

Activity of crude extracts of amphibian skin expressed as bradykinin (μg per g tissue)

	Dog blood pressure	Rat uterus	Guinea-pig ileum	Dog large intestine	Rabbit large intestine
<i>Phyllomedusa sauvagi</i> 1962 (dry skin)	800	40–90	75–200	150–200	
<i>Phyllomedusa sauvagi</i> 1962 (wet skin)	1200	20–50	50–150	50–100	
<i>Phyllomedusa rhodei</i> 1962 (dry skin)	1500–2000	250–350	500–650	300–450	
<i>Rana esculenta</i> 1961 (wet skin)	—	7–20	15–20	15–30	300–400
<i>Rana temporaria</i> 1961 (wet skin)	—	90–100	100–130	100–130	—
<i>Rana pipiens</i> 1962 (dry skin)	40	5–10	100	—	—
<i>Rana warschewitschii</i> 1962 (dry skin)	60	70	50	—	>100
<i>Rana japonica</i> 1962 (dry skin)	—	10	<1.5	—	>100
<i>Rana catesbiana</i> 1962 (dry skin)	—	2.5	<1.5	—	>100
<i>Rana nigromaculata</i> 1962 (dry skin)	—	2	1.6	—	>100

So far, a partial separation of the active constituents of crude skin extracts has been carried out for *Phyllomedusa sauvagi* and *Phyllomedusa rhodei*.

In a typical experiment, the residue left by evaporation of the methanol extract of 6 g fresh skin of *Phyllomedusa sauvagi* was dissolved in 95% ethanol and absorbed on an alkaline alumina column. Elution was carried out with descending concentrations of ethanol. At least three peaks of activity appeared in the eluates: the first in 70% ethanol (polypeptide A), the second in 60% ethanol (polypeptide B), and the third in 50–40% ethanol (polypeptide C).

Polypeptide A was the one that most strictly resembled bradykinin in its pharmacological properties. However, its identity with bradykinin is improbable.

Polypeptide B, perhaps the most interesting of the series, possessed a powerful hypotensive action in the dog and the rabbit. The fall of blood pressure which could be obtained with very low doses of the polypeptide, lasted considerably longer than that caused by bradykinin, substance P, eledoisin or physalaemin doses which produced a pressure fall of the same intensity.

Polypeptide C was particularly active on the guinea-pig ileum but the shape of the contraction curve differed sharply from that produced by bradykinin.

Polypeptides identical or similar to polypeptide A have been found in *Phyllomedusa rhodei*, *Rana esculenta* and *Rana temporaria*.

Research is in progress, intended to separate the different bradykinin-like polypeptides which have already been identified and which will be identified in the skin of the new amphibian species which we are collecting

throughout the world, to determine their origin and significance, to subject the different polypeptides to a thorough pharmacological study, and finally to isolate the most abundant of them in a pure form in order to elucidate their chemical structure³.

Riassunto. Gli estratti di pelle di alcuni comuni anfibî nostrani (*Rana esculenta*, *Rana temporaria*) e, ancor più, di certi anfibî sudamericani del genere *Phyllomedusa* contengono rilevanti quantitativi di polipeptidi bradichinino-simili. Negli estratti di *Phyllomedusa sauvagi* ne sono stati identificati almeno tre, a mezzo di una semplice cromatografia su colonna di allumina basica: polipeptide A, assai simile alla bradichinina per le sue proprietà farmacologiche; polipeptide B, dotato di prolungata ed intensa azione ipotensiva; polipeptide C, particolarmente attivo sull'ileo di cavia. Sono in corso ricerche dirette all'isolamento di questi polipeptidi e al chiarimento della loro struttura chimica.

V. ERSAMER, G. BERTACCINI, and J. M. CEI

Istituto di Farmacologia, Università di Parma (Italy) and Instituto de Biología, Universidad Nacional de Cuyo, Mendoza (Argentina), July 30, 1962.

³ We are indebted to, and wish to thank Dr. N. URAKAWA (Department of Veterinary Pharmacology, Faculty of Agriculture, University of Tokyo) for the specimens of *Rana japonica*, *Rana catesbiana* and *Rana nigromaculata* as well as for specimens of other Japanese amphibian species. A complete study of these species will be published in collaboration with Dr. URAKAWA.

Alkaloide aus *Vinca minor* L.¹ Vincadin, Minovin und Vincorin

Aus *Vinca minor* L. wurden bisher 8 Alkaloide isoliert und beschrieben: Vincamin (Minorin)^{2–5}, Vincin⁶, Vincaminin (Vincarein)^{7,8}, Vincinin⁷, Vincanorin⁸, Vincaminorin⁹, Vincaminorein¹⁰ und Vincamidin¹⁰. Drei Alkaloide, Isovincamin^{3,6}, Perivincin^{6,11} und Vincaminin¹² wurden

⁴ E. S. ZABOLOTNAJA, Trudy VILLAR 10, 29 (1950).

