

**205. ψ -Bufarenogin, ein neues Bufadienolid
aus *Ch'an Su* und Umlagerungsprodukt des Arenobufagins
sowie Bemerkung zur Konfiguration des Bufarenogins**

Über Krötengifte, 32. Mitteilung¹⁾

von **Kurt Huber, Horst Linde** und **Kuno Meyer**

(5. IX. 67)

Beim Versuch, aus einem Muster der chinesischen Krötengiftdroge *Ch'an Su* Bufarenogin (**1**)²⁾ zu isolieren, erhielt man statt dessen ein neues Bufadienolid, das sich bei dem chromatographischen Trennverfahren genau wie **1** verhielt. Wir geben diesem Bufogenin deshalb den Namen ψ -Bufarenogin (**5**).

Vor einigen Jahren haben REES *et al.* [2] beobachtet, dass aus Arenobufagin (**3**) durch Kontakt mit Al_2O_3 zwei Stoffe entstehen, die im Papierchromatogramm gleiche Laufstrecken und gleiches Verhalten beim Erhitzen mit SbCl_3 wie Bufarenogin (**1**) und Argentinogin (**7**) zeigten. Die Identität dieser beiden aus **3** entstandenen Stoffe ist mangels Substanz nicht auf präparativem Wege sichergestellt worden.

Da uns eine grössere Menge Arenobufagin (**3**) zur Verfügung stand, haben wir die von REES *et al.* durchgeführte Umlagerung von **3** in präparativem Maßstab wiederholt.

Arenobufagin (**3**) wurde in Me^3 -An-(1:1) bei 20° mit etwa der 20fachen Menge Al_2O_3 geschüttelt. Schon nach wenigen Stunden konnte im Dünnschichtchromatogramm das Auftreten einer polareren Substanz nachgewiesen werden⁴⁾. Im Laufe von etwa 24 Stunden hatte sich ein 1:1-Gleichgewicht (Schätzung auf Grund der Fleckengrösse im Dünnschichtchromatogramm) zwischen **3** und der neuen Substanz eingestellt. Das rohe Reaktionsgemisch liess sich durch Chromatographie an SiO_2 in gleiche Teile Ausgangsmaterial **3** und das polarere Umlagerungsprodukt auftrennen. Dieses wurde in (nach Dünnschichtchromatogramm) reinen Kristallen vom Smp. $206\text{--}214^\circ$ und $[\alpha]_{\text{D}} = -61^\circ$ gewonnen. Die Acetylverbindung schmolz bei $137\text{--}144^\circ$ und zeigte $[\alpha]_{\text{D}} = -36^\circ$. Diese Daten stimmen nicht mit den für Bufarenogin (**1**) und seiner Acetylverbindung **2** ermittelten [2] überein, sehr gut dagegen mit denjenigen, die für das aus *Ch'an Su* isolierte ψ -Bufarenogin und seine Acetylverbindung gefunden worden waren. Der direkte Vergleich ergab Identität der beiden Acetylverbindungen. Wird ψ -Bufarenogin (**5**) wie **3** in Me -An 24 Stunden mit Al_2O_3 geschüttelt, so lagert es sich wieder zur Hälfte in **3** um. Die beiden Acetylverbindungen **4** und **6** werden demgegenüber durch Al_2O_3 nicht verändert. Wird ψ -Bufarenogin bei 37° in $\text{Py}\text{-Ac}_2\text{O}$ stehengelassen, so bildet sich nur die Diacetylverbindung **6**. Acetylierung bei $90\text{--}100^\circ$

¹⁾ 31. Mitt. vgl. E. ISELI *et al.* [1].

²⁾ Dieses Bufogenin ist erstmals von REES *et al.* [2] aus dem Giftsekret von *Bufo arenarum* HENSEL und etwas später von HOFER & MEYER [3] auch aus *Ch'an Su* in kleinen Mengen isoliert worden.

³⁾ Abkürzungen siehe Einleitung zum exper. Teil.

⁴⁾ Die Bildung einer weiteren, noch polareren Substanz mit dem Rf-Wert des Argentinogenins (**7**) konnte in unseren Versuchen nicht beobachtet werden.

gibt neben **6** auch die Diacetylverbindung **4**⁵⁾. Bei 135° entsteht neben **4** und **6** noch eine unpolare Substanz mit λ_{max} 300 nm ($E_{1cm}^{1\%} = 108$), die nicht weiter untersucht wurde. Im Gegensatz zu **5** wird bei der Acetylierung von **3** auch bei hoher Temperatur nur **4** gebildet.

Auch im Dünnschichtchromatogramm unterscheiden sich ψ -Bufarenogin (**5**) und Bufarenogin (**1**) weder durch ihre Laufstrecken noch durch die Farbreaktion mit $SbCl_3$, die Acetylverbindungen hingegen zeigen etwas verschiedene Rf-Werte (**6** ist etwas polarer als **2**).

Auffallend ist, dass ψ -Bufarenogin keine⁶⁾, Arenobufagin (**3**) dagegen eine sehr hohe Toxizität besitzt [2].

Konstitution des ψ -Bufarenogins. - REES *et al.* [2] hatten angenommen, dass die durch Al_2O_3 bewirkte Umlagerung des Arenobufagins (**3**) ein Analogon zum Übergang von Sinosid in Caudosid darstelle [9]. Da das Cardenolid Sinogenin [6] in seinem tetracyclischen Anteil dem des Arenobufagins (**3**) entspricht, und dem Umlagerungsprodukt Caudosid die Konstitution eines 11-Oxo-12 α -hydroxy-cardenolids zuerteilt wurde [9]⁸⁾, dürfte Bufarenogin ebenfalls ein 11-Oxo-12 α -hydroxy-Steroid sein⁹⁾. Damit stimmen auch die bei der Acetylierung auftretenden Verschiebungen der molekularen Drehung überein (siehe Tabelle 1). Äquatoriale HO-Gruppen an C-11 und C-12 verändern die Drehung im negativen Sinn, axiale im positiven Sinn [12].

Um die räumliche Lage der HO-Gruppe im Ring C von ψ -Bufarenogin (**5**) eindeutig abzuklären, haben wir dessen Acetylverbindung **6** zu der ihr zugrunde liegenden Ätiansäure abgebaut und deren Methylester **17** bereitet. Zu Vergleichszwecken wurden ausserdem die beiden als 11 β -Acetoxy-12-oxo- (**18**), bzw. 11-Oxo-12 β -acetoxy-ätiansäure-methylester (**19**) beschriebenen Verbindungen [7] bzw. [5] hergestellt, sowie 11 α -Acetoxy-12-oxo-ätiansäure-methylester (**16**) [6] durch Abbau von **4**.

Die Oxydation der Seitenkette in den beiden Acetylverbindungen **6** und **4** wurde wie in analogen Fällen mit $KMnO_4$ in An [13] durchgeführt. Dabei reagierte **6** viel rascher als **4** und gab rund 90% saure Anteile gegenüber etwa 74% bei **4**. Aus den neutralen Anteilen der $KMnO_4$ -Oxydation von **4** konnte das früher [4] beschriebene 3 β ,11 α -Diacetoxy-12,20-dioxo-14-hydroxy-5 β ,14 β -pregnan-21-säure-lacton-(21 \rightarrow 14) isoliert werden, während dies bei dem aus **6** erhaltenen Neutralteil misslang! Die Eliminierung der 14 β -ständigen HO-Gruppe in dem aus **6** gewonnenen Ester **11** verlief einheitlich: das Δ^{14} -Produkt **14** wurde in 80-proz. Ausbeute in reinen Kristallen gewonnen. Demgegenüber wies der aus **4** bzw. **10** erhaltene ungesättigte Ester **13** eine

