

Das erhaltene Rohprodukt (877 mg) wurde durch 27 g Aluminiumoxyd (Akt. II/III) filtriert. Die Petroläther-Benzol-(1:1)- und Benzol-Fractionen lieferten zusammen 602 mg farblose Nadeln, Smp. 129—130°. Zur Analyse wurde eine Probe noch zweimal aus Aceton-Petroläther umkristallisiert und anschliessend 24 Std. am Hochvakuum bei 20° getrocknet. Smp. 130—131,5°.

$$[\alpha]_D^{19} = +113^{\circ} \quad (c = 0,670 \text{ in Chloroform})$$

3,688 mg Subst. gaben 10,871 mg CO₂ und 3,215 mg H₂O

C₂₂H₃₂O₂ Ber. C 80,44 H 9,82% Gef. C 80,44 H 9,75%

In Feinspritzlösung zeigt die Verbindung II ein UV.-Absorptionsmaximum bei 240 m μ , log ϵ = 4,22.

Die Analysen wurden in unserer mikroanalytischen Abteilung (Leitung *W. Manser*) ausgeführt.

Zusammenfassung.

Es wird eine neue Variante der Synthese des biologisch hoch aktiven Gestagens 17 α -Methyl-progesteron (II) beschrieben. Die Lage der Ketofrequenz im IR.-Absorptionsspektrum der untersuchten 17-Methyl-20-keto-pregnan-Derivate liegt relativ tief, bei 1696 cm⁻¹, ein Verhalten, das bisher bei anderen, nicht konjugierten 20-Ketonen der Steroid-Reihe nicht beobachtet wurde.

Organisch-chemisches Laboratorium
der Eidg. Technischen Hochschule, Zürich.

303. Über herzaktive Krötengifte (Bufogenine).

7. Mitteilung¹⁾.

Resibufogenin²⁾ und Artebufogenin²⁾ aus Ch'an Su

von **Kuno Meyer.**

(11. X. 52.)

Bei der Isolierung kristallisierter Bufogenine aus der chinesischen Droge Ch'an Su wurden von allen Bearbeitern stets reichliche Mengen amorpher Anteile erhalten. Durch Bereitung kristallisierter Derivate sind bisher die beiden folgenden amorphen Krötensterioide nachgewiesen worden.

„Pseudodesacetylbufotalin“ von *Kondo* und Mitarbeitern³⁻⁶⁾. Es soll herzwirksam sein und die Formel C₂₄H₃₄O₅ besitzen.

¹⁾ 6. Mitt., *K. Meyer*, *Helv.* **34**, 2147 (1951).

²⁾ Diese beiden Bufogenine sind nicht herzwirksam. Da aber anzunehmen ist, dass sie in naher chemischer Beziehung zu den übrigen herzwirksamen Bufogeninen stehen, soll über diese Stoffe ebenfalls in dieser Reihe berichtet werden.

³⁾ *H. Kondo & S. Ikawa*, *J. Pharmac. Soc. Japan* **53**, 2 (1933); *C.* **1933**, I, 2558.

⁴⁾ *H. Kondo & S. Ikawa*, *J. Pharmac. Soc. Japan* **53**, 62 (1933); *C.* **1933**, II, 723.

⁵⁾ *H. Kondo & S. Ohno*, *J. Pharmac. Soc. Japan* **58**, 15 (1938); *C.* **1938**, I, 3929.

⁶⁾ Der sonderbare Name für dieses Bufogenin erklärt sich aus folgenden Tatsachen:

Sein Acetat ist wie das Bufogenin selbst amorph, hingegen liess sich das p-Nitrobenzoat ($C_{31}H_{37}O_8N$) und das 3,5-Dinitrobenzoat ($C_{31}H_{36}O_{10}N_2$) kristallisieren. *Kotake & Kuwada*¹⁾ zweifelten aber an der Existenz des Pseudodesacetylbufotalins, da es ihnen trotz mehrfacher Versuche nicht gelang, die Resultate von *Kondo* und Mitarbeitern zu reproduzieren.

Ein weiteres amorphes Bufogenin ist von mehreren Arbeitsgruppen in verschiedener Weise nachgewiesen und z. T. auch verschieden benannt worden. So hat *Kodama*²⁾ beim Einleiten von HCl-Gas in die ätherische Lösung von Ch'an Su einen kristallisierten Stoff vom Smp. 203–204° erhalten, den er „Bufotoxin“ nannte. *Kotake*³⁾, der diese Versuche später wiederholte, benützte hierfür die Mutterlaugen der Cinobufagingewinnung. Das daraus gewonnene kristallisierte Produkt vom Smp. 218–220° (Zers.) erwies sich als chlorhaltig und wurde von *Kotake* als „Bufalinchlorid“ bezeichnet, da der Name Bufotoxin von *Wieland & Alles*⁴⁾ schon für das Suberylarginylbufotalin benützt worden war. Beim Erwärmen mit Natriumacetat und Acetanhydrid wurde unter HCl-Verlust ein kristallisiertes Acetat vom Smp. 221–225° gebildet, das *Kotake* „Acetylanhydrobufalin“ nannte. Er glaubte damals, dass sein „Bufalinchlorid“ aus dem Cinobufagin⁵⁾ hervorgegangen war. *Jensen & Chen*⁶⁾ haben auf analoge Weise dasselbe Chlorid erhalten und dafür die Formel $C_{24}H_{33}O_4Cl$ abgeleitet. Sie nahmen an, dass es aus Bufotalin entstanden war. Demgegenüber vermuteten *Jensen & Evans*⁷⁾, dass es ein Derivat des Gamabufotalins darstellt. Diese Autoren konnten das Chlorid durch Erwärmen mit Natriumacetat in Acetanhydrid in das chlorfreie kristallisierte Acetat vom Smp. 225–226° überführen, dessen Analysen auf die Formel $C_{26}H_{34}O_5$ passten. Schliesslich zeigte aber *Kotake*⁸⁾, dass dasselbe kristallisierte Acetat $C_{26}H_{34}O_5$ auch

Kondo & Ikawa glaubten zunächst, dass ihr Stoff mit dem von *Wieland & Weil*⁹⁾ aus der europäischen Kröte gewonnenen Bufotalin identisch sei. Später¹⁰⁾ fanden sie, dass dies nicht zutrifft und nannten das von ihnen aufgefundene Bufogenin Pseudobufotalin. Als *Kondo & Ohno*¹¹⁾ aber feststellten, dass dieser Stoff acetylfrei war, wurde er in Pseudodesacetylbufotalin umbenannt, da das Bufotalin von *Wieland & Weil* eine Acetylgruppe enthält.

1) *M. Kotake & K. Kuwada*, Scient. Pap. Inst. Physic. and Chem. Research (Tokio) **32**, 1 (1937); C. **1937**, II, 1588.

2) *K. Kodama*, Acta scholae med. univ. imp. Kioto **4**, 355 (1922); C. **1923**, III, 312.

3) *M. Kotake*, A. **465**, 1 (1928).

4) *H. Wieland & R. Alles*, B. **55**, 1789 (1922).

5) Im Original als „Bufagin“ bezeichnet, das später in Cinobufagin abgeändert wurde.

6) *H. Jensen & K. K. Chen*, J. Biol. Chem. **87**, 741 (1930).

7) *H. Jensen & E. A. Evans, Jr.*, J. Biol. Chem. **104**, 307 (1934).

8) *M. Kotake*, Scient. Pap. Inst. Physic. and Chem. Research (Tokio) **24**, 39 (1934); C. **1934**, II, 459.

9) *H. Wieland & F. J. Weil*, B. **46**, 3315 (1913).

10) *H. Kondo & S. Ikawa*, J. Pharmac. Soc. Japan **53**, 62 (1933); C. **1933**, II, 723.

11) *H. Kondo & S. Ohno*, J. Pharmac. Soc. Japan **58**, 15 (1938); C. **1938**, I, 3929.

durch direkte Acetylierung der Mutterlaugen des Cinobufagins gewonnen werden kann. Dieses Resultat wurde von *Offe*¹⁾ bestätigt, und auch unsere Versuche (siehe unten) stehen damit in Einklang. Ein kristallisiertes Acetat vom Smp. 227–228°, das mit obigem übereinstimmen dürfte, wurde auch von *Kuwada*²⁾ beschrieben und als „Isobufalinacetat“ bezeichnet, da seine Analysen auf die Formel des Bufalins $C_{26}H_{36}O_5$ passten.

Demnach ist anzunehmen, dass im Ch'an Su bzw. in den Mutterlaugen der daraus erhaltenen Cinobufagin-Fractionen ein amorphes Bufogenin der Formel $C_{24}H_{32}O_4$ enthalten ist, das bei der Acetylierung ein kristallisiertes Acetat $C_{26}H_{34}O_5$ und mit HCl-Gas ein kristallisiertes Hydrochlorid $C_{24}H_{33}O_4Cl$ liefert. Letzteres gibt mit Natriumacetat und Acetanhydrid unter HCl-Abspaltung dasselbe kristallisierte Acetat. Da die bisher verwendeten Namen wie „Anhydro-bufalin“, „Isobufalin“ usw. irreführend sind, schlagen wir als Bezeichnung des amorphen Bufogenins den Namen Resibufogenin (vom lateinischen Wort resina = Harz) vor. Das kristallisierte Hydrochlorid „Bufalinchlorid“ von *Kotake* bzw. das „Gamabufaginchlorid“ von *Jensen & Evans* wäre dann als Resibufogenin-hydrochlorid und das Acetat („Acetyl-anhydro-bufalin“ von *Kotake*, „Acetylanhydrogamabufagin“ von *Jensen & Evans* und „Isobufalinacetat“ von *Kuwada*) als Resibufogenin-acetat zu bezeichnen.

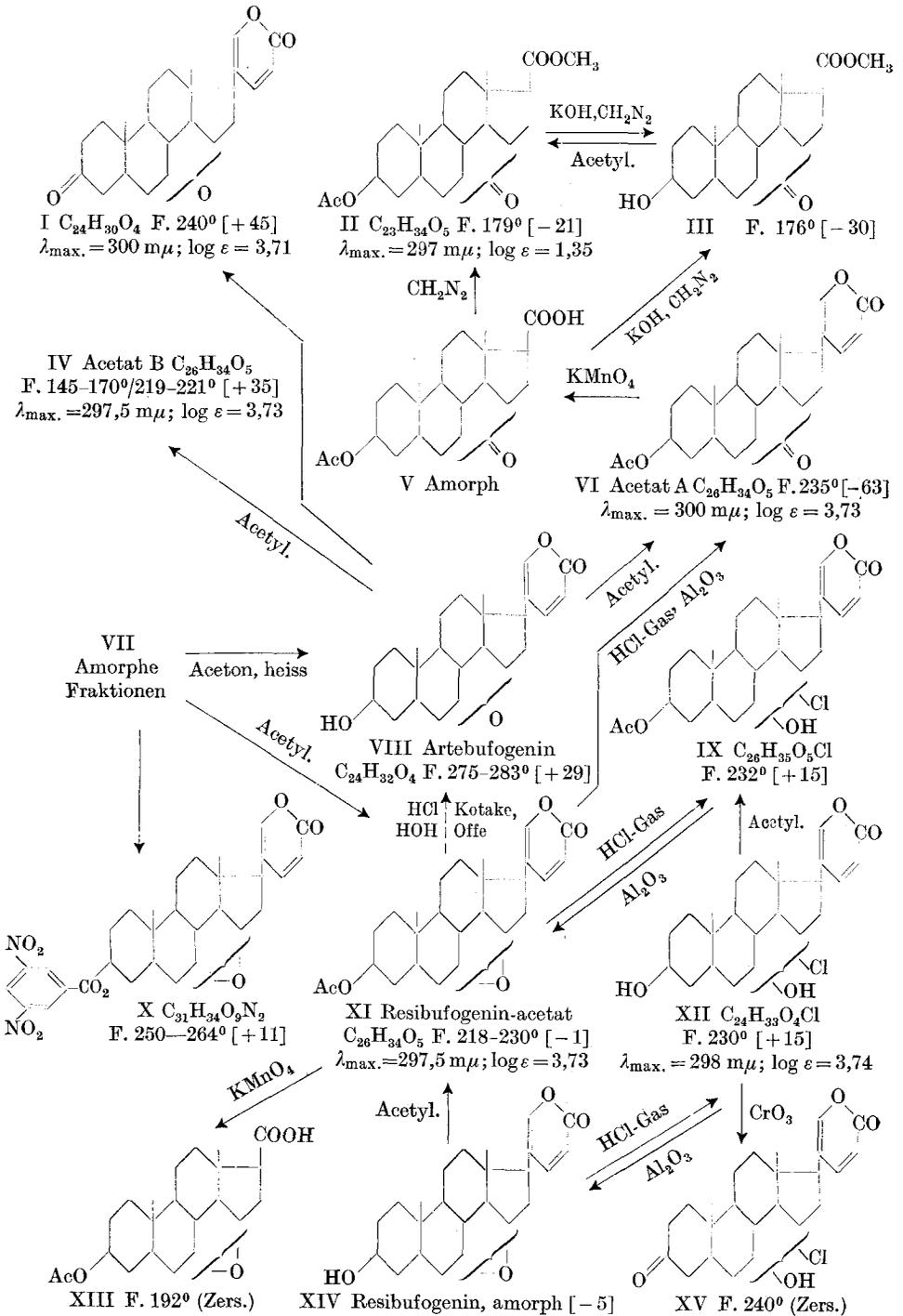
Eigene Versuche. – Zur besseren Übersicht werden für die hier beschriebenen Stoffe hypothetische Formeln vorgeschlagen, die in der spätern Diskussion näher begründet werden. – Zur Untersuchung gelangten die amorphen Anteile (58 g), die bei der früher beschriebenen Isolierung³⁾ von Cinobufagin und andern kristallisierten Bufogeninen aus Ch'an Su erhalten worden waren. Sie wurden zunächst durch Chromatographie an Al_2O_3 weitgehend gereinigt. Mit einer Probe dieses Materials (VII) wurde dann versucht, durch Umsetzung mit 3,5-Dinitrobenzoylchlorid das von *Kondo & Ohno* (loc. cit.) beschriebene Derivat des Pseudodesacetylbufotalins zu isolieren. Es gelang tatsächlich, in etwa 50-proz. Ausbeute Kristalle zu erhalten, deren Smp. ungefähr demjenigen entsprach, den *Kondo & Ohno* für ihr Präparat angeben. Während aber Pseudodesacetylbufotalin-3,5-dinitrobenzoat die Formel $C_{31}H_{36}O_{10}N_2$ besitzen soll, passten die Analysenwerte unseres Derivates auf die Formel $C_{31}H_{34}O_9N_2$; es leitet sich somit von einem Bufogenin $C_{24}H_{32}O_4$ ab. Vermutlich lag das 3,5-Dinitrobenzoat X des Resibufogenins vor.

