

Zur Analyse wurde 2 Tage bei 26° über  $P_2O_5$  ohne Vakuum getrocknet.

3,780 mg Subst. gaben 6,660 mg  $CO_2$  und 2,464 mg  $H_2O$  (OAB)  
 $C_7H_{12}O_5$  (176,17) Ber. C 47,72 H 6,87% Gef. C 48,08 H 7,29%  
 Mischsmp. mit authentischem Material<sup>1)</sup> aus Emicymarin: keine Depression.

Die Mikroanalysen wurden im Mikrolabor der Organ.-chem. Anstalt der Universität Basel (Leitung *E. Thommen*) (OAB) und im Mikroanalytischen Laboratorium Brugg bei Herrn *Aug. Peisker-Ritter* (A. P.) ausgeführt.

### Zusammenfassung.

Das früher als Substanz Nr. 762 bezeichnete Glykosid wird Panstrosid genannt. Durch Spaltung mit HCl in Aceton liess es sich in Sarverogenin und Digitalose spalten. Aus Drehungswerten folgt, dass Zucker und Aglykon  $\beta$ -glykosidisch verknüpft sind.

Organisch-chemische Anstalt der Universität Basel.

## 260. Über herzaktive Krötengifte (Bufogenine).

6. Mitteilung<sup>2)</sup>.

### Telocinobufagin aus *Bufo marinus* (L.) Schneid. (= *Bufo agua Seba*) und einige Bemerkungen zur Konstitution des Marinobufagins

von Kuno Meyer.

(28. VIII. 51.)

Das erste reine und kristallisierte herzaktive Krötengift haben *Abel & Macht*<sup>3)</sup> im Jahre 1911 aus der südamerikanischen Kröte *Bufo marinus* (L.) Schneid. isoliert und gaben ihm den Namen Bufagin, der später in Marinobufagin umgeändert wurde<sup>4)</sup>. Derselbe Stoff wurde von *Deulofeu & Mendive*<sup>5)</sup> sowohl aus *Bufo marinus* aus Brasilien wie auch aus der nordargentinischen Kröte *Bufo paracnemis*<sup>6)</sup> er-

<sup>1)</sup> F. Reber & T. Reichstein, Helv. **29**, 343 (1946), fanden F. 136–137°;  $[\alpha]_D^{20} = -75,30 \pm 4^0$  (in An); J. D. Lamb & S. Smith<sup>e</sup> fanden F. 137–138°;  $[\alpha]_D^{20} = -83^0$  (in  $H_2O$ ).

<sup>2)</sup> 5. Mitt., K. Meyer, Helv. **32**, 1993 (1949).

<sup>3)</sup> J. J. Abel & D. I. Macht, J. Pharmacol. and Exp. Therap. **3**, 319 (1911–1912).

<sup>4)</sup> H. Jensen & K. K. Chen, J. Biol. Chem. **100**, Proceedings pag. LVII (1933); K. K. Chen & A. L. Chen, J. Pharmacol. and Exp. Therap. **49**, 514 (1933).

<sup>5)</sup> V. Deulofeu & J. R. Mendive, A. **534**, 288 (1938).

<sup>6)</sup> *Bufo paracnemis* ist zum erstenmal von *Lutz*<sup>7)</sup> in Nordargentinien beobachtet worden und ist möglicherweise nur eine geographische Varietät von *Bufo marinus*. *Deulofeu & Mendive*<sup>5)</sup> haben bei gleichzeitiger Aufarbeitung der Giftsekrete von authentischen *B. marinus* und von *B. paracnemis* auch aus beiden dieselbe Krötenbase (Bufotenin) isolieren können. Diese chemischen Befunde, die keinerlei Unterschiede zwischen *B. marinus* und *B. paracnemis* erkennen lassen, dürften bis zu einem gewissen Grade diese Vermutung bestätigen, da die chemische Untersuchung der verschiedenen Krötengifte bis jetzt gezeigt hat, dass jede Krötenart ihr spezifisches Giftgemisch produziert.

<sup>7)</sup> A. Lutz, Mem. Inst. Oswaldo Cruz **28**, 111 (1934).

halten. Marinobufagin ist schon verschiedentlich chemisch untersucht worden<sup>1)</sup>. Auch Strukturformeln sind für diesen Stoff vorgeschlagen worden, die aber nicht als völlig gesichert gelten können.