⁵ Z. ČEKAN, J. TROJÁNEK und E. S. ZABOLOTNAJA, Tetrahedron Letters 18, 11 (1959).

⁶ J. TROJÁNEK, K. KAVKOVÁ, O. ŠTROUF und Z. ČEKAN, Coll. Czech. Chem. Comm. 26, 867 (1961).

⁷ J. TROJÁNEK, O. ŠTROUF, K. KAVKOVÁ und Z. ČEKAN, Chem. and Ind. 1961, 790.

⁸ J. MOKRÝ, I. KOMPIŠ, O. BAUEROVÁ, J. TOMKO und Š. BAUER, Exper. 17, 354 (1961).

⁹ J. TROJÁNEK, J. HOFFMANOVÁ, O. ŠTROUF und Z. ČEKAN, Coll. Czech. Chem. Comm. 24, 526 (1959).

¹⁰ J. TROJÁNEK, O. ŠTROUF, K. KAVKOVÁ und Z. ČEKAN, Coll. Czech. Chem. Comm. 25, 2045 (1960).

¹¹ S. SCHEINDLIN und N. RUBIN, J. Amer. pharm. Assoc. Sci. Ed. 44, 330 (1955).

¹² M. M. JANOT, XV^e Congrès de Chimie pure et appliquée (Zürich 1955).

¹ VII. Mitteilung, VI. Mitt.: siehe J. MOKRÝ I. KOMPIŠ, P. ŠEFČOVIČ, und Š. BAUER, Coll. Czech. Chem. Comm., im Druck.

² E. SCHLITTLER und A. FURLENMEIER, Helv. chim. Acta 36, 2017 (1953).

³ M. PAILER und L. BELOHLAV, Monatsh. Chem. 85, 1056 (1954).

als uneinheitliche Stoffe erkannt. Die Konstitution des Vincamins¹³⁻¹⁵ und Vincanorins ($\pm$ Eburnamonin)^{1,16} sind bekannt.

Wir haben drei weitere Alkaloide aus den vereinigten Fraktionen S₁, S₂ und S₃¹⁷ der «Gelben Fraktion B»¹⁵ durch Chromatographie an Aluminiumoxid gewonnen. Diese zeigten im Papierchromatogramm im System Benzol/*n*-Butanol/85% Ameisensäure/McIlvains Puffer pH 3,5 (Verhältnis 25:5:1:31) (System I/3,5)¹⁷ zwei Flecke mit R_f-Werten 0,57 und 0,86; in Dünnschichtchromatographie an Aluminiumoxid im System Benzol/Aceton (98,5:1,5) dagegen drei Flecke mit R_f-Werten 0,80, 0,42 und 0,23.

	Vincadin		Minovin		Vincorin	
Formel	C ₂₁ H ₂₈ N ₂ O ₂		C ₂₂ H ₂₈ N ₂ O ₂		C ₂₂ H ₂₈ N ₂ O ₃	
Analyse	ber. %	gef. %	ber. %	gef. %	ber. %	gef. %
C	73,91	73,83	74,96	74,68	71,71	71,56
H	8,29	8,43	8,01	7,91	7,66	7,93
N	8,23	8,20	7,95	7,95	7,60	7,66
Mol. Gewicht ^a	340,4	348,3	352,4	353,2	368,4	366,3
[α] _D ^b	+ 91,5 $\pm$ 2°		0 $\pm$ 2°		-142 $\pm$ 2°	
Smp.	70-75°*		79-81°		93-94°	
UV (in Äthanol)	$\lambda_{\max}$	log ϵ	$\lambda_{\max}$	log ϵ	$\lambda_{\max}$	log ϵ
	228	4,57	338	4,17	254	4,01
	286	3,93	310	3,95	326	3,58
	290	3,89	Inflection			
	$\lambda_{\min}$	log ϵ	$\lambda_{\min}$	log ϵ	$\lambda_{\min}$	log ϵ
	254	3,44	267	3,04	230	3,63
					286	2,79
IR (in KBr)	$\lambda_{\max}$ cm ⁻¹		$\lambda_{\max}$ cm ⁻¹		$\lambda_{\max}$ cm ⁻¹	
	740		755		790; 800; 810	
	1780		1590		1500	
	3400; 3435		1680		1600	
	3450 ^c				1740	
	R _f		R _f		R _f	
Papierchromatographie ^d	0,45		0,72		0,87	
Dünnschichtchromatographie ^e	0,80 ^f		0,42		0,25	
Fluoreszenz im UV ^f	Ø		dunkel		blauviolett	

^a Titration mit Perchlorsäure. ^b In Äthanol ($c = 1$; $l = 2$). ^c In CCl₄. ^d Papier W-1; System I/3,5. ^e Al₂O₃; System Benzol/Aceton (98,5:1,5). ^f Auf dem Dünnschichtchromatogramm. ^g Sintert ab 65°.