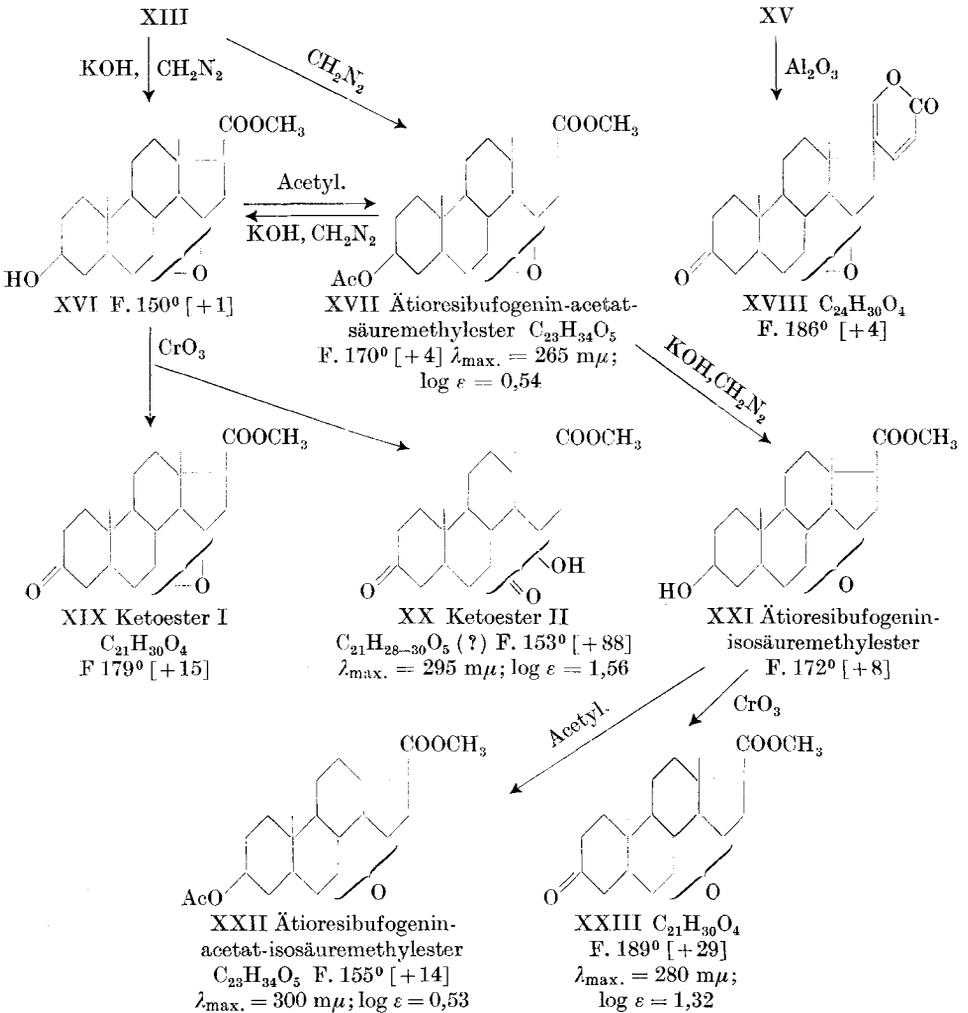
In Übereinstimmung mit dieser Annahme liess sich durch direkte Acetylierung einer weiteren Probe desselben Materials (VII) in 45-proz. Ausbeute gut kristallisierendes Resibufogenin-acetat (XI)

¹⁾ H. A. Offe, Dissertation Göttingen, 1937, S. 21.

²⁾ K. Kuwada, J. Chem. Soc. Japan 59, 650 (1938); Chem. Abstr. 32, 9093 (1938).

³⁾ K. Meyer, Pharm. acta Helv. 24, 222 (1949), besonders S. 238.





Ac = CH_3CO —. Die Zahlen in eckigen Klammern geben die auf ganze Grade auf- oder abgerundeten spez. Drehungen für Na-Licht in Chloroform an.

erhalten. Dieses schmolz bei langsamem Erhitzen immer recht unscharf bei etwa 220–230°. Nach Analyse und sonstigen Eigenschaften ist kaum daran zu zweifeln, dass es mit den Präparaten der oben erwähnten frühern Autoren identisch ist¹⁾. Eine dritte Probe desselben Materials gab ferner mit HCl in Chloroform das kristallisierte Resibufogenin-hydrochlorid (XII). Wir versuchten zunächst, aus diesem Hydro-

¹⁾ Völlige Identität besteht auf jeden Fall mit dem von *Offe* (loc. cit.) beschriebenen Acetat vom Smp. 226°, was durch direkten Vergleich bewiesen werden konnte. Herrn Dr. *H. Offe*, Leverkusen, sei auch hier nochmals bestens gedankt für die grosszügige Überlassung seiner ihm verbliebenen Sammlung von Präparaten aus Ch'an Su.

chlorid durch Erwärmen mit Pyridin ein Mol HCl abzuspalten, was aber nicht gelang. Die gewünschte Reaktion liess sich aber durch Behandlung mit aktivem Al_2O_3 bewerkstelligen. Nach mehrfachem Filtrieren einer Lösung des Hydrochlorids in Benzol-Chloroform durch Al_2O_3 resultierte ein amorphes, chlorfreies Präparat. Dieses stellte weitgehend reines Resibufogenin (XIV) dar, denn bei der Acetylierung lieferte es in praktisch quantitativer Ausbeute das oben erwähnte kristallisierte Acetat XI.

Herr Dr. *Chen* hatte die Freundlichkeit, das gereinigte Resibufogenin (XIV) einer orientierenden pharmakologischen Prüfung an der Katze zu unterziehen¹⁾. Zwei Versuchstiere erhielten Dosen von 3,95 bzw. 5 mg/kg intravenös ohne ersichtliche Wirkung. Auskultation mit dem Stetoskop zeigte keinerlei Änderungen der Herz-tätigkeit, die auf eine digitalisartige Wirkung hätten schliessen lassen. Der Stoff ist demnach als praktisch unwirksam zu bezeichnen.

Resibufogenin-hydrochlorid (XII) liess sich durch Acetylierung mit Acetanhydrid in Pyridin ohne HCl-Verlust in das kristallisierte Resibufogenin-hydrochlorid-acetat (IX, $\text{C}_{26}\text{H}_{35}\text{O}_5\text{Cl}$) überführen. Aus diesem konnte mit Al_2O_3 wieder HCl abgespalten werden, wobei kristallisiertes Resibufogenin-acetat (XI) gebildet wurde.

Um Resibufogenin (XIV) weiter zu charakterisieren, wurde versucht, mit CrO_3 daraus ein Keton zu bereiten. Wegen Substanzmangel musste dieser Versuch mit einer Rohfraktion VII durchgeführt werden, die ca. 50% Resibufogenin enthielt. Die Dehydrierung mit CrO_3 gab ein neutrales Öl, aus dem sich nach Chromatographie etwas Kristalle isolieren liessen, die aber Gemische darstellten. Daher wurde auch eine Probe des kristallisierten Resibufogenin-hydrochlorids (XII) mit CrO_3 dehydriert. Es resultierte ein gut kristallisiertes chlorhaltiges Neutralprodukt (Resibufogenon-hydrochlorid (XV)), das roh bei 240–243° (Zers.) schmolz. Nach HCl-Abspaltung mit Al_2O_3 lieferte es chlorfreie Kristalle vom Smp. 186–188°. Wir nennen diesen Stoff Resibufogenon (XVIII), denn nach der Analyse und Drehung zu schliessen dürfte es sich dabei um das dem Resibufogenin entsprechende Keton $\text{C}_{24}\text{H}_{30}\text{O}_4$ handeln. Ganz analoge Reaktionen hat schon *Kotake*²⁾ beschrieben. Er erhielt aus Resibufogenin-hydrochlorid (seinem „Bufalinchlorid“) mit CrO_3 ein chlorhaltiges Keton vom Smp. 251–252°, das er „Bufalinchlorid“ nannte und das unserem Resibufogenon-hydrochlorid (XV) entspricht. Durch Erhitzen mit Na-Acetat in Acetanhydrid resultierte ein chlorfreies Keton vom Smp. 181–183°, das *Kotake* „Anhydrobufalinon“ nannte und das mit unserem Resibufogenon (XVIII) identisch sein dürfte.

¹⁾ Herrn Dr. *K. K. Chen*, Indianapolis, sei auch hier für die Übermittlung seiner Resultate bestens gedankt.

²⁾ *M. Kotake*, A. 465, 1 (1928).

Artebufogenin. *Kotake*¹⁾ erhielt beim Behandeln von Resibufogenin-acetat (XI) (seinem „Anhydro-acetyl-bufalin“) mit konz. HCl Kristalle (Smp. 267–268⁰), die er als „Anhydro-bufalin“ bezeichnete²⁾. Sie gaben bei der Acetylierung (Natriumacetat + Acetanhydrid) ein neues Acetat (Smp. 233–234⁰), das er „Anhydro-bufalin-acetat“ nannte (nicht zu verwechseln mit „Anhydro-acetyl-bufalin“ = Resibufogenin-acetat). *Kotake* gab dafür als Formel $C_{26}H_{36}O_5$ an, obwohl seine Werte besser auf $C_{26}H_{34}O_5$ passten. Er vermutete, dass unter der Einwirkung von konz. HCl eine Umlagerung einer labilen in eine stabile Form stattfindet.

Einen kristallisierten Stoff $C_{24}H_{32}O_4$ vom Smp. ca. 275⁰ (Zers.), der mit *Kotake*'s „Anhydro-bufalin“ identisch sein dürfte, erhielten wir zuerst durch Zufall, als wir rohe Fraktionen von Resibufogenin (VII) in Aceton bei Normaldruck (statt wie sonst im Vakuum) eindampften. Da der Name „Anhydro-bufalin“ irreführend ist, schlagen wir die Bezeichnung Artebufogenin vor. Auch dieser Stoff erwies sich nach Befunden von Dr. *Chen*³⁾ bei intravenöser Infusion an der Katze bis zur Dosis von 6,525 mg/kg als völlig unwirksam. Dehydrierung von Artebufogenin (VIII) mit CrO_3 gab in guter Ausbeute ein einheitliches, kristallisiertes Keton $C_{24}H_{30}O_4$, das wir Artebufogenon (I) nennen. Auffallend war das Ergebnis der Acetylierung von Artebufogenin mit Acetanhydrid in Pyridin. Es entstand ein Gemisch, aus dem sich nach Chromatographie zwei isomere Acetate $C_{26}H_{34}O_5$ isolieren liessen. Das Hauptprodukt zeigte den Smp. 235–238⁰ und $[\alpha]_D = -63^0$ (in Chloroform). Wir nennen es Artebufogenin-acetat A (VI). Es dürfte mit *Kotake*'s „Anhydro-bufalin-acetat“ identisch sein, das er als einziges Produkt bei der Acetylierung seines „Anhydro-bufalins“ mit Natriumacetat und Acetanhydrid erhielt. Den in geringer Menge erhaltenen zweiten Stoff vom Smp. 219–221⁰ und $[\alpha]_D = +35^0$ (in Chloroform) nennen wir Artebufogenin-acetat B. Da freies Artebufogenin $[\alpha]_D = +29^0$ (in Chloroform) zeigt, glauben wir, dass das Acetat B noch die ursprüngliche Konstitution des Artebufogenins besitzt, während das Acetat A durch Umlagerung entstanden sein dürfte.

Bei Behandlung von Resibufogenin-acetat (XI) mit HCl in Chloroform erhielten wir ein Gemisch, aus dem sich durch Chromatographie an Magnesiumsilikat⁴⁾ etwa 30% reines Resibufogenin-

¹⁾ *M. Kotake*, Scient. Pap. Inst. Physic. and Chem. Research (Tokio) **24**, 39 (1934), besonders S. 44; C. **1934**, II, 459.

²⁾ *Offe* (loc. cit. S. 6) hat zur weiteren Charakterisierung und Identifizierung seines Acetats (Smp. 226⁰) dieses analog wie *Kotake* behandelt und dabei ebenfalls einen Stoff vom Smp. 267⁰ erhalten. Dieser erwies sich in allen Teilen als identisch mit dem von uns beschriebenen Artebufogenin (siehe experim. Teil dieser Arbeit.)

³⁾ Herrn Dr. *K. K. Chen* sei auch hier bestens für die Übermittlung seiner Resultate gedankt.

⁴⁾ Resibufogenin-hydrochlorid und sein Acetat lassen sich an Mg-Silikat unzersetzt chromatographieren.

hydrochlorid-acetat (IX) isolieren liess. Die Hauptmenge des Materials konnte bisher nicht getrennt werden. Nach Chromatographie an Al_2O_3 , wobei wieder HCl-Abspaltung eintrat, wurden zunächst etwa 30% reines Resibufogenin-acetat (XI) erhalten. Aus den späteren Fraktionen liess sich mit einiger Mühe reines Artebufogenin-acetat A (VI) isolieren. Diese Umlagerung ist somit ähnlich, jedoch weniger vollständig verlaufen wie in dem von *Kotake* mit konz. wässriger HCl durchgeführten Versuch. Bemerkenswert ist, dass bei der Behandlung von freiem Resibufogenin (XIV) mit HCl in Chloroform das Resibufogenin-hydrochlorid (XII) in einheitlicher Weise erhalten wird, während Resibufogenin-acetat (XI) unter denselben Bedingungen ein Gemisch und mit HCl in Wasser nach *Kotake* einheitliches Artebufogenin liefert.

Diskussion der Ergebnisse und weiterer Abbau.

Die bisherigen Ergebnisse reichen nicht aus, um für Resibufogenin und Artebufogenin sichere Formeln aufzustellen. Nimmt man aber an, dass diese Genine dasselbe Kohlenstoffgerüst besitzen wie die bisher in ihrer Konstitution aufgeklärten Bufogenine, so können unter Berücksichtigung der Eigenschaften und der folgenden Abbaurisultate hypothetische Teilformeln aufgestellt werden.

