an Stelle des Butenolidringes. Wie von RENKONEN *et al.*<sup>40)</sup> kürzlich gezeigt wurde, wird Sinosid (ein Glykosid des Sinogenins) durch Kontakt an  $Al_2O_3$  teilweise in Caudosid (isomeres 11-Keto-12 $\alpha$ -hydroxy-Derivat) umgelagert. Wir glauben, dass die Bildung von Bufarenogin eine analoge Isomerisierung darstellt, wobei wir aber die räumliche Lage der neuen HO-Gruppe in 12-Stellung noch offen lassen möchten.

Tabelle 6. Übersicht über die erhaltenen Ausbeuten und Schätzung der im trockenen Sekret wirklich vorhandenen Mengen

Buchstabenbezeichnung	Name	Isoliert aus 20,8 g Trockensekret		Schätzung der wirklich vorhandenen Menge <sup>38) 39)</sup>	
		aus Gruppe	Menge in mg in %	in mg	in %
R	Resibufogenin	I	87 = 0,42	220 = 1,06	
D	Bufalin	Votr. I	57 } 20 } = 0,37	60 = 0,29	
E	Marinobufagin	Votr. I II	95 } 117 } 115 } = 1,57	500 = 2,4	
A	Bufotalinin	II	49 = 0,24	90 = 0,43	
B	Telocinobufagin	II	126 = 0,61	210 = 1,0	
U	Argentinogenin <sup>38)</sup>	II III	13 } 46 } = 0,28	140 = 0,67	
J	Arenobufagin <sup>38)</sup>	II	140 = 0,67	250 = 1,2	
C	Hellebrigenin	III	96 = 0,46	185 = 0,9	
G	Hellebrigenol	III	5 = 0,024	20 = 0,1	
$\varphi$ -H	Bufarenogin <sup>38)</sup>	II	44 = 0,21	140 = 0,67	

Die folgenden Eigenschaften von Bufarenogin stehen mit der Formel III gut in Einklang. Die Analyse passte am besten auf die Zusammensetzung  $C_{24}H_{32}O_6$ . Acetylierung lieferte ein krist. Derivat, dessen Analyse auf eine Di-O-acetyl-Verbindung (IV)  $C_{28}H_{36}O_8$  passte. Das UV.-Spektrum (Fig. 11) von Bufarenogin zeigte das Maximum des Hexadienolidringes in normaler Lage (298  $m\mu$ ), aber mit leicht erhöhter Extinktion ( $\epsilon = 6133$ )<sup>41)</sup>. Im IR.-Spektrum (Fig. 13) sind die für den Hexadienolidring typischen Banden (bei 3,29  $\mu$  nur kleine Zacke; 5,86  $\mu$  komplexe Hauptbande;

<sup>38)</sup> P. HOFER, H. LINDE & K. MEYER, Tetrahedron Letters, 1959 Nr. 7, 8

<sup>39)</sup> O. RENKONEN, O. SCHINDLER & T. REICHSTEIN, Croatica chemica Acta 29, 239 (1957).

<sup>40)</sup> O. RENKONEN, O. SCHINDLER & T. REICHSTEIN, Helv. 42, 182 (1959).

<sup>41)</sup> Bufalin zeigte in demselben Apparat in Alk ein Maximum bei 298  $m\mu$ ,  $\epsilon = 5836$ . Die Differenz (6086–5836 = 250) ist noch etwas grösser als erwartet. Die isolierte Ketogruppe von 11-Keto-12 $\alpha$ -hydroxy-steroiden zeigt ein Maximum bei ca. 313  $m\mu$ ,  $\epsilon = 49$  und in 11-Keto-12 $\beta$ -hydroxy-steroiden bei ca. 286  $m\mu$ ,  $\epsilon = 36$ –47, vgl. G. BAUMGARTNER & CH. TAMM, Helv. 38, 441 (1955) und frühere Literatur daselbst. Die Konfiguration sollte aber nach Hydrierung des Bufadienolidringes auf Grund des UV.-Spektrums leicht feststellbar sein.

6,13 und 6,52  $\mu$ ) ausser der erstgenannten alle sehr deutlich. Die Hauptbande<sup>42)</sup> zeigt ausserdem bei ca. 5,93  $\mu$  eine kleine Schulter (deutlicher bei Aufnahme mit  $\text{CaF}_2$ -Prisma).

Zur Entscheidung, ob die HO-Gruppe im C-Ring des Bufarenogins 12 $\alpha$ - oder 12 $\beta$ -Konfiguration besitzt, sind auch die Vergleiche der molekularen Drehungen kaum geeignet, weil die Drehungen von Steroiden mit 12-ständigen HO-Gruppen sehr stark von dem am C-17 stehenden Substituenten beeinflusst werden<sup>44)</sup>. Wir möchten die Frage der Konfiguration an C-12 daher vorläufig offen lassen<sup>45)</sup>.

*Argentinogenin.* Wir glauben, dass diesem Stoff Formel VII zukommt, dass es sich somit um ein Dehydrierungsprodukt von Arenobufagin (I) handelt. Dafür sprechen ausser der oben genannten Bildung aus I die folgenden Befunde. Die Analyse passte ungefähr auf die Formel  $\text{C}_{24}\text{H}_{30}\text{O}_6$ . Das UV.-Spektrum (Kurve V in Fig. 11) zeigte ein Maximum, das ca. 10  $m\mu$  kurzwelliger liegt als bei Bufalin, aber viel intensiver ist. Die Differenzkurve gegenüber Bufalin (Kurve A in Fig. 11) ergibt ein Maximum bei ca. 287  $m\mu$ ,  $\log \epsilon = 4,03$ . Dieses sollte der Absorption der Diosphenol-Gruppierung im Ring C entsprechen, vorausgesetzt, dass die Totalabsorption sich rein additiv aus den Absorptionen beider Systeme (Ringe und Hexadienolid) zusammensetzt<sup>46)</sup>. In der Tat wurde für V ein ähnliches Maximum (281  $m\mu$ ,  $\epsilon = 7000$  in Alk) gefunden<sup>35)</sup>. Argentinogenin zeigte ausserdem mit  $\text{FeCl}_3$  in ca. 30-proz. wässrigem Alkohol eine intensive graublau Färbung<sup>47)</sup>. Acetylierung lieferte ein Derivat, das bisher nicht kristallisierte. Das rohe, sicher noch unreine Präparat zeigte im UV. (Kurve VIII, AcU, in Fig. 11) zwei deutlich getrennte Maxima bei 247 und bei 296  $m\mu$ , von denen das erste der acetylierten Diosphenolgruppe entspricht<sup>48)</sup>. Für das O-Acetylderivat VI fanden WINTERSTEINER & MOORE<sup>35)</sup> ein Maximum bei 243  $m\mu$  ( $\epsilon = 7800$ ). Das IR.-Spektrum (vgl. Fig. 12) von Argentinogenin zeigte im HO-Bereich drei scharfe Banden bei 2,89, 2,96 und 3,03  $\mu$ . Obgleich eine sichere Aussage über HO-Banden bei Aufnahme eines Festkörpers in KBr unmöglich ist, scheint es am wahrscheinlichsten, dass diese 3 Banden den 3 HO-Gruppen in VII entsprechen und dass zwei davon stark assoziiert sind. Von den Hexadienolid-Banden ist diejenige bei 5,85  $\mu$  zusammengesetzt, die zwei folgenden (bei 6,15 und 6,51  $\mu$ ) aber sehr