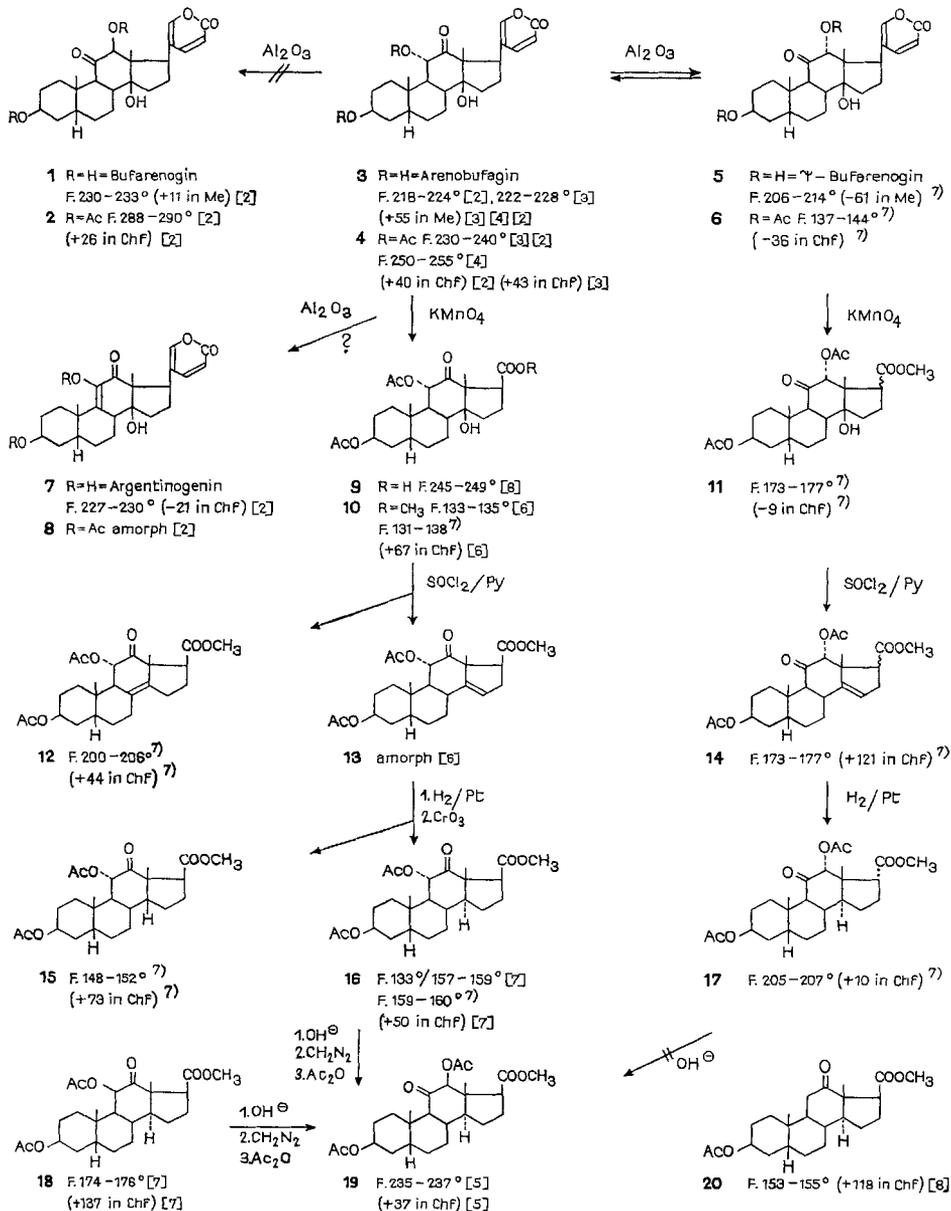
⁵⁾ Wird **5** in Py allein erhitzt, so lässt sich schon nach kurzer Zeit im Dünnschichtchromatogramm das Auftreten von Arenobufagin (**3**) nachweisen.

⁶⁾ Herr Prof. Dr. K. K. CHEN, Indiana University, Indianapolis, hatte die Freundlichkeit, **5** an der Katze zu prüfen, wofür wir ihm an dieser Stelle bestens danken möchten. Die Versuchstiere überlebten Mengen bis 4,925 mg/kg. Die Wirkung höherer Dosen liess sich nicht ermitteln, da **5** zu wenig löslich ist. Auch bei der hier angegebenen höchsten Dosis zeigte das Elektrokardiogramm keine Änderung, womit kein Zweifel bestehen kann, dass ψ -Bufarenogin inaktiv ist.

⁸⁾ Ein Beweis wurde hierfür bisher noch nicht erbracht. Die Struktur der Ketolgruppe im Ring C ist aber gut begründet [9]. Die Umlagerung der 11 α -Hydroxy-12-oxo-Gruppe beim Kontakt mit Al_2O_3 entspricht der von GALLAGHER und anderen [11] untersuchten analogen Reaktion in der Gallensäuren-Reihe.

⁹⁾ Bufarenogin (**1**) ist wahrscheinlich kein einfaches Umlagerungsprodukt aus Arenobufagin (**3**) (siehe dagegen [2]).

Reihe von Nebenprodukten auf, die sich durch Chromatographie abtrennen liessen. Trotzdem blieb **13** – wie bereits früher beobachtet [6] – amorph. Eines der Nebenprodukte konnte in Kristallen gewonnen werden. Dessen Struktur **12** ergibt sich aus



Ac = $\text{CH}_3\text{-C}(=\text{O})\text{-}$; die Zahlen in runden Klammern geben die spez. Drehung für Na-Licht in den vermerkten Lösungsmitteln³⁾ an.

^{?)} Siehe exper. Teil.

Tabelle 1. *Physikalische Daten der Substanzen 1–6, 16–19 und 27*

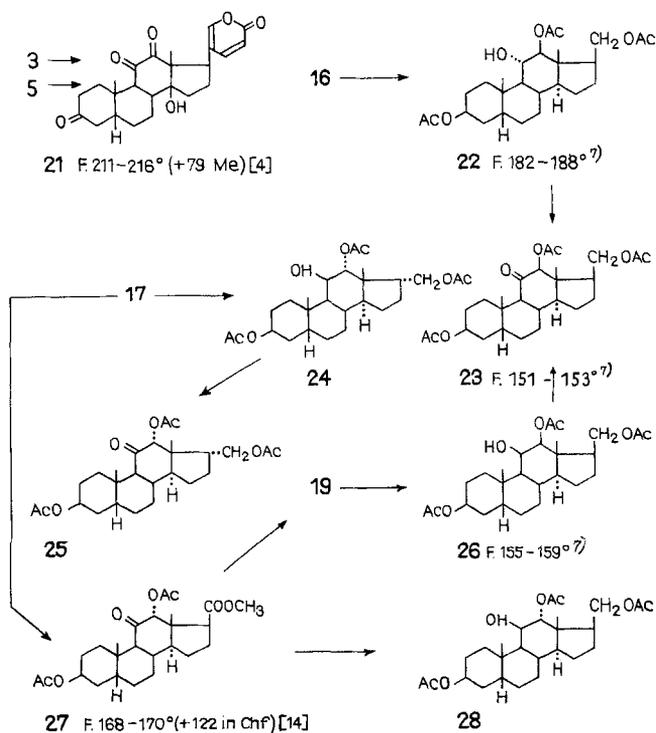
Substanz	Smp.	M_D in CHCl_3	λ_{\max} in Al	
			nm	$\log \epsilon$
1	230–233	+ 46 (Me)	298	3,78
2	288–290	+ 130		
3	218–224	+ 229 (Me)	296	3,77
4	230–240	+ 200		
5	206–214	– 254 (Me)	298	3,77
6	137–144	– 180		
16	159–160	+ 226	280–282	1,74
17	205–207	+ 43	296–298	1,70
18	167–171	+ 622	297–300	2,03
19	225–235	+ 165	292–294	1,50
27	168–170	+ 546	306	1,82

der Bildungsweise, dem Molekel-Ion im Massenspektrum bei 446 m/e und dem Fehlen eines Vinylprotons (im PR.-Spektrum) sowie dem zum Dublett aufgespaltenen Signal des (C-11 β)-H ($J \sim 10$ Hz) (siehe auch Tab. 2). Das Hydrierungsprodukt von **14** gab im Dünnschichtchromatogramm nur *einen* Fleck (neben Spuren von nur im UV.-Licht sichtbaren Verunreinigungen) und der Ester **17** konnte in guter Ausbeute kristallin gewonnen werden. **13** gab bei der Hydrierung ein Gemisch, das im Dünnschichtchromatogramm vier etwa gleich grosse Flecke identischer Farbtintensität erkennen liess, die sich nach der Dehydrierung mit CrO_3 auf zwei reduzierten. Durch Chromatographie wurde der Ester **16** und in geringer Menge auch der isomere Ester **15** in Kristallen gewonnen.

Alle vier möglichen 11-12-Acetoxyketone der 5 β -Ätiansäurereihe sind bekannt [5] [7] [6] [14]. Aus dem oben Ausgeführten konnte geschlossen werden, dass der hier aus ψ -Bufarenogin erhaltene Abbauester mit der vor kurzem von TOBIAS [14] als 3 β ,12 α -Diacetoxy-11-oxo-5 β -ätiansäure-methylester bezeichneten Substanz identisch sein müsste, was aber nicht der Fall war. Somit muss mindestens bei einem dieser 5 isomeren Ester eine Umlagerung eingetreten sein.

Zuordnung der verschiedenen Ketole. – Arenobufagin (**3**) besitzt eine 17 β -Seitenkette. Dafür ist besonders das beim KMnO_4 -Abbau sich bildende (21 \rightarrow 14)-Ketolacton beweisend [4]. Da sowohl **3** als auch ψ -Bufarenogin (**5**) mit CrO_3 - H_2SO_4 -An [15] zum selben Triketon **21** [4] dehydriert werden, muss ψ -Bufarenogin (**5**) ebenfalls eine 17 β -Seitenkette besitzen. – Der saure, oxydative Abbau des (21 \rightarrow 14)-Ketolactons aus Di-O-acetylarenobufagin (**4**) gibt **9** bzw. den Ester **10**, der auch aus den sauren Anteilen des Permanganatabbaus von **4** erhalten wird. Damit sollte in **10** die Seitenkette an C-17 die β -Konfiguration beibehalten haben, und ebenso in den aus **10** bereiteten Estern **12**, **15** und **16**. **16** geht durch LiAlH_4 -Reduktion und anschliessende Acetylierung in die 3,12,20-Tri-O-acetylverbindung **22** über, aus der bei der Dehydrierung das Keton **23** entsteht. Dieses ist nach Dünnschichtchromatogramm (in drei Systemen) und PR.-Spektrum identisch mit dem auf gleiche Weise aus **19** über **26** bereiteten Keton **23**. Damit besitzen **16** und **19** (sowie **18**) eine 17 β -ständige Ester-

