

259. Trispara-aspidin, ein neues Phloroglucid aus dem Farn *Dryopteris remota* (A. Br.) Hayek

von C.-J. Widén, J. von Euw und T. Reichstein

Abteilung für Pharmakognosie der Universität Helsinki und
Organisch-chemisches Institut, Basel

(14. X. 70)

Summary. *Dryopteris remota* (A. Br.) Hayek is regarded as a triploid apogamous species, perhaps a hybrid of ♀ *D. assimilis* Walker with ♂ diploid *D. borneri* Newm. The phloroglucides (phloroglucinol derivatives) of its rhizomes were investigated; their nature is compatible with the mentioned hypothesis. Besides several known compounds a new tricyclic phloroglucide $C_{36}H_{44}O_{12}$, designated trispara-aspidin was isolated. According to mass spectrum and products of reductive cleavage it has the structure given in formula 14.

1. *Problemstellung und botanische Befunde.* Die Farngattung *Dryopteris* enthält zahlreiche Arten, die in ihren Rhizomen und Stielbasen charakteristische Phloroglucinderivate (= Phloroglucide) enthalten [1] [2]. Einige Arten, vor allem *D. filix-mas* (L.) Schott (der Wurmfarne), werden seit langem medizinisch verwendet und sind dementsprechend schon oft untersucht worden. Die Phloroglucide sind als Träger der Wirkung erkannt und die wichtigsten Vertreter schon lange bekannt. In den Pflanzen liegen aber recht komplizierte und teilweise schwer trennbare Gemische vor, deren Zusammensetzung und chemischer Bau erst in den letzten Jahren genau ermittelt wurde. Die Resultate sind in einem ausgezeichneten Übersichtsreferat von Penttilä & Sundman [2g] zusammengestellt. Wir verwenden hier die von diesen Autoren benützte Nomenklatur. In letzter Zeit wurde auch festgestellt, dass die einzelnen *Dryopteris*-Arten teilweise verschiedene Phloroglucide führen und dass die genaue Identifizierung der einzelnen Vertreter bzw. die Ermittlung des jeweiligen «Spektrums» taxonomischen Wert besitzt [2] [3] [4] und wahrscheinlich auch über die Verwandtschaft verschiedener Arten begründete Vermutungen aufzustellen erlaubt, bei Bastarden auch über Abstammung der Pflanzen.

Hier wird über die Phloroglucide von *Dryopteris remota* (A. Br.) Hayek [5] berichtet. Es ist dies eine triploide apogame Sippe («n» = $2n = 123$ [6] [7])¹⁾, die in Mitteleuropa verstreut (ziemlich selten) in kleinen Gruppen wächst, die aber vielleicht noch weiter verbreitet sein könnte und deren Status umstritten ist²⁾. In den meisten Floren ist sie nicht erwähnt, weil sie bisher immer als Bastard von *D. filix-mas* × *D. carthusiana* (Villars) H. P. Fuchs oder *D. filix-mas* × *D. dilatata* (Hoffm.) A. Gray angesehen wurde [6f] [8]. Auf Grund der Cytologie [6, 7] ist dies kaum möglich. Falls die Pflanze wirklich als Bastard in Europa entsteht oder einmal so hier entstanden ist, kommt theoretisch wohl nur die folgende Kombination in Betracht: ♀ *D. assimilis*

¹⁾ Rothmaler [8] zitiert Druce als Autor für die Kombination. Wir konnten die Publikation von Druce bisher leider nicht finden.

²⁾ Ausserdem ist aus England (Windermeere) ein tetraploider steriler Bastard [7] bekannt, der auf Grund der äusserlich ähnlichen Morphologie denselben Namen erhalten hatte. Er wurde nur einmal gefunden und künstlich auf vegetativem Wege vermehrt.

Walker × ♂ diploide Sippe von *D. borrieri Newman*. *D. assimilis* [9] ist eine diploide Sippe [7] [9], die sich normal sexuell fortpflanzt. *D. borrieri* ist obligat apogam [6] [7], produziert aber fertile männliche Gameten und kann als männlicher Partner auch Kreuzungen erzeugen [7] [10]. Von der genannten Kombination wäre nicht nur die richtige Cytologie, sondern auch die richtige Morphologie von *D. remota* zu erwarten. Es ist daher durchaus möglich, dass die Pflanze wirklich so entsteht oder einmal so entstanden ist, obwohl Versuche, einen solchen Bastard experimentell zu erzeugen (*W. Dopp* (†), pers. Mitt.; *G. Vida*, pers. Mitt.; *T. Reichstein*, unpublizierte Versuche), bisher keinen Erfolg hatten. *D. remota* ist nicht steril, wie *Rothmaler* [8] angibt, sie produziert normale Sporen und lässt sich aus solchen leicht aufziehen. Es liegt somit kein Grund vor, sie nicht als Species zu betrachten, wie dies bei vielen anderen triploiden apogamen Sippen üblich ist. Eine orientierende chemische Analyse ihrer Phloroglucide ist bereits von *Fikenscher & Hegnauer* [3b] beschrieben.

2. *Beschaffung des Pflanzenmaterials*. Zur Untersuchung dienten Rhizome der zwei folgenden Provenienzen:

Probe a) 16,5 g luftgetrocknete Stielbasen und Stück vom Rhizom, *leg. W. Gätzi, T. Reichstein & M. und V. Sorsa*, Kressbrunnen (St. Gallen, Schweiz), 2. 7. 1968.

Probe b) Nr. TR-288. 264 g luftgetrocknetes ganzes Rhizom, *leg. E. Oberholzer & T. Reichstein*, kleiner Wald bei Teufenbach, südwestlich Schönenberg (westl. Hütten, Kt. Zürich, Schweiz), 4. Sept. 1960, seither kultiviert in Basel und durch Aussaat vermehrt. Rhizom getrocknet bei 40° am 19. Okt. 1969.

3. *Extraktion und Vortrennung der Extrakte*. Die Herstellung der rohen Äther-Extrakte geschah nach früheren Angaben [4g]. Daraus wurde das Rohfilicin³⁾ nach der schonenden Mg-Schnellmethode von *Ackermann* [11] wie früher beschrieben [4a] isoliert. Als Stabilisator diente Na-Sulfit. Die sonst leicht eintretende Disproportionierung und Spaltung der natürlichen polycyclischen Phloroglucide wird dadurch weitgehend vermieden [4g]. Über die Ausbeuten orientiert Tabelle 1.