Herr Prof. *V. Deulofeu* hatte die Freundlichkeit, uns für chemische Versuche etwa 1 g Rohkristallisat aus *Bufo marinus* (aus Brasilien) zur Verfügung zu stellen<sup>2)</sup>. Das Produkt war nahezu farblos und zeigte den Smp. 200—208° (korr., *Kofler*-Block). Zur Reinigung wurde es an alkaliarmem  $\text{Al}_2\text{O}_3$  chromatographiert. Darauf liessen sich je ca. 0,45 g von zwei Stoffen gewinnen. Der eine konnte nach Smp., spez. Drehung, Analyse, Mischprobe und Farbreaktion mit konz.  $\text{H}_2\text{SO}_4$  mit Marinobufagin identifiziert werden<sup>3)</sup>. Der zweite Stoff war nach gleichen Kriterien mit dem erstmals aus Ch'an Su<sup>4)</sup> isolierten Telocinobufagin<sup>5)</sup> identisch. Es zeigt sich somit, dass *Bufo marinus* wie andere Krötenarten nicht nur ein Gift produziert. Da das von uns untersuchte Material nicht das ursprüngliche Sekret, sondern ein schon kristallisiertes Konzentrat darstellte, ist es aus unsren Ergebnissen nicht möglich, anzugeben, wie das Verhältnis der beiden Bufogenine im ursprünglichen Gift war. Nach den Literaturbefunden ist anzunehmen, dass das Marinobufagin im Sekret von *Bufo marinus* überwiegt.

Was nun die Bruttoformel des Marinobufagins betrifft, so dürfte die von *Jensen & Evans*<sup>6)</sup> vorgeschlagene Formel  $\text{C}_{24}\text{H}_{32}\text{O}_5$  auch auf Grund der analytischen Befunde anderer Autoren am besten begründet sein, wobei allerdings die wasserstoffreichere Formulierung  $\text{C}_{24}\text{H}_{34}\text{O}_5$  ebenfalls als möglich in Betracht gezogen werden muss (siehe weiter unten). — Vor einiger Zeit nahmen *Slotta & Neisser*<sup>6)</sup> im Gegensatz zu *Jensen & Evans* an, dass Marinobufagin die Formel  $\text{C}_{27}\text{H}_{38}\text{O}_6$  besitzt und eine Propionyl-Gruppe enthält. *Deulofeu, Duprat & Labriola*<sup>7)</sup> fanden aber bei einer Reihe von Proben von Marinobufagin jeweils weniger als 1% flüchtiger Säuren. Wir haben mit unserem chromatographisch gereinigten Präparat von Marinobufagin ebenfalls eine Acetylbestimmung ausführen lassen, die nur 0,39% flüchtige Säure (als  $-\text{COCH}_3$  berechnet) ergab, so dass also das Vorliegen einer Acetyl- bzw. Propionyl-Gruppe ausgeschlossen erscheint.

<sup>1)</sup> *H. Jensen & K. K. Chen*, *J. Biol. Chem.* **87**, 755 (1930); *H. Jensen & E. A. Evans*, *Jr.*, *J. Biol. Chem.* **104**, 307 (1934); *R. Tschesche & H. A. Offe*, *B.* **69**, 2361 (1936); *H. Jensen*, *Am. Soc.* **59**, 767 (1937); *K. H. Slotta & K. Neisser*, *Mem. Inst. Butantan (São Paulo)* **11**, 89 (1937); *V. Deulofeu, E. Duprat & R. Labriola*, *Nature* **145**, 671 (1940).

<sup>2)</sup> Das Präparat war nach der von *Deulofeu & Mendive*, loc. cit., beschriebenen Methode gewonnen worden. Herrn Prof. *V. Deulofeu*, Buenos Aires, sei auch an dieser Stelle der beste Dank für dieses wertvolle Geschenk ausgesprochen.

<sup>3)</sup> Wir danken Herrn Dr. *K. K. Chen*, Indianapolis, bestens für eine Vergleichsprobe von authentischem Marinobufagin. Es handelte sich dabei um das von *H. Jensen & K. K. Chen*, *J. Biol. Chem.* **87**, 755 (1930), beschriebene Präparat.

<sup>4)</sup> *K. Meyer*, *Pharm. acta Helv.* **24**, 222 (1949).

<sup>5)</sup> *K. Meyer*, *Helv.* **32**, 1593 (1949).

<sup>6)</sup> Loc. cit.

<sup>7)</sup> *Nature* **145**, 671 (1940).