<sup>42)</sup> Sie enthält ausser der bekannten Bande des Hexadienolidringes<sup>43)</sup> auch noch die Absorption der Ketolgruppe. In normalen Steroiden liegt die CO-Streckschwingung der 12 $\alpha$ -Hydroxy-11-keto-Gruppe bei 5,88  $\mu$  (in  $\text{CHCl}_3$ ) und diejenige der 12 $\beta$ -Hydroxy-11-keto-Gruppe bei 5,86  $\mu$  (in  $\text{CS}_2$ ). Vgl. J. ELKS, G. H. PHILLIPPS, T. WALKER & L. J. WYMAN, J. chem. Soc. **1956**, 4330 und frühere Literatur daselbst, sowie D. H. W. DICKSON & J. E. PAGE, J. chem. Soc. **1955**, 447 und weitere Literatur daselbst.

<sup>43)</sup> R. N. JONES & F. HERLING, J. org. Chemistry **19**, 1252 (1951).

<sup>44)</sup> Die Differenz der molekularen Drehung zwischen 12 $\alpha$ - und 12 $\beta$ -Hydroxy-Derivat ist z. B. bei Ätiensäureestern viel grösser als bei analogen Cholsäureestern, vgl. B. KOEHLIN & T. REICHSTEIN, Helv. **25**, 918 (1942).

<sup>45)</sup> Sie sollte sich leicht durch Abbau lösen lassen.

<sup>46)</sup> H. P. KOCH, J. chem. Soc. **1948**, 1123; E. A. BRAUDE, *ibid.* **1949**, 1902; A. E. GILLAM & E. S. STERN, Electronic Absorption Spectroscopy in Organic Chemistry, p. 195 (London 1954).

<sup>47)</sup> Es ist uns kein anderes Bufogenin bekannt, das eine positive  $\text{FeCl}_3$ -Reaktion gibt.

<sup>48)</sup> Die durch die Acetylierung bewirkte hypsochrome Verschiebung des Maximums um fast 40  $m\mu$  ist für die hexacyclischen Diosphenole typisch, vgl. L. DOREMAN, Chem. Rev. **53**, 47 (1953), bes. Tab. 15, sowie L. FIESER & M. FIESER, Natural Products related to Phenanthrene, p. 195, 3. ed. (New York 1949).

scharf<sup>49)</sup>. Dazu kommt eine charakteristische scharfe Bande bei  $6,02 \mu$ , die Bufalin nicht zeigt und die von der Diosphenolgruppe im Ring C herrühren dürfte<sup>50)</sup>.

*Arenobufagin (J)*. Das reine Präparat gab Analysenwerte, die auf die früher angegebene Formel<sup>5)6)7)8)</sup>  $C_{24}H_{32}O_6$  passten. Das IR.-Spektrum ist aus Fig. 14 ersichtlich. Die komplexe Bande mit Schwerpunkt  $5,85 \mu$  zeigt bei Aufnahme mit  $CaF_2$ -Prisma eine deutliche Zacke bei  $5,90 \mu$  sowie eine Schulter bei ca.  $5,93 \mu$ , die ver-

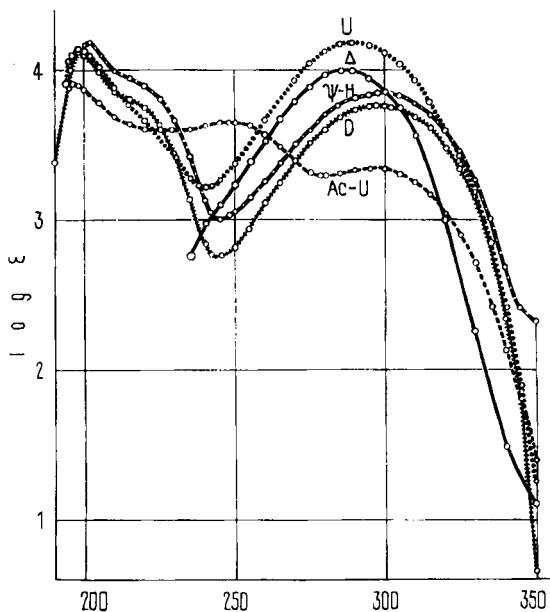


Fig. 11. UV-Absorptionsspektren in Alkohol<sup>51)</sup>

- U: Argentinogenin, Smp. 227–230°, Maxima bei 198  $m\mu$ ,  $\log \epsilon = 4,17$ , und bei 289  $m\mu$ ,  $\log \epsilon = 4,1763$ , ber. auf  $C_{24}H_{30}O_6$  (414,5).  
 V-H: Bufarenogin, Smp. 229–232°, Maxima bei ca. 202  $m\mu$ ,  $\log \epsilon = 4,12$ , und bei 298  $m\mu$ ,  $\log \epsilon = 3,7843$ , ber. auf  $C_{24}H_{32}O_6$  (416,5).  
 D: Bufalin, Smp. 244–248°, Maxima bei 198  $m\mu$ ,  $\log \epsilon = 4,13$ , und bei 298  $m\mu$ ,  $\log \epsilon = 3,7661$ , ber. auf  $C_{24}H_{34}O_4$  (386,5).  
 AC-U: Di-O-acetyl-argentinogenin (amorph, roh), Maxima bei 247  $m\mu$ ,  $\log \epsilon = 3,65$ , und bei 298  $m\mu$ ,  $\log \epsilon = 3,34$ , ber. auf  $C_{28}H_{34}O_8$  (498,5).  
 I: Differenzkurve  $\log (\epsilon_{\text{Argentinogenin}} - \epsilon_{\text{Bufalin}})$ <sup>41)</sup>, Maximum bei 287  $m\mu$ ,  $\log \epsilon = 3,97$ .

mutlich von der Ketolgruppierung herrührt. Das Di-O-acetyl-Derivat kristallisierte gut, Smp. und Analysenwerte ( $C_{28}H_{36}O_8$ ) standen in ausgezeichneter Übereinstimmung mit den Werten von DUPRAT<sup>6)</sup>. Herr Dr. CHEN hatte die Freundlichkeit, das reine Arenobufagin biologisch an der Katze zu prüfen. Als geometrisches Mittel der letalen

<sup>49)</sup> Der Hexadienolidring zeigt noch eine schwache Bande (CH-Schwingung) bei  $3,25$ – $3,29 \mu$ , die aber meist erst bei Verwendung von ca. 3–5 mg pro Pastille deutlich sichtbar wird.

<sup>50)</sup> 11-Hydroxy-12-keto-cholen-(9,11)-säure (wie Formel V ohne Substituent an C-3)<sup>36)</sup> gab in  $CH_2Cl_2$  neben der Bande bei  $5,86 \mu$  (Carboxyl) eine scharfe Bande bei  $5,99 \mu$ .