gruppe^{9a}). Die räumliche Lage (β) der Acetoxy-Gruppe an C-12 wird durch das verbreiterte Singulett (Breite bei halber Höhe $\sim 2,7$ Hz) des axialen (α) Protons an C-12



bewiesen [16]. Bei den Ätiansäureestern **17** und **27** besitzt das C-12-Proton lediglich eine Breite von 1,3 bzw. 1,0 Hz bei halber Signalthöhe, womit in **17** und **27** eine 12 α -Acetoxy-Gruppe vorliegt. Offen bleibt, in welcher der beiden Verbindungen die Estergruppe an C-17 α - bzw. β -ständig orientiert ist. Nach ZÜRCHER [17] sind in den PR.-Spektren die Übergänge von einer 17 β - nach einer 17 α -COOCH₃-Gruppe mit einer Verschiebung des C-18-Methyl-Signals von etwa 0,21 ppm verbunden. Dieser Wert stimmt für **17** und **27** nicht in der Grösse, aber in der Richtung überein, wenn **17** eine 17 α - und **27** eine 17 β -orientierte Seitenkette besitzt. Die Additivität der Verschiebungen ist bei der Häufung von funktionellen Gruppen, vor allem wenn noch ungesättigte Funktionen dazukommen, nicht mehr gegeben [18]. Etwas anders sollten die Verhältnisse in den aus **17**, **19** und **27** bereiteten Triacetylverbindungen **24**, **26** und **28** sein – die Stereochemie an C-11 ist in **22**, **24**, **26** und **28** durch PR.-Spektroskopie (Entkopplungsexperimente) gesichert – da diese nur noch gesättigte Funktionen am Steroidgerüst aufweisen. Vergleicht man nun wie oben die chemischen Verschiebungen in diesen Verbindungen, so ergibt sich hier auch ein quantitativ besseres Ergebnis: der Unterschied zwischen den C-18-Methyl-Signalen in **24** (1,18 ppm) und in **26**

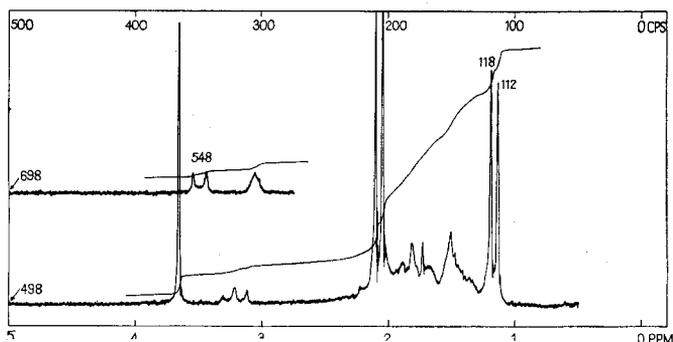
^{9a}) SCHINDLER [5] hatte beim Abbau von Sarmutogenin neben **19** auch 3 β , 12 β -Diacetoxy-12, 20-dioxy-14-hydroxy-5 β , 14 β -pregnan-21-säure-lacton (21 \rightarrow 14) erhalten, womit die Stereochemie an C-17 bei **19** bewiesen ist.

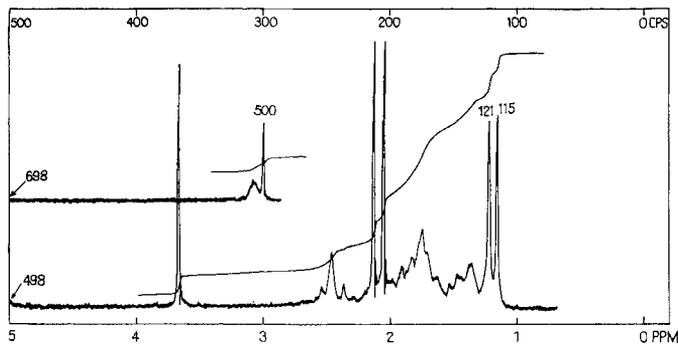
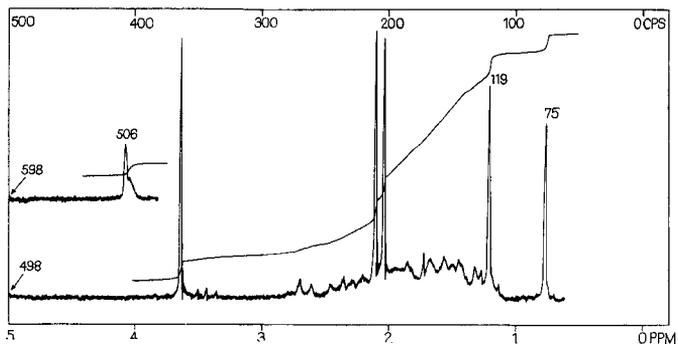
Tabelle 2. Zuordnung der H-Atome in den PR.-Spektren

Substanz	(C-11)-H	(C-12)-H	(C-18)-Methyl	(C-19)-Methyl
2	–	4,83 (S)	0,65	1,24
4	5,38 (D, 11)	–	0,96	1,13
6	–	5,11 (S)	0,98	1,18
12	5,42 (D, 10)	–	1,337	1,165
15	5,37 (D, 10)	–	1,265	1,125
16	5,48 (D, 10)	–	1,124	1,181
17	–	5,00 (S)	1,145	1,21
18	5,16 (D, 3)	–	1,165	1,165
19	–	5,06 (S)	0,75	1,194
20	–	–	1,065	1,105
22	–	4,72 (D, 9)	0,75	1,09
23	–	–	0,66	1,20
24	–	4,65 (D, 3,5)	1,18	1,26
24 in C ₆ D ₆	3,71 (T, 3)	4,71 (D, 3,5)	1,21	1,23
26	–	4,67 (D, 3,3)	0,96	1,22
26 in C ₆ D ₆	4,02 (T, 2,5)	4,68 (D, 3,3)	0,89	1,37
27	–	4,70 (S)	0,65	1,26
28	–	4,82 (D, 2,8)	0,96	1,21
28 in C ₆ D ₆	3,82 (T, 2,8)	4,91 (D, 2,8)	0,90	1,27

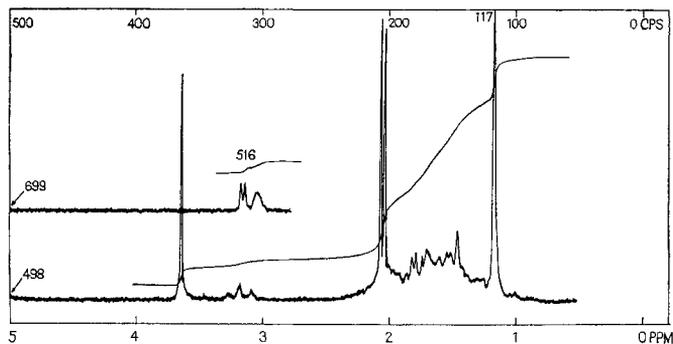
Aufgenommen in CDCl₃, chemische Verschiebung in ppm bezogen auf Tetramethylsilan = 0. S = Singulett, D = Dublett, T = Triplett. – Zahlen in Klammern = Kopplungskonstanten in cps. Die nach dem Entkoppeln gemessenen Kopplungskonstanten zwischen (C-11)-H und (C-9)-H der in C₆D₆ aufgenommenen Spektren sind in der zweiten Spalte aufgeführt.

(0,96 ppm) und **28** (0,96 ppm) ist jetzt mit 0,22 ppm kleiner geworden und weist auch hier auf einen 17 α -Substituenten in **24** (bzw. **17**) sowie β -Substituenten in **26** (bzw. **19**) und **28** (bzw. **27**) hin. Einen weiteren Beweis für diese Zuordnung stellen die chemischen Verschiebungen des (C-12)-H in **24**, **26** und **28** dar. Es ist bekannt, dass auch in Polyolen, wie z. B. Zuckern, die Regel gilt, dass axiale Protonen gegenüber äquatorialen im PR.-Spektrum nach höherem Feld verschoben sind [19]. In **26**, dessen Struktur ausser Frage steht, liegt das Signal des (C-12 α)-H bei 4,67 ppm. Die Verbindungen **24** und **28** besitzen beide ein äquatoriales (β -ständiges) (C-12)-H, dessen Signal bei niedererem Feld als bei **26** erscheinen sollte, wenn der Substituent an C-17 gleiche

Fig. 1. PR.-Spektrum (100 MHz) des Esters **16**

Fig. 2. PR.-Spektrum (100 MHz) des Esters **17**Fig. 3. PR.-Spektrum (100 MHz) des Esters **19**

Lage einnimmt. Nun findet sich das (C-12)-H-Signal in **24** tatsächlich bei 4,65 ppm (also bei höherem Feld als in **26**!) und in **28** bei 4,82 ppm. Somit passen nur **26** und **28** zueinander, die beide einen 17β -Substituenten aufweisen, während ein 17α -Substituent wiederum **24** und damit **17** zugesprochen werden muss. Obwohl wir die ORD.-Kurven (siehe Fig. 7) von **17** nicht deuten können, sei erwähnt, dass die Verbindungen **16**, **19**, **18**, **15**, **27** alle einen positiven COTTON-Effekt zeigen, während **17** einen negativen aufweist, also auch hier ein abweichendes Verhalten zeigt.