Resibufogenin (XIV). Die vorgeschlagene Formel stützt sich zunächst auf folgende Tatsachen: Resibufogenin-acetat (XI) zeigt im UV. die für den Cumalinring typische Absorption (vgl. Fig. 1).

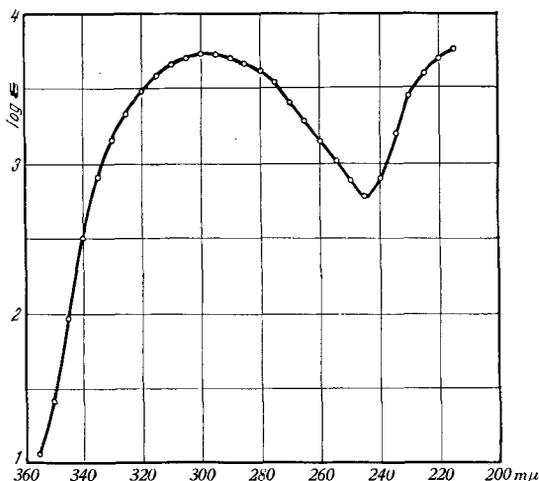


Fig. 1.

Resibufogenin-acetat (XI) in Alkohol.

Das nämliche Kurvenbild zeigen: Resibufogenin-hydrochlorid (XII), Artebufogenin-acetat A und B (VI) bzw. (IV) und Artebufogenon (I) in Alkohol.

Das Acetat XI ist gegen CrO_3 bei 20° weitgehend beständig. Resibufogenin enthält somit nur eine sekundäre HO-Gruppe, die aus Analogiegründen an C_3 angenommen wird. Über die Funktion des vierten Sauerstoffatoms lässt sich nichts Sicheres aussagen. Die folgenden Abbauresultate sprechen dafür, dass es als Oxydring vorliegt. Resibufogenin-acetat (XI) gab mit KMnO_4 eine kristallisierte Acetoxy-säure XIII, die sich mit Diazomethan in den kristallisierten Acetoxy-ester XVII überführen liess.

Alkalische Verseifung der Säure XIII und anschliessende Methylierung mit Diazomethan gaben den kristallisierten Oxyester XVI. Dieser lieferte bei der Dehydrierung mit CrO_3 zur Hauptsache den Ketoester XIX, neben einem sauerstoffreichern Stoff XX, der möglicherweise einen Oxy-diketo-ester darstellt. Der Oxyester XVI liess sich durch Acetylierung wieder in den Acetoxyester XVII überführen. Alkalische Verseifung dieses Esters XVII und anschliessende Methylierung hingegen gaben ein Gemisch von XVI und einem isomeren Oxyester XXI, der nach Acetylierung einen isomeren Acetoxyester XXII und nach Dehydrierung einen isomeren Ketoester XXIII lieferte. Bei der alkalischen Verseifung des Esters XVII muss somit teilweise eine Umlagerung eingetreten sein¹). Da aus der entsprechenden Säure XIII unter gleichen Bedingungen nur ein Stoff (XVI) entstand, glauben wir, dass dieser noch den unveränderten Bau des Resibufogenins besitzt. Der Acetoxyester XVII zeigte mit Tetranitromethan keine Färbung und liess sich mit PtO_2 in Eisessig nicht hydrieren. Eine Doppelbindung war somit nicht nachweisbar. Auch eine Ketogruppe scheint ausgeschlossen zu sein, da das UV.-Absorptionsspektrum (vgl. Fig. 2) nur ein äusserst schwaches Maximum bei $265 \text{ m}\mu$ und $\log \epsilon = 0,54$ erkennen lässt. Ferner blieb der Ester XVII beim Erhitzen mit POCl_3 in Pyridin auf 110° fast völlig unverändert. Dies macht die Anwesenheit einer tertiären HO-Gruppe unwahrscheinlich. Diese Versuche sprechen somit dafür, dass XVII und Resibufogenin (XIV) einen Oxydring enthalten. Es ist anzunehmen, dass dieser Oxydring bei der Bildung des Hydrochlorids XII geöffnet wird, wobei ein Chlorhydrin, wahrscheinlich mit tertiärer HO-Gruppe, gebildet wird. Die Lactonseitenkette wird bei der Bildung des Hydrochlorids nicht verändert, denn Resibufogenin-hydrochlorid (XII) zeigt im UV. (siehe Fig. 1) noch dasselbe Spektrum wie Resibufogenin-acetat (XI). Bei der Einwirkung von Al_2O_3 auf das Hydrochlorid XII bildet sich der Oxydring wieder in der ursprünglichen Form zurück. Ob es sich dabei um einen Äthylenoxydring oder einen mehrgliedrigeren Oxydring handelt, ist jedoch nicht sicher.

¹) Ganz analog verhalten sich die entsprechenden Abbauprodukte von Cinobufagin, Cinobufotalin und Marinobufagin: die daraus erhaltenen freien Ätiosäuren sind gegen Alkali beständig, die Methyl-ester werden weitgehend umgelagert.

Die teilweise Umlagerung, die bei der Behandlung des Esters XVII mit Alkali eintritt, kann noch nicht sicher formuliert werden. Am ehesten wäre an eine Isomerisierung an C_{17} zu denken; der geringe Unterschied in den spez. Drehungen von XVI und XXI bzw. von XVII und XXII spricht aber eher dagegen. Durch die Isomerisierung scheinen die funktionellen Gruppen nicht merklich geändert zu werden. So zeigte auch der isomere Acetoxyester XXII mit Tetranitromethan keine Gelbfärbung, liess sich nicht hydrieren und sein UV.-Absorptionsspektrum (siehe Fig. 2) zeigte nur ein äusserst schwaches Maximum bei ca. 300 $m\mu$ und $\log \varepsilon = 0,53$.

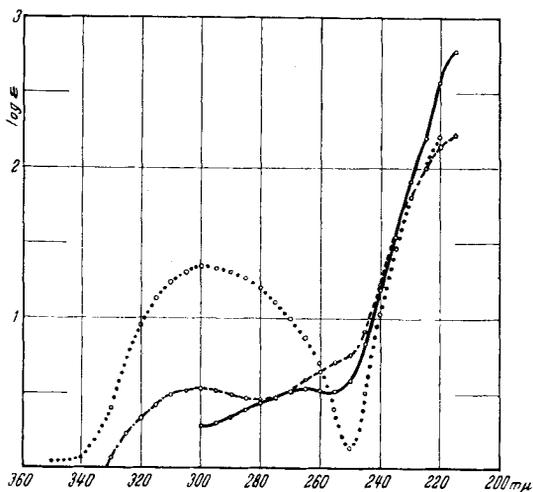


Fig. 2.

- Ätioresibufogenin-acetat-säure-methylester (XVII) in Alkohol.
- Ätioresibufogenin-acetat-isosäure-methylester (XXII) in Alkohol.
- Ätioartebufogenin-acetat-säure-methylester (II) in Alkohol.

Artebufogenin. Die Aufstellung von Formeln wird dadurch erschwert, dass dieser Stoff bei der Acetylierung mit Pyridin-Acetanhydrid zwei verschiedene Acetate liefert, so dass schon bei dieser Reaktion eine teilweise Isomerisierung eingetreten sein muss. Artebufogenin sowie die beiden Acetate A (VI) und B (IV) zeigen im UV. (siehe Fig. 1) noch die für den Cumalinring typische Absorption. Diese Gruppe wird somit durch die Isomerisierung nicht geändert. Wie oben erwähnt, lässt sich aus den spez. Drehungen ableiten, dass das Acetat B in seinem Bau dem freien Artebufogenin entsprechen muss, während das Acetat A durch eine Umlagerung entstanden ist. Leider wurde aber gerade vom Acetat B sehr wenig erhalten, so dass Abbauprobe nur mit dem Acetat A durchgeführt werden konnten. Diese weisen darauf hin, dass dieser Stoff eine träge Ketogruppe enthält (siehe unten), so dass wir für ihn die Teilformel VI vor-

schlagen. Da es aber unsicher ist, ob diese Ketogruppe schon im Artebufogenin enthalten war, wurde für dieses Bufogenin die Teilformel VIII gewählt, wobei die Funktion des vierten O-Atoms offen gelassen wurde.

Artebufogenin-acetat A (VI) gab mit KMnO_4 eine amorphe Säure V, die sich mit Diazomethan in den kristallisierten Methyl-ester II überführen liess, der im UV. selektive Absorption mit einem Maximum bei etwa $300 \text{ m}\mu$ und $\log \varepsilon = 1,35$ zeigte, was für das Vorliegen einer Ketogruppe spricht (siehe Fig. 2). Bei der Hydrierung mit PtO_2 in Eisessig blieb diese intakt, denn die Aufarbeitung lieferte unveränderten Ester II. Auch das UV.-Absorptionsspektrum war das nämliche. Alkalische Verseifung der Säure V und anschließende Methylierung gab den Oxyester III, der nach Acetylierung wieder obigen Acetoxyester II lieferte. Auffallenderweise liess sich dieser Ester II durch Alkali ohne merkliche Umlagerung verseifen, denn nach Remethylierung resultierte wieder einheitlicher Oxyester III. Die für die leichte Isomerisierung von XVII verantwortliche Gruppierung ist also in II offenbar nicht vorhanden.

Herrn Prof. T. Reichstein danke ich bestens für seine Ratschläge und sein diesen Arbeiten entgegengebrachtes Interesse.

Experimenteller Teil.

Alle Smp. sind auf dem Kofler-Block bestimmt und korrigiert; Fehlergrenze bis 200° ca. $\pm 2^\circ$, darüber ca. $\pm 3^\circ$. Schweinchen bedeutet, dass die unmittelbar vor der Verbrennung getrocknete Substanz im Schweinchen eingewogen wurde. Übliche Aufarbeitung bedeutet: Eindampfen im Vakuum, Aufnehmen in Äther oder Äther-Chloroform (4:1), Waschen mit 2-n. HCl (bei CrO_3 -Oxydationen mit 2-n. H_2SO_4), 2-n. Sodalösung und Wasser, Trocknen über Na_2SO_4 , Filtrieren und Eindampfen. Al_2O_3 war stets „alkalifreies“ Al_2O_3 nach v. Euw & Mitarb.¹⁾, aber nur bei 190° reaktiviert. Als „Silikatgemisch“ wurde eine Mischung von 2 Teilen Mg-Silikat²⁾ und 1 Teil gewaschener bei 100° im Vakuum getrockneter Kieselgur (Hyflo-Super-Cel) verwendet.

Isolierung des rohen Resibufogenins (VII). Die chromatographische Vortrennung der in der ersten Arbeit dieser Reihe beschriebenen „Rohcinobufagin-Mutterlauge“ (58 g) war in 4 Portionen (A—D) vorgenommen worden³⁾. Bei A—C wurden je 17 g Material an 500 g Al_2O_3 und bei D 7 g an 200 g Al_2O_3 chromatographiert. Die mit reinem Benzol und Benzol-Chloroform (19:1) eluierten Anteile (ca. 0,5 g) waren ätherlöslich und gaben aus Aceton 150 mg krist. γ -Sitosterin. Die ersten Benzol-Chloroform-(9:1)-Fraktionen lieferten reichliche Mengen eines hellgelben Harzes, das amorph blieb, während aus den späteren Fraktionen mit dem gleichen Lösungsmittelgemisch krist. Cinobufagin isoliert werden konnte. Die amorphen und die ihnen folgenden, nur wenig Cinobufagin enthaltenden Fraktionen aus den Chromatogrammen A, B und D (total ca. 13,5 g) wurden vereinigt und nochmals an 300 g Al_2O_3 chromatographiert: Chromatogramm E. (Chromatogramm C siehe weiter unten bei Artebufogenin.)

¹⁾ J. v. Euw, A. Lardon & T. Reichstein, Helv. **27**, 1287 (1944), siehe S. 1292, Fussnote 2.

²⁾ K. Dobriner, S. Lieberman & C. P. Rhoads, J. Biol. Chem. **172**, 241 (1948), besonders S. 249—251.

³⁾ K. Meyer, Pharm. acta Helv. **24**, 222 (1949), siehe S. 238.

Chromatogramm E.

Fraktions- Nummer	Lösungsmittel	Eindampfdruckstand	
		Menge	Roh-Smp.
1	Benzol	50 mg	ätherlöslich
2	Benzol	80 „	verworfen
3—7	Benzol-Chloroform (1:19) . .	8000 „	amorphes Harz
8—10	„ „ (1:19) . .	1570 „	160—170°/210—212°
11—14	„ „ (1:9) . .	910 „	ebenso
15—19	„ „ (1:4) . .	780 „	ebenso
20	„ „ (7:3) . .	150 „	ebenso
21—22	„ „ (1:3) . .	380 „	ebenso
23—25	Chloroform	630 „	amorph
26	Chloroform-Methanol (19:1) . .	220 „	amorph
27	„ „ (9:1) . .	150 „	amorph
28	„ „ (7:3) . .	Spur	

Alle Versuche, Fraktionen 3—7 zur Kristallisation zu bringen, waren erfolglos. Sie gaben, in wenig Aceton gelöst und mit Äther versetzt, auch beim Animpfen mit Cinobufagin keine Kristalle. Sie enthielten aber, wie weiter unten gezeigt wird, zwischen 40 und 50% Resibufogenin. Aus den Fraktionen 8—10 liessen sich durch Animpfen ca. 50 mg krist. Cinobufagin abscheiden. Die Fraktionen 11—22 gaben im ganzen nach einmaligem Umkristallisieren aus Aceton-Äther 690 mg reines krist. Cinobufagin vom Doppel-Smp. 160—170°/212—215°¹⁾. Die Fraktionen 23—28 blieben amorph und wurden nicht weiter untersucht.

Resibufogenin-3,5-dinitrobenzoat (X). 200 mg amorphes, im Hochvakuum bei 60° getrocknetes Material aus den Fraktionen 3—7 des Chromatogramms E (VII) wurden mit der Lösung von 200 mg 3,5-Dinitrobenzoylchlorid in 3 cm³ abs. Pyridin versetzt und 40 Std. bei 20° stehengelassen. Übliche Aufarbeitung (in Chloroform-Äther) gab 310 mg Rohprodukt, das an 9 g Al₂O₃ chromatographiert wurde. Benzol und Benzol-Chloroform (19:1) eluierten 270 mg Substanz, die aus Aceton-Äther 150 mg dünne Prismen lieferte. Diese schmolzen nach zweimaligem Umkristallisieren aus Chloroform-Aceton bei 250—264° (unter Gelbfärbung und Zers.); $[\alpha]_D^{17} = +11,3^{\circ} \pm 1^{\circ}$ ($c = 1,5916$ in Chloroform).