<sup>51)</sup> Aufgenommen von Herrn K. STICH und G. ROTZLER auf einem selbstregistrierenden BECKMAN-Spektrophotometer Dk 2 mit Sekundärelektronenvervielfacher IP 28.

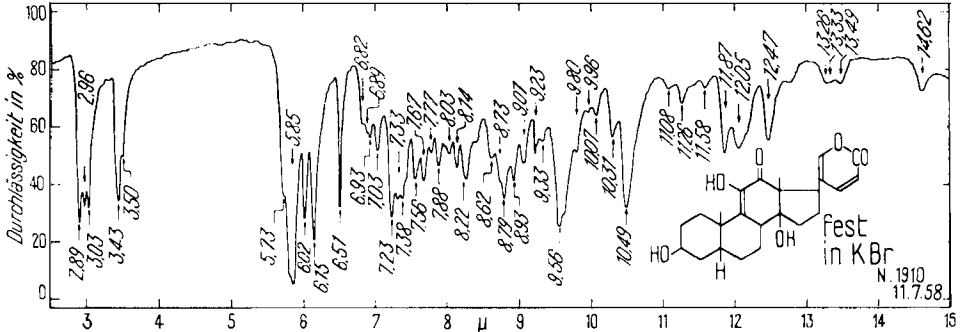


Fig. 12. IR.-Spektrum von Argentinogenin (U), Smp. 227–230°  
1,2 mg fest in KBr, nicht vibriert<sup>52)</sup>

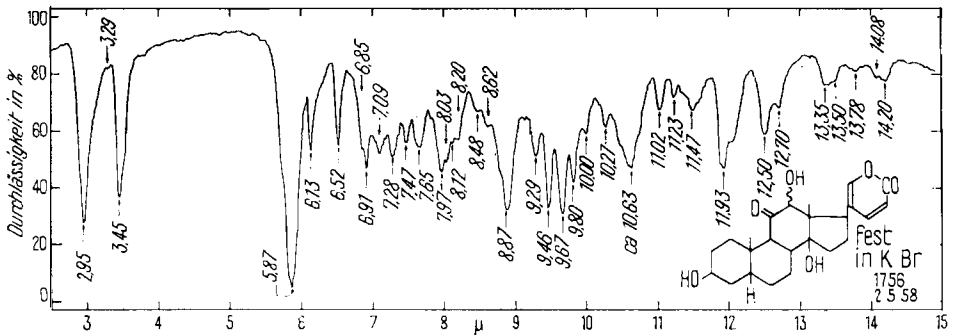


Fig. 13. IR.-Spektrum von Bufarenogenin ( $\psi$ -H), Smp. 229–232°  
1,33 mg fest in KBr, nicht vibriert<sup>52)</sup>

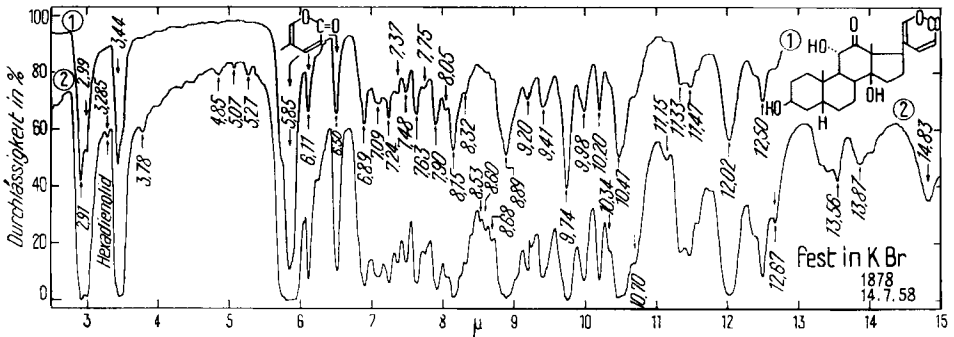


Fig. 14. IR.-Spektrum von Arenobufagin (J), Smp. 218–224°  
0,82 und 4,31 mg fest in KBr, nicht vibriert<sup>52)</sup>

Dosis bei intravenöser Infusion fand er an 10 Tieren  $0,0767 \pm 0,0067$  mg/kg<sup>53)</sup>. Das Präparat war somit etwas toxischer als das früher geprüfte Material<sup>54)</sup>.

<sup>52)</sup> Aufgenommen von den Herren K. STICH und G. ROTZLER mit einem PERKIN ELMER double beam IR.-Spektrophotometer Modell 21 mit NaCl Prisma.

<sup>53)</sup> Brief vom 7. Juli 1958. Wir danken Herrn Dr. K. K. CHEN, Indianapolis, auch hier bestens für die Überlassung seiner Resultate.

<sup>54)</sup> CHEN, JENSEN & CHEN<sup>3)</sup> fanden für ihr Präparat früher 0,093 mg/kg.

### Diskussion der Ergebnisse

Von den von SCHRÖTER *et al.*<sup>10)</sup> im Sekret von *Bufo arenarum* papierchromatographisch nachgewiesenen 6 Geninen konnten fünf mit den vermuteten Stoffen auf präparativem Wege identifiziert werden. Lediglich das sechste, das eine sehr ähnliche Laufstrecke wie Gamabufotalin gezeigt hatte, war nicht mit diesem identisch, sondern erwies sich als neuer Stoff (Bufarenogin). Ausserdem konnten 4 weitere Geneine (Resibufogenin, Bufalin, Argentinogenin und Hellebrigenol) isoliert werden. Von diesen ist Argentinogenin ein neuer Stoff. Hellebrigenol ist nach Hellebrigenin das zweite Bufogenin, das bisher sowohl aus pflanzlichem<sup>55)</sup> wie aus tierischem Material<sup>56)</sup> isoliert werden konnte.

Die zwei neuen Geneine (Bufarenogin und Argentinogenin) entstehen vermutlich auch durch Kontakt von Arenobufagin an  $\text{Al}_2\text{O}_3$ . Da Bufarenogin ( $\psi$ -H) papierchromatographisch auch in Rohextrakten<sup>57)</sup> nachweisbar war, die noch nicht mit  $\text{Al}_2\text{O}_3$  behandelt wurden, ist es sehr wahrscheinlich, dass dieser Stoff bereits im rohen Sekret enthalten war. Beim Argentinogenin (U) ist es jedoch vorläufig unsicher, ob das isolierte Präparat nur teilweise oder vollständig während der Aufarbeitung aus Arenobufagin durch Kontakt an  $\text{Al}_2\text{O}_3$  entstanden ist. Aus ähnlichen Gründen ist es nicht besonders auffallend, dass bei der hier beschriebenen Isolierung das Arenobufagin nicht als Hauptprodukt erhalten wurde, denn ein gewisser Teil ist sicher bei der wiederholten Chromatographie an  $\text{Al}_2\text{O}_3$  in andere Stoffe umgelagert worden. Es ist durchaus möglich, dass ausser Arenobufagin und Bufarenogin auch noch ein weiteres Isomeres (raumisomer an C-12) in dem Gemisch enthalten war. Bei den entsprechenden Stoffen der Cardenolidreihe (Caudogenin und  $\psi$ -Caudogenin) ist es bekannt, dass sie schwer trennbar sind<sup>40)</sup>.