Die vereinigte Fraktion S wurde durch Säulenchromatographie an Aluminiumoxid (Aktivität II) mit Benzol/Aceton (98,5:1,5) in zwei Fraktionen (I und II) geteilt. Die Fraktion I zeigte bei der Dünnschichtchromatographie an Aluminiumoxid im genannten System drei mit Dragendorff-Reagenz reagierende Flecke (R_f = 0,80, 0,42 und 0,25), die Fraktion II nur einen Fleck (R_f 0,21). An der weiteren Verteilung der amorphen Fraktion II, die das Alkaloid VM-15¹⁷ enthält und eine starke Linksdrehung [α]_D = -534° aufweist, wird gearbeitet.

Die Fraktion I wurde durch Chromatographie an Aluminiumoxid (Aktivität II) und Benzol als Elutionsmittel in fünf Fraktionen geteilt, wobei die Fraktionen 1, 3 und 5 durch Kristallisation aus Petroläther bzw. *n*-Heptan drei neue Alkaloide ergaben, die wir Vincadin, Minovin und Vincorin nennen. Die Eigenschaften dieser Alkaloide sind in der Tabelle zusammengestellt.

Vincadin gehört zu den Indol-Alkaloiden (UV-Spektrum). Das IR-Spektrum weist auf die Anwesenheit einer unkonjugierten Estergruppe, einer freien NH-Gruppe und eines 1,2-disubstituierten Benzolringes hin.

Minovin ist auf Grund seines UV-Spektrums ein Alkaloid des « α -Methylenindolin»-Typus. Das IR-Spektrum weist auf die Anwesenheit einer konjugierten C=O-Gruppe und eines 1,2-disubstituierten Benzolringes hin.

Vincorin gehört nach dem UV-Spektrum zu den Alkaloiden des Dihydroindol-Typus. Das IR-Spektrum zeigt die Anwesenheit einer unkonjugierten Estergruppe, die Absorption bei 1500 und 1600 cm⁻¹ schreiben wir einem konjugierten aromatischen Kerne zu, die Banden bei 790, 800 und 810 cm⁻¹ dem asymm. trisubstituierten Benzolkern.

Summary. The isolation and characterisation of three new alkaloids from *Vinca minor* L. is described: Vincadine C₂₁H₂₈N₂O₂, Minovine C₂₂H₂₈N₂O₂, and Vincorine C₂₂H₂₈N₂O₃ belonging to the indol- and dihydroindol alkaloids.

J. MOKRÝ, L. DÚBRAVKOVÁ und P. ŠEFCOVIČ

ČSAV, Abteilung der Alkaloidchemie des Chemischen Institutes der Slowakischen Akademie der Wissenschaften, Bratislava (Tschechoslowakei), 28. Juli 1962.

¹³ J. TROJÁNEK, O. ŠTROUF, J. HOLUBEK und Z. ČEKAN, Tetrahedron Letters 20, 706 (1961).

¹⁴ J. MOKRÝ, I. KOMPIŠ, J. SUCHÝ, P. ŠEFCOVIČ und Z. VOTICKÝ, Chem. zvesti 16, 140 (1962).

¹⁵ J. MOKRÝ, I. KOMPIŠ, J. SUCHÝ, P. ŠEFCOVIČ und Z. VOTICKÝ, Chem. zvesti, im Druck.

¹⁶ J. MOKRÝ, I. KOMPIŠ und P. ŠEFCOVIČ, Tetrahedron Letters 10, 433 (1962).

¹⁷ O. BAUEROVÁ, J. MOKRÝ, I. KOMPIŠ, Š. BAUER und J. TOMKO, Chem. zvesti 15, 523 (1961).

Modifications de l'excitabilité des centres vasopresseurs hypothalamiques par des injections locales de catécholamines

Il n'a pas encore été clairement démontré une action directe des catécholamines sur les centres vasomoteurs¹. Suivant l'opinion de la plupart des auteurs²⁻⁶, l'injection intraveineuse de ces amines ne perturbe pas les centres vasomoteurs. Toutefois, l'existence de la barrière-encéphalique imperméable à ces amines, sauf au niveau de l'hypothalamus⁶, ne permet pas d'exclure un contrôle des centres par les amines endogènes; la concentration de ces amines

dans l'hypothalamus est élevée, ce qui peut faire envisager leur rôle dans le contrôle central des réactions autonomes.

¹ A. B. ROTHBALLER, Pharmacol. Rev. 11, 494 (1959).

² S. J. C. NOWAK et A. SAMAN, Arch. int. Pharmacodyn. 51, 464 (1935).

³ R. H. SCHNEIDER, L. BECK et D. F. BOHR, Amer. J. Physiol. 194, 246 (1958).

⁴ J. J. JONES, Circulation Res. 16, 156 (1962).

⁵ A. IGGO et M. VOGT, J. Physiol. (Londres) 161, 62 (1962).

⁶ H. WEIL-MALHERBE, J. AXELROD et R. TOMCHICK, Science 129, 226 (1959).