Marinobufagin lässt sich in üblicher Weise leicht in ein Acetat überführen, das zum erstenmal von *Jensen & Chen*<sup>1)</sup> beschrieben und von diesen als Mono-acetylverbindung angesehen wurde. Die im Durchschnitt gefundenen CH-Werte lagen zwischen den aus  $C_{26}H_{34}O_6$  und  $C_{26}H_{36}O_6$  berechneten; die von uns ermittelten entsprechen sehr genau der wasserstoffreicherem Formel. — Marinobufagin-acetat gab nach der *Kuhn-Roth*-Methode etwa 18 % flüchtige Säuren, wie *Deulofeu* und Mitarbeiter<sup>1)</sup> fanden. Demnach müsste das Acetat im Gegensatz zu *Jensens* Annahme ein Di-acetat sein. Die Acetylbestimmung unseres Präparates von Marinobufagin-acetat gab aber nur ca. 9 % flüchtige Säuren, was einem Mono-acetat entsprechen würde. Wir hoffen diese Frage und noch weitere Unklarheiten, die die Konstitution des Marinobufagins betreffen, durch oxydativen Abbau klären zu können.

Herrn Prof. Dr. *T. Reichstein* sei aufs beste für sein diesen Untersuchungen entgegengebrachtes Interesse gedankt.

### Experimenteller Teil.

Alle Schmelzpunkte sind auf dem *Kofler*-Block bestimmt und korrigiert; Fehlergrenze bis  $200^\circ$  ca.  $\pm 2^\circ$ , darüber  $\pm 3^\circ$ .

Chromatographie des kristallisierten Roh-Marinobufagins. 1,05 g Kristalle vom Smp.  $200-208^\circ$  wurden unter gelindem Erwärmen in wenig  $CHCl_3$  und Methanol gelöst und im Vakuum eingedampft. Der so erhaltene Schaum wurde nun in  $8\text{ cm}^3$   $CHCl_3$  gelöst, mit soviel Benzol versetzt, dass eben keine Trübung entstand (=  $12\text{ cm}^3$ ) und auf eine mit Chloroform-Benzol (2:3) bereitete Säule von 30 g  $Al_2O_3$  gebracht. Mit Chloroform-Benzol (2:3), (3:2) und (4:1) liessen sich 520 mg Material eluieren, das in wenig Aceton gelöst, unter Zusatz von Äther 405 mg kurze, prismatische Kristalle lieferte, die bei  $224-225^\circ$  schmolzen (= Marinobufagin). Die mit reinem Chloroform von der Säule abgelöste Substanz wog 475 mg und gab aus reinem Aceton ein feines Kristallpulver, das durch Ätherzusatz reichlicher ausfiel. Es konnten 315 mg Kristalle vom Smp.  $206-212^\circ$  isoliert werden (= Telocinobufagin). Nochmalige Chromatographie der Mutterlaugen lieferte weitere Mengen reiner Kristalle, so dass total erhalten wurden: 495 mg Marinobufagin, 455 mg Telocinobufagin und 52 mg Mutterlaugen (Gemisch der beiden Bufogenine).

**Marinobufagin.** Nochmaliges Umkristallisieren aus Aceton-Äther änderte den Smp. nicht. Die Substanz schmilzt, wie oben erwähnt, bei  $224-225^\circ$  (unter Tröpfchenbildung ab  $220^\circ$ );  $[\alpha]_D^{16} = +10,0^\circ \pm 1^\circ$  ( $c = 2,589$  in Chloroform) (Trocknung 1 Std. im Hockvakuum bei  $100^\circ$ ).

25,93 mg Subst. zu  $1,0015\text{ cm}^3$ ;  $l = 1\text{ dm}$ ;  $[\alpha]_D^{16} = +0,26^\circ \pm 0,02^\circ$

Die Mischprobe mit authentischem Marinobufagin vom Smp.  $205-214^\circ$  schmolz bei  $208-225^\circ$ .

Zur Analyse wurde jeweils 5 Std. im Hochvakuum bei  $100^\circ$  über  $P_2O_5$  getrocknet.

3,840 mg Subst. gaben 0,092 mg Gew.-Verlust

3,748 mg Subst. gaben 9,754 mg  $CO_2$  und 2,519 mg  $H_2O$  (ETH.)

3,398 mg Subst. gaben 0,018 mg Gew.-Verlust

3,380 mg Subst. gaben 8,96 mg  $CO_2$  und 2,41 mg  $H_2O$  (S. W.)

5,502 mg Subst. verbr.  $0,05\text{ cm}^3$  0,01-n. NaOH (S. W.)

$C_{24}H_{32}O_5$	Ber. C 71,97	H 8,05	$-COCH_3$	0,00%	
(400,50)	Gef. ,	71,03	, 7,52%		(ETH.)
				, 0,39%	(S. W.)

<sup>1)</sup> Loc. cit.