Der eine von uns (R. R.) dankt dem *Schweizerischen Nationalfonds zur Förderung der wissenschaftlichen Forschung* für einen Beitrag an die Kosten dieser Arbeit.

### Experimenteller Teil

Alle Smp. wurden auf dem KOPFLER-Block bestimmt und sind korrigiert. Fehlergrenze in verwendeter Ausführungsform bis  $200^\circ \pm 2^\circ$ , darüber etwa  $\pm 3^\circ$ . Übliche Aufarbeitung bedeutet: Eindampfen im Vakuum, Aufnehmen in Chloroform-Äther-(1:3) (oder in anderem Lösungsmittel falls erwähnt), Waschen mit 2-n. HCl, 2-n.  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ -Lösung und Wasser, Trocknen über  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  und Eindampfen zuletzt im Vakuum. Zur Adsorptionschromatographie nach dem Durchlaufverfahren<sup>58)</sup> diente  $\text{Al}_2\text{O}_3$ , das ohne Anwendung von Säure von Alkali befreit<sup>59)</sup>, aber nur bei  $180$ – $190^\circ$  reaktiviert wurde, oder Silicagel für Chromatographie, Korngrösse  $0,13$ – $0,3$  mm<sup>60)</sup>. Die Verteilungschromatogramme wurden nach HEGEDÜS und Mitarb.<sup>28)</sup> ausgeführt. Substanzproben zur Drehungsbestimmung wurden 1 Std. bei  $60$ – $70^\circ/0,02$  Torr getrocknet; zur Analyse, wo nichts anderes erwähnt, 5 Std. bei  $0,01$  Torr und  $100^\circ$  mit Einwaage im Schweinchen. Alle Verhältniszahlen bedeuten Verhältnisse von Volumina. Es gelten die folgenden Abkürzungen: Ac =  $\text{CH}_3\text{CO}$ , Ae = Diäthyläther, Al = 95-proz. Äthanol, An = Aceton, Be = Benzol, Bu = n-Butanol,

<sup>55)</sup> R. BERNASCONI, Diss. Basel 1957.

<sup>56)</sup> Hellebrigenol ist inzwischen in sehr kleinen Mengen auch im Sekret von *Bufo marinus* nachgewiesen worden, vgl. M. BARBIER *et al.*, *Helv.* **42**, 2486 (1959).

<sup>57)</sup> Es war auch in kleiner Menge im Originalpräparat von krist. Arenobufagin nachweisbar, das aber auch mit  $\text{Al}_2\text{O}_3$  behandelt worden war.

<sup>58)</sup> T. REICHSTEIN & C. W. SHOPPEE, *Disc. Transact. Faraday Soc.* **7**, 305 (1949).

<sup>59)</sup> J. v. EUW, A. LARDON & T. REICHSTEIN, *Helv.* **27**, 1292 (Fussnote 2) (1944), in Abänderung der dortigen Vorschrift bei  $185^\circ$  reaktiviert.

<sup>60)</sup> Bezogen von der Firma DR. BENDER & DR. HOBEIN A. G., Zürich 6.

Chf = Chloroform, Cy = Cyclohexan, Fmd = Formamid, Me = Methanol, Pe = Petroläther, Pgl = 1,2-Propylenglykol, Py = Pyridin, W = Wasser; ferner Fr = Fraktion, ML = eingedampfte Mutterlage, n. u. = nicht weiter untersucht, Pchr = Papierchromatographie und Papierchromatogramme.

**Vortrennung des getrockneten Drüsensekretes durch grobe Verteilungschromatographie.** – 20,8 g trockenes Sekret (hellbraune Lamellen) wurden im Mörser zerstoßen, mit 100 ml W angerührt und 2 Std. auf der Maschine geschüttelt. Die trübe schleimige Lösung wurde hierauf mit 150 g gereinigtem Kieselgur<sup>12)</sup> 20) und 200 g Seesand vermischt, möglichst homogenisiert in Chf energisch aufgeschlemmt und auf eine Säule Nr. 3<sup>20)</sup> gebracht, die mit 1000 g Kieselgur-Wasser-(1:1) in Chf suspendiert gefüllt war. Dann wurde wie früher<sup>12)</sup> chromatographiert. Laufgeschwindigkeit ca. 800 ml pro 24 Std., wobei täglich 4 Fraktionen zu je ca. 200 ml abgetrennt wurden.

Es wurden mit Chf 18 Fr eluiert, die nach dem Eindampfen 3,80 g gelben Schaum lieferten. Davon gaben die beiden letzten Fr zusammen nur noch 20 mg Rückstand.

Die Fr 19–26, eluiert mit Chf-Bu-(1:1), gaben insgesamt 1,57 g braunen Schaum, n. u.

**Trennung des Sterin-Genin-Gemisches an Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>.** – 3,80 g der obigen mit Chf eluierten Fr wurden an 110 g Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> chromatographiert (Tab. 7).

Tabelle 7. Chromatographie von 3,80 g Chf-Extr. an Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>

Fraktions-Nr.	Lösungsmittel je 380 ml pro Fr	Eindampfrückstand				Endprodukt oder weitere Verarbeitung
		Roh		Kristalle		
		Menge in mg	Flecke im Pchr	Menge in mg	Flecke im Pchr	
1	Be-Chf-(9:1) . . .	122	—	—	—	—
2-4	Be-Chf-(9:1) . . .	319	R, D	40	-(Sterine)	} Krist = Endpr. ML = Gruppe I 910 mg
5	Be-Chf-(7:3) . . .	189	D	57	D	
6	Be-Chf-(7:3) . . .	87	D, E	—	—	
7	Be-Chf-(7:3) . . .	303	E	95	E	
8-10	Be-Chf-(7:3) . . .	218	E, J, $\psi$ -H	—	—	
11-12	Be-Chf-(1:1) . . .	495	E, J, $\psi$ -H	—	—	} Gruppe II 1532 mg
13-16	Be-Chf-(1:1) . . .	552	A, B, U, J, $\psi$ -H	—	—	
17-18	Be-Chf-(3:7) . . .	310	A, B, U, J, $\psi$ -H	—	—	
19-21	Chf . . . . .	175	A, B, U, J, $\psi$ -H	—	—	
22-23	Chf-Me-(99:1) . .	190	U, C, G, $\psi$ -H	—	—	} Gruppe III 376 mg
24-26	Chf-Me-(95:5) . .	88	U, C, G, $\psi$ -H	—	—	
27-28	Chf-Me-(1:1) . . .	86	U, C, G, $\psi$ -H	—	—	
29	Me . . . . .	12	U, C, G, $\psi$ -H	—	—	
30	Gemisch <sup>61)</sup> + 3% AcOH . . .	260	nicht geprüft	—	—	n. u.

Fr 1 zeigte im UV. keine selektive Absorption bei 300 m $\mu$ ; n. u.

Die Fr 2-4 gaben aus Me 40 mg krist. Steringemisch, Smp. 143–146°, keine selektive UV.-Absorption bei 300 m $\mu$ ; n. u. Die ML ging zu Gr. I.