Tabelle 1. *Ausbeuten an rohen Extrakten aus Rhizomen von D. remota*

Probe Nr.	Gewicht des getrockneten Rhizoms	Roher Äther-Extrakt Menge		Rohfilicin Menge	
		in g	in %	in g	in %
Probe a)	16,5	1,25	7,6	0,371	2,5
Probe b)	264,0	9,814	3,7	2,474	0,93

Der Unterschied in den Ausbeuten ist kaum signifikant, teilweise durch unterschiedlichen Trocknungsgrad bedingt, teilweise dadurch, dass Probe a) vor allem Stielbasen enthielt.

4. *Untersuchung und Trennung des Rohfilicins*. Die semiquantitative Bestimmung geschah durch Dünnschichtchromatographie (DC.), teilweise nach vorheriger präparativer Anreicherung mit visueller Auswertung der einzelnen Flecke [12]. Wie früher

³⁾ Unter Rohfilicin wird üblicherweise das gesamte Gemisch der Phloroglucide aus *Dryopteris filix-mas* und seiner Verwandten verstanden, während das entsprechende Material aus der Gruppe von *D. austriaca* als Rohaspidin bezeichnet wird. Wir verwenden hier die erstgenannte Bezeichnung.

erwähnt [4b, c, g] können die Homologen (Butyryl-, Propionyl- und Acetyl-Derivate, abgekürzt B, P und A) der einzelnen Phloroglucide dabei meistens nicht getrennt werden⁴⁾.

Die präparative Trennung der Rohfilicine geschah wie in analogen Fällen [4a, b, c, f] durch Säulenchromatographie an SiO₂. Dabei liessen sich die 4 folgenden Präparate isolieren:

- a) *Albaspidin*, Smp. 146–148°, hauptsächlich das BB-Homologe **1** enthaltend.
- b) *Para-aspidin*, Smp. 122–124°, wobei nicht untersucht wurde, welches Homologe vorwiegt; in Formel **2** ist das BB-Homologe wiedergegeben.
- c) *Trispara-aspidin*, Smp. 143–147° oder 157–160°, ein neuer Stoff (Strukturbeweis siehe unten). Unser Präparat bestand vorwiegend aus dem BBB-Homologen **14**, dem etwas ABB-Homologes beigemischt war.
- d) *Aspidinol* (**15**).

Die Stoffe a), b) und d) sind bekannt, sie wurden durch DC., Farbreaktionen und Mischproben mit authentischem Material identifiziert. Zu erwähnen ist, dass Aspidinol (**15**) in Farnen der Gattung *Dryopteris* nicht vorkommen soll, dass es aber aus Para-aspidin (**2**) sehr leicht mit Basen (wie MgO) oder schon durch blosses Erhitzen entsteht [2f] [4a]. Da die Rhizome von *D. remota* sehr reich an Para-aspidin sind, vermuten wir, dass Aspidinol hier ebenfalls als Artefact auftritt.

Ausser diesen vier in Kristallen isolierten Stoffen liessen sich in dem Rohfilicin aus *D. remota* durch DC. noch weitere 6 bekannte Phloroglucide nachweisen, wobei nur bei Albaspidin und Aspidin jeweils zwei Homologe gezählt sind. Filixsäure (eine der Hauptkomponenten in *D. filix-mas*) war nicht nachweisbar. Über die halbquantitativ bestimmten Mengen [12] orientiert Tabelle 2. Probe a) und Probe b) gaben dabei dasselbe Resultat, die daraus gewonnenen Rohfilicine wurden daher für die präparative Trennung vereinigt.

Tabelle 2. *Semiquantitative Zusammensetzung des Rohfilicins von Dryopteris remota.*

Stoff	Gehalt in % des Rohfilicins
«Albaspidin-1» (vorwiegend 1)	(+)
«Albaspidin-2» („ 3)	(+)
Aspidin BB (6)	+
„ AB ⁵⁾	+
Filixsäure (8)	–
Para-aspidin (2) ⁶⁾	+++
Trispara-aspidin (14)	+++
Desaspidin (5) ⁶⁾	(+)
Trisdesaspidin (7) ⁶⁾	(+)
Flavaspidsäure (4) ⁶⁾	++

Ausserdem Aspidinol (**15**), vermutlich als Artefact. Es bedeuten: – = weniger als 1%; (+) = 1–5%; + = 5–10%; ++ = 10–20% und +++ = $\geq 20\%$. «Albaspidin-1» ist ein Gemisch der homologen Albaspidine BB, PB und PP (hier vorwiegend BB); «Albaspidin-2» ist ein Gemisch der Albaspidine BA und PA (hier vorwiegend BA), vgl. [4g].

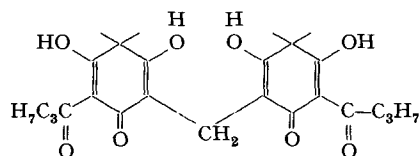
⁴⁾ Eine Trennung der Homologen im DC. gelingt bei Albaspidin und Aspidin [4g].

⁵⁾ Entspricht Formel (**6**), aber mit Acetyl- statt Butyryl-Rest im ersten Ring (Acetylfilicinsäure).

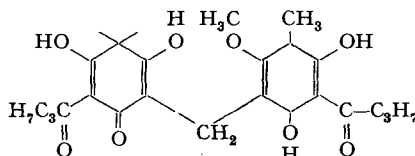
⁶⁾ Homologe nicht getrennt.

Fikenscher & Hegnauer [3b] hatten in einer orientierenden Untersuchung in *Dryopteris remota* Aspidinol (15), Flavaspidsäure (4), Para-aspidin(2) und einen nicht identifizierten Stoff Z nachgewiesen.