19,545 mg Subst. zu 1,0015 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{17} = +0,22^{\circ} \pm 0,02^{\circ}$

Zur Analyse wurde 3 Std. im Hochvakuum über P₂O₅ bei 100° getrocknet. Kein Gewichtsverlust. Aschefrei.

3,234 mg Subst. gaben 7,63 mg CO₂ und 1,67 mg H₂O (*S. W.*)

6,320 mg Subst. gaben 0,285 cm³ N₂ (15°, 726 mm) (*S. W.*)

C₃₁H₃₄O₉N₂ Ber. C 64,35 H 5,92 N 4,84%
(578,60) Gef. „ 64,38 „ 5,78 „ 5,11%

Färbung mit konz. H₂SO₄: blasszitronengelb (0 Min.), sattgelb (15 Min.), braungelb (2 Std.), dunkelgrün (3 Std.), grün (5 Std.), schmutziggelb (9 Std.).

Resibufogenin-acetat (XI). 470 mg amorphes, im Hochvakuum bei 60° getrocknetes Material VII wurden in 5 cm³ abs. Pyridin gelöst, mit 3 cm³ Acetanhydrid versetzt und 48 Std. bei 20° stehengelassen. Übliche Aufarbeitung des Acetylierungsgemisches gab 550 mg Öl, das auf Zusatz von Äther spontan kristallisierte und total 250 mg Rohkristalle lieferte; nach zweimaligem Umkristallisieren aus Aceton-Äther Smp.

¹⁾ Cinobufagin lässt sich — wie wir jetzt fanden — aus Methanol-Wasser in schön ausgebildeten rhombischen Platten (und vereinzelt in Pyramiden) gewinnen, die einen einfachen und scharfen Smp. bei 215—217° zeigen.

sehr unscharf bei 208—234°. Kristalle und Mutterlaugen wurden deshalb vereinigt und an 8 g Al₂O₃ chromatographiert. Mit reinem Benzol liess sich praktisch die ganze Menge wieder von der Säule ablösen. Aus Aceton-Äther entweder feine lange Nadeln oder dicke rhombische Platten¹⁾; Smp. 218—230° (unter vorherigem Sintern bei 212°). $[\alpha]_D^{15} = -1,1^0 \pm 2^0$ bzw. $-1,5^0 \pm 2^0$ ($c = 1,7489$ bzw. $1,0186$ in Chloroform). Trocknung jeweils 1 Std. im Hochvakuum bei 100°.

17,515 mg Subst. zu 1,0015 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{15} = -0,02^0 \pm 0,02^0$

10,200 mg Subst. zu 1,0015 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{15} = -0,015^0 \pm 0,02^0$

Zur Analyse wurde 3 Std. im Hochvakuum über P₂O₅ bei 100° getrocknet. Gew.-Verlust 2,47%. Aschefrei.

3,755 mg Subst. gaben 10,066 mg CO₂ und 2,712 mg H₂O (OAB)

C₂₆H₃₄O₅ (426,53) Ber. C 73,21 H 8,03% Gef. C 73,16 H 8,08%

Färbung mit konz. H₂SO₄: blassgelb (0 Min.), sattgelb (1½ Std.), braun mit Grünstich (2½ Std.), grün mit Braunstich (3½ Std.), schmutziggelb (5½ Std.), schmutziggrünbraun (9 Std.).

UV.-Absorptionsspektrum: $\lambda_{\max.} = 297,5 \mu$; $\log \epsilon = 3,73$ (in Alkohol).

Oxydationsversuch von Resibufogenin-acetat (XI) mit CrO₃. 70 mg XI vom Smp. 218—230° wurden in 1,5 cm³ Eisessig gelöst, mit 0,2 cm³ 2-proz. CrO₃-Eisessig-Lösung versetzt und bei 20° stehengelassen. Nach 1½ Std. wurden noch 0,2 cm³ 2-proz. CrO₃-Eisessig-Lösung zugegeben und 5 Std. stehengelassen, worauf kein CrO₃ nachweisbar war. Eine erneute Zugabe von 0,2 cm³ 2-proz. CrO₃-Eisessig-Lösung war nach 16 Std. wiederum völlig verbraucht (Totalverbrauch somit 0,6 cm³ 2-proz. CrO₃-Lösung = 12 mg CrO₃ = ca. 1,1 Atome O). Übliche Aufarbeitung gab 65 mg Neutrales und ca. 6 mg Säure. Die neutralen Anteile lieferten aus Aceton-Äther Prismen vom Smp. 211—226°, die mit dem Ausgangsmaterial XI keine Depression zeigten. Die Säure wurde nicht weiter untersucht.

Resibufogenin-hydrochlorid (XII). a) mit HCl-Gas in Aceton: 400 mg VII wurden in 3 cm³ Aceton gelöst, mit 10 cm³ Aceton, das ca. 40 mg trockenes HCl-Gas enthält, versetzt und 45 Min. auf dem Wasserbad unter Rückfluss gekocht. Beim Verdampfen des Acetons im Vakuum bildeten sich Kristalle, die abgesaugt und mit Aceton-Äther gewaschen wurden: 90 mg, Smp. 220—232° (unter heftiger Gasentwicklung). Nach dreimaligem Umkristallisieren aus Aceton dünne Blättchen vom Smp. 230—232° (unter Zers., Sintern ab 225°); $[\alpha]_D^{15} = +15,1^0 \pm 4^0$ ($c = 0,5302$ in Chloroform). Trocknung 30 Min. im Hochvakuum bei 50°.

5,310 mg Subst. zu 1,0015 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{15} = +0,08^0 \pm 0,02^0$

Die Kristalle gaben eine positive *Beilstein*-Probe.

Zur Analyse wurde 3 Std. im Hochvakuum über P₂O₅ bei 50° getrocknet (Schweinchchen).

3,806 mg Subst. gaben 0,011 mg Gew.-Verlust

3,795 mg Subst. gaben 9,521 mg CO₂ und 2,715 mg H₂O (ETH)

6,392 mg Subst. gaben 2,124 mg AgCl (ETH)

C₂₄H₃₂O₄Cl Ber. C 68,47 H 7,90 Cl 8,42%

(420,96) Gef. „ 68,46 „ 8,00 „ 8,22%

Färbung mit konz. H₂SO₄: unter Aufschäumen blassgelb, beinahe farblos (0 Min.), blaugraugelb (1 Std.), blasslila (3 Std.), lila (4 Std.), hellblau (5 Std.), schmutzigblau (9 Std.).

UV.-Absorptionsspektrum: $\lambda_{\max.} = 298 \mu$; $\log \epsilon = 3,74$ (in Alkohol).

¹⁾ Die erste Kristallmodifikation (Nädelchen) wird gewöhnlich erhalten, die zweite rein zufällig entstandene Modifikation ist ziemlich labil und lässt sich nur selten auf den ersten Anhieb hin durch Animpfen gewinnen. Meistens sind mehrere Kristallisationsversuche nötig.

Die vereinigten Mutterlaugen wurden im Vakuum zur Trockene gebracht, in üblicher Weise acetyliert und das rohe Acetat an Al_2O_3 chromatographiert. Die mit Benzol-Chloroform (9:1) und (4:1) eluierten Anteile kristallisierten spontan aus Aceton-Äther in rhombischen Prismen. Sie waren halogenfrei (*Beilstein*-Probe) und schmolzen nach zweimaligem Umkristallisieren aus Aceton-Äther bei 218–230°; $[\alpha]_{\text{D}}^{15} = -1,2^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 1,2356$ in Chloroform). Die Mischprobe mit Resibufogenin-acetat (XI) schmolz genau gleich.

b) mit HCl-Gas in Chloroform: 1. in der Wärme: 120 mg VII wurden in 1 cm^3 Chloroform gelöst, mit 3,0 cm^3 bei Zimmertemperatur mit trockenem HCl-Gas gesättigtem Chloroform (= 11 mg HCl-Gas pro cm^3) versetzt und unter Rückfluss und Feuchtigkeitsschluss 30 Min. auf dem Wasserbad erhitzt. Nach dem Erkalten wurde mit verd. Sodaauslösung und Wasser neutral gewaschen, über Na_2SO_4 getrocknet und im Vakuum zur Trockene gebracht. Der Rückstand gab aus Aceton 45 mg Blättchen vom Smp. 210–225° (Zers.).

2. in der Kälte: 120 mg VII wurden genau gleich wie oben gelöst und mit HCl-haltigem Chloroform versetzt, aber 15 Std. bei 20° stehengelassen. Nach dieser Zeit hatte sich eine geringe Menge Kristalle gebildet, die durch Zufügen von mehr Chloroform in Lösung gebracht wurde. Anschliessende Aufarbeitung wie bei 1. gab 46 mg feine Blättchen, Smp. 220–230° (Zers.).

Die Rohkristalle aus Versuch 1 und 2 wurden vereinigt (91 mg) und über eine mit Benzol-Chloroform (1:1) bereitete Säule von 3 g Silikatgemisch filtriert. Dabei wurde beinahe die ganze Menge der Substanz in 2 Fraktionen von je 20 cm^3 Benzol-Chloroform (1:3) aus der Säule eluiert. Einmaliges Umkristallisieren der aus beiden Fraktionen vereinigten Kristalle lieferte 67 mg reine Substanz XII vom Smp. 230–232° (Zers.); Misch-Smp. mit dem nach a) bereiteten Präparat genau gleich.

Reines Resibufogenin (XIV) aus XII. a) Versuch zur HCl-Abspaltung bei XII mittels Pyridin: 135 mg XII vom Smp. 230–232° (Zers.) wurden in 2 cm^3 abs. Pyridin gelöst und 2 Std. auf 60° erhitzt, hierauf im Vakuum möglichst vom Pyridin befreit, in Chloroform aufgenommen, mit verd. HCl, Sodaauslösung und Wasser gewaschen, über Na_2SO_4 getrocknet, filtriert und eingedampft: unverändertes Ausgangsmaterial XII.

b) HCl-Abspaltung auf der Al_2O_3 -Säule: Das aus dem Versuch a) zurückgewonnene XII wurde in Chloroform gelöst, mit dem gleichen Volumen Benzol versetzt und zweimal durch eine Säule von 4 g Al_2O_3 filtriert und mit Benzol-Chloroform (1:1) erschöpfend eluiert. Das so gewonnene Material war grösstenteils ölig, enthielt aber noch wenig kristallisiertes Ausgangsmaterial. Es wurde in 2 cm^3 Chloroform gelöst, mit 18 cm^3 Benzol verdünnt und auf eine mit Benzol-Chloroform (9:1) bereitete Säule von 4 g Al_2O_3 gebracht.

Fraktions- Nummer	Lösungsmittelgemisch	Eindampfrückstand
1	Benzol-Chloroform (9:1) .	Spur
2	„ „ (9:1) .	85 mg amorph
3	„ „ (9:1) .	28 „ „
4	„ „ (4:1) .	12 „ „
5	„ „ (4:1) .	Spur
6	Chloroform	—

Fraktionen 2–4 stellten ein blassgelb gefärbtes, halogenfreies (*Beilstein*-Probe) Harz dar, das sich auf keine Weise zur Kristallisation bringen liess. $[\alpha]_{\text{D}}^{16} = -5,4^\circ \pm 1^\circ$ ($c = 2,030$ in Chloroform). Trocknung 1 Std. im Hochvakuum bei 80°.

20,33 mg Subst. zu 1,0015 cm^3 ; $l = 1$ dm; $\alpha_{\text{D}}^{16} = -0,11^\circ \pm 0,02^\circ$

20 mg der Frakt. 2 wurden in 0,5 cm^3 Pyridin gelöst, mit 0,3 cm^3 Acetanhydrid versetzt und 18 Std. bei 20° stehengelassen. Beim Eindampfen im Vakuum trat spontan

Kristallisation ein. Die Kristalle wurden in Chloroform aufgenommen und in üblicher Weise neutral gewaschen. Der nach Verdampfen des Chloroforms erhaltene Rückstand (22 mg) gab aus Aceton-Äther feine Nadeln bzw. nach Animpfen mit der zweiten Kristallmodifikation von XI rhombische Platten, Smp. 220—232°. Mischprobe mit XI 218—230°.

Resibufogenin-hydrochlorid-acetat (IX). a) aus *Resibufogenin-hydrochlorid* (XII): 50 mg Hydrochlorid XII vom Smp. 230—232° (Zers.) wurden in 1,0 cm³ Pyridin gelöst, mit 0,7 cm³ Acetanhydrid versetzt und 40 Std. bei 20° stengelassen. Übliche Aufarbeitung in Chloroform-Äther (1:4) gab 52 mg kristallinen Rückstand, der aus Aceton-Äther zunächst in feinsten Nadelchen kristallisierte, die sich nach kurzer Zeit in drusige, kugelige Kristallgebilde umwandelten. Ausbeute praktisch quantitativ. Smp. 232—233° (Zers.); $[\alpha]_D^{20} = +15,0^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 1,332$ in Chloroform). Trocknung 30 Min. im Hochvakuum bei 50°.

13,340 mg Subst. zu 1,0015 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{20} = +0,20^\circ \pm 0,02^\circ$

Zur Analyse wurde 5 Std. im Hochvakuum über P₂O₅ bei 50° getrocknet. Kein Gew.-Verlust.

4,149 mg Subst. gaben 10,250 mg CO₂ und 2,808 mg H₂O (OAB)

4,980 mg Subst. verbr. 1,28 cm³ Rhodanidlösung¹⁾ (OAB)

C₂₆H₃₅O₅Cl Ber. C 67,45 H 7,62 Cl 7,66%
(463,00) Gef. „ 67,42 „ 7,57 „ 7,78%

Färbung mit konz. H₂SO₄: unter Aufschäumen blassgelb, beinahe farblos (0 Min.), blassrosa (30 Min.), rosa (1½ Std.), rotviolett (2 Std.), graublau (3½ Std.), blau (6 Std.), schmutziggelb (9 Std.).

b) aus *Resibufogenin-acetat* (XI). 200 mg reines XI wurden in 3 cm³ Chloroform gelöst, mit 5,0 cm³ Chloroform versetzt, das pro cm³ 11 mg HCl-Gas enthielt, und 20 Std. bei 20° stengelassen. Die Chloroformlösung wurde hierauf mit verd. Sodalösung und mit dest. Wasser neutral gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und im Vakuum zur Trockene eingedampft. Der Rückstand gab eine stark positive Halogenprobe (nach *Beilstein*) und lieferte aus Aceton-Äther Kristalle, die nicht einheitlich waren und sehr unscharf (ca. bei 200—225°) schmolzen. Es wurde deshalb das ganze Rohprodukt an 6 g Silikatgemisch chromatographiert.