Fig. 4. PR.-Spektrum (100 MHz) des Esters **18**

Da wir **16**, **17**, **19** und **27** (sowie **18**) miteinander verknüpfen konnten (siehe Formeln S. 1996), ist die 14α -Konfiguration in allen Verbindungen bewiesen [14]. Diese ist beim Ester **17** bemerkenswert, da nach den hier mitgeteilten Ergebnissen und Ableitungen der Δ^{14} -Ester **14**, aus dem **17** durch Hydrierung entsteht, eine 17α -Seitenkette haben sollte, die bei der Hydrierung Anlass zur Bildung des entsprechenden

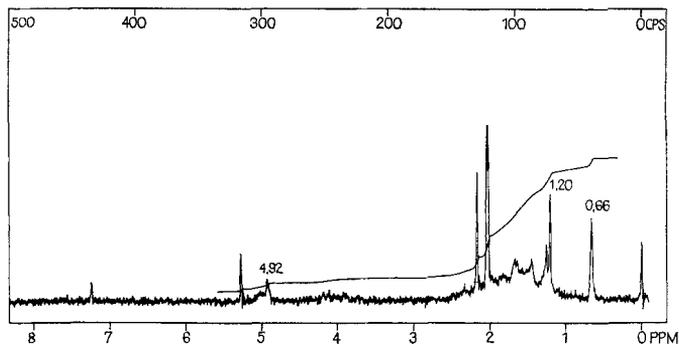


Fig. 5. PR.-Spektrum (60 MHz) des Esters **23**

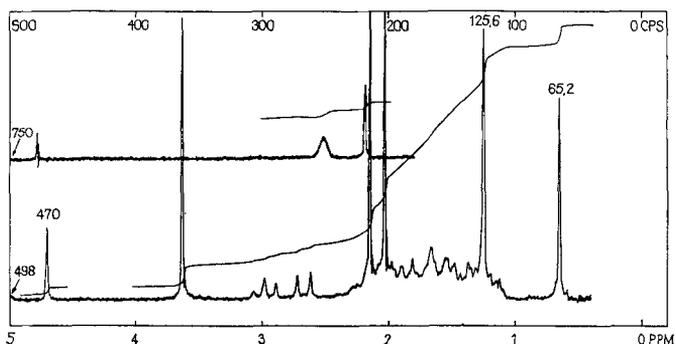


Fig. 6. PR.-Spektrum (100 MHz) des Esters **27**

14β -Derivates geben müsste [20]. Die Hydrierung von Δ^{14} -Verbindungen mit 17β -Seitenkette gibt fast ausschliesslich 14α -Derivate, wenn der Ring C keinen Substituenten trägt, andernfalls kann die Bildung von 14β -Verbindungen begünstigt werden [21]. Beim Ester **14** scheint sich dieser dirigierende Effekt der am Ring C befindlichen Substituenten so stark auszuwirken, dass die Hydrierung stereospezifisch zum (unerwarteten) 14α -Derivat führt. – Versuche, die abklären sollen, auf welcher Stufe zwischen **5** und **17** die Umlagerung an C-17 stattfindet, sind im Gange.

Zur Konfiguration des Bufarenogins. – Bufarenogin (**1**) ist isomer mit Arenobufagin (**3**) [2] und damit auch mit ψ -Bufarenogin (**5**). Das PR.-Spektrum der Acetylverbindung **2** (siehe Tab. 2) zeigt das (C-12)-Proton als verbreitertes Singulett bei 4,83 ppm. (Signalbreite bei halber Höhe 2,3 Hz.) Dies beweist – wie auch bei **19** [24] – ein axiales (α) Proton an C-12. Über die Stereochemie an C-17 in (**1**) werden wir demnächst berichten.

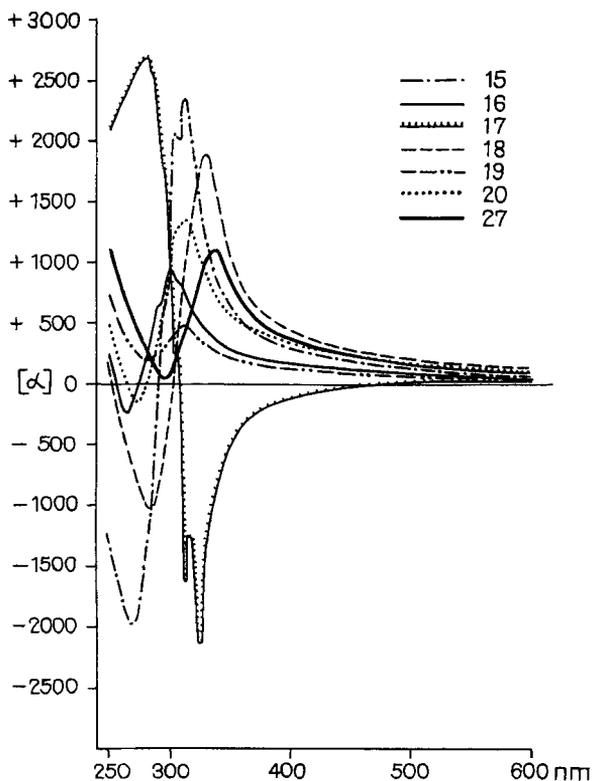


Fig. 7. ORD.-Kurven der Ester 15–19, 20 und 27

Dem SCHWEIZERISCHEN NATIONALFONDS ZUR FÖRDERUNG DER WISSENSCHAFTLICHEN FORSCHUNG danken wir für die Unterstützung dieser Arbeit.

Die Massen-, PR.- und ORD.-Spektren wurden in den Laboratorien der F. HOFFMANN-LA ROCHE & Co. AG., Basel, aufgenommen. Wir möchten den Herren Dres. G. ENGLERT, W. VETTER und F. BURKHARDT sowie den Herren P. CASAGRANDE und B. MEIER für die Aufnahme dieser Spektren bestens danken.

Experimenteller Teil

Allgemeines. – Alle Smp. wurden auf dem KOFLER-Block bestimmt und sind korrigiert. Fehlergrenze bis $200^\circ \pm 2^\circ$, darüber etwa $\pm 3^\circ$. – Zur Chromatographie diente, wenn nichts anderes vermerkt, Kieselgel MERCK, 0,05–0,20 mm = SiO_2 . – Als Lösungsmittelsystem für die Dünnschichtchromatographie (DC) wurde, wo nichts anderes angegeben, Pe-Bz-An-(1:1:1) verwendet. Um Rf-Werte von etwa 0,5 zu erhalten, wurde je nach dem in einem Vorversuch ermittelten Ergebnis die Menge des An variiert. Zur Sichtbarmachung der gewanderten Substanzen wurden die Dünnschicht-Platten erst mit H_2SO_4 -Al-(1:1) besprüht und hierauf auf etwa 100° erhitzt. Die Molekulargewichte (MG) wurden massenspektroskopisch bestimmt. Die ORD.-Spektren wurden in Dioxan bei 25° registriert. Die PR.-Spektren sind auf einem VARIAN A-60 oder HR 100 in CDCl_3 (bzw. C_6D_6) mit Tetramethylsilan als internem Standard aufgenommen.

Abkürzungen: AcOH = Eisessig, Ac_2O = Acetanhydrid, Ä = Diäthyläther, Al = 95-proz. Äthanol, An = Aceton, Bz = Benzol, Chf = Chloroform, DMF = Dimethylformamid, E = Essigester, Fr = Fraktion(en), Me = Methanol, ML = eingedampfte Mutterlauge(n), Pe = Petroläther, Pn = Pentan, Py = Pyridin, THF = Tetrahydrofuran, W = Wasser.

I. ψ -Bufarenogin (5). – a) *Aus Ch'an Su.* 23 g eines Chf-Extraktes aus *Ch'an Su* (entsprechend 100 g *Ch'an Su*-Droge) wurden an 400 g SiO_2 chromatographiert. Die Eindampfrückstände der mit Chf-Me-(97:3) gewonnenen Fr 72–79 enthielten nach DC (Chf-Me-(9:1)) Telocinobufagin, ψ -Bufarenogin und Gamabufotalin. 700 mg dieses Gemisches wurden im präparativen DC (Kieselgel CAMAG D/5, mit 0,5% Leuchtpigment Ls Super RIEDEL-DE HAËN, Schichtdicke 1,0 mm, System Chf-Me-(9:1), Entwicklungsdauer 4–5 Std.) auf 35 Platten (20 × 20 cm) aufgetrennt. Die im UV.-Licht (254 nm) als dunkelblaue Bänder auf hellgrün fluoreszierendem Untergrund erscheinenden Zonen wurden markiert, einzeln ausgekratzt und das Kieselgel mehrmals mit je 5 ml Chf-Me-(4:1) in der Wärme extrahiert: 377 mg rohes Telocinobufagin, 114 mg rohes ψ -Bufarenogin und 130 mg rohes Gamabufotalin. Das ψ -Bufarenogin enthielt noch Telocinobufagin und Gamabufotalin. Zur weiteren Reinigung wurden die 114 mg rohes ψ -Bufarenogin an 3 g SiO_2 chromatographiert. Die mit Chf-Me-(99:1) gewonnenen Fr 6–14 gaben nach dem Eindampfen 55 mg Rückstand. Aus Me-Ä 15 mg Nadeln vom Smp. 195–202°; $[\alpha]_D^{20} = -53,1^\circ$ ($c = 1,03$ in Me). Nach DC nicht ganz einheitlich. *Acetylierung.* 15 mg ψ -Bufarenogin wurden in 0,5 ml Py gelöst, mit 0,25 ml Ac_2O versetzt und 16 Std. bei 37° stehengelassen. Unter mehrmaliger Zugabe von Bz wurde im Vakuum zur Trockene gebracht. Der Rückstand gab aus Me-Ä prismatische Kristalle vom Smp. 141–145°. Enthielt nach DC noch wenig einer Verunreinigung, sonst aber identisch mit **6**. Misch-Smp. mit dem aus der Umlagerung von **3** erhaltenen **6**: 142–145°.

b) *Aus Arenobufagin (3).* – 1) *Isolierung von Arenobufagin aus Ch'an Su.* 14 g rohes Arenobufagin¹⁰⁾ wurden an 250 g SiO_2 chromatographiert (Fr zu je 100 ml). Mit Chf-Bz-(4:1), Chf und Chf mit 0,5%, 1%, 1½% und 2% Me (total 33 Fr) wurde nichts eluiert. Erst Chf-Me-(97,5:2,5) löste in 6 Fr etwa 7 g Substanz von der Säule, daraus 3,2 g Kristalle (Nadeln) von **3**. Nach dem Umlösen aus An-Me 2,58 g reines **3** vom Smp. 219–226°.