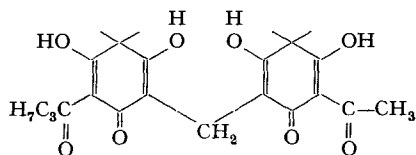
5. *Strukturabklärung von Trispara-aspidin*. Nach bisherigen Befunden war unser Präparat ein Gemisch, es enthielt als Hauptkomponente das Trispara-aspidin BBB (14) der Bruttoformel $C_{36}H_{44}O_{12}$ (668,7), dem eine kleine Menge des ABB-Homologen⁷⁾ ($C_{34}H_{40}O_{12}$ = 640,66) beigemischt war. Dafür spricht vor allem das Massenspektrum, das in anderem Zusammenhang publiziert und genau besprochen wird [4h]. Es zeigt eine deutliche Spitze höchster Masse bei m/e = 668, die wir dem Molekel-Ion zu-



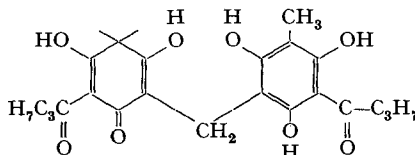
1 Albaspidin BB $C_{25}H_{32}O_8$ (460,5)
Smp. 146–148°



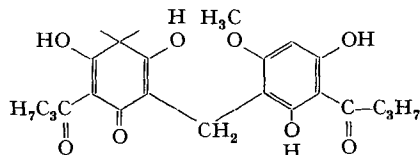
2 Para-aspidin BB $C_{25}H_{32}O_8$ (460,5)
Smp. 122–124°



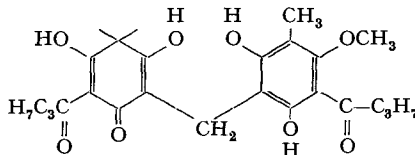
3 Albaspidin BA $C_{23}H_{28}O_8$ (432,45)



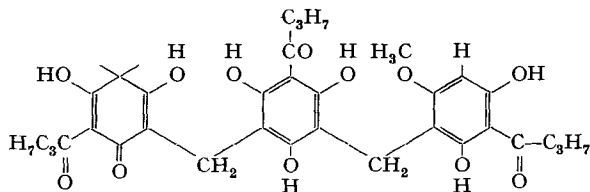
4 Flavaspidsäure BB $C_{24}H_{30}O_8$ (446,5)
Smp. 88–90°/156–158°



5 Desaspidin BB $C_{24}H_{30}O_8$ (446,5)
Smp. 150–152°



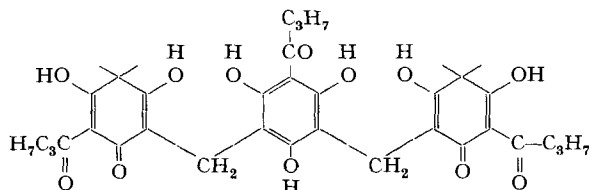
6 Aspidin BB $C_{25}H_{32}O_8$ (460,5)
Smp. 124–125°



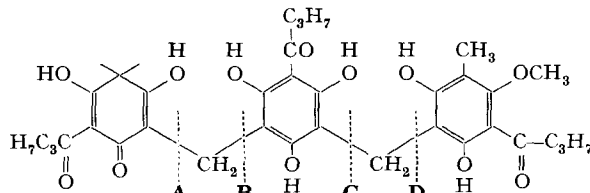
7 Trisdesaspidin $C_{35}H_{42}O_{12}$ (654,7)
Smp. 148–152°

schreiben, sowie eine Reihe von Spitzen, die den erwarteten Bruchstücken entsprechen; besonders stark ist die Spitze bei m/e = 181. Eine der Komponente ABB entsprechende Spitze bei m/e = 640 war jedoch nicht eindeutig feststellbar; die vor-

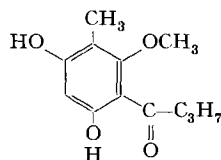
7) Entspricht Formel 14, aber mit Acetyl- statt Butyryl-Rest im ersten Ring (Acetylfilicin-säure).



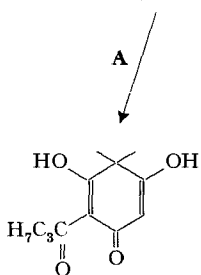
8 Filixsäure BBB $C_{36}H_{44}O_{12}$ (668,7)
Smp. 170–172°



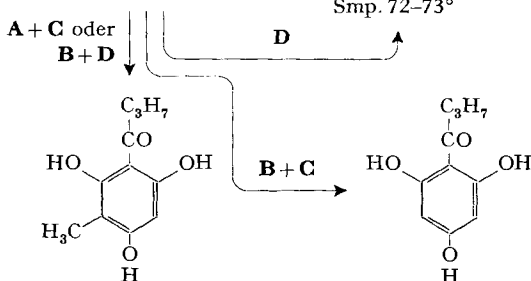
9 Trisäspidin $C_{36}H_{44}O_{12}$ (668,7) Smp. 156–159°



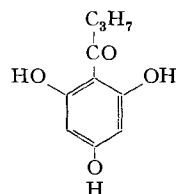
10 ψ -Aspidinol $C_{12}H_{16}O_4$ (224,2)
Smp. 72–73°



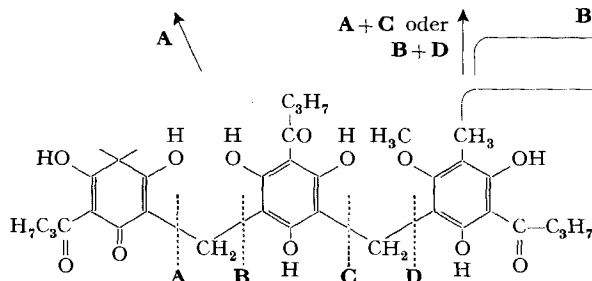
11 Butyrylfilicinsäure =
Filicinsäurebutanon
 $C_{12}H_{16}O_4$ (224,2)
Smp. 98°



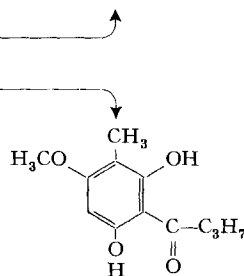
12 2-Butyryl-4-methyl-
phloroglucin = 3-Methyl-
phlorobutyrophenon
 $C_{11}H_{14}O_4$ (210,2)
Smp. 166–167°



13 Butyryl-phlorglucin =
Phlorbutyrophenon
 $C_{10}H_{12}O_4$ (196,2)
Smp. 185–186°



14 Trispara-aspidin $C_{36}H_{44}O_{12}$ (668,7)
Smp. 143–147° oder 157–160° (evtl. Kristall-
isomerie)



15 Aspidinol $C_{12}H_{16}O_4$ (224,2)
Smp. 142–143°

handene Menge war offenbar zu gering. Trispara-aspidin BBB ist daher isomer mit Flixsäure BBB (8) sowie mit Trisäspidin BBB (9). Während unser Trispara-aspidin sich nicht nur durch Smp. eindeutig von Filixsäure BBB unterscheidet, sondern auch im DC. leicht von ihm unterschieden werden kann, zeigen Trispara-aspidin und

Trisaspidin praktisch gleichen Smp. Leider war es uns nicht möglich, authentisches Trisaspidin für einen direkten Vergleich zu erhalten. Es soll versucht werden, diesen Stoff nochmals zu isolieren und Systeme anzugeben, in denen er von Trispara-aspidin unterschieden werden kann.