Fraktions- Nummer	Eluierungsmittel	Rück- stand	Ergebnis der Aufarbeitung
1	Benzol-Chloroform (9:1) .	Spur	
2	„ „ (4:1) .	70 mg	Krist., Smp. 224—230° (Zers.)
3	„ „ (4:1) .	40 „	„ Smp. 200—215° (Gemisch)
4	„ „ (4:1) .	20 „	„ Smp. 180—216° (Gemisch)
5	„ „ (4:1) .	20 „	„ ebenso
6	„ „ (1:1) .	15 „	„ ebenso
7	Chloroform	20 „	„ Smp. 205—220°
8	Chloroform-Methanol (19:1)	5 „	„ Smp. 210—225°
9	„ „ (9:1)		

Fraktion 2 gab aus Aceton-Äther 40 mg feine Kristallnadelchen vom Smp. 232° (Zers.). *Beilstein*-Probe stark positiv. Mischprobe mit dem oben beschriebenen Hydrochlorid IX ohne Depression. Fraktionen 3—5 zeigten eine nur noch schwach positive Halogenprobe und konnten nicht durch Umkristallisieren auf einen mehr oder weniger scharfen Smp. gebracht werden. Die Fraktionen 6—8 enthielten nur noch Spuren Halogen.

¹⁾ H. Gysel, Helv. 24, 128 E (1941).

HCl-Abspaltung und Isolierung von Artebufogenin-acetat A (VI). Sämtliche Kristallfraktionen und Mutterlaugen der eben beschriebenen Chromatographie wurden vereinigt (abzüglich 15 mg IX vom Smp. 232° (Zers.)) und im Vakuum zur Trockene gebracht: 170 mg. Durch 48-stündiges Stehen bei 20° in Pyridin-Acetanhydrid wurde nachacetyliert, das Acetylierungsgemisch wie üblich aufgearbeitet und der Rückstand an 8,0 g Al₂O₃ chromatographiert.

Fraktions- Nummer	Eluierungsmittel	Rück- stand	Ergebnis der Aufarbeitung
1—2	Benzol	7 mg	gelbes Öl, verworfen
3—6	„	32 „	Smp. 222—230°
7—9	Benzol-Chloroform (19:1).	35 „	Smp. 220—227°
10—12	„ „ (9:1).	80 „	reines Resi- bufogenin- acetat (XI) Gemisch, Nadelchen und rhombische Plättchen, Smp. sehr unterschiedlich
13	„ „ (4:1).		
14	„ „ (1:1).		
15	Chloroform		
16	Chloroform-Methanol (19:1)	13 „	Öl, verworfen

Während die Fraktionen 3—9 sich als einheitlich erwiesen, gelang es nicht, durch Umkristallisieren allein aus den Fraktionen 10—14 ein einheitliches Produkt zu gewinnen. Eine Rechromatographie der vereinigten Kristalle und Mutterlaugen gab in den ersten Fraktionen noch eine kleine Menge reines Resibufogenin-acetat (XI). Aus den spätern Eluatien liessen sich durch wiederholtes Umkristallisieren 25 mg reines Artebufogenin-acetat A (VI) gewinnen. Smp. 235—238°. Misch-Smp. mit Resibufogenin-acetat (XI) 202—235°. $[\alpha]_D^{17} = -63,9^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 1,2984$ in Chloroform). Trocknung 30 Min. im Hochvakuum bei 80°.

13,030 mg Subst. zu 1,0015 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{17} = -0,83^\circ \pm 0,02^\circ$

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

4,039 mg Subst. gaben 10,830 mg CO₂ und 2,810 mg H₂O (OAB)

C₂₆H₃₄O₅ (426,53) Ber. C 73,21 H 8,03% Gef. C 73,17 H 7,78%

Die meisten Mutterlaugen der Artebufogenin-acetat-A-Fractionen waren uneinheitlich und enthielten neben VI wahrscheinlich noch XI. Ob auch gleichzeitig noch kleinere Mengen Artebufogenin-acetat B (IV) in diesem Gemisch enthalten waren, konnte nicht einwandfrei festgestellt werden. Da VI sich in grösserer Menge aus Artebufogenin (VIII) gewinnen liess (siehe dort), wurde auf eine weitere Aufteilung obiger Mutterlaugen verzichtet.

Färbung von VI mit konz. H₂SO₄: blasszitronengelb (0 Min.), gelb (1 Std.), grüngelb mit Braunstich (2 Std.), graugrün (3 Std.), gelbgrün (4 Std.), braungrün (6 Std.), hellbraun (9 Std.).

Dehydrierungsversuche zur Gewinnung des Resibufogenons (XVIII). a) aus rohem Resibufogenin (VII): 100 mg VII wurden in 2 cm³ reinstem Eisessig gelöst und mit 0,5 cm³ 2-proz. CrO₃-Eisessig-Lösung versetzt und bei 18° stehengelassen. Im Laufe von 4 Std. wurden noch je 0,5 cm³ 2-proz. CrO₃-Eisessig-Lösung zugesetzt und im ganzen 8 Std. bei 18° stehengelassen. Nach Zufügen einiger Tröpfchen Methanol und Stehenlassen zur Entfernung des überschüssigen CrO₃ wurde anderntags zur Trockene eingedampft und wie üblich in Chloroform aufgearbeitet. Dabei resultierte ein weisser Schaum, der 95 mg wog. Da er nicht zur Kristallisation gebracht werden konnte, wurde er an 3 g Al₂O₃ chromatographiert. Benzol und Benzol-Chloroform (19:1) und (9:1) eluieren ca. 40 mg Öl, das auf Zusatz von Methanol kristallisierte: rhombische Platten,

Smp. sehr unscharf zwischen 120—165°, der sich durch Umkristallisieren nicht änderte. Die spätern Eluate blieben amorph.

b) aus *kristallisiertem Resibufogenin-hydrochlorid* (XII): 40 mg Hydrochlorid XII vom Smp. 232° (Zers.) wurden in 1 cm³ reinstem Eisessig unter Erwärmen gelöst und nach dem Abkühlen mit 0,3 cm³ 2-proz. CrO₃-Eisessig-Lösung versetzt und bei 18° stehengelassen. Nach 1 Std. und weitem 3 Std. wurden noch je 0,2 cm³ 2-proz. CrO₃-Lösung zugegeben. Der letzte CrO₃-Zusatz war nach 3 Std. noch nicht völlig aufgebraucht. Nach Zufügen von einigen Tropfen Methanol wurde 16 Std. stehengelassen und dann wie oben aufgearbeitet. Es resultierte dabei ein kristalliner Rückstand, der in Aceton äusserst schwer löslich war, sich als Cl-haltig erwies (*Beilstein*-Probe) und bei 240—243° (Zers.) schmolz. Zur Abspaltung von HCl wurde das ganze Rohprodukt in 8 cm³ Chloroform (unter Erwärmen) gelöst, mit 32 cm³ Benzol versetzt und die klare Lösung auf eine mit abs. Benzol bereitete Säule von 2 g Al₂O₃ gebracht. Nach dem Durchlaufen wurde noch mit 20 cm³ Chloroform nachgewaschen. Die vereinigten Filtrate wurden im Vakuum eingedampft, wobei ein in Benzol, Aceton und Methanol leicht lösliches Öl resultierte. Dieses wurde an 2 g Al₂O₃ auschromatographiert. In 2 Fraktionen (Benzol-Chloroform (9:1)) liess sich praktisch die ganze Menge des eingesetzten Materials (35 mg) wieder eluieren, welches auf Zusatz von 1 Tropfen Methanol spontan kristallisierte. Nach einmaligem Umlösen aus Aceton-Äther wurden ca. 30 mg dünne, glänzende, lange Prismen erhalten, Smp. scharf 186—188°. Manchmal erhält man auch dünne, glänzende Plättchen aus demselben Lösungsmittel, die bei 90—100° opak werden, sonst aber genau gleich schmelzen. *Beilstein*-Probe negativ. $[\alpha]_D^{17} = +4,00 \pm 2^0$ ($c = 1,2471$ in Chloroform). Trocknung 1 Std. im Hochvakuum bei 80°.

12,490 mg Subst. zu 1,0015 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{17} = +0,05^0 \pm 0,02^0$

Zur Analyse wurde 4 Std. im Hochvakuum bei 80° über P₂O₅ getrocknet.

3,770 mg Subst. gaben 10,386 mg CO₂ und 2,652 mg H₂O (ETH)

C₂₄H₃₀O₄ (382,48) Ber. C 75,36 H 7,91% Gef. C 75,18 H 7,87%

Artebufogenin (VIII). a) aus rohem Resibufogenin (VII) beim Erhitzen in Aceton: Die im Vakuum vom Lösungsmittel befreiten amorphen Fraktionen (eluiert mit Benzol-Chloroform (9:1)) des Chromatogramms C (siehe oben bei Isolierung des rohen Resibufogenins), die kein Cinobufagin enthielten, wurden in Aceton gelöst und in einem geräumigen Rundkolben vereinigt. Beim Abdestillieren des Acetons bei gewöhnlichem Druck auf dem Wasserbad bildeten sich im Moment, da praktisch alles Aceton überdestilliert war, spontan reichlich Kristalle, die sich als in Aceton äusserst schwer löslich erwiesen. Durch Animpfen der analogen, amorphen, mit Aceton leicht verflüssigten Fraktionen der Chromatogramme A, B und D mit diesen Kristallen konnte keine Kristallisation erzielt werden. Die beim Abdestillieren des Acetons erhaltenen Kristalle (1,5 g) stellten somit ein Artefact dar. Durch mehrfaches Umkristallisieren aus Chloroform-Aceton liessen sich ca. 500 mg rechteckige, längliche Platten erhalten, die bei 275—283° (ab 270° Tröpfchenbildung und Gelbfärbung) schmolzen; $[\alpha]_D^{20} = +29,1^0 \pm 2^0$ ($c = 1,2726$ in Chloroform). Trocknung 1 Std. im Hochvakuum bei 70°.

12,745 mg Subst. zu 1,0015 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{20} = +0,37^0 \pm 0,02^0$

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

4,096 mg Subst. gaben 11,220 mg CO₂ und 2,976 mg H₂O (OAB)

C₂₄H₃₂O₄ (384,50) Ber. C 74,96 H 8,39% Gef. C 74,75 H 8,13%

Färbung mit konz. H₂SO₄: hellzitronengelb (0 Min.), grüngelb (1 Std.), dunkelbraungrün (2 Std.), grün mit Braunstich (3 Std.), dunkelgrün (4 Std.), braungrün (8 Std.).

Chromatographie von Artebufogenin an Al₂O₃: 200 mg nicht ganz reines Artebufogenin (VIII) vom Smp. 250—280° (Zers.) wurden an 8 g Al₂O₃ nach der Durchlaufmethode chromatographiert. In 9 Fraktionen (4 Benzol-Chloroform (4:1), 3 Benzol-Chloroform (7:3) und 1 Benzol-Chloroform (1:1)) wurde praktisch das gesamte Material von der Säule abgelöst. Sämtliche Fraktionen erwiesen sich als einheitlich. Sie kristallisierten aus Chloro-

form-Aceton oder Aceton-Äther in glänzenden rechteckigen Platten, die bei 272–284° (Zers.) schmolzen.

b) *Aus reinem Resibufogenin-acetat durch Erhitzen mit 2-proz. wässerig-alkoholischer HCl*¹⁾. 500 mg XI vom Smp. 226° wurden in 30 cm³ alkoholischer HCl (24 cm³ Alkohol + 6 cm³ 10-proz. HCl) 4 Std. gekocht, danach abgedampft. Aus Methanol nach 48 Std. Kristalle, Smp. 260° nach dreimaligem Umkristallisieren.

Chromatographie von „unreiner Mutterlauge“ der obigen Umsetzung: 20 mg leicht gelb gefärbtes Material wurden in 1,0 cm³ Chloroform gelöst, mit 4 cm³ Benzol versetzt und über eine Säule von 1 g Al₂O₃ filtriert. Aus den ersten 4 Fraktionen mit Benzol-Chloroform liessen sich 12 mg glänzende, rechteckige Plättchen (aus Aceton-Äther) isolieren, die nach zweimaligem Umkristallisieren 8 mg Kristalle vom Smp. 275–283° (Zers. und Gelbfärbung) lieferten. Misch-Smp. mit dem unter a) beschriebenen Präparat von Artebufogenin ebenso; $[\alpha]_D^{16} = +28,0^{\circ} \pm 3^{\circ}$ ($c = 0,7309$ in Chloroform). Trocknung $\frac{1}{2}$ Std. im Hochvakuum bei 80°.

7,32 mg Subst. zu 1,0015 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{16} = +0,20^{\circ} \pm 0,02^{\circ}$

Die Färbungen mit konz. H₂SO₄ waren genau dieselben wie bei Artebufogenin (VIII).

Artebufogenon (I). 33 mg Artebufogenin (VIII) aus dem obigen Chromatogramm, vom Smp. 275–283° (Zers.), wurden in 2 cm³ reinstem Eisessig gelöst, mit 0,3 cm³ 2-proz. CrO₃-Eisessig-Lösung (6 mg CrO₃; 5,7 mg CrO₃ = 1 O) versetzt. Nach 1 Std. war kein CrO₃ mehr nachweisbar. Ein erneuter Zusatz von 0,3 cm³ 2-proz. CrO₃-Eisessig-Lösung war nach 6 Std. beinahe völlig verbraucht. Nach Versetzen mit 3 Tropfen Methanol und 15 stündigem Stehenlassen wurde im Vakuum eingedampft und der Rückstand wie üblich (in Chloroform-Äther) aufgearbeitet. Die so erhaltenen 30 mg Neutralprodukt (bei der Dehydrierung waren nur Spuren Säure gebildet worden) wurden an 3 g Al₂O₃ chromatographiert. Mit reinem Benzol, Benzol-Chloroform (9:1) und (4:1) liess sich in 6 Fraktionen praktisch die ganze eingesetzte Substanz ablösen. Aus Aceton-Äther Kristalle vom Smp. 236–243°. Zweimaliges Umlösen aus Aceton-Äther gab prismatische Nadeln vom Smp. 240–243° (unter Sintern ab 237°); $[\alpha]_D^{18} = +44,7^{\circ} \pm 2^{\circ}$ ($c = 0,9955$ in Chloroform). Trocknung $\frac{1}{2}$ Std. im Hochvakuum bei 85–90°.