2) *Umlagerung von 3 in 5.* 1,268 g **3** wurden in 70 ml An-Me-(1:1) gelöst, mit 20 g Al_2O_3 CAMAG neutral (Aktivität I nach BROCKMANN) versetzt und 43 Std. in verschlossenem Kolben bei 20° geschüttelt. Hierauf wurde vom Al_2O_3 abfiltriert, mit An-Me-(1:1) gewaschen und die vereinigten Lösungen im Vakuum eingedampft. Rückstand in 70 ml Chf aufgenommen, 3mal mit je 70 ml W gewaschen, über Na_2SO_4 getrocknet, filtriert und im Vakuum eingedampft ergab den 1. Extrakt. Die vereinigten Waschwässer wurden mehrmals mit Chf extrahiert, das Chf über Na_2SO_4 getrocknet und filtriert, zum 1. Extrakt gegeben und mit diesem im Vakuum eingedampft. Der Rückstand gab im DC (Chf-Me-(9:1) oder An-Bz-Pe-(1:1:1)) etwa 2 gleich grosse, braungelbe Flecke. Dieses Gemisch wurde an 25 g SiO_2 chromatographiert (Fr zu je 40 ml). Fr 1–16 [Chf und Chf-Me-(99:1)] gaben keine Eindampfrückstände. Chf-Me-(88:1) (Fr 17–23) eluierte 588 mg reines **3**, Chf-Me-(48:1) (Fr 24–27) 221 mg Gemisch (etwa 1:1) von **3** und **5** und die Fr 28–34 587 mg rohes **5**, das nach DC noch Spuren von **3** enthielt (nur unter dem UV.-Licht (350 nm) sichtbar). Aus An-Ä 514 mg **5**, feine Nadeln vom Smp. 185–210°, nach DC einheitlich. 145 mg davon wurden aus An-Me-(1:1) umkristallisiert: 83 mg grobe Prismen, Smp. 206–214°; $[\alpha]_D^{25} = -61,3^\circ$ ($c = 1,145$ in Me).

II. Umlagerungsversuche an Al_2O_3 . – a) *Mit ψ -Bufarenogin (5).* 40 mg **5** wurden unter den gleichen Bedingungen wie unter I, b), 2) 68 Std. mit Al_2O_3 geschüttelt. Das Reaktionsprodukt gab im DC zwei gleich starke Flecke, die den von **3** bzw. **5** entsprachen. Nach Acetylierung des Gemisches in Py- Ac_2O bei 37° wurde an SiO_2 chromatographiert: 10 mg reines **4**, 9 mg Gemisch von **4** und **6** und 11 mg nicht ganz reines **6**.

b) *Mit Di-O-acetyl-arenobufagin (4).* 42 mg **4** wurden wie oben beschrieben 42 Std. mit Al_2O_3 geschüttelt. Die Aufarbeitung gab reines **4**, das nach DC keine Spur von **6** enthielt.

c) *Mit Di-O-acetyl- ψ -bufarenogin (6).* Ein mit 17 mg **6** wie unter a) durchgeführter Versuch zeigte, dass auch diese Acetylverbindung durch Al_2O_3 keinerlei Umlagerung erfährt.

III. Acetylierungsversuche. – a) *Mit ψ -Bufarenogin (5).* – 1) *Bei 37°: Di-O-acetyl- ψ -bufarenogin (6).* 570 mg **5** vom Smp. 192–203° wurden in 5,7 ml Py gelöst, mit 3,4 ml Ac_2O versetzt und 17 Std. bei 37° stehengelassen. Hierauf wurde unter mehrmaligem Zufügen von Bz bei 40° im Vakuum zur Trockene gebracht. Der Rückstand, der im DC neben einem grossen Fleck noch einen

¹⁰⁾ Dieses bestand aus Eindampfrückständen von Fr, die nach DC reichliche Mengen von Arenobufagin enthielten und aus einer Reihe von Chromatographien von Chf-Extrakten aus *Ch'an Su* stammten.

sehr schwachen mit geringerem Rf-Wert gab, wurde an 12 g SiO₂ chromatographiert. Die mit Chf-Bz-(7:3) (7 Fr) und Chf (5 Fr) eluierte Substanz wurde verworfen. Die weiteren Eluate mit Chf (8 Fr) Chf-Me-(199:1) (10 Fr) enthielten total etwa 650 mg Material. Aus An-Ä 548 mg prismatische Kristalle (reine Diacetylverbindung **6**), Smp. 130–145°. Nach dem Umlösen aus An-Ä stieg der Smp. auf 137–144°; $[\alpha]_D^{23} = -35,5^\circ$ ($c = 1,12$ in Chf). MG = 500, C₂₈H₃₆O₈.

2) Bei 90°: *Di-O-acetyl-ψ-bufarenogin (6) und Di-O-acetylarenobufagin (4)*. 30 mg **5** wurden in 1,0 ml Py gelöst, mit 0,7 ml Ac₂O versetzt und 1 Std. auf 90° erhitzt. Hierauf wurde das Py und Ac₂O im Vakuum (unter Zusatz von Bz) verdampft. Der Rückstand gab im DC (Pe-Bz-An-(1:1:1)) neben einem starken Fleck von **6** einen schwächeren von **4**.

3) Bei 135°: *Di-O-acetyl-ψ-bufarenogin (6), Di-O-acetylarenobufagin (4) und ein unbekanntes Bufadienolid*. 400 mg **5** vom Smp. 211–220° wurden in 3,5 ml Py gelöst, auf 100° erwärmt, bei dieser Temperatur mit 2 ml Ac₂O versetzt und 3½ Std. auf 130° erhitzt. Nach Abdampfen des Py und Ac₂O im Vakuum (unter mehrmaligem Zufügen von Bz) wurde ein Rückstand erhalten, der im DC (Pe-Bz-An-(1:1:1)) 3 Flecke gab. Das rohe Acetylierungsprodukt wurde an 10 g SiO₂ aufgetrennt. Mit Chf (1 Fr) wurde die unpolare Substanz (56 mg) eluiert. Aus An-Ä feine Nadelchen einer unbekannt Substanz vom Smp. 219–224°. Das UV.-Spektrum ist im theoret. Teil erwähnt. – Die nächsten 2 Fr enthielten zur Hauptsache **4** (total rund 180 mg). Aus An 70 mg einheitliches **4** vom Smp. 245–253°; $[\alpha]_D^{23} = +45^\circ$ ($c = 1,3$ in Chf). – Die folgenden 9 Fr mit Chf gaben total 210 mg Rückstand, der nach DC praktisch nur aus **6** bestand.

b) *Mit Arenobufagin (3) bei 135°: Di-O-acetylarenobufagin (4)*. 43 mg reines **3** wurden in 0,8 ml Py gelöst, 5 Min. auf 100° erwärmt, bei dieser Temperatur mit 0,4 ml Ac₂O versetzt und hierauf 3 Std. auf 130–135° erhitzt. Nach Wegdampfen des Py und Ac₂O im Vakuum wurde der Rückstand im DC untersucht und gab hierbei nur einen Fleck, der in seinem Rf-Wert dem von **4** entsprach. Im UV.-Licht wurde ausserdem noch ein sehr schwacher Fleck einer polaren Substanz sichtbar, deren Rf-Wert mit dem von **6** übereinstimmte.