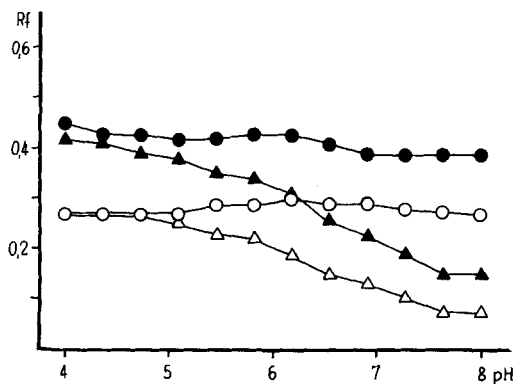


Fig. 1. *R_f*-Werte bei verschiedenem pH (4–8) in gepuffertem System bei DC

● = Para-aspidin (2); ○ = Desaspidin (5); ▲ = Trispara-aspidin (14); △ = Trisdesaspidin (7)

Dass Trispara-aspidin von Trisaspidin verschieden ist, ergab sich aus den Resultaten der reduktiven Spaltung nach *Boehm* [13] unter milden Bedingungen, wobei die Molekeln lediglich an den Methylenbrücken gespalten werden (entsprechend **A**, **B**, **C** und **D** in den Formeln **9** und **14**. *Penttilä & Sundman* [3] [2] haben in ihren eingehenden Untersuchungen über die Phloroglucide von «*Dryopteris austriaca*» (*Jacq.*) *Woynar*⁸⁾ von dieser Methode ausgiebig Gebrauch gemacht. Bei der Spaltung von Trisaspidin (**9**) haben sie [2d] von den sechs theoretisch möglichen Monomeren in Papierchromatogrammen vier eindeutig nachgewiesen, nämlich **10**, **11**, **12** und **13**. Unter gleichen Bedingungen erhielten wir bei der Spaltung von Trispara-aspidin (**14**) ein ähnliches Resultat. Auch hier konnten in Papier- und Dünnschichtchromatogrammen vier Monomere eindeutig nachgewiesen werden, nämlich **11**, **12**, **13** und **15**; das ψ -Aspidinol (**10**) war abwesend⁹⁾. Die Tatsache, dass sich aus Trisaspidin und Trispara-aspidin bei dieser Reaktion drei gleiche Spaltstücke bilden, während das vierte (**10** bzw. **15**) verschieden ist, spricht dafür, dass Trisaspidin und Trispara-aspidin sich lediglich durch Isomerie im dritten Ring unterscheiden, wie dies in den Formeln wiedergegeben ist. Wir haben uns speziell davon überzeugt, dass Aspidinol (**15**) unter den Bedingungen der alkalischen Spaltung nicht zu ψ -Aspidinol isomerisiert wird und dass auch die umgekehrte Reaktion dabei nicht eintritt, vgl. [4a], [14] und [15]. Die zwei Stoffe **10** und **15** lassen sich durch PC. und DC. eindeutig unterscheiden.

Im Folgenden geben wir noch einige Spektren der isolierten Stoffe. Fig. 2 zeigt das UV.-Absorptionsspektrum von Para-aspidin (**2**) in Cyclohexan und in Alkohol; wie

⁸⁾ *Dryopteris austriaca* ist heute als Komplex mehrerer Sippen erkannt. *Penttilä & Sundman* haben vermutlich *D. assimilis* *Walker* untersucht, vgl. *Widén* [4a].

⁹⁾ Dagegen wurde ein weiterer schwacher Fleck erhalten, der dem Filicinsäureacetylon (Acetyl-filicinsäure, entspr. Formel **11**, aber mit Acetyl- statt Butyryl-Rest) entsprach und der aus dem ABB-Homologon von **14** stammen dürfte.

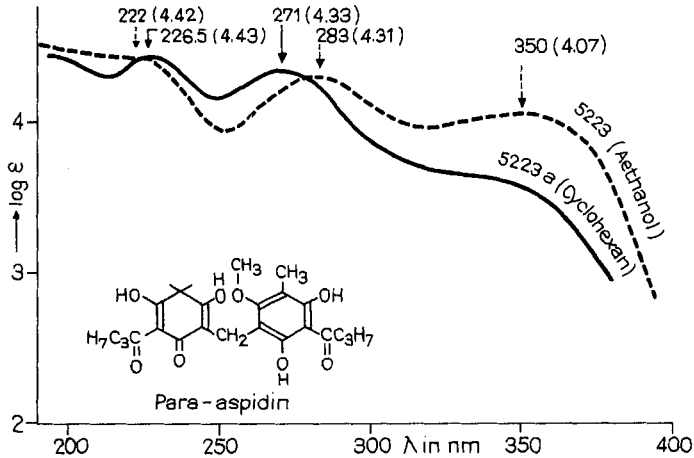


Fig. 2. UV.-Absorptionsspektrum von Para-aspidin (2) in Cyclohexan und in Alkohol¹⁰⁾, vgl. [2b].

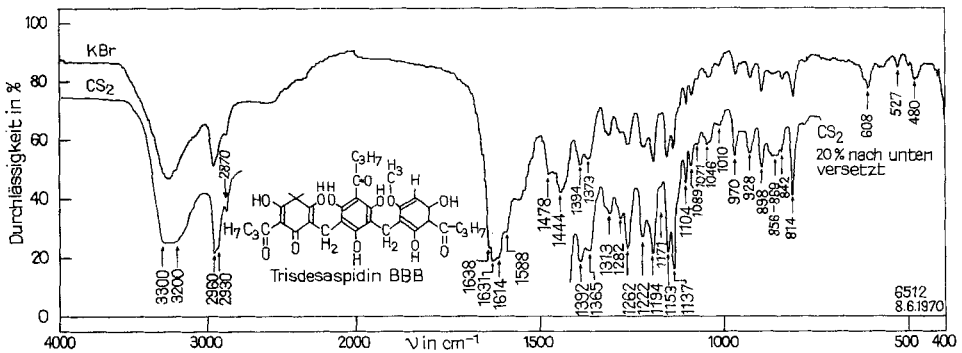


Fig. 3. IR.-Absorptionsspektrum von Trisdesaspidin (7)