9,970 mg Subst. zu 1,0015 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{18} = +0,445^{\circ} \pm 0,02^{\circ}$

Zur Analyse wurde 8 Std. im Hochvakuum bei 60° über P₂O₅ getrocknet.

4,315 mg Subst. gaben 11,898 mg CO₂ und 3,140 mg H₂O (OAB)

C₂₄H₃₀O₄ (382,48) Ber. C 75,36 H 7,91% Gef. C 75,25 H 8,14%

Färbung mit konz. H₂SO₄: farblos (0 Min.), farblos bei blassgelb (2 Std.), dto. (4 Std.), farblos (8 Std.).

UV.-Absorptionsspektrum: $\lambda_{\max.} = 300 \mu$; $\log \epsilon = 3,71$ (in Alkohol).

Artebufogenin-acetat A (VI) und Artebufogenin-acetat B (IV). a) *aus reinem Artebufogenin (VIII)*: 45 mg reinstes, durch Chromatographie gereinigtes Artebufogenin vom Smp. 275–283° (Zers.) wurden in 1,0 cm³ Pyridin gelöst, mit 0,7 cm³ Acetanhydrid versetzt und 48 Std. bei 20° stehengelassen. Übliche Aufarbeitung mit Äther-Chloroform gab 50 mg Rohprodukt. Aus Aceton-Äther flache, längliche Prismen, Smp. sehr unscharf z. T. bei 160–170°, z. T. zwischen 200–220°. Kristalle und Mutterlauge wurden deshalb vereinigt und an 2 g Al₂O₃ vorsichtig chromatographiert.

Die aus den Fraktionen 7 und 8 gewonnenen Kristalle (ca. 6 mg) wurden vereinigt und nochmals aus Aceton-Äther umkristallisiert. Smp. 233–237° (Sintern ab 226°): Artebufogenin-acetat A (VI). Die Kristalle der übrigen Fraktionen wurden vereinigt und aus Aceton-Äther fraktioniert kristallisiert. Dabei wurden meist nur Mischkristallisate erhalten, die zwischen 150–230° schmolzen. Aus einer Kristallfraktion, die aus Nadelchen

¹⁾ Dieser Versuch ist von Herrn Dr. *Offe* ausgeführt, aber nicht in seiner Dissertation (loc. cit.) beschrieben worden. Herr Dr. *Offe* konnte uns nur noch eine kleine Probe „unreiner Mutterlauge“ seines Präparates zur Verfügung stellen, wofür wir ihm auch an dieser Stelle nochmals bestens danken möchten.

und prismatischen Blättchen bestand, konnten letztere durch Auslesen unter der Lupe abgetrennt werden. Weitere Mengen liessen sich durch vorsichtiges Animpfen von in Aceton-Äther gelösten Mischfraktionen und anschliessendes Auslesen gewinnen. Die vereinigten Kristalle (Blättchen) gaben nach zweimaligem Umlösen aus Aceton-Äther dünne, prismatische Blättchen, die bei ca. 145–170° schmolzen, hierauf wieder erstarrten, um dann scharf bei 219–221° zu schmelzen = Artebufogenin-acetat B (IV). Im ganzen konnten nur etwa 5 mg dieses Produktes gewonnen werden. Weitere Angaben siehe weiter unten.

Fraktions- Nummer	Eluierungsmittel	Smp., Aussehen
1–2	Benzol-Petroläther (3:1)	—
3	Benzol	152–180°, Rest bis 226°
4	„	168–228°, Drusen langer Prismen
5	„	165–225°, lange Nadelchen
6	„	158–232°, „ „
7	„	224–238°, „ „
8	Benzol-Chloroform (19:1)	234–238°, „ „
9	„ „ (19:1)	182–194°, strahlige Spiesse
10	„ „ (9:1)	234–237°, Drusen langer Nadeln
11	„ „ (9:1)	160–230°, dünne Prismen

b) aus den Mutterlaugen der Artebufogenin-Gewinnung: Sämtliche Mutterlaugen, die bei der Abtrennung des rohen Artebufogenins und bei der Umkristallisation des krist. Artebufogenins angefallen waren, wurden vereinigt, im Vakuum getrocknet (ca. 4 g) und analog acetyliert wie das reine Artebufogenin. Die wie oben durchgeführte Chromatographie (an 150 g Al_2O_3) gab das folgende Resultat: mit Benzol, Benzol-Chloroform (19:1) und (9:1) wurden in 13 Fraktionen 1,14 g kristallisiertes Material abgelöst, während 2 g Substanz amorph blieben und grösstenteils sehr leicht ätherlöslich waren. Die spätern Eluate mit Benzol-Chloroform (4:1), (3:2), (1:3) und reinem Chloroform hinterliessen nach dem Eindampfen nur amorphes Harz. Aus den krist. Fraktionen konnten im ganzen 630 mg Kristalle gewonnen werden, die zwischen 222–236° schmolzen. Sie gaben nach einmaligem Umkristallisieren aus Aceton-Äther 470 mg Artebufogenin-acetat A (VI) vom Smp. 235–238,5° (Sintern ab 225°). Die Mischprobe mit dem früher erhaltenen Präparat (siehe Einwirkung von HCl-Gas in Chloroform auf Resibufogenin-acetat (XI)) gab keine Depression. $[\alpha]_D^{17} = -61,8^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 1,2457$ in Chloroform). Trocknung 30 Min. im Hochvakuum bei 80°.

12,475 mg Subst. zu 1,0015 cm^3 ; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{17} = -0,77^\circ \pm 0,02^\circ$

UV.-Absorptionsspektrum: $\lambda_{\text{max.}} = 300 \text{ m}\mu$; $\log \epsilon = 3,73$ (in Alkohol).

Durch wiederholte chromatographische Aufteilungen der vereinigten Mutterlaugen konnten noch weitere 180 mg reines VI gewonnen werden. Totalausbeute somit im ganzen 650 mg. Die Aufteilung des rohen Artebufogenin-acetat-Gemisches in seine Bestandteile gelingt nicht restlos mit Hilfe der chromatographischen Trennungsmethode an Al_2O_3 . Immerhin lässt sich mit viel Geduld und meist mehr zufällig eine Anreicherung des Acetats A in den ersten Fraktionen erzielen. Die späteren Fraktionen sind Gemische, aus denen nur in Ausnahmefällen reines VI gewonnen werden kann. Aus diesen Fraktionen konnten aber etwa 50 mg reines Artebufogenin-acetat B (IV) durch Auslesen der Mischkristallisate unter der Lupe erhalten werden. Smp. 145–170° unter Wiedererstarren bei 170°, endgültiger Smp. bei 219–221°; $[\alpha]_D^{20} = +34,8^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 1,3515$ in Chloroform). Trocknung 1 Std. im Hochvakuum bei 80–90°.

13,535 mg Subst. zu 1,0015 cm^3 ; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{20} = +0,47^\circ \pm 0,02^\circ$

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

3,595 mg Subst. gaben 9,67 mg CO₂ und 2,62 mg H₂O (*S.W.*)

C₂₆H₃₄O₅ (426,53) Ber. C 73,21 H 8,03% Gef. C 73,37 H 8,17%

Färbungen mit konz. H₂SO₄: blassgelb (0 Min.), gelb (15 Min.), zitronengelb (3 Std.), hellgrün (4 Std.), laubgrün (6 Std.), hellgrün (8 Std.).

UV.-Absorptionsspektrum: $\lambda_{\text{max.}} = 297,5 \text{ m}\mu$; $\log \epsilon = 3,73$ (in Alkohol).

Oxydativer Abbau des Resibufogenin-acetats (XI) mit KMnO₄ in Aceton. Ätioresibufogenin-acetat-säure (XIII) und Ätioresibufogenin-acetat-säuremethylester (XVII). 950 mg vom Smp. 220–230° wurden in 60 cm³ Aceton gelöst, mit 1,20 g fein gepulvertem KMnO₄ versetzt und die Temperatur durch Kühlen unter 35° gehalten. Nach 10 Min. war alles KMnO₄ verbraucht. Weitere 300 mg KMnO₄ waren nach 30 Min. entfärbt, ebenso 200 mg nach 1 Std., und die letzten 100 mg waren nach 4 Std. noch nicht völlig reduziert. Total wurden somit ca. 1,8 g KMnO₄ im Laufe von 5 Std. und 40 Min. verbraucht. Eindampfen im Vakuum unter leichtem Erwärmen gab eine harte, leicht pulverisierbare Masse, die nach dem Zerreiben im Achatmörser zwischen verd. H₂SO₄ und Chloroform im Scheidetrichter verteilt wurde. Eine glatte Trennung der Schichten war nur nach Zentrifugation zu erzielen. Die kongosaure wässrige Schicht und der MnO₂-Schlamm wurden 6mal mit je ca. 60 cm³ Chloroform extrahiert, die Chloroformauszüge mit wenig dest. Wasser gewaschen, vereinigt und im Vakuum auf ein kleines Volumen eingengt. Nach dem Versetzen mit der vierfachen Menge Äther wurde erschöpfend mit kleinen Mengen verd. Sodalösung ausgezogen, die wässrigeren, alkalischen Auszüge filtriert und das wasserhelle Filtrat mit verd. HCl eben kongosauer gemacht und hierauf mit Chloroform ausgeschüttelt. Die mit Wasser gewaschenen Chloroformauszüge gaben nach dem Trocknen über Na₂SO₄, Filtrieren und Eindampfen 830 mg saure Anteile als weissen Schaum. Die erschöpfend mit Na₂CO₃-Lösung extrahierte Äther-Chloroform-Lösung hinterliess nach dem Waschen mit dest. Wasser, Trocknen über Na₂SO₄, Filtrieren und Eindampfen im Vakuum 70 mg neutrales Öl, das nicht kristallisiert werden konnte. Die sauren Anteile kristallisierten auf Zusatz von Äther. Im ganzen liessen sich 420 mg Kristalle vom Smp. 188–190° gewinnen, die nach viermaligem Umlösen aus Aceton-Äther schöne, wasserklare Würfel vom Smp. 192–194° (*Zers.*) gaben (XIII). 150 mg dieser Kristalle wurden beiseitegelegt (zur Verseifung siehe weiter unten). Der Rest an Kristallen wurde zusammen mit der Mutterlauge in wenig Methanol gelöst, mit ätherischer Diazomethanlösung methyliert, im Vakuum eingedampft (270 mg) und an 9 g Al₂O₃ chromatographiert. Mit reinem Benzol und Benzol-Chloroform (9:1) liessen sich 230 mg Substanz ablösen, die nach zweimaligem Umkristallisieren aus Äther 188 mg analysenreine kurze, dicke Kristallprismen von XVII, vom Smp. 170–170,5°, gaben; $[\alpha]_{\text{D}}^{17} = +4,3^{\circ} \pm 1^{\circ}$ ($c = 2,4321$ in Chloroform). Trocknung 1 Std. im Hochvakuum bei 90°.

24,355 mg Subst. zu 1,0015 cm³; $l = 1 \text{ dm}$; $\alpha_{\text{D}}^{17} = +0,105^{\circ} \pm 0,02^{\circ}$

Zur Analyse wurde 1 Std. im Hochvakuum bei 100° über P₂O₅ getrocknet¹⁾, anschliessend noch 4 Std. bei 80°.

3,693 mg Subst. gaben 9,585 mg CO₂ und 2,907 mg H₂O (OAB)

4,997 mg Subst. verbr. 3,960 cm³ 0,02-n. Na₂S₂O₃ (*Zeisel-Vieböck*) (OAB)

C₂₃H₃₄O₅ Ber. C 70,74 H 8,78 —OCH₃ 7,96%

(390,50) Gef. „ 70,83 „ 8,84 „ 8,20%

Färbungen mit konz. H₂SO₄: blassgelb (0 Min.), gelb (15 Min.), gelb mit Grünstich (1 Std.), grüngelb mit Braunstich (2 Std.), graugrün mit Braunstich (3 Std.), schmutzgrün (4 Std.), gelbgrün (6 Std.), ockergelb (8 Std.).

UV.-Absorptionsspektrum: $\lambda_{\text{max.}} = 265 \text{ m}\mu$; $\log \epsilon = 0,54$ (in Alkohol). — Die Substanz gibt, in wenig Chloroform gelöst, mit Tetranitromethan keine Färbung. Bei der Mikrohydrierung (5,880 mg) wurde kein Wasserstoff aufgenommen (ETH).

¹⁾ Bei dieser Temperatur ist die Substanz schon merklich flüchtig.

Ätioresibufogenin-säure-methylester (XVI). 100 mg reine Acetoxyssäure XIII vom Smp. 192—194° (Zers.) wurden in 4 cm³ Methanol gelöst, mit 0,4 cm³ 25-proz. KOH versetzt und 40 Std. bei 35° stehengelassen, hierauf unter Zusatz von etwas Wasser im Vakuum vom Methanol befreit, mit verd. HCl eben kongosauer gemacht und mit Chloroform extrahiert. Waschen mit dest. Wasser, Trocknen über Na₂SO₄, Filtrieren und Eindampfen gab 95 mg Schaum, aus dem keine Kristalle gewonnen werden konnten. Die rohe Säure wurde deshalb mit wenig Methanol verflüssigt, mit ätherischer Diazomethanlösung bis zur bleibenden Gelbfärbung versetzt und nach 10 Min. im Vakuum zur Trockene gebracht. Der rohe Methylester wurde an 4 g Al₂O₃ chromatographiert. In 9 Fraktionen liess sich mit Benzol, Benzol-Chloroform (9:1) und (4:1) praktisch die gesamte eingesetzte Menge wieder eluieren. Die aus den einzelnen Fraktionen gewonnenen Kristalle schmolzen alle zwischen 148—150° und gaben unter sich keine Schmelzpunktserniedrigung. Durch einmaliges Umkristallisieren aus Äther-Pentan liessen sich total 76 mg reine Kristalle (prismatische Nadeln) gewinnen, die scharf bei 150—150,5° schmolzen; $[\alpha]_D^{15} = +1^{\circ} \pm 1^{\circ}$ ($c = 2,515$ in Chloroform). Trocknung 1 Std. im Hochvakuum bei 85°.