Fr 5 gab aus Me-Ae 57 mg reines Bufalin (D). Die ML ging zu Gr. I.

Fr 6 war ein Gemisch und ging zu Gr. I.

Fr 7 lieferte aus An-Ac 95 mg reines Marinobufagin (E). Die ML ging zu Gr. I.

Die Fr 8-10 waren ein Gemisch und wurden mit Gr. I vereinigt.

Alle weiteren Fr waren ebenfalls Gemische. Die Fr 11–21 (Gruppe II) wurden zur Verteilungschromatographie verwendet. Die Fr 22–29 (Gruppe III) wurden durch präp. Papierchromatographie getrennt.

<sup>61)</sup> Gemisch gleicher Teile Chf, Me und Äthylacetat.

*Trennung der Gruppe I.* Die Fr 6, 8, 9 und 10 sowie die ML von 2-5 und 7 von Tab. 7 wurden vereinigt (910 mg) und nochmals an 30 g  $Al_2O_3$  chromatographiert (Tab. 8).

Tabelle 8. *Chromatographie von 910 mg Gruppe I an  $Al_2O_3$* 

Fraktions-Nr.	Lösungsmittel 100 ml pro Fraktion	Eindampfrückstand					Endprodukt oder weitere Verarbeitung
		Roh		Kristalle			
		Menge in mg	Flecke im Pchr	Menge in mg	Smp.		
1-4 5-8	Be . . . . . Be-Chf-(8:2) . . .	428 38	D, R D			} Chromat. Tabelle 9	
9-14	Be-Chf-(7:3) . . .	218	E	117	218-222°		} Krist. = Endpr. 101 mg ML zu Gruppe II
15-16 17-19 20	Be-Chf-(1:1) . . . Chf . . . . . Chf-Me-(9:1) . . .	61 60 18	E, J, $\psi$ -H E, J, $\psi$ -H E, J, $\psi$ -H			} 139 mg zu Gruppe II	

Die Fr 1-8 (466 mg) von Tab. 8 wurden nochmals an 15 g  $Al_2O_3$  chromatographiert (Tab. 9).

Tabelle 9. *Chromatographie von 466 mg an  $Al_2O_3$* 

Fraktions-Nr.	Lösungsmittel 50 ml pro Fraktion	Eindampfrückstand				Endprodukt bzw. weitere Verarbeitung
		Roh		Kristalle		
		Menge in mg	Flecke im Pchr	Menge in mg	Smp.	
1-3 4-7 8-10 11-14 15-16 17 18-20 21-23 24-25	Pe-Be-(3:7) . . . Pe-Be-(15:85) . . . Be . . . . . Be-Chf-(9:1) . . . Be-Chf-(9:1) . . . Be-Chf-(9:1) . . . Be-Chf-(8:2) . . . Be-Chf-(7:3) . . . Be-Chf-(1:1) . . .	30 55 33 70 110 22 40 46 24	— R R R R R, D R, D D D	— — — — 35 — — 20 —	— — — — 90-120° — — 230-240° —	Endpr. Endpr. acetyliert Endpr. nicht getrennt nicht getrennt Endpr. Endpr.

Die Fr 11-14 (70 mg) wurden mit 0,7 ml abs. Py und 0,5 ml  $(Ac)_2O$  20 Std. bei 37° stehen gelassen. Die übliche Aufarbeitung gab 78 mg neutrales Rohprodukt. Aus An-Ae 52 mg krist. 3-O-Acetyl-resibufogenin, vom Smp. 214-228°.

Die Fr 15-16 gaben aus An-W nach Impfen<sup>21)</sup> 35 mg krist. Resibufogenin (R).

*Trennung von Gruppe II.* Die Fr 11-21 von Tab. 7 (1,53 g) wurden mit den ML der Fr 9-14 und den Fr 15-20 von Tab. 8 (0,24 g) vereinigt und das Ganze (1,77 g) durch Verteilungschromatographie getrennt. Dazu diente Säule Nr. 3, sie war gefüllt mit einer Mischung von 500 g trockenem gereinigtem Kieselgur<sup>29)</sup> (Hyflo Super Cel), das mit 500 ml Pgl-W-(4:1) imprägniert und in Be-Chf-(1:1) suspendiert war. Das Substanzgemisch wurde in 50 ml Chf gelöst, mit 50 ml Be verdünnt, mit 50 g trockenem gereinigtem Kieselgur vermischt auf die Säule gebracht. Pro Tag wurden 4 Fraktionen zu je 200 ml aufgefangen. Diese wurden einzeln mit 3-proz.  $KHCO_3$ -Lösung und 2 ml W gewaschen, über  $Na_2SO_4$  getrocknet und im Vakuum eingedampft. Über das Resultat orientiert Tab. 10.

*Trennung der Gruppe II a.* Die Fr 8-16 von Tab. 10 (208 mg) wurden an 6,5 g  $Al_2O_3$  chromatographiert (Tab. 11).

Tabelle 10. Verteilungschromatographie von 1,77 g Gemisch von Gruppe II

Fraktions-Nr.	Eluiermittel 200 ml pro Fraktion	Eindampfrückstand				Endprodukt oder weitere Verarbeitung
		Roh		Kristalle		
		Menge in mg	Flecke im Pchr	Menge in mg	Smp.	
1-3	Be-Chf-(1:1) . . .	32	E, (R)	86	205-218°	nicht getrennt nicht getrennt Endpr.
4	Be-Chf-(1:1) . . .	23	E, (D)			
5-7	Be-Chf-(1:1) . . .	157	E			
8-16	Be-Chf-(1:1) . . .	208	E, A	75	200-210°	IIa Chromat. an Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub> Tab. 11 II b nicht getr. Endprodukt II c Präp. Pchr II d nicht getr. Endpr.
17-25	Be-Chf-(1:1) . . .	114	E, A, B			
26-29	Be-Chf-(1:1) . . .	132	B			
30-59	Be-Chf-(1:1) . . .	637	B, U, J			
60-71	Be-Chf-(1:1) . . .	41	J, $\psi$ -H			
72-79	Be-Chf-(1:4) . . .	108	$\psi$ -H	44	226-230°	Endpr.
88-99	Be-Chf-(1:4) . . .	143	$\psi$ -H			
100-121	Chf . . . . .	36	—			nicht getrennt

Tabelle 11. Trennung von 208 mg Gruppe IIa an Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>

Fraktions-Nr.	Lösungsmittel 20 ml pro Fraktion	Eindampfrückstand					Endprodukt bzw. weitere Verarbeitung
		Roh		Kristalle			
		Menge in mg	Flecke im Pchr	Menge in mg	Smp.	Flecke im Pchr	
1-5	Be-Chf-(8:2) . . .	35	E	—	208-214°	E	Endpr.
6-12	Be-Chf-(7:3) . . .	70	E	29			
13-14	Be-Chf-(6:4) . . .	15	E, A	24			
15-16	Be-Chf-(6:4) . . .	12	(E), A				
17-18	Be-Chf-(4:6) . . .	15	(E), A	25	201-218°	A	Endpr.
19-21	Be-Chf-(4:6) . . .	22	A				
22-23	Be-Chf-(1:4) . . .	10	A	—	—	—	Endpr.
24-26	Chf . . . . .	13	A				
27-28	Chf-Me-(9:1) . . .	11	A	—			Endpr.