Obere Kurve: 0,50 mg fest in KBr (ca. 300 mg); untere Teilkurve: 3,62 mg gelöst in ca. 0,15 ml CS_2 , $d = 0,2 \text{ mm}$ ¹¹⁾

erwartet, ist die Lage der Maxima stark vom Lösungsmittel abhängig. Die IR.-Spektren von Trisdesaspidin (7) und Trispara-aspidin (14) sind erwartungsgemäss sehr ähnlich. Ein deutlicher Unterschied ist im Gebiet der Absorption der Methylgruppen ($1350\text{--}1400 \text{ cm}^{-1}$) sichtbar. Trisdesaspidin (Fig. 3) zeigt in diesem Gebiet zwei Banden (in KBr bei ca. 1373 und 1394 cm^{-1}); bei Trispara-aspidin (Fig. 4) ist ausser diesen noch eine weitere Bande bei 1358 cm^{-1} sichtbar, die wir daher der aromatisch gebundenen Methylgruppe am dritten Ring zuschreiben. Sie ist auch im Spektrum von Para-aspidin deutlich (bei 1360 cm^{-1} , sowohl in KBr wie in Lösung, in CCl_4 wie auch in CS_2).

¹⁰⁾ Aufgenommen von Herrn K. Aegerter im Spektrollabor des Instituts für Organische Chemie der Universität Basel, auf einem Beckmann-Spektralphotometer, Modell DK-2; Grenze der Messbarkeit in Alk bei 195 nm .

¹¹⁾ Aufgenommen von Herrn K. Aegerter, daselbst, auf einem Perkin-Elmer-IR.-Gitter-Spektrophotometer, Modell 125.

Die Figuren 6–9 geben die NMR.-Spektren von Aspidinol (**15**), Para-aspidin (**2**), Trisdesaspidin (**7**) und Trispara-aspidin (**14**) wieder. Die Spektren stehen mit den Formeln in bestem Einklang. Die Signale der phenolischen Hydroxylgruppen sind jeweils sehr deutlich; sie liegen durchweg bei recht tiefem Feld, was einer starken H-Bindung entspricht, dies steht auch mit der Lage der –OH-Schwingungen in den IR.-Spektren (Fig. 3–5) in Einklang. Die versuchsweise Zuordnung der weiteren Signale ist aus den Figuren ersichtlich.

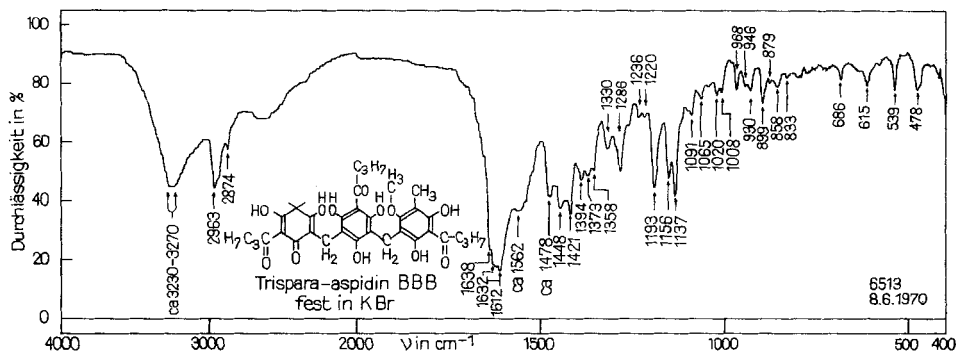


Fig. 4. IR.-Absorptionsspektrum von Trispara-aspidin (**14**), 0,56 mg fest in KBr (ca. 300 mg)¹¹⁾

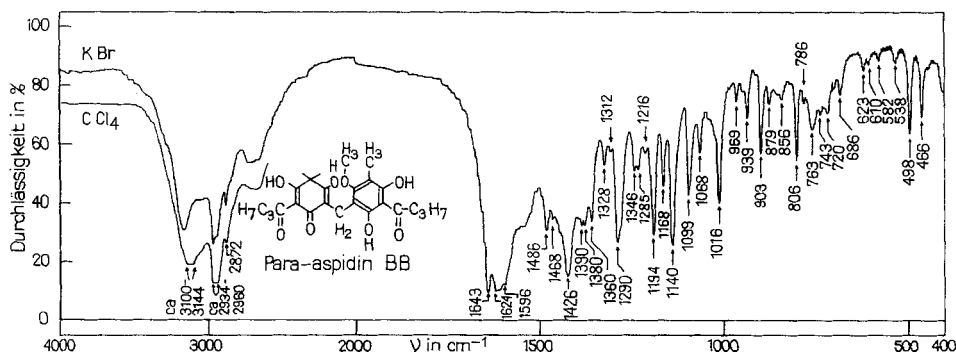


Fig. 5. IR.-Absorptionsspektrum von Para-aspidin (**2**)

Hauptkurve: 0,75 mg fest in ca. 300 mg KBr. Untere Teilkurve (20% nach unten versetzt): 0,06M Lösung in CCl₄, d = 0,2 mm¹¹⁾

Tabelle 3. Trennung von **2**, **5**, **7** und **14** im DC. bei pH = 6,0

Substanz	Rf-Werte mit 2 Fließmitteln		Färbung mit Echtblausalz B
	n-Hexan-Chloroform- (1:1) 3 × entwickelt	n-Hexan-Chloroform- Äthanol-(9:9:1) 1 × entwickelt	
Para-aspidin (2)	0,43	0,65	braun
Trispara-aspidin (14)	0,33	0,58	dunkelbraun
Desaspidin (5)	0,30	0,55	orangerot
Trisdesaspidin (7)	0,20	0,43	hellbraun

6. Unterscheidung von *Para*-aspidin (**2**), *Trispara*-aspidin (**14**), *Desaspidin* (**5**) und *Trisdesaspidin* (**7**) im DC. Zur Differenzierung dieser Stoffe ist die früher beschriebene Methode [4a] zur DC. auf gepufferten Schichten mit Hexan-Chloroform-(1:1) und n-Hexan-Chloroform-Äthanol-(9:9:1) als Fliessmittel gut brauchbar. Die Trennung liess sich mit dem weniger polaren Fliessmittel n-Hexan-Chloroform-(1:1) verbessern, wenn 3malige Entwicklung benützt wurde. Es ergaben sich dann die in Tabelle 3 zusammengestellten Daten.