25,19 mg Subst. zu 1,0015 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{15} = +0,025^{\circ} \pm 0,02^{\circ}$

Acetylierungsversuch: 25 mg XVI wurden durch 24 stündiges Stehenlassen in 0,5 cm³ Pyridin und 0,3 cm³ Acetanhydrid bei 20° acetyliert und wie üblich aufgearbeitet. Das rohe Acetat (25 mg) kristallisierte spontan und gab quantitativ reinen Ätioresibufogenin-acetat-säure-methylester (XVII) vom Smp. 169,5—170,5°. Mischprobe ebenso.

Dehydrierung des Oxy-esters XVI. 134 mg Oxy-ester XVI vom Smp. 149—151° wurden in 2 cm³ Eisessig gelöst, mit 1,0 cm³ 2-proz. CrO₃-Eisessig-Lösung versetzt und bei 20° stehengelassen. Nach 10 Min. war kein CrO₃ mehr vorhanden. Im Laufe von 30 Min. wurden noch dreimal je 0,5 cm³ 2-proz. CrO₃-Eisessig-Lösung zugegeben. Nach 5 Std. konnte CrO₃ noch deutlich nachgewiesen werden. Nun wurde mit einigen Tropfen Methanol versetzt und anschliessend 15 Std. bei 20° stehengelassen. Die Aufarbeitung (wie bei Artebufogenon) gab 135 mg farbloses Öl, das in Äther sehr leicht löslich war, daraus aber nicht kristallisierte. Das ganze Rohprodukt wurde deshalb an 4,0 g Al₂O₃ chromatographiert. Die mit Benzol-Petroläther (1:1), (3:1), reinem Benzol, Benzol-Chloroform (9:1) und (4:1) gewonnenen Eluate gaben nach dem Verjagen des Lösungsmittels Kristalle, die bei allen Fraktionen sehr unscharf zwischen 170—182° schmolzen. Kristalle und Mutterlaugen wurden deshalb vereinigt, im Vakuum getrocknet, in 2 cm³ Eisessig gelöst, mit 1 cm³ 2-proz. CrO₃-Eisessig-Lösung versetzt und 8 Std. bei 20° stehengelassen. Nach dieser Zeit war noch etwas unverbrauchtes CrO₃ vorhanden. Gleiche Aufarbeitung wie oben gab 120 mg Neutralprodukt, das an 4 g Al₂O₃ chromatographiert wurde.

Fraktionsnummer		Menge in mg	Aussehen, Smp.
1	Benzol-Petroläther (3:1)	—	
2	„ „ (3:1)	12	Prismen, 174—180°
3	„ „ (3:1)	20	„ 174—180°
4	Benzol	25	„ 174—180°
5	Benzol-Chloroform (19:1)	12	„ 165—178°
6	„ „ (19:1)	8	„ 165—178°
7	„ „ (9:1)	25	Plättchen, 145—150°
8	„ „ (4:1)	12	„ 150—154°

Ketoester I (XIX). Kristalle und Mutterlaugen aus Fraktionen 2—6 wurden vereinigt und nochmals chromatographiert. Aus den mit Benzol-Petroläther (3:1) und reinem Benzol gewonnenen Eluaten liessen sich durch mehrmaliges Umkristallisieren aus Aceton-Äther ca. 35 mg dicke Prismen gewinnen, Smp. 179—181,5° (Tröpfchenbildung ab 165°); $[\alpha]_D^{12} = +15^{\circ} \pm 2^{\circ}$ ($c = 1,4623$ in Chloroform). Trocknung 1 Std. im Hochvakuum bei 80°.

14,645 mg Subst. zu 1,0015 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{12} = +0,22^{\circ} \pm 0,02^{\circ}$

Zur Analyse wurde 3 Std. im Hochvakuum bei 80° über P₂O₅ getrocknet.

3,704 mg Subst. gaben 9,832 mg CO₂ und 2,908 mg H₂O (ETH)

C₂₁H₃₀O₄ (346,45) Ber. C 72,80 H 8,73% Gef. C 72,44 H 8,79%

Färbungen mit konz. H₂SO₄: farblos (0 Min.), blasseoker (1 Std.), blassrosa (2 Std.), blassrosa (3 Std.), noch heller rosa (4 Std., 6 Std., 8 Std.).

Ketoester II (XX). Kristalle und Mutterlaugen aus Fraktionen 7 und 8 wurden vereinigt und nochmals an 2 g Al₂O₃ chromatographiert. Das aus den Eluaten mit Benzol-Chloroform (19:1), (9:1) und (4:1) gewonnene Material gab nach zweimaligem Umkristallisieren aus Aceton-Äther ca. 20 mg prismat. Plättchen, die bei 153–154° schmolzen; $[\alpha]_D^{12} = +88,2^\circ \pm 1,5^\circ$ ($c = 1,5866$ in Chloroform). Trocknung 1 Std. im Hochvakuum bei 90°.

15,890 mg Subst. zu 1,0015 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{12} = +1,40^\circ \pm 0,02^\circ$

Zur Analyse wurde 3 Std. im Hochvakuum bei 80° über P₂O₅ getrocknet.

3,779 mg Subst. gaben 9,691 mg CO₂ und 2,945 mg H₂O (ETH)

C₂₁H₃₀O₄ (346,45) Ber. C 72,80 H 8,73%

C₂₁H₂₈O₅ (360,43) Ber. „ 69,98 „ 7,83% Gef. C 69,98 H 8,72%

Färbungen mit konz. H₂SO₄: farblos (0 Min.), blassgelb (1 Std.), sehr blassgelb (3 Std.), fast farblos (4 Std.), fast farblos (Grünstich) (6 Std., 8 Std.).

UV.-Absorptionsspektrum: $\lambda_{\max.} = 295$ m μ ; $\log \epsilon = 1,56$ (in Alkohol).

Ätioreisibufogenin-iso-säure-methylester (XXI). 330 mg Acetoxyester XVII vom Smp. 169–171° wurden in 13 cm³ Methanol gelöst, mit 1,3 cm³ 25-proz. KOH versetzt und 40 Std. bei 35° stehengelassen. Hierauf wurde unter Zusatz von etwas Wasser im Vakuum vom Methanol befreit, mit HCl eben kongosauer gemacht, mit Chloroform erschöpfend extrahiert, letzteres mit dest. Wasser gewaschen, über Na₂SO₄ getrocknet, filtriert und eingedampft: 320 mg weisser Schaum. Dieser wurde mit ätherischer Diazomethanolösung übergossen, 5 Min. bei 20° stehengelassen und hierauf im Vakuum eingedampft. Das schwach gelb gefärbte Öl wurde an 10 g Al₂O₃ chromatographiert.

Fraktions- Nummer	Eluierungsmittel	Eindampf- rückstand	Aussehen, Smp.
1	Benzol	18 mg	flache Nadeln, 169–173°
2	„	53 „	„ „ 170–174°
3	„	31 „	„ „ 168–172°
4	„	30 „	„ „ 168–172°
5–7	„	23 „	„ „ 168–172°
8	Benzol Chloroform (19:1)	6 „	Gemisch, ölig
9	„ „ (19:1)	10 „	„ „
10	„ „ (9:1)	40 „	prism. Nadeln, 149–151°
11	„ „ (9:1)	65 „	„ „ 150–151°
12	„ „ (4:1)	20 „	„ „ 149–151°
13	„ „ (1:1)		
14	Chloroform	—	

Die Fraktionen 1–7 (total 155 mg) gaben ca. 125 mg Rohkristalle, die vereinigt und aus Äther-Pentan umkristallisiert 115 mg derbe prismatische Nadeln lieferten, die bei 170–174° schmolzen (XXI). Nochmaliges Umlösen aus Äther allein: Smp. 172–174,5°; $[\alpha]_D^{16} = +8,0^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 1,053$ in Chloroform). Trocknung 1 Std. im Hochvakuum bei 80°.

10,570 mg Subst. zu 1,0015 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{16} = +0,085^\circ \pm 0,02^\circ$

Die Fraktionen 10–14 (total 125 mg) waren zunächst ölig, konnten aber nach Animpfen mit dem Oxy-ester XVI kristallisiert werden. 90 mg Kristalle vom Smp. 149–151°

gaben keine Depression mit dem Ester XVI. — Die Mutterlaugen von XXI und XVI sowie die Mischfraktionen 8 und 9 gaben nach Acetylierung in Pyridin/Acetanhydrid und Chromatographie an Al_2O_3 18 mg XXII (siehe weiter unten), 14 mg Gemisch von XVII und XXII und 24 mg XVII.

Ätioresibufogenin-acetat-isosäure-methylester (XXII). 40 mg Oxy-ester XXI wurden in $0,5 \text{ cm}^3$ Pyridin gelöst, mit $0,3 \text{ cm}^3$ Acetanhydrid versetzt, 48 Std. bei 20° stehengelassen, hierauf im Vakuum eingedampft und wie üblich (in Äther) aufgearbeitet. Es resultierten dabei 42 mg Öl, das auf Zusatz eines Tropfens Methanol und Kratzen kristallin erstarrte. Aus Pentan lange, dünne, glänzende Kristallnadeln, die nach zweimaligem Umkristallisieren scharf bei 155° schmolzen; $[\alpha]_{\text{D}}^{16} = +13,8^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 1,161$ in Chloroform). Trocknung 1 Std. im Hochvakuum bei 60° .

11,625 mg Subst. zu $1,0015 \text{ cm}^3$; $l = 1 \text{ dm}$; $\alpha_{\text{D}}^{16} = +0,16^\circ \pm 0,02^\circ$

Zur Analyse wurde 4 Std. im Hochvakuum bei 60° über P_2O_5 getrocknet (Schweinchen).

3,691 mg Subst. gaben 9,580 mg CO_2 und 2,872 mg H_2O (ETH)

$\text{C}_{23}\text{H}_{34}\text{O}_5$ (390,50) Ber. C 70,74 H 8,78% Gef. C 70,83 H 8,71%

Färbungen mit konz. H_2SO_4 : blassgelb (0 Min.), gelb (1 Std.), braungelb (2 Std.), gelbbraungrün (3 Std.), braungrün (4 Std.), ockergelb (6 Std.), hellocker (8 Std.).

Der Ester XXII nahm bei der Mikrohydrierung (4,652 mg) keinen Wasserstoff auf (ETH). — Er gab, in wenig Chloroform gelöst, mit Tetranitromethan keine Gelbfärbung. UV.-Absorptionsspektrum: $\lambda_{\text{max.}} = 300 \text{ m}\mu$; $\log \epsilon = 0,53$ (in Alkohol).

Dehydrierung des Esters XXI. 110 mg XXI vom Smp. $169\text{--}173^\circ$ wurden in 2 cm^3 Eisessig gelöst, mit $1,0 \text{ cm}^3$ 2-proz. CrO_3 -Eisessig-Lösung versetzt und bei 20° stehengelassen. Nach 1 Std. war kein CrO_3 mehr nachweisbar. Nun wurde noch $0,5 \text{ cm}^3$ 2-proz. CrO_3 -Eisessig-Lösung zugegeben, nach 1 Std. nochmals $0,5 \text{ cm}^3$ und nach einer weiteren Std. nochmals $0,5 \text{ cm}^3$. Der letzte Zusatz von CrO_3 war nach 5 Std. nicht völlig aufgebraucht. Nach Zugabe von einigen Tropfen Methanol wurde über Nacht stehengelassen und anderntags, wie bei der Bereitung des Artebufogenons (I) beschrieben, aufgearbeitet. Das so erhaltene Neutralprodukt kristallisierte spontan und wog roh 110 mg. Es wurde an $4,0 \text{ g}$ Al_2O_3 chromatographiert. Mit Benzol-Petroläther (3:1), reinem Benzol, Benzol-Chloroform (9:1) und (4:1) liessen sich im ganzen wieder 103 mg Substanz ablösen. Die Kristalle der einzelnen Fraktionen schmolzen alle zwischen $188\text{--}190^\circ$ und gaben nach gemeinsamem Umlösen aus Aceton-Äther ca. 80 mg längliche Prismen vom Smp. $189\text{--}190^\circ$ (Tröpfchen von 185° weg); $[\alpha]_{\text{D}}^{17} = +29,2^\circ \pm 1^\circ$ ($c = 17,130$ in Chloroform). Trocknung 1 Std. im Hochvakuum bei 90° .

17,130 mg Subst. zu $1,0015 \text{ cm}^3$; $l = 1 \text{ dm}$; $\alpha_{\text{D}}^{17} = +0,50^\circ \pm 0,02^\circ$

Zur Analyse wurde 3 Std. im Hochvakuum bei 80° über P_2O_5 getrocknet (Schweinchen).

3,582 mg Subst. gaben 9,479 mg CO_2 und 2,918 mg H_2O (ETH)

$\text{C}_{21}\text{H}_{32}\text{O}_4$ (348,47) Ber. C 72,38 H 9,26%

$\text{C}_{21}\text{H}_{30}\text{O}_4$ (346,45) Ber. „ 72,80 „ 8,73% Gef. C 72,22 H 9,11%

Färbungen mit konz. H_2SO_4 : farblos (0 Min.), ockergelb (1 Std.), ocker (2 Std., 3 Std.), hellocker (4, 6, 8 Std.), rostbraun (9 Std.).

UV.-Absorptionsspektrum: $\lambda_{\text{max.}} = 280 \text{ m}\mu$; $\log \epsilon = 1,32$ (in Alkohol).