Marinobufagin gibt mit konz.  $H_2SO_4$  die folgenden Färbungen: kurz orangebraun, dann gelbbraun (0—15')  $\rightarrow$  olivgrün mit Braunstich (nach 10')  $\rightarrow$  olivgrün (nach 40' bis 100')  $\rightarrow$  schmutzig grasgrün (nach 2½ Std.)  $\rightarrow$  graugrün (nach 3½—5 Std.)  $\rightarrow$  fast farblos mit graubraunen Flocken (nach 20 Std.). — Dasselbe Farbenspiel zeigte auch das authentische Vergleichspräparat.

Marinobufagin-acetat. 85 mg Marinobufagin vom Smp. 224—225° wurden in 1,0 cm<sup>3</sup> abs. Pyridin gelöst, mit 0,7 cm<sup>3</sup> Acetanhydrid versetzt, 16 Std. bei 35° und anschliessend noch 24 Std. bei 20° stehengelassen. Nach üblicher Aufarbeitung wurden 95 mg rohes Acetat erhalten, das aus Aceton-Äther kristallisierte. Smp. unscharf zwischen 190—220°. Kristalle und Mutterlauge wurden deshalb vereinigt und an 4,0 g  $Al_2O_3$  chromatographiert. Benzol-Chloroform (9:1) und Benzol-Chloroform (4:1) eluierten wieder das ganze Material. Aus Aceton-Äther rhombische Prismen, die an der Luft opak werden; Smp. 194—220° (unter schwacher Zers. und Gelbfärbung).  $[\alpha]_D^{17} = +25,7^\circ \pm 2^\circ$  ( $c = 1,164$  in Chloroform) (Trocknung 2 Std. im Hochvakuum bei 40°).

11,66 mg Subst. zu 1,0015 cm<sup>3</sup>;  $l = 1$  dm;  $[\alpha]_D^{17} = +0,30^\circ \pm 0,02^\circ$

Für die beiden ersten Analysen wurde jeweils 5 Std. im Hochvakuum bei 100° über  $P_2O_5$  getrocknet, wobei sich die Substanz gelb verfärbte; für die dritte Analyse wurde die Substanz im Achatmörser verrieben und 48 Std. im Hochvakuum bei 20° über  $P_2O_5$  getrocknet und im Schweinchen eingewogen.

1. 3,822 mg Subst. gaben 0,478 mg Gew.-Verlust

3,344 mg Subst. gaben 8,832 mg  $CO_2$  und 2,223 mg  $H_2O$  (ETH.)

2. 3,598 mg Subst. gaben 0,329 mg Gew.-Verlust

3,269 mg Subst. gaben 8,78 mg  $CO_2$  und 2,26 mg  $H_2O$  (S. W.)

3. 1,286 mg Subst. gaben 0,020 mg Gew.-Verlust

1,266 mg Subst. gaben 3,261 mg  $CO_2$  und 0,947 mg  $H_2O$  (ETH.)

5,431 mg Subst. (lufttrocken) verbr. 1,15 cm<sup>3</sup> 0,01-n. NaOH (S. W.)

$C_{26}H_{38}O_6$  Ber. C 70,24 H 8,16 —COCH<sub>3</sub> 9,68%

(444,55) Gef. „ 72,08 „ 7,44% (ETH.)

„ „ 73,29 „ 7,74% (S. W.)

„ „ 70,29 „ 8,37 —COCH<sub>3</sub> 9,11% (ETH.) bzw. (S. W.)

Marinobufagin-acetat gibt mit konz.  $H_2SO_4$  die nämlichen Färbungen wie Marinobufagin.

Telocinobufagin. Nochmaliges Umkristallisieren aus Aceton-Äther liess den Smp. auf 208—214° ansteigen. Die Mischprobe mit Telocinobufagin aus Ch'an Su vom Smp. 160—175°/210—211° schmolz bei 160—180°/208—214°;  $[\alpha]_D^{18} = +5,0^\circ \pm 2^\circ$  ( $c = 1,394$  in Chloroform) (Trocknung 1 Std. im Hochvakuum bei 80°)<sup>1)</sup>.

13,963 mg Subst. zu 1,0015 cm<sup>3</sup>;  $l = 1$  dm;  $[\alpha]_D^{18} = +0,07^\circ \pm 0,02^\circ$

Mit konz.  $H_2SO_4$  gab Telocinobufagin die folgenden Färbungen: orange (0')  $\rightarrow$  hell-orange (10')  $\rightarrow$  hellolivgrün (40')  $\rightarrow$  blauolivgrün (70')  $\rightarrow$  blau (100')  $\rightarrow$  tiefblau (2½ Std.)  $\rightarrow$  grünblau (3½ Std.)  $\rightarrow$  smaragdgrün (4½ Std.)  $\rightarrow$  hellgrün mit grünbraunen Flocken<sup>2)</sup>.