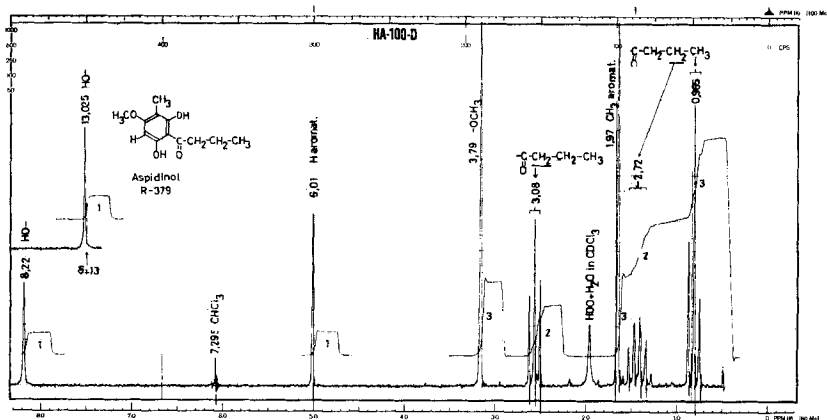


Fig. 6. NMR.-Spektrum von Aspidinol (**15**), Smp. 140–142°, in CDCl₃ + ca. 10% Hexadeutero-dimethylsulfoxid zur Erhöhung der Löslichkeit¹²⁾; versuchsweise Zuordnung

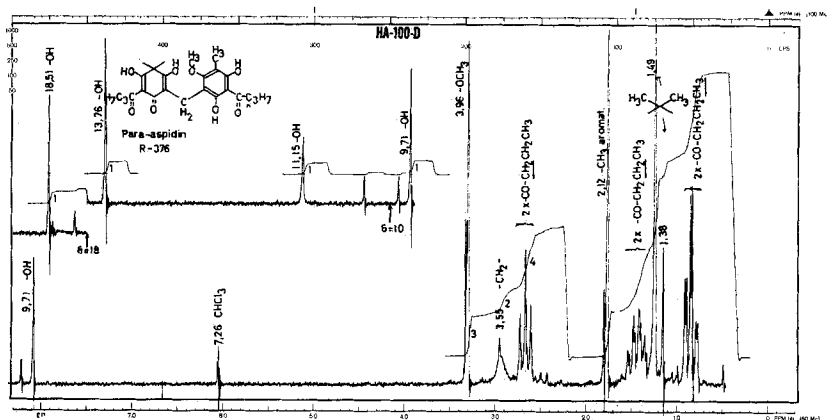


Fig. 7. NMR.-Spektrum von *Para*-aspidin (**2**). Smp. 122–124°, in CDCl₃¹²⁾, mit versuchsweiser Zuordnung

¹²⁾ Wir danken den Herren Dr. H. Führer und A. Borer, Physikalaboratorium der CIBA-Aktiengesellschaft, Basel, auch hier bestens für die Aufnahme dieses Spektrums und ihre Hilfe bei der Interpretation. Zur Aufnahme diente ein Varian-Spektrograph, Modell HA-100. Die mit OH bezeichneten Signale verschwanden bei Zugabe von D₂O. Chemische Verschiebung in δ-Werten, bezogen auf Tetramethylsilan = 0 ppm.

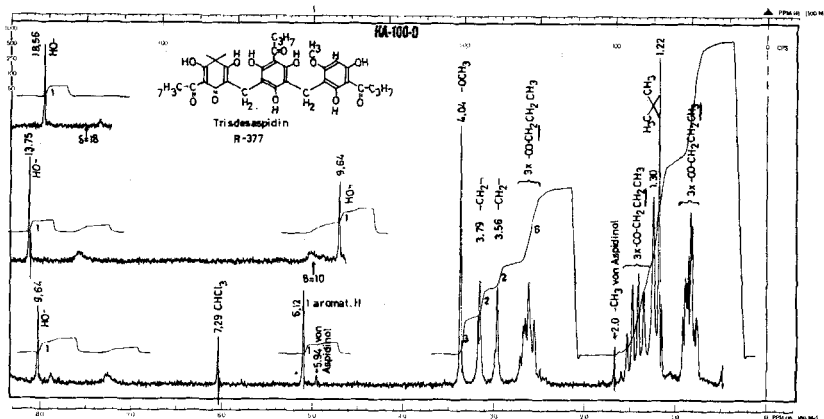


Fig. 8. NMR.-Spektrum von *Trisdesaspidin* (7), Smp. 136–141°, in CDCl_3^{12} , mit versuchsweiser Zuordnung

Das Präparat war nicht ganz rein und enthielt nach PC. und DC. etwas *Aspidinol*, das für die Signale bei $\delta = 5,94$ und $2,0$ ppm verantwortlich ist. Die etwas tiefere Lage dieser Signale in Fig. 5 ist vermutlich durch die Zugabe von Deutero-dimethylsulfoxid bedingt.

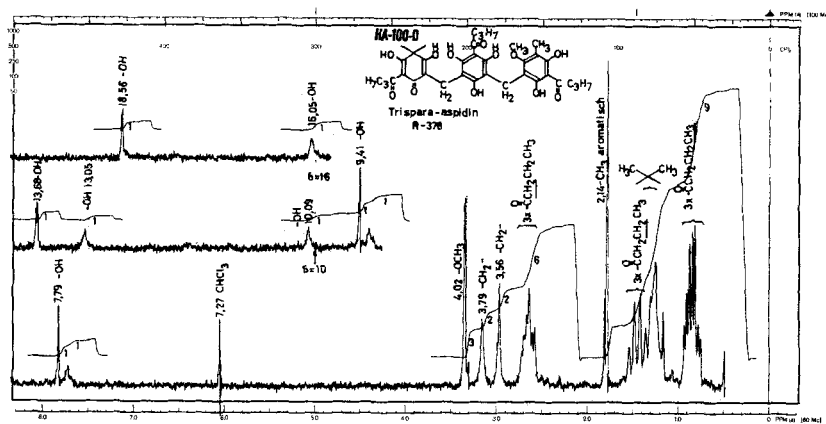


Fig. 9. NMR.-Spektrum von *Trispara-aspidin* (14), Smp. 143–147°, in CDCl_3^{12} , mit versuchsweiser Zuordnung

Ausserdem wurden alle vier Substanzen auch noch im pH-Bereich von 4,0 bis 8,0 mittelst DC.-Gradienten-Technik von *Stahl* untersucht, worüber später berichtet wird [4h]. Hier geben wir in Fig. 1 das Verhalten im System *n*-Hexan-Chloroform-(1:1) bei pH von 4–8. Es ist ersichtlich, dass *Para-aspidin* (2) und *Trispara-aspidin* (14) bei niedrigem pH (4–5,5) fast zusammenlaufen, aber bei höherem pH (6–8) gut trennbar sind. Ähnlich verhalten sich *Desaspidin* (5) und *Trisdesaspidin* (7). Weiter ist ersichtlich, dass die Verschiebung des pH fast keine Wirkung auf die Laufstrecken der dimeren Stoffe *Para-aspidin* (2) und *Desaspidin* (5) hat.