*Trennung der Gruppe IIc.* Die Fr 30-59 von Tab. 10 (637 mg) wurden auf 120 Papierblättern (WHATMAN Nr. 1, 19 x 39 cm) im System Be-Chf-(7:5)/Fmd chromatographiert. Auf jedem Blatt wurden auf der Startlinie 5 mg Gemisch aufgetragen. Laufzeit 5 1/2-6 Std. – Die ausgeschnittenen 3 Zonen (B, U, J) wurden mit Me und Me-W eluiert. Die im Vakuum von Me befreiten Eluate (wässrige Phase) wurden mit Chf ausgeschüttelt und dann die mit KHCO<sub>3</sub>-Lösung und W gewaschenen Auszüge im Vakuum eingedampft.

Die B-Zonen lieferten 140 mg Extrakt, dieser gab aus Me-Ae 51 mg reines krist. Telocinobufagin (B) vom Smp. 204-208°.

Die U-Zonen lieferten 50 mg Extrakt, der an 1,2 g Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> chromatographiert wurde. Die mit Chf eluierten Anteile (20 mg) gaben aus Me-Ae 13 mg reines krist. Argentinogenin (U) vom Smp. 224-228°.

Die J-Zonen lieferten 240 mg Extrakt. Dieser gab aus Me-Ae 140 mg reines Arcnobufagin vom Smp. 216-220°.

*Trennung der Gruppe III.* Die Fr 22-29 von Tab. 6 (370 mg) wurden auf 60 Papierblättern wie oben, aber im System Chf-Fmd, getrennt (6 mg Gemisch pro Blatt). Laufdauer 2 1/2 Std. Die Aufarbeitung der Zonen U, C und G wie oben gab:



80 mg Extrakt aus U-Eluat, der an 2,5 g  $\text{Al}_2\text{O}_3$  chromatographiert wurde. Die mit Chf-Mc-(99:1) und Chf-Mc-(97:3) eluierten Anteile (46 mg) gaben aus Me-Ae 18 mg krist. Argentinogenin, Smp. 226–230°.

250 mg Extrakt aus C-Eluat, der an 7,5 g  $\text{Al}_2\text{O}_3$  chromatographiert wurde. Die mit Chf-Me-(99:1) und Chf-Me-(97:3) eluierten Anteile (96 mg) gaben aus Mc-Ac 54 mg krist. Hellebrigenin (C) vom Smp. 228–234°.

20 mg Extrakt aus G-Eluat, der an 1,2 g  $\text{Al}_2\text{O}_3$  chromatographiert wurde. Die mit Chf-Me-(97:3) und Chf-Me-(95:5) eluierten Anteile (9 mg) gaben aus Mc-Ac 5 mg krist. Hellebrigenol (G) vom Doppel-Smp. 158–165°/240–245°.

**Beschreibung und Identifizierung der isolierten Stoffe.** – *R* = *Resibufogenin*. Aus An-W farblose Prismen, Smp. 90–120°,  $[\alpha]_D^{25} = -6,1^\circ \pm 1,5^\circ$  (*c* = 1,6 in Chf). Nach Pchr und Farbreaktionen mit  $\text{SbCl}_3$  und 84-proz.  $\text{H}_2\text{SO}_4$  identisch mit authentischem Material.

*3-O-Acetyl-resibufogenin*. Aus An-Pe farblose Nadeln, Smp. 220–234°,  $[\alpha]_D^{25} = -1,5^\circ \pm 1,5^\circ$  (*c* = 1,5 in Chf). Nach Mischprobe, Pchr und Farbreaktionen mit  $\text{SbCl}_3$  und 84-proz.  $\text{H}_2\text{SO}_4$  identisch mit authentischem Material.

*D* = *Bufoalin*. Aus Me-Ae farblose Prismen, Smp. 242–244°,  $[\alpha]_D^{25} = -8,5^\circ \pm 2^\circ$  (*c* = 0,95 in Chf). Nach Mischprobe, Pchr und Farbreaktionen mit  $\text{SbCl}_3$  und 84-proz.  $\text{H}_2\text{SO}_4$  identisch mit authentischem Material.

*3-O-Acetyl-bufoalin*. 15 mg Bufoalin (obiges Präparat) wurden mit 0,15 ml abs. Py und 0,1 ml  $(\text{Ac})_2\text{O}$  16 Std. bei 37° stehengelassen. Die übliche Aufarbeitung gab 16 mg Rohprodukt. Aus An-Ac 11 mg farblose Nadeln, Smp. 240–243°,  $[\alpha]_D^{25} = -6,5^\circ \pm 4^\circ$  (*c* = 0,54 in Chf). Nach Mischprobe, Pchr und Farbreaktionen mit  $\text{SbCl}_3$  und 84-proz.  $\text{H}_2\text{SO}_4$  identisch mit authentischem Material.

*E* = *Marinobufagin*. Aus An-Ac farblose Prismen, Smp. 220–224°,  $[\alpha]_D^{26} = +10^\circ \pm 1^\circ$  (*c* = 2,29 in Chf). Nach Mischprobe, Pchr und Farbreaktionen mit  $\text{SbCl}_3$  und 84-proz.  $\text{H}_2\text{SO}_4$  identisch mit authentischem Material.

*3-O-Acetyl-marinobufagin*. 21 mg Marinobufagin (obiges Präparat) wurden mit 0,2 ml abs. Py und 0,15 ml  $(\text{Ac})_2\text{O}$  20 Std. bei 37° stehengelassen. Die übliche Aufarbeitung gab 20 mg Rohprodukt. Aus An-Ac 13 mg farblose, zu Büscheln vereinigte Prismen, Smp. 196–216°. Nach Umkristallisieren Smp. 196–224°,  $[\alpha]_D^{25} = +23,7^\circ \pm 2^\circ$  (*c* = 1,08 in Chf). Nach Mischprobe, Pchr und Farbreaktionen mit  $\text{SbCl}_3$  und 84-proz.  $\text{H}_2\text{SO}_4$  identisch mit authentischem Material.

*A* = *Bufofotalinin*. Aus Me farblose Oktaeder, Smp. 200–220°,  $[\alpha]_D^{25} = +18,8^\circ \pm 1,5^\circ$  (*c* = 1,5 in Chf). Nach Mischprobe, Pchr und Farbreaktionen mit  $\text{SbCl}_3$  und 84-proz.  $\text{H}_2\text{SO}_4$  identisch mit authentischem Material.