Versuche zur Wasserabspaltung beim Ester XVII. a) 275 mg Ester XVII vom Smp. $169\text{--}170^\circ$ wurden in 3 cm^3 Pyridin gelöst, mit $0,8 \text{ cm}^3$ POCl_3 versetzt und über Nacht stehengelassen. Das Reaktionsgemisch war nach dieser Zeit praktisch farblos und klar. Es hatten sich keine Kristalle (von Pyridin-hydrochlorid) ausgeschieden. Nach Versetzen mit 1 Tropfen Wasser trat sofort Verfärbung nach Gelb ein, das Reaktionsgemisch erwärmte sich dabei stark, und es schied sich beim Abkühlen reichlich Kristalle ab. Anderntags wurde im Vakuum eingedampft, mit verd. HCl versetzt, in Chloroform-Äther (1:4) aufgenommen und wie üblich aufgearbeitet. Das Rohprodukt kristallisierte durch und wog 274 mg. Aus Aceton-Äther dicke Kristallprismen vom Smp. $169\text{--}170,5^\circ$. Aus den Mutterlaugen liess sich praktisch alles eingesetzte Material in unveränderter Form zurückgewinnen.

b) 100 mg Ester XVII (aus obigem Versuch) wurden in 2,0 cm³ Pyridin gelöst, mit 0,05 cm³ POCl₃ versetzt und in zugeschmolzener Ampulle 1 Std. auf ca. 110° erhitzt (Toluol-Dampf). Dabei färbte sich das Reaktionsgemisch hellbraungelb; dieses, im Vakuum eingedampft, Rückstand in Chloroform-Äther aufgenommen und neutral gewaschen, ergab 98 mg Öl. Aus Äther-Petroläther ca. 65 mg Kristalle vom Smp. 168–170° (Ausgangsmaterial XVII). Die Mutterlaugen wurden an 1,0 g Al₂O₃ chromatographiert. Benzol-Petroläther (1:3) eluierten 10 mg Öl, das in Pentan löslich war und mit Tetranitromethan eine braungelbe Färbung gab. Die spätern Fraktionen des Chromatogramms mit Benzol-Petroläther (1:1), (3:1), reinem Benzol und Benzol-Chloroform (9:1) gaben alle Kristalle, die unverändertes Ausgangsmaterial darstellten.

Oxydativer Abbau des Artebufogenin-acetat A (VI) mit KMnO₄ in Aceton. 600 mg Artebufogenin-acetat A vom Smp. 235–238° wurden in 35 cm³ Aceton gelöst, mit 800 mg fein gepulvertem KMnO₄ versetzt, geschüttelt und durch Kühlen auf Zimmertemperatur gehalten. Nach 10 Min. war alles KMnO₄ reduziert. Weitere 300 mg KMnO₄ waren nach 1 Std. verbraucht. Ein erneuter Zusatz von 200 mg KMnO₄ war nach 4½ Std. noch nicht völlig reduziert. Nun wurde im Vakuum zu dickem Brei eingedampft und der Rest des Acetons durch tropfenweises Zufügen von Wasser und Absaugen an der Wasserstrahlpumpe entfernt. Nach dem Ansäuern (Kongo) mit verd. H₂SO₄ wurde mehrmals mit Chloroform extrahiert, die dunkelbraune Emulsion zentrifugiert, die tiefbraune Chloroformlösung zweimal mit dest. Wasser gewaschen und im Vakuum auf ca. 20 cm³ eingedampft. Nach Zufügen der 4fachen Menge Äther wurde mit verd. Sodalösung mehrmals ausgezogen, die Sodauszüge filtriert (zur Entfernung des zusammengeballten MnO₂), die wasserhellen alkalischen Auszüge mit verd. H₂SO₄ kongsauer gemacht und mit Chloroform extrahiert: 420 mg rohe Acetoxyssäure V als weisser Schaum, der nicht kristallisierte. Die mit dest. Wasser gewaschene Äther-Chloroform-Lösung gab nach Trocknen, Filtrieren und Eindampfen 34 mg öliges Neutralprodukt.

Ätioartebufogenin-acetat-säure-methylester (II). 125 mg amorphe, rohe Acetoxyssäure V wurden mit ätherischer Diazomethan-Lösung übergossen, 10 Min. bei 20° stehengelassen, im Vakuum eingedampft und hierauf an 4 g Al₂O₃ chromatographiert. Benzol-Petroläther (1:1), (3:1) und reines Benzol eluierten ca. 100 mg Substanz. Daraus konnten 70 mg Kristalle gewonnen werden, die zwischen 175–180° schmolzen. Zweimaliges Umkristallisieren aus Äther (mit Spur Aceton) gab derbe Prismen vom Smp. 179–181° (Tröpfchenbildung ab 165°); $[\alpha]_D^{19} = -20,8^\circ \pm 1^\circ$ ($c = 2,5712$ in Chloroform). Trocknung 1 Std. im Hochvakuum bei 80°.

25,75 mg Subst. zu 1,0015 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{19} = -0,535^\circ \pm 0,02^\circ$

Zur Analyse wurde die im Achatmörser verriebene Substanz 6 Std. im Hochvakuum bei 50° über P₂O₅ getrocknet.

3,943 mg Subst. gaben 10,230 mg CO₂ und 3,085 mg H₂O (OAB)
6,059 mg Subst. verbr. 4,802 cm³ 0,02-n. Na₂S₂O₃ (Zeisel-Vieböck) (OAB)

C ₂₃ H ₃₄ O ₅	Ber. C 70,74	H 8,78	—OCH ₃ 7,96%
(390,50)	Gef. „ 70,80	„ 8,75	„ 8,20%

Die Substanz gab, in wenig Chloroform gelöst, mit Tetranitromethan keine Gelbfärbung.

Färbungen mit konz. H₂SO₄: farblos (0 Min.), blassgelb (5 Min.), gelb (1 Std.), zitronengelb (2 Std.), hellgrün (3, 4 und 6 Std.), hellgelbgrün (8 und 9 Std.).

UV.-Absorptionsspektrum: $\lambda_{\max.} = 297$ m μ ; $\log \epsilon = 1,38$ (in Alkohol)¹⁾.

Hydrierungsversuch von II. 125 mg Kristalle vom Smp. 179–181° wurden in 2 cm³ Eisessig gelöst, mit 20 mg PtO₂·H₂O versetzt und bei Normaldruck 14 Std. hydriert.

1) Für die Aufnahme des UV.-Absorptionsspektrums wurde eine Substanzprobe verwendet, die nur aus abs., über metallischem Natrium destilliertem Äther (acetonfrei) umkristallisiert worden war. Ausserdem war sie im Achatmörser verrieben und 1 Std. im Hochvakuum bei 80° getrocknet worden.

Dabei wurden $9 \text{ cm}^3 \text{ H}_2$ (statt wie berechnet $10,8 \text{ cm}^3$) verbraucht¹). Nach Verdünnen mit Äther wurde filtriert und im Vakuum eingedampft, wobei die Substanz kristallin erstarrte. Sie wurde in Äther aufgenommen, mit verd. Sodalösung neutral gewaschen, über Na_2SO_4 getrocknet usw. und gab 124 mg Rückstand. Aus Äther derbe Prismen vom Smp. $180\text{—}181^\circ$: unverändertes II. Aus der Mutterlauge liess sich praktisch quantitativ der Rest des Ausgangsmaterials in Kristallen vom ungefähren Smp. $177\text{—}180^\circ$ gewinnen.

UV.-Absorptionsspektrum: $\lambda_{\text{max.}} = 298 \text{ m}\mu$; $\log \varepsilon = 1,35$ (in Alkohol)²).

Verseifung der Acetoxysäure V. 295 mg amorphe Acetoxysäure I wurde in 12 cm^3 Methanol gelöst, mit $1,2 \text{ cm}^3$ 25-proz. KOH versetzt, wobei die farblose Lösung sofort gelb wurde, und 15 Std. bei 35° stehengelassen. Hierauf wurde das Methanol im Vakuum verjagt, der gallertartige Rückstand mit so viel H_2O versetzt, dass eben eine klare Lösung entstand und mit verd. HCl eben kongosauer gemacht. Erschöpfende Extraktion mit Chloroform gab ca. 260 mg rohe Oxysäure als weissen Schaum. Dieser wurde mit ätherischer Diazomethanlösung übergossen, 10 Min. bei 20° stehengelassen und hierauf im Vakuum vom Äther befreit. Bei der Chromatographie des rohen Methylesters an $8 \text{ g Al}_2\text{O}_3$ liessen sich aus den Fraktionen Benzol, Benzol-Chloroform (9:1) und (4:1) ca. 140 mg Kristalle vom Smp. $174\text{—}177^\circ$ gewinnen. Zweimaliges Umlösen aus Aceton-Äther gab wasserklare Prismen vom Smp. $176\text{—}178^\circ$ (III); $[\alpha]_{\text{D}}^{19} = -30,0^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 1,315$ in Chloroform). Trocknung 1 Std. im Hochvakuum bei $70\text{—}80^\circ$.

$13,17 \text{ mg}$ Subst. zu $1,0015 \text{ cm}^3$; $l = 1 \text{ dm}$; $\alpha_{\text{D}}^{19} = -0,395^\circ \pm 0,02^\circ$

Verseifung des Acetoxysäure-methylesters II. 50 mg Methylester II wurden in $4,0 \text{ cm}^3$ Methanol gelöst, mit $0,4 \text{ cm}^3$ 25-proz. KOH versetzt und 16 Std. bei 35° stehengelassen. Nach Verjagen des Methanols im Vakuum wurde wenig Wasser zugegeben, mit verd. HCl eben kongosauer gemacht, mit Chloroform extrahiert, dieses mit Wasser gewaschen, über Na_2SO_4 getrocknet, filtriert und eingedampft. Der Rückstand wurde nach üblicher Methylierung mit ätherischer Diazomethanlösung an $4 \text{ g Al}_2\text{O}_3$ chromatographiert. In 10 Fraktionen (Benzol, Benzol-Chloroform (1:19), (9:1) und (4:1)) wurde die eingesetzte Menge wieder zurückgewonnen. Aus sämtlichen Fraktionen liessen sich Kristalle gewinnen, die einheitlich zwischen $172\text{—}176^\circ$ schmolzen. Nochmaliges Umlösen der vereinigten Kristalle aus Äther gab spindelförmige Kristalle, die bei $175\text{—}178^\circ$ (Tröpfchenbildung ab $160\text{—}165^\circ$) schmolzen und mit den aus I gewonnenen Kristallen von III keine Depression zeigten. — Der Oxyester III gab aber mit dem isomeren Oxyester XXI vom Smp. $172\text{—}174,5^\circ$ eine starke Schmelzpunktserniedrigung ($144\text{—}170^\circ$).

Acetylierung des Oxyesters III. 30 mg Oxyester III vom Smp. $176\text{—}178^\circ$ wurden wie üblich in Pyridin/Acetanhydrid durch Stehenlassen während 2 Tagen bei 20° acetyliert. Die Aufarbeitung (in Äther) gab $33,5 \text{ mg}$ kristallisiertes Rohprodukt. Aus Äther 24 mg schön ausgebildete Rhomboeder, die bei $179,5\text{—}181,5^\circ$ (Tröpfchenbildung ab ca. 170°) schmolzen. Die Mischung mit dem oben beschriebenen Acetoxymethylester II schmolz bei $178\text{—}181^\circ$ (Tröpfchen ab 162°). Aus den Mutterlauge liessen sich noch 6 mg Kristalle vom Smp. $177\text{—}180,5^\circ$ gewinnen.

Die Mikroanalysen wurden in folgenden Laboratorien ausgeführt: Mikrolabor der Organisch-chemischen Anstalt der Universität Basel (Leitung *E. Thommen*) (OAB), Mikroanalytisches Laboratorium der Eidg. Techn. Hochschule, Zürich (Leitung *W. Manser*) (ETH) sowie bei Frau Dr. *M. Sobotka* und Herrn Dr. *E. Wiesenberger*, Graz (*S. W.*). Die UV.-Absorptionsspektren wurden z. T. von Herrn Dr. *P. Zoller*, z. T. von uns mit einem Beckman-Quarz-Spektrophotometer Modell DU aufgenommen.

¹) Der scheinbare H_2 -Verbrauch ist auf eine Undichtheit in der Apparatur zurückzuführen.

²) Die Substanz war aus acetonfreiem Äther umkristallisiert, im Achatmörser verrieben und bei 80° während einer Std. im Hochvakuum getrocknet worden.

Zusammenfassung.

Für ein früher als „Isobufalin“ bezeichnetes, bisher nur in Form kristallisierter Derivate isoliertes amorphes Bufogenin aus Ch'an Su wird der Name Resibufogenin vorgeschlagen. – Die Bereitung von reinem, amorphem Resibufogenin aus dem kristallisierten Hydrochlorid wird beschrieben, ebenso der oxydative Abbau von kristallisiertem Resibufogenin-acetat. Die bisherigen Ergebnisse lassen vermuten, dass von den 4 Sauerstoffatomen des Resibufogenins ($C_{24}H_{32}O_4$) zwei im Cumalinring, eines als sekundäre HO-Gruppe und das vierte als Oxydring vorliegen.

Resibufogenin lässt sich in ein kristallisiertes Isomeres umlagern, das von *Kotake* als „Anhydrobufalin“ bezeichnet wurde. Wir schlagen vor, diesen Namen durch Artebufogenin zu ersetzen. Artebufogenin liefert bei der Acetylierung mit Pyridin-Acetanhydrid zwei isomere Acetate A und B, die beide noch den unveränderten Cumalinring enthalten. Das in grösserer Menge gewonnene Acetat A ist wahrscheinlich durch eine Isomerisierung entstanden. Die Abbaurisultate deuten darauf hin, dass es eine träge Carbonylgruppe enthält. Die weiteren Sauerstoffatome liegen im Cumalinring und in der Acetoxygruppe vor. Auch das Acetat A scheint somit keine tertiäre HO-Gruppe wie die bisher in ihrer Konstitution aufgeklärten Bufogeneine zu enthalten.

Sowohl Resibufogenin wie Artebufogenin zeigten bei intravenöser Infusion an der Katze bis zu Dosen von etwa 5 mg/kg keine Herzwirkung.

Pharmazeutische Anstalt der Universität Basel.

304. Chlorophyll a. Untersuchung der Polarisation des Fluoreszenzlichts zur Ermittlung der Richtungen der Übergangsmomente von Absorptionsbanden

von Robert Stupp und Hans Kuhn.

(11. X. 52.)

Die einzelnen Absorptionsbanden einer Substanz können bekanntlich nicht nur durch Lage und Intensität, sondern im allgemeinen auch durch die Richtung des Übergangsmoments charakterisiert werden, das dem Elektronensprung zuzuordnen ist, der einer solchen Bande zugeschrieben werden kann. Um diese Richtung zu kennzeichnen, denken wir uns die Molekel mit linear polarisiertem Licht, dessen Wellenlänge in den Bereich einer herausgegriffenen Absorptionsbande fällt, bestrahlt. Man findet, dass dieses Licht maximal absorbiert wird, wenn die Molekel so orientiert ist, dass die mit den