7. *Schlussfolgerungen.* Die in *Dryopteris remota* vorgefundenen Phloroglucide wären mit der Annahme verträglich, dass diese Pflanze durch Hybridisierung von

Dryopteris assimilis mit diploidem *D. borrieri* entstanden ist. Die Anwesenheit eines neuen Stoffes (Trispara-aspidin), der in den mutmasslichen Elternarten bisher noch nicht gefunden wurde, spricht nicht gegen diese Annahme. Es ist bekannt [16], dass Bastarde neben den in den Elternarten produzierten Stoffen oft auch zusätzlich neue Stoffe enthalten. Eine genaue Diskussion erfolgt in anderem Zusammenhang [4i].

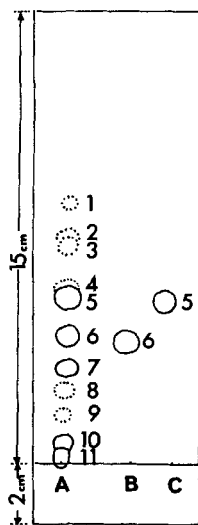


Fig. 10. Dünnschichtchromatogramm von Rohfilicin aus *D. remota* (A) sowie von Para-aspidin (B) und Trispara-aspidin (C)
Fließmittel: *n*-Hexan-Chloroform (1:1), Pufferung auf pH 6,0. 1 = «Albaspidin-1» (vorwiegend Albaspidin BB), 2 = Aspidin BB, 3 = «Albaspidin-2» (vorwiegend Albaspidin BA), 4 = Aspidin AB, 5 = Para-aspidin, 6 = Trispara-aspidin, 7 = Unbekannt, 8 = Desaspidin, 9 = Trisdesaspidin, 10 = Aspidinol, 11 = Flavaspidsäure.

Experimentelles. – *Allgemeine Angaben.* Alle Smp. wurden auf dem Kofler-Block bestimmt. Zur Adsorptionschromatographie diente Kieselgel «Merck», Korngrösse 0,05–0,2 mm. DC.-Ausführung nach [12a] und [4a] auf Kieselgel G. PC.-Ausführung nach [2a, c, d] auf Schleicher & Schüll 2043 b/mgl. Sichtbarmachung der Flecke mit Echtblausalz B [2a]. Bereitung der Äther-Extrakte mit peroxidfreiem Äther [4a], der Rohfilicine nach [11] mit MgO als Base und Na₂SO₃ als Stabilisator [4a]. Die verwendeten Lösungsmittel waren von E. Merck pro analysi bzw. Chromatographie-Qualität. Verhältniszahlen bei Lösungsmitteln geben immer Gewichtsverhältnisse an.

Trennung des Rohfilicins aus Dryopteris remota. 2,6 g Rohfilicin (aus Proben a) und b) vereinigt) wurden an 67 g SiO₂ chromatographiert. Jede fünfte Fraktion wurde im DC. in den Systemen *n*-Hexan-Chloroform-(1:1) und *n*-Hexan-Chloroform-Äthanol-(9:9:1) geprüft [4a]. Alle Fraktionen mit gleicher Zusammensetzung wurden vereinigt. Über das Resultat orientiert Tab. 4.

Die Fr. 14 gab aus Aceton 0,8 mg Albaspidin (1), Smp. 146–148°.

Die Fr. 15–19 gaben aus Aceton 42 mg Para-aspidin (2), Smp. 122–124°.

Die Fr. 25–35 gaben aus Aceton 32 mg reinstes Trispara-aspidin (14), Smp. 143–147° sowie 18 mg weitere Kristalle, Smp. 132–134°.

Die Fr. 80–95 gaben aus Benzol 23 mg krist. Aspidinol (15), Smp. 139–141°.

Trispara-aspidin (14). Aus Aceton blässgelbe Kristalle, Smp. 143–147°, oder 157–160°. Vermutlich liegt Kristallisomerie vor. Massenspektrum vgl. spätere Mitt. [4h]; IR.-Spektrum Fig. 4 und NMR.-Spektrum Fig. 9; Verhalten im DC. vgl. Fig. 10.

Reduktive Spaltung von Trispara-aspidin (14). 5 mg Trispara-aspidin wurden mit 10 mg Zn-Staub verrieben und mit 20 ml 5-proz. NaOH-Lösung 5 Min. auf dem kochenden Wasserbad erhitzt. Das Filtrat wurde mit HCl angesäuert und 3mal mit je 20 ml Äther ausgeschüttelt. Die Ätherlösung wurde mit wenig Wasser gewaschen, über Na₂SO₄ getrocknet und eingedampft. Der Rückstand wurde in 0,5 ml Aceton gelöst und im DC. sowie PC. nach früher beschriebenen Methoden [2a, d] [4a b] untersucht. Zum Vergleich dienten synthetisch hergestellte reine Substanzen [4d]. Es liessen sich die im theoretischen Teil genannten Stoffe nachweisen. Ihre Laufstrecken in gepufferten Systemen im DC. und im PC. sind in Tab. 5 zusammengestellt.

Tabelle 4. *Chromatographie von 2,6 g Rohfilicin aus Dryopteris remota*

Fr. Nr.	Eluiermittel 10 ml/Fr.	roh Menge in mg Habitus	Eindampfrückstand	
			Flecke im DC.	Weitere Verarbeitung
1–13	Benzol	n.u.	–	–
14	„	15	Albaspidin Aspidin BB	} Aus Aceton krist. Albaspidin
15–19	„	167	Albaspidin Aspidin BB Para-aspidin Aspidinol	
20–24	„	n.u.	Para-aspidin Trispara-aspidin Aspidinol	n.u.
25–35	„	126	Trispara-aspidin Para-aspidin Aspidin AB	} Aus Aceton krist. Trispara-aspidin
36–39	„	n.u.	Trispara-aspidin Aspidinol	
40–75	„	„	Trispara-aspidin Desaspidin Aspidinol	„
76–79	„	„	Trispara-aspidin Desaspidin Aspidinol	„
80–95	„	98	Trispara-aspidin Aspidinol	} Krist. aus Benzol Aspidinol
96–100	„	n.u.	Trispara-aspidin Aspidinol Flavaspidinsäure	
101–150	Chloroform + 1% Äthanol	„	Flavaspidinsäure	„

n.u. = nicht gewogen bzw. nicht untersucht.