*3-O-Acetyl-bufofotalinin*. 18 mg Bufofotalinin (obiges Präparat) wurden in 0,2 ml abs. Py und 0,15 ml  $(\text{Ac})_2\text{O}$  48 Std. bei 20° stehengelassen. Die übliche Aufarbeitung gab 18 mg Rohprodukt. Aus Mc-Ac 10,5 mg farblose Nadeln, Smp. 240–250°. Nach Umkristallisieren Smp. 246–254°,  $[\alpha]_D^{25} = +29,4^\circ \pm 3^\circ$  (*c* = 0,74 in Chf). Nach Mischprobe, Pchr und Farbreaktionen mit  $\text{SbCl}_3$  und 84-proz.  $\text{H}_2\text{SO}_4$  identisch mit authentischem Material.

*B* = *Telocinobufagin*. Aus Mc farblose Prismen, Smp. 210–212°,  $[\alpha]_D^{26} = +4,9^\circ \pm 2^\circ$  (*c* = 1,3 in Chf). Nach Mischprobe, Pchr und Farbreaktionen mit  $\text{SbCl}_3$  und 84-proz.  $\text{H}_2\text{SO}_4$  identisch mit authentischem Material.

*3-O-Acetyl-telocinobufagin*. 40 mg Telocinobufagin (obiges Präparat) wurden mit 0,4 ml abs. Py und 0,35 ml  $(\text{Ac})_2\text{O}$  16 Std. bei 37° stehengelassen. Die übliche Aufarbeitung gab 40 mg Rohprodukt. Aus An-Ae 25 mg farblose Prismen, Smp. 265–275°. Nach Umkristallisieren Smp. 270–278°,  $[\alpha]_D^{25} = +23,6^\circ \pm 2^\circ$  (*c* = 0,9 in Chf). Nach Mischprobe, Pchr und Farbreaktionen mit  $\text{SbCl}_3$  und 84-proz.  $\text{H}_2\text{SO}_4$  identisch mit authentischem Material.

*U* = *Argentinogenin*. Aus Mc-Ac farblose Körner, Smp. 227–230°,  $[\alpha]_D^{25} = -20,6^\circ \pm 2^\circ$  (*c* = 1,188 in Chf). Trocknung zur Analyse 5 Std. bei 0,01 Torr und 110° über  $\text{P}_2\text{O}_5$  gab 1,02% Gewichtsverlust.

$\text{C}_{24}\text{H}_{30}\text{O}_6$ (414,48)	Ber. C 69,54	H 7,30%	Gef. C 69,09	H 7,50%
$\text{C}_{24}\text{H}_{32}\text{O}_6$ (416,50)	Ber. „ 69,21	„ 7,74%		

Der Stoff gab mit  $\text{FeCl}_3$  in wässrigem Alk eine intensive graublau Färbung. UV.- und IR.-Spektren vgl. theoret. Teil. Der Stoff gab mit  $\text{SbCl}_3$  auf Papier<sup>10)</sup> weder im Tageslicht noch im UV.-Licht eine Färbung. Farbreaktion mit 84-proz.  $\text{H}_2\text{SO}_4$  vgl. Tab. 2.

*O-Acetyl-argentinenin* (VIII). 27 mg Argentinogenin-ML (Kristallisation der an  $\text{Al}_2\text{O}_3$  gereinigten Eluate von präp. Pchr) wurden mit 0,3 ml abs. Py und 0,25 ml  $(\text{Ac})_2\text{O}$  20 Std. bei  $37^\circ$  stengelassen. Die übliche Aufarbeitung gab 26 mg neutrales Rohprodukt, aus dem sich auch nach Chromatographie an  $\text{Al}_2\text{O}_3$  keine Kristalle erhalten liessen. Im Pchr (System Bc/Fmd, vgl. Fig. 10) zeigte das Präparat die 1,4fache Laufstrecke von *O-Acetyl-telocinobufagin*. UV.-Spektrum vgl. Fig. 11.

*J = Arenobufagin*. Aus Me-Ae farblose Prismen, Smp. 218–224°,  $[\alpha]_D^{25} = +54,5^\circ \pm 2^\circ$  ( $c = 0,95$  in Me). Trocknung zur Analyse gab keinen Gewichtsverlust.

$\text{C}_{24}\text{H}_{32}\text{O}_8$  (416,49) Ber. C 69,21 H 7,74% Gef. C 69,06 H 7,76%

Das Präparat gab mit  $\text{SbCl}_3$  auf Papier<sup>15</sup>) keine Färbung. – Nach Mischprobe und Pchr identisch mit dem Originalpräparat. Farbreaktionen Tab. 1 und 2. UV.- und IR.-Spektren sowie Toxizität an der Katze siehe theoret. Teil.

*Di-O-Acetyl-arenobufagin*. 22 mg Arenobufagin (obiges Präparat) wurden mit 0,2 ml abs. Py und 0,15 ml  $(\text{Ac})_2\text{O}$  20 Std. auf  $37^\circ$  erwärmt. Die übliche Aufarbeitung gab 23 mg Rohprodukt. Aus Me 15 mg farblose Blättchen, Smp. 227–236°. Nach Umkristallisieren Smp. 230–240°,  $[\alpha]_D^{25} = +40,4^\circ \pm 2^\circ$  ( $c = 0,97$  in Chf), Trocknung zur Analyse gab keinen Gewichtsverlust. Farbreaktionen vgl. Tab. 1 und 2.

$\text{C}_{28}\text{H}_{36}\text{O}_8$  (500,57) Ber. C 67,18 H 7,25% Gef. C 67,36 H 7,12%

*C = Bufotalidin = Hellebrigenin*. Aus An-Ae farblose Körner, Smp. 234–236°,  $[\alpha]_D^{25} = +16,6^\circ \pm 2^\circ$  ( $c = 1,0$  in An). Nach Mischprobe, Pchr und Farbreaktionen mit  $\text{SbCl}_3$  und 84-proz.  $\text{H}_2\text{SO}_4$  identisch mit authentischem Material.

*3-O-Acetyl-hellebrigenin*. 30 mg Hellebrigenin (obiges Präparat) wurden mit 0,3 ml abs. Py und 0,2 ml  $(\text{Ac})_2\text{O}$  16 Std. bei  $37^\circ$  stengelassen. Die übliche Aufarbeitung gab 33 mg neutrales Rohprodukt. Aus An-Ae 20 mg farblose Blättchen, Smp. 240–246°. Nach Umkristallisieren, Smp. 248–251°,  $[\alpha]_D^{25} = +32,6^\circ \pm 2^\circ$  ( $c = 1,16$  in Chf). Nach Mischprobe, Pchr und Farbreaktionen mit  $\text{SbCl}_3$  und 84-proz.  $\text{H}_2\text{SO}_4$  identisch mit authentischem Material.

*G = Hellebrigenol*. Aus Me-Ae farblose Prismen, Smp. 158–165°/240–245°. Nach Mischprobe, Pchr und Farbreaktionen mit  $\text{SbCl}_3$  und 84-proz.  $\text{H}_2\text{SO}_4$  identisch mit authentischem Material. Letztere zeigte die folgenden Farben: oliv (0'), braunviolett (1–5'), violett (15'), grau (30'), graugrün (45'), hellgrau (1–2 Std.).