IV. Abbau von Di-O-acetylarenobufagin (4). – a) *3β,11α-Diacetoxy-12-oxo-14-hydroxy-5β,14β,17αH-ätiansäure-methylester (10)*. Die KMnO₄-Oxydation wurde wie früher [4] beschrieben durchgeführt. Es wurden aus 846 mg **4** 566 mg saure und 188 mg neutrale Anteile (enthält 3β, 11α-Diacetoxy-12, 20-dioxo-14-hydroxy-5β, 14β-pregnan-21-säure-lacton-(21 → 14)) erhalten. Die sauren Anteile gaben nach Methylierung mit ätherischem CH₂N₂ und Chromatographie an SiO₂ 281 mg reine Kristalle (Plättchen) des Esters **10**, Smp. 131–138°, und 120 mg krist. ML. 132 mg Material blieb ölig.

b) *10 aus 3β,11α-Diacetoxy-12, 20-dioxo-14-hydroxy-5β,14β-pregnan-21-säure-lacton-(21 → 14)*. 293 mg nach DC relativ reines Ketolacton (siehe oben unter a) wurden in 5 ml AcOH gelöst, mit 2 ml 30-proz. H₂O₂ versetzt, 24 Std. bei 20° und nach Zugabe weiterer 3 ml 30-proz. H₂O₂ noch 50 Std. bei 37° stehengelassen. Im Vakuum (bei 25°) unter Zusatz von Bz sowie Chf zur Trockene eingedampft und wie üblich aufgearbeitet: 230 mg Säure, die mit ätherischer CH₂N₂-Lösung verestert und in Py-Ac₂O nachacetyliert wurde. Nach DC identisch mit **10**, das aus den sauren Teilen des KMnO₄-Abbaus von **4** erhalten worden war.

c) *3β,11α-Diacetoxy-12-oxo-Δ¹⁴-5β,17αH-ätiansäure-methylester (13) und 3β,11α-Diacetoxy-12-oxo-Δ⁸⁽¹⁴⁾-5β,17αH-ätiansäure-methylester (12) aus 10*. 661 mg des Esters **10**, Smp. 131–138°, wurden in 1 ml Py gelöst, auf –10° abgekühlt und mit 1,1 ml einer gekühlten Lösung von SOCl₂-Py-(1:2) versetzt. Es wurde zunächst 2 Std. bei 0°, dann noch 30 Min. bei 20° stehengelassen. Nach Zerlegung des abgekühlten Reaktionsgemisches mit kleinen Eisstückchen wurde mit 10 ml W versetzt und mit 20 ml Chf ausgeschüttelt. Die Chf-Phasen wurden in üblicher Weise mit verd. HCl und W gewaschen, über Na₂SO₄ getrocknet, filtriert und im Vakuum eingedampft. Der ölige Rückstand (662 mg) gab im DC (Bz-Pe-An-(1:1:1)) 3 Flecke (Intensität der Flecke etwa 8:2:1). Durch Chromatographie an SiO₂ konnte (mit Bz-Chf-(1:4) eluiert) die dem Hauptfleck entsprechende Substanz als einheitliches Produkt (480 mg) erhalten werden. Dieses blieb amorph. Die späteren Eluate (mit Bz-Chf-(1:4)) (total 158 mg) gaben nach dem Eindampfen einen farblosen Sirup. Aus An-Ä 25 mg Kristalle (Prismen) **12**, Smp. 200–206° und $[\alpha]_D^{23} = +44,4^\circ$ ($c = 1,0$ in Chf). Im DC rein und polarer als **13**. Das IR.-Spektrum lässt keine einer Doppelbindung zukommende Bande erkennen. Die C(NO₂)₄-Probe in wenig Chf war negativ. MG = 446, C₂₅H₃₄O₇.

d) *3β,11α-Diacetoxy-12-oxo-5β,14β,17αH-ätiansäure-methylester (15) und 3β,11α-Diacetoxy-12-oxo-5β,14α,17αH-ätiansäure-methylester (16) aus 13*. 230 mg amorpher reiner Ester **13** wurden

in 10 ml Me mit 100 mg PtO₂ und 12 Tropfen AcOH in der Schüttelbirne bei 20° hydriert. Nach Abfiltrieren vom Katalysator wurde das Filtrat im Vakuum zur Trockene gebracht, der Rückstand (im DC 4 Flecke) in 11 ml An gelöst, auf 0° abgekühlt und mit 0,65 ml KILIANI-Mischung [15] versetzt. Anschliessend wurde noch 10 Min. bei 20° stehengelassen, mit 8 ml W und etwas Na-Acetat versetzt, im Vakuum vom An befreit und die verbliebene wässrige Lösung 3mal mit je 25 ml Chf ausgeschüttelt. Die Chf-Phasen wurden der Reihe nach mit eisgekühlter Sodalösung und 15 ml W gewaschen, über Na₂SO₄ getrocknet, filtriert und im Vakuum eingedampft. Der Rückstand gab im DC nur noch 2 Flecke. Er wurde an 8 g Al₂O₃ (regeneriert [22]) in 11 Fr aufgeteilt. Fr 1–5 (Bz-Pe (4:1) und Bz) gaben 85 mg Eindampfrückstand. Aus Ä-Pe 25 mg Kristalle von **15**. Nach dem Umlösen aus Ä-Pe 23 mg Prismen vom Smp. 148–152°; $[\alpha]_D^{24} = +72,6^\circ$ ($c = 0,98$ in Chf). ORD.: siehe Fig. 7; $c = 0,102$; 25°. MG = 448, C₂₅H₃₆O₇. Aus den Fr 6–7 (Bz) liessen sich 110 mg Substanz gewinnen. Aus Ä-Pe 68 mg Prismen von **16**, Smp. 159–160°; $[\alpha]_D^{25} = +50^\circ$ (in Chf). ORD.: siehe Fig. 7; $c = 0,098$; 25°. MG = 448, C₂₅H₃₆O₇. PR.-Spektrum siehe Fig. 1.

V. Abbau von Di-O-acetyl- ψ -bufarenogin (6). – a) *3 β ,12 α -Diacetoxy-11-oxo-14-hydroxy-5 β ,14 β ,17 ξ -ätiansäure-methylester (11) aus 6*. 416 mg **6** vom Smp. 137–144° wurden in An gelöst und mit 450 mg fein gepulvertem KMnO₄ in kleinen Portionen versetzt, wobei zunächst sofort Reduktion zu MnO₂ eintrat (ohne merkliche Erwärmung der Reaktionslösung). Nach 1 Std. (auf der Schüttelmaschine) war das zugesetzte KMnO₄ völlig entfärbt. Eine weitere Zugabe von 45 mg KMnO₄ war noch nach 3 Std. nicht ganz verbraucht. Nach dieser Zeit wurde im Vakuum zur Trockene gebracht, der Rückstand fein zerrieben, mit 20 ml 1 N H₂SO₄ versetzt (kongosauer) und 4mal mit je 20 ml Chf ausgeschüttelt. Die Chf-Phasen wurden der Reihe nach über Na₂SO₄ getrocknet, filtriert und im Vakuum eingedampft. Der so erhaltene Rückstand (420 mg) wurde in 15 ml Chf-Ä-(4:1) gelöst und diese Lösung 3mal mit je 10 ml 2 N Sodalösung extrahiert. Übliche Aufarbeitung gab 19 mg (5,1%) Neutralteil. Die alkalischen Auszüge wurden mit 2 N H₂SO₄ kongosauer gemacht und mit Chf-Ä-(4:1) ausgeschüttelt. Nach üblicher Aufarbeitung wurden 336 mg (90%) saure Anteile erhalten. Die freie Ätiansäure von **11** liess sich nicht kristallisieren. Es wurden daher 320 mg in 0,5 ml Ä und 6 Tropfen Me gelöst, tropfenweise mit ätherischer CH₂N₂-Lösung versetzt und 30 Min. stehengelassen. Hierauf wurde im Vakuum zur Trockene gebracht, der Rückstand in 0,5 ml Py gelöst, mit 0,1 ml Ac₂O versetzt, 22 Std. bei 37° stehengelassen und dann unter mehrmaliger Zugabe von Bz im Vakuum eingedampft. Aus dem rohen Acetylierungsprodukt konnten nach Chromatographie an SiO₂ (aus den Fr mit Chf-Bz-(4:1)) 202 mg roher Ester **11** gewonnen werden. Aus Ä-Pe 141 mg Kristalle (feine, kleine Nadeln), Smp. 168–176°, nach dem Umlösen aus Ä-Pe Smp. 173–177°; $[\alpha]_D^{24} = -9,1^\circ$ ($c = 1,43$ in Chf).

b) *3 β ,12 α -Diacetoxy-11-oxo- Δ^{14} -5 β ,17 ξ -ätiansäure-methylester (14) aus 11*. 300 mg des Esters **11** wurden in 2,0 ml Py gelöst, auf –10° abgekühlt, mit 1,5 ml einer gekühlten Mischung von Py-SOCl₂-(1:1) versetzt und zunächst 3 Std. bei 0° und dann noch 30 Min. bei 20° stehengelassen. Nach dem Abkühlen zerlegte man das Gemisch mit kleinen Eisstückchen, versetzte mit 10 ml W und schüttelte 3mal mit je 20 ml Chf aus. Die Chf-Auszüge wurden der Reihe nach mit je 15 ml 2 N HCl, Sodalösung (2 ml 2 N Na₂CO₃-Lösung in 15 ml W) und W gewaschen, über Na₂SO₄ getrocknet, filtriert und im Vakuum eingedampft. Der Rückstand gab im DC neben einem Hauptfleck noch 3 weitere, sehr schwache Flecke. Nach Chromatographie an 3 g SiO₂ konnten aus den Eindampfrückständen 233 mg reiner Ester **14** (Nadeln aus Chf-Ä-Pe), Smp. 170–173° und $[\alpha]_D^{24} = +120,8^\circ$ ($c = 1,227$ in Chf) erhalten werden. Nach dem Umlösen aus Chf-Ä-Pe Smp. 173–177°, C(NO₂)₄-Probe in wenig Chf gelb.

c) *3 β -12 α -Diacetoxy-11-oxo-5 β ,17 β H-ätiansäure-methylester (17) aus 14*. 50 mg Ester **14** vom Smp. 170–173° wurden in 5 ml AcOH gelöst, mit 25 mg PtO₂ versetzt und 3 Std. bei 20° in der Schüttelbirne hydriert. Das nach üblicher Aufarbeitung erhaltene Rohprodukt gab im DC nur einen Fleck, dessen Rf-Wert etwas kleiner war als der des Ausgangsmaterials **14**. (Spuren von Verunreinigungen waren im DC nur unter dem UV.-Licht feststellbar.) Aus Ä-Pe-Chf 27 mg reiner Ester **17** (Plättchen), Smp. 205–207°; $[\alpha]_D^{25} = +9,6^\circ$ ($c = 1,3$ in Chf); ORD.: siehe Fig. 7; $c = 0,101$; 25°. MG = 448 C₂₅H₃₆O₇. PR.-Spektrum siehe Fig. 2. – In einem zweiten Hydrierungsversuch wurden aus 200 mg **14** 152 mg reiner kristallisierter Ester **17** erhalten.