Tabelle 5. *Rf-Werte der monomeren Spaltstücke von Trispara-aspidin (14)*

Stoff	DC. Fliessmittel: <i>n</i> -Hexan-Chloroform- Äthanol-(9:9:1)		PC. Fliessmittel: Cyclohexan- Chloroform-(1:1)		Färbung mit Echtblausalz B
	Rf	pH	Rf	pH	
Filicinsäurebutanon (11)	0,37	6,0	0,62	4,0	rot
Filicinsäureacetylon	0,34	„	0,15	„	„
Aspidinol (15)	0,30	„	0,57	8,8	violett
Phlorbutyrophenon (13)	0,20	„	n.u.	n.u.	blau
3-Methyl-phlorbutyrophenon (12)	0,16	„	„	„	blau, nach Trocknung braun

LITERATURVERZEICHNIS

- [1] a) *R. Hegnauer*, *Pharmac. Acta Helv.* **36**, 21 (1961); b) *idem*, «Chemotaxonomie der Pflanzen», **1**, 283–286, Birkhäuser-Verlag, Basel und Stuttgart 1962.
- [2] *A. Penttilä & J. Sundman*, a) *J. Pharmacy Pharmacol.* **13**, 531 (1961); b) *Acta chem. scand.* **16**, 1251 (1962); c) *ibid.* **17**, 191 (1963); d) *ibid.* **17**, 2361 (1963); e) *ibid.* **18**, 344 (1964); f) *Planta med.* **14**, 157 (1967); g) *J. Pharmacy Pharmacol.* **22**, 393 (1970).
- [3] a) *L. H. Fikenscher & R. Hegnauer*, *Planta med.* **11**, 348 (1963); b) *idem, ibid.* **11**, 355 (1963); c) *J. W. Wieffering, L. H. Fikenscher & R. Hegnauer*, *Pharmaceut. Weekbl.* **100**, 737 (1965).
- [4] a) *C.-J. Widén*, *Farm. Aikakaust.* **76**, 185 (1967); b) *idem, ibid.* **46**, 233 (1967); c) *idem, ibid.* **77**, 1 (1968); d) *idem*, *Suomen Kemistilehti B41*, 295 (1968); e) *idem*, *Farm. Aikakaust.* **77**, 30 (1968); f) *idem*, *Ann. Acad. Sci. fennicae A IV (Biolog.)* **143**, 1 (1969); g) *C.-J. Widén, V. Sorsa & J. Sarvela*, *Acta bot. fennica* **91**, 1–29 (1970); h) *C.-J. Widén*, *Farm. Aikakaust.* **79** (im Druck); i) *C.-J. Widén & T. Reichstein*, in Vorbereitung.
- [5] *A. v. Hayek*, *Flora von Steiermark* **1**, 36 (1908).
- [6] a) *H. Fischer*, *Ber. dtsh. bot. Ges.* **27**, 495 (1909); b) *ibid.* **37**, 286 (1916); c) *R. de Litardière*, *Cellule* **31**, 255 (1931); d) *W. Döpp*, «Die Apogamie von *Aspidium remotum* Al. Br.» *Planta* **17**, 86 (1932); e) *W. Döpp*, «Cytologische u. genetische Untersuchungen innerhalb der Gattung *Dryopteris*», *Planta* **29**, 481 (1939); f) *W. Döpp*, «Über *Dryopteris paleacea* Christensen (D. borrieri Newm.)», *Ber. dtsh. bot. Ges.* **59**, 423 (1941).
- [7] *I. Manton*, "Problems of Cytology and Evolution in the Pteridophyta", p. 71–79, 187, Cambridge University Press 1950.
- [8] *W. Rothmaler*, «Exkursionsflora von Deutschland IV, Krit. Ergänzungsband», p. 8, Volk u. Wissen, Volkseigener Verlag, Berlin 1963.
- [9] *T. Walker*, *Amer. J. Botany* **48**, 607 (1961).
- [10] *W. Döpp*, «Experimentell erzeugte Bastarde zwischen *Dryopteris filix-mas* (L.) Schott u. *D. paleacea* (Sw.) C. Chr.», *Planta* **46**, 70 (1955) u. frühere Lit. daselbst.
- [11] *M. Ackermann*, «Beitrag zur biologischen Wertbestimmung unserer einheimischen Farne», *Diss. Univ. Bern* 1946, p. 72–73.
- [12] a) *M. v. Schantz & S. Nikula*, *Planta med.* **10**, 22 (1962); b) *M. v. Schantz & C.-J. Widén*, *Scientia pharmaceut.* (Wien) **35**, 197 (1967).
- [13] *R. Boehm*, *Liebigs Ann. Chem.* **318**, 230 (1901).
- [14] *W. Riedl & R. Mitteldorf*, *Chem. Ber.* **89**, 2595 (1956).
- [15] *A. Aebi, A. L. Kapoor & J. Büchi*, *Helv.* **40**, 569 (1957).
- [16] *R. W. Scora & W. H. Wagner Jr.*, *Amer. Fern J.* **54**, 105 (1964).

260. Konstitution der Bufotoxine

Über Krötengifte, 38. Mitteilung¹⁾von **Hannelore O. Linde-Tempel**

Pharmazeutisches Institut der Universität Basel

(15. X. 70)

Summary. The structure of the so-called 'bufotoxines' has been elucidated by enzymatic degradation.

Die Hauptträger der physiologischen Wirkung des Krötengiftes sind die Bufogenine (Bufadienolide) sowie ihre Ester mit Suberoylarginin, die Bufotoxine²⁾. Die

¹⁾ 37. Mitteilung: [1].

²⁾ Der Ausdruck Bufotoxin wurde von *Chen et al.* [2] als Gruppenbezeichnung für alle Suberoylarginin-Derivate der verschiedenen Bufogenine vorgeschlagen.