*Di-O-acetyl-hellebrigenol*. 1 mg Hellebrigenol (obiges Präparat) wurde mit 10 mg abs. Py und 8 mg  $(\text{Ac})_2\text{O}$  20 Std. bei  $37^\circ$  stengelassen. Die übliche Aufarbeitung gab 1 mg neutrales Rohprodukt. Dieses zeigte im Pchr dieselbe Laufstrecke wie authentisches Material, auch die Farbreaktionen mit  $\text{SbCl}_3$  waren genau gleich.

*$\psi$ -H = Bufarenogin*. Aus Me-Ae farblose Prismen, Smp. 230–233°,  $[\alpha]_D^{25} = +11,3^\circ \pm 2^\circ$  ( $c = 1,3$  in Me). Laufstrecke im Pchr, UV.- und IR.-Spektren vgl. theoret. Teil. Farbreaktionen vgl. Tab. 1 und 2. – Trocknung zur Analyse gab keinen Gewichtsverlust.

$\text{C}_{24}\text{H}_{32}\text{O}_8$  (416,49) Ber. C 69,19 H 7,74 O 23,06% Gef. C 68,37 H 7,79 O 22,75%

*Di-O-acetyl-bufarenogin*. 21 mg Kristall-ML wurden mit 0,2 ml abs. Py und 0,15 ml  $(\text{Ac})_2\text{O}$  15 Std. bei  $37^\circ$  stengelassen. Die übliche Aufarbeitung gab 22 mg neutrales Rohprodukt. Aus An-Ae 12 mg feine farblose Nadeln, Smp. 280–283°. Nach Umkristallisieren Smp. 288–290°,  $[\alpha]_D^{25} = +25,7^\circ \pm 3^\circ$  ( $c = 0,86$  in Chf). Laufstrecke im Pchr vgl. theoret. Teil. Farbreaktion mit 84-proz.  $\text{H}_2\text{SO}_4$ : farblos (0'), blassgelb (1–30'), farblos nach 1–3 Std. – Trocknung zur Analyse gab keinen Gewichtsverlust.

$\text{C}_{28}\text{H}_{36}\text{O}_8$  (500,56) Ber. C 67,18 H 7,24% Gef. C 66,36 H 7,66%  
 $\text{C}_{28}\text{H}_{38}\text{O}_8$  (502,59) Ber. „ 66,92 „ 7,62%

Die Mikroanalysen wurden unter der Leitung von Herrn E. THOMMEN im Mikrolabor des Instituts ausgeführt.

### Zusammenfassung

Die präparative Isolierung von 10 krist. Bufogeninen aus dem Paratoidensekret von *Bufo arenarum* HENSEL wird beschrieben. Von diesen liessen sich die folgenden acht mit bekannten Geninen identifizieren: Resibufogenin (R), Bufalin (D), Marino-

bufagin (E), Bufotalinin (A), Telocinobufagin (B), Arenobufagin (J), Hellebrigenin = Bufotalidin (C) und Hellebrigenol (G). Zwei waren neue Stoffe, sie wurden als Argentinogenin (U) und Bufarenogin ( $\psi$ -H) bezeichnet. Diese zwei Stoffe bilden sich nach papierchromatographischen Befunden auch aus Arenobufagin durch Kontakt mit  $\text{Al}_2\text{O}_3$ . Da bei der Isolierung an  $\text{Al}_2\text{O}_3$  chromatographiert wurde, ist es unsicher, wieviel von diesen zwei Stoffen im ursprünglichen Extrakt enthalten war. Nach papierchromatographischen Resultaten kommt aber wenigstens Bufarenogin im Sekret vor. Es werden Strukturformeln für diese zwei Stoffe vorgeschlagen, die gut begründet, aber noch nicht völlig gesichert sind.

Organisch-chemische Anstalt der Universität Basel,  
und Laboratorio de Química, Facultad de  
Ciencias Exactas y Naturales, Buenos Aires

## 260. Die Glykoside der Rhizome von *Apocynum cannabinum* L.

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

Glykoside und Aglykone, 208. Mitteilung<sup>2)</sup>

von T. Golab<sup>3)</sup>, C. H. Trabert, Herb. Jäger und T. Reichstein

(17. IX. 59)

Schon seit längerer Zeit wird vor allem in Russland aus den Stengeln verschiedener *Apocynum*-Arten (*Apocynaceae*) eine baumwollähnliche Bastfaser («Kendyr», «Tourkafaser») hergestellt<sup>4)5)6)</sup>. Ebenfalls schon lange bekannt, aber technisch wenig ausgenutzt, ist der Kautschukgehalt der Blätter und Stengel, der bis zu 8,5% betragen kann<sup>4)5)7)</sup>. Die Samen enthalten 12–20% fettes Öl, das als Speiseöl verwendbar ist<sup>4)</sup>.

Die Verwendung der Rhizome von *Apocynum cannabinum* L. (syn. *A. platyphyllum* GREENE, Kanadischer Hanf, Hundswürger, Black Indian hemp)<sup>8)</sup> in der Volksmedizin (u. a. als Diureticum) wurde schon vor mehr als 100 Jahren in den USA beschrieben<sup>7)9)</sup>. Die Rhizome waren dort früher auch officinell. Zahlreiche Versuche, daraus einen reinen Wirkstoff zu isolieren, waren zunächst erfolglos<sup>10)</sup>. Erst

<sup>1)</sup> 1. Mitteilung: siehe <sup>14)</sup>; 2. Mitt.: C. H. TRABERT, Arzneimittel-Forschg. **9** (1959) (im Druck). Weitere Inhaltstoffe vgl. 4. Mitt.: C. H. TRABERT, *Planta medica* **7**, (Heft 4) (im Druck).

<sup>2)</sup> 207. Mitteilung: A. KURITZKES, J. v. EUW & T. REICHSTEIN, *Helv.* **42**, 1502 (1959).

<sup>3)</sup> Auszug aus der Diss. T. GOLAB, Basel 1959.

<sup>4)</sup> K. GARBER, *Z. Acker- u. Pflanzenbau* **92**, 94 (1950).

<sup>5)</sup> M. ULMANN, wertvolle Kautschukpflanzen des gemäßigten Klimas, Akademie-Verlag Berlin 1951, p. 75 ff.

<sup>6)</sup> F. und G. TOBLER-WOLFF, Mikroskopische Untersuchungen pflanzlicher Faserstoffe, 2. Aufl., Leipzig 1951, p. 88 ff.

<sup>7)</sup> J. G. GRISCOM, *Amer. J. med. Sci.* **12**, 55 (1833), zitiert nach SCHINDLER<sup>8)</sup>.

<sup>8)</sup> H. SCHINDLER, *Arzneimittel-Forschg.* **1**, 283 (1951).

<sup>9)</sup> M. L. KNAPP, *Amer. Med. Rev. and Journ.* **3**, 194 (1826), zitiert nach WOOD<sup>10)</sup>.

<sup>10)</sup> Vgl. die Literaturzusammenstellungen bei SCHINDLER<sup>8)</sup>, ferner bei H. C. WOOD, *J. Amer. med. Assoc.* **43**, 1953 (1904); A. WINDAUS & L. HERMANN, *Ber. deutsch. chem. Ges.* **48**, 979 (1915); F. O. MEYER, *Pharmazie* **4**, 431 (1949).