VI. Partialsynthese von 3 β , 11 β -Diacetoxy-12-oxo-5 β , 17 α H-ätiansäure-methylester (18) und 3 β , 12 β -Diacetoxy-11-oxo-5 β , 17 α H-ätiansäure-methylester (19). – Diese beiden Isomere wurden aus 3 β -Acetoxy-12-oxo-5 β ,17 α H-ätiansäure-methylester (**20**) hergestellt, der

sich durch Abbau von Digoxigenin nach den Angaben von PATAKI *et al.* [8] leicht gewinnen lässt (Gesamtausbeute 12,3%). Die letzten Stufen wurden nach SCHINDLER [7] ausgeführt. Beispiel: 106 mg Keton **20** wurden in das amorphe 11-Bromketon übergeführt: 122 mg. Es war nach DC weitgehend einheitlich und enthielt (neben Spuren von nur im UV.-Licht sichtbaren Verunreinigungen) noch zu 5–10% ein polareres Nebenprodukt, aber kein **20**. Aus 121 mg 11-Bromketon wurden nach Reaktion mit KOH in Me (ohne vorherige Chromatographie) durch direkte Kristallisation (aus Ä-Pe) 49 mg reines **19** (Prismen) vom Smp. 225–235° und $[\alpha]_D^{25} = +36,7^\circ$ ($c = 1,34$ in Chf) erhalten. ORD.: siehe Fig. 7; $c = 0,106$; 25°. MG = 448, C₂₅H₃₆O₇. PR.-Spektrum siehe Fig. 3. – Die Herstellung des 11- β -Acetoxyesters **18** verursachte einige experimentelle Schwierigkeiten: 181 mg des 11-Bromketons gaben in einem Fall (nach wiederholter chromatographischer Auftrennung an SiO₂) 15 mg (= 8,4%) reinen Ester **18** (Prismen aus Ä-Pe) Smp. 167–171°, $[\alpha]_D^{25} = +138,5^\circ$ ($c = 0,64$ in Chf). ORD.: siehe Fig. 7; $c = 0,098$; 25°. PR.-Spektrum siehe Fig. 4. – In einem andern Ansatz mit 259 mg 11-Bromketon wurden nur 11 mg (5,8%) reine Kristalle gewonnen. Bei einem weitern Ansatz mit 200 mg Bromid liess sich überhaupt kein **18** gewinnen.

Triketon 21 aus 5. 22 mg **5**, Smp. 206–214°, in 5 ml An gelöst, mit einem Überschuss an KILIANI-Lösung [15] 10 Min. bei 0° oxydiert. Übliche Aufarbeitung gab 16 mg Substanz. Aus CH₂Cl₂ Kristalle **21**, Smp. 210–217° (Sint. ab 206°). Die Mischprobe mit dem aus Arenobufagin bereiteten Triketon [4] zeigte keine Smp.-Depression und gab im DC [Chf-E-(9:1)] nur einen Fleck.

Triacetylverbindung 23 aus 16 über 22. 12 mg **16**, Smp. 156–159°, sowie 20 mg **16**, Smp. 158–160°, wurden in 20 ml THF mit einem Überschuss an LiAlH₄ reduziert. Übliche Aufarbeitung gab 29 mg rohes Tetro, das in 1 ml Py mit 0,7 ml Ac₂O 15 Std. bei 37° acetyliert wurde. Aus CH₂Cl₂-Ä-Pn nach zweimaliger Kristallisation 14 mg zu Drusen vereinigte feine Nadeln vom Smp. 182–188° (Sint. ab 165°). PR.-Spektrum: (C-12)- α H: 4,74 ppm, Dublett $J \sim 9$ Hz. – 13 mg **22**, Smp. 182–188°, in 1 ml An mit 0,1 ml KILIANI-Lösung [15] 7 Min. bei 0° oxydiert, dann wie üblich aufgearbeitet: 13 mg Neutrales. Die daraus erhaltenen Kristalle gaben nach dem Umlösen aus wenig CH₂Cl₂-Pe 6 mg Prismen vom Smp. 151–153°. Nach DC (Ä-Pn-(1:1)) einheitlich und deutlich polarer als das aus **17** über **24** bereitete **25**, dagegen nach DC [Ä-Pn-(1:1); CH₂Cl₂-Al-(98,5:1,5); E-Pn-Bz-(1:1:1)], Misch-Smp. und PR.-Spektrum (siehe Fig. 5) identisch mit dem aus **19** bereiteten **23**.

Triacetylverbindung 25 aus 17 über 24. 20 mg **17**, Smp. 197–205°, in 8 ml THF mit 30 mg LiAlH₄ 5 Std. (unter Rückfluss) reduziert. Übliche Aufarbeitung [Chf-Al-(4:1)] gab 14 mg Substanz (nach DC [E-An-Pn-(1:1:1)] einheitlich), die 14 Std. bei 20° in Ac₂O-Py acetyliert wurden: 15 mg rohes **24**. PR.-Spektrum: (C-12 β)-H zeigt Dublett bei 4,65 ppm, $J \sim 3,5$ Hz. 6 mg rohes **24** wurden in 1 ml An mit 0,1 ml KILIANI-Lösung [15] 7 Min. bei 0° oxydiert. Übliche Aufarbeitung gab 5 mg Neutrales = **25**, das nach DC [Ä-Pn-(1:1)] deutlich unpolarer war als **23**.

26 aus 19. 18 mg **19**, Smp. 229–232°, und 5 mg gute ML **19** wurden in THF 6 Std. mit LiAlH₄ (unter Rückfluss) reduziert. Das rohe Tetro (21 mg) wurde in Ac₂O-Py 17 Std. bei 20° acetyliert: 25 mg. Mit Ä durch etwas SiO₂ filtriert und aus Ä-Pn kristallisiert: 13,5 mg Nadeln **26**, Smp. 155–159°. PR.-Spektrum: (C-12 α)-H zeigt Dublett bei 4,67 ppm, $J \sim 3,5$ Hz.

28 aus 27. 70 mg **27** (PR.-Spektrum siehe Fig. 6), Smp. 168–170° in THF mit einem Überschuss an LiAlH₄ 6 Std. (unter Rückfluss) reduziert. Übliche Aufarbeitung gab 59 mg Schaum; aus An-Ä 38 mg Tetro, Smp. 118–125° (Sint. ab 115°). Nach dem Umlösen 28 mg Prismen vom Smp. 119–125°, wovon 10 mg in Ac₂O-Py 14 Std. bei 20° acetyliert wurden: 12 mg rohes **28**. PR.-Spektrum: (C-12 β)-H zeigt Dublett bei 4,82 ppm, $J \sim 2,5$ Hz.

VII. Umlagerungsversuche. – a) 10 mg des Esters **16** wurden in 0,5 ml 20-proz. methanolischer KOH gelöst und 30 Min. gekocht. Nach dem Ansäuern mit 2N HCl (bis eben kongosauer) wurde mit 2–3 ml Chf ausgeschüttelt. Die Chf-Phasen wurden mit W gewaschen, über Na₂SO₄ getrocknet, filtriert und im Vakuum verdampft. Der Rückstand wurde in wenig Me gelöst, mit ätherischem CH₂N₂ versetzt, 10 Min. bei 20° stehengelassen, im Vakuum zur Trockene gebracht und in einigen Tropfen Py und Ac₂O 16 Std. bei 37° stehengelassen. Nach üblicher Aufarbeitung konnten aus dem Rohprodukt durch Kristallisation (aus Ä-Pe) 5 mg reiner Ester **19** vom Smp. 231–236°, Misch-Smp. 229–234°, gewonnen werden.

b) 10 mg **17** wurden wie unter a) mit 20-proz. methanolischer KOH erhitzt usw. Es konnten 3 mg **17** in Kristallen vom Smp. 202–206° zurückgewonnen werden.

c) **27 aus 17.** 25 mg **17**, Smp. 205–207°, wurden in 1,25 ml DMF gelöst, mit einer warmen (50°) Lösung von 60 mg NaOAc in 0,04 ml W und 0,08 ml Ac₂O versetzt und in einer Ampulle einge-

schmelzen 12 Std. auf 110° erhitzt. Übliche Aufarbeitung gab 27 mg Schaum. Aus Ä-Pn 12 mg Kristalle **17**, Smp. 185–205° (Sint. ab 150°). Die ML gaben aus dem gleichen Lösungsmittel Rhomben, Smp. 150–160°, nach dem Umkristallisieren fächerartige Prismen, Smp. 158–163° (Sint. ab 155°). Misch-Smp. mit **27** ohne, mit **16** dagegen mit Depression.