Telocinobufagin-acetat. Das in üblicher Weise bereitete Acetat schmolz bei 272—278° und gab mit einem durch Chromatographie gereinigten Vergleichspräparat aus Ch'an Su vom Smp. 275—281° keine Depression (Mischprobe = 272—280°).

Die Färbungen des Acetats mit konz.  $H_2SO_4$  waren genau gleich wie die des Vergleichspräparates aus Ch'an Su.

Die Mikroanalysen wurden teils im mikroanalytischen Laboratorium der Eidg. Technischen Hochschule in Zürich (ETH) (Leitung W. Manser), teils von Frau Dr. M. Sobotka und Herrn Dr. E. Wiesenberger in Graz (S. W.) ausgeführt.

<sup>1)</sup> Früher, loc. cit., wurde  $[\alpha]_D^{19} = +4,4^\circ$  (in Chloroform) gefunden.

<sup>2)</sup> Die hier beschriebenen Färbungen sind etwas verschieden von den früher beobachteten. Möglicherweise war das dort verwendete Präparat nicht ganz einheitlich.

## Zusammenfassung.

Es wird die Isolierung von Telocinobufagin aus einem Rohkristallisat von Marinobufagin aus *Bufo marinus* beschrieben und einige Bemerkungen werden zur Konstitution des Marinobufagins gemacht.

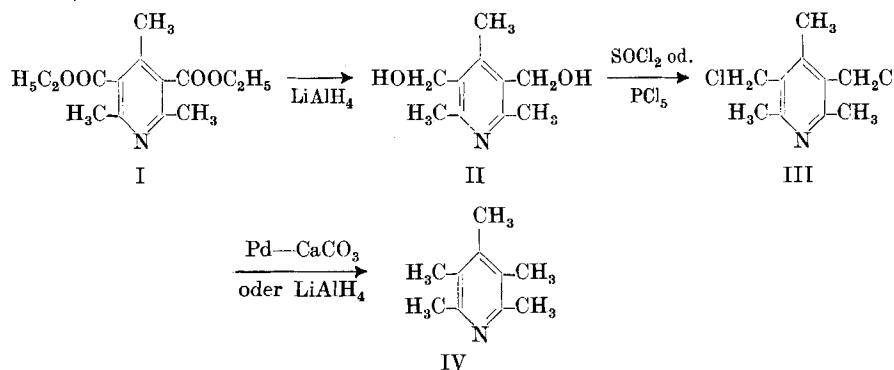
Pharmazeutische Anstalt der Universität Basel.

## 261. Pentamethylpyridin

von P. Karrer und S. Mainoni.

(5. IX. 51.)

Pentamethylpyridin scheint bisher noch nie beschrieben worden zu sein. Als höchstes Methylderivat des Pyridins und als Analogon des Hexamethylbenzols beansprucht es einiges Interesse. Die Verbindung wurde von uns aus dem leicht zugänglichen Kollidin-3,5-dicarbonsäure-äthylester (I)<sup>1)</sup> auf folgendem Wege dargestellt: Man reduzierte den Ester I mittels Lithiumaluminiumhydrid zum 3,5-Dioxymethyl-2,4,6-trimethylpyridin (II) (Smp. 186°), führte dieses mittels Thionylchlorid oder  $\text{PCl}_5$  in  $\text{POCl}_3$  in 3,5-Di-chlormethyl-2,4,6-trimethylpyridin (III) über (Smp. 85°) und entfernte aus letzterem das Chlor reduktiv (mit Lithiumaluminiumhydrid oder besser durch katalytische Hydrierung mittels Calciumcarbonat-Palladium-Katalysator):



Das so in guter Ausbeute gewonnene Pentamethylpyridin (IV) ist eine farblose Flüssigkeit, die unter 10 mm Druck bei 99–100° siedet. Es nimmt äusserst leicht, schon aus der Luft, Wasser auf und geht dabei in ein kristallisiertes Hydrat mit  $\frac{1}{2}$  Mol  $\text{H}_2\text{O}$  über ( $\text{C}_{10}\text{H}_{15}\text{N}$ ).

<sup>1)</sup> A. Hantzsch, A. 215, 21, 26, 53 (1882); B. 16, 1946 (1883); 17, 1019 (1884); 18, 1744 (1885); R. Michael, A. 225, 122 (1884).