d) **19** aus **27**. 32 mg **27** in 1,5 ml 20-proz. methanolischer KOH 30 Min. unter Rückfluss erhitzt, hierauf angesäuert und mit Chf-Ä-(1:4) ausgeschüttelt gab 30 mg Verseifungsprodukt. Dieses wurde mit ätherischer CH₂N₂-Lösung verestert und anschliessend in Ac₂O-Py 14 Std. bei 37° acetyliert. Nach üblicher Aufarbeitung wurde das Rohprodukt in Ä durch wenig Al₂O₃ filtriert und eingedampft: aus Ä-Pn 13 mg **19**, Smp. 220–230° (Sint. ab 190°), nach Umkristallisieren 12 mg Nadeln, Smp. 230–232° (Sint. ab 210°); keine Smp.-Depression mit authentischem **19**. Aus der ML (Ä-Pn) Kristalle von **27**, Smp. 150–162°.

e) **19** aus **19**. 30 mg **19**, Smp. 235–237°, gelöst in 1,5 ml DMF, mit einer warmen Lösung (50°) von 75 mg NaOAc in 0,05 ml W und 0,1 ml Ac₂O versetzt, wurden in einer Ampulle eingeschmolzen 12 Std. auf 110° erhitzt. Nach üblicher Aufarbeitung 29 mg Substanz. Bei der Chromatographie an 3,0 g SiO₂ liessen sich mit [Bz-Ä-(4:1)] total 26 mg Substanz vom Smp. 220–230° eluieren. Umkristallisieren aus Ä-Pn gab 17 mg **19** vom Smp. 229–233°; keine Smp.-Depression mit Ausgangsmaterial **19**.

23 aus **26**. 9 mg ML von **26** wurden in 1,5 ml An mit 0,1 ml KILIANI-Lösung [15] 8 Min. bei 0° oxydiert. Übliche Aufarbeitung gab 9 mg Neutrales. Aus CH₂Cl₂-Pe Prismen, Smp. 143–150°, die nach Misch-Smp., DC [Ä-Pn-(1:1); CH₂Cl₂-Al-(98,5:1,5); E-Pn-Bz-(1:1:1)] und PR.-Spektrum identisch waren mit aus **16** bereitetem **23**.

ZUSAMMENFASSUNG

Aus der chinesischen Krötengiftdroge *Ch'an Su* konnte ein bisher unbekanntes Bufogenin isoliert werden, das sich bei den chromatographischen Auftrennverfahren wie Bufarenogin verhält, weshalb wir es ψ -Bufarenogin **5** nennen. – **5** und Arenobufogin (**3**) gehen bei der vorsichtigen Dehydrierung in dasselbe 3,11,12-Trioxobufadienolid über, unterscheiden sich somit lediglich in ihrer Ketolstruktur an C-11/C-12. Der aus der Acetylverbindung von **5** durch Abbau erhaltene Ätiansäuremethylester **17** war mit den vier möglichen, bereits bekannten C-11/C-12-Acetoxyketonen der Ätiansäure-Reihe nicht identisch. Auf Grund chemischer und vor allem spektroskopischer Befunde dürfte der aus **5** erhaltene Abbauester 17 β H-Konfiguration besitzen, die sich im Laufe des Abbaus durch Umlagerung ausgebildet hat. ψ -Bufarenogin ist 3 β ,12 α ,14-Trihydroxy-11-oxo-5 β -bufa-20,22-dienolid entsprechend Formel **5**. Bufarenogin besitzt 12 β -Hydroxy-11-oxo-Struktur; die Stereochemie an C-17 ist noch nicht abgeklärt.

Pharmazeutisches Institut der Universität Basel

LITERATURVERZEICHNIS

- [1] E. ISELI, M. KOTAKE, EK. WEISS & T. REICHSTEIN, *Helv.* **48**, 1093 (1965).
- [2] R. REES, O. SCHINDLER, V. DEULOFEU & T. REICHSTEIN, *Helv.* **42**, 2400 (1959).
- [3] P. HOFER & K. MEYER, *Helv.* **43**, 1495 (1960).
- [4] P. HOFER, H. LINDE & K. MEYER, *Tetrahedron Letters* **1959**, No. 7, S. 8; *Helv.* **43**, 1950 (1960).
- [5] H. KÜNDIG-HEGEDÜS & O. SCHINDLER, *Helv.* **39**, 904 (1956).
- [6] O. RENKONEN, O. SCHINDLER & T. REICHSTEIN, *Croatica chem. Acta* **29**, 239 (1957).
- [7] O. SCHINDLER, *Helv.* **39**, 1698 (1956).
- [8] S. PATAKI, K. MEYER & T. REICHSTEIN, *Helv.* **36**, 1295 (1953).
- [9] O. RENKONEN, O. SCHINDLER & T. REICHSTEIN, *Helv.* **42**, 182 (1959).
- [10] H. HEGEDÜS, CH. TAMM & T. REICHSTEIN, *Helv.* **38**, 98 (1955).
- [11] T. F. GALLAGHER & W. P. LONG, *J. biol. Chemistry* **162**, 521 (1946); W. P. LONG & T. F. GALLAGHER, *ibid.* **162**, 511 (1946); T. F. GALLAGHER *ibid.* **165**, 211 (1946); vergl. auch B. B. LONGWELL & O. WINTERSTEINER, *J. Amer. chem. Soc.* **62**, 200 (1940).

- [12] CH. TAMM & G. BAUMGARTNER, *Helv.* **38**, 441 (1955).
 [13] M. STEIGER & T. REICHSTEIN, *Helv.* **27**, 828 (1938); K. MEYER, *Helv.* **32**, 1238 (1949).
 [14] H. TOBIAS, *Helv.* **46**, 159 (1963).
 [15] K. BOWDEN, I. M. HEILBRON, E. R. H. JONES & B. C. L. WEEDON, *J. chem. Soc.* **1946**, 39; R. G. CURTIS, SIR IAN HEILBRON, E. R. H. JONES & G. P. WOODS, *J. chem. Soc.* **1953**, 457.
 [16] N. S. BHACCA & D. H. WILLIAMS, «Applications of NMR.-Spectroscopy in Organic Chemistry», Holden-Day Inc., San Francisco, Calif., 1964, S. 117.
 [17] R. F. ZÜRCHER, *Helv.* **46**, 2054 (1963).
 [18] s. [16], S. 14 ff.
 [19] H. SUHR, «Anwendungen der Kernmagnetischen Resonanz in der Organischen Chemie», Springer Verlag, Berlin 1965, S. 244 ff.
 [20] K. MEYER, *Helv.* **30**, 1976 (1947), und weitere Lit. daselbst.
 [21] P. ST. JANIÁK, EK. WEISS & T. REICHSTEIN, *Helv.* **50**, 1249 (1967), siehe besonders S. 1253 und daselbst Fussnote 13.
 [22] J.-P. RUCKSTUHL & K. MEYER, *Helv.* **40**, 1270 (1957), siehe besonders S. 1285, Fussnote 26.

206. 1-Hydrazinoadamantan

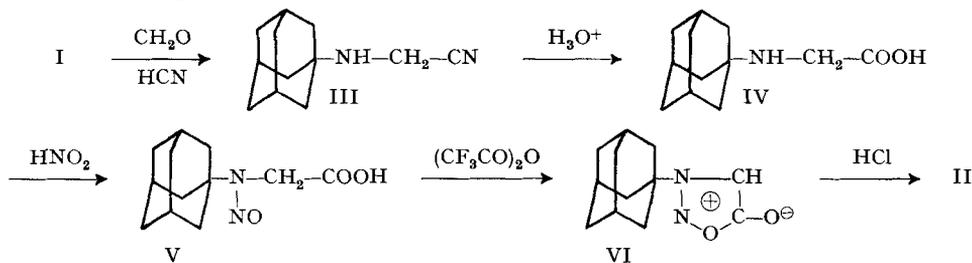
von H. U. Daeniker¹⁾

(30. VIII. 67)

Das vor einigen Jahren erstmals hergestellte 1-Aminoadamantan (I) [1] hat in neuester Zeit auf Grund seiner selektiven Hemmwirkung auf Influenza-Viren ein weltweites Interesse erweckt [2]²⁾. In diesem Zusammenhang haben wir uns für das entsprechende Hydrazin-Derivat, II, interessiert.



Auf Grund des reaktiven Verhaltens der Adamantane [3] war von Anfang an klar, dass sich II nicht direkt aus dem relativ leicht zugänglichen 1-Bromadamantan herstellen liesse. Wir haben deshalb den schon früher benutzten Weg zur Überführung von Aminen in Hydrazine *via* Sydnone gewählt [4], eine Methode, die sich übrigens auch bei der Synthese eines Brückenkopf-Hydrazins in einem bicyclischen System bewährt hat [5].



¹⁾ Gegenwärtige Adresse: GIVAUDAN CORP., Clifton, N. J., USA.

²⁾ Symmetrel® der E. I. DU PONT DE NEMOURS & Co.; Kurzbezeichnung: Amantadine.