Sitzungsberichte

der

mathematisch-physikalischen Klasse

der

Bayerischen Akademie der Wissenschaften

zu München

1920. Heft II
Mai- bis Julisitzung

München 1920
Verlag der Bayerischen Akademie der Wissenschaften
in Kommission des G. Franz'schen Verlags (J. Roth)

Über den Giftstoff der Kröte.

Von **Heinrich Wieland.**

Vorgelegt in der Sitzung am 5. Juni 1920.

In einer vor sieben Jahren gemeinsam mit Friedr. Jos. Weil, meinem leider inzwischen verstorbenen ausgezeichneten Mitarbeiter, veröffentlichten Abhandlung[1]) habe ich den krystallisierten Giftstoff von Bufo vulgaris, von unserer einheimischen Kröte beschrieben. Analysen und Molekulargewichtsbestimmung führten für das Bufotalin zur Formel $C_{16}H_{24}O_4$. Mit konzentrierter Salzsäure behandelt geht Bufotalin in eine, wie wir annahmen, Anhydroverbindung über, das sogenannte Bufotaliën, $C_{16}H_{20}O_2$, in dessen Entstehung wir eine sichere Stütze für die von uns aufgestellte Formel sahen.

Die Untersuchung ist, durch Krieg und Revolution unterbrochen, gemeinsam mit Herrn Paul Weyland fortgesetzt worden. Die sichere Beherrschung der Kunst der Mikroanalyse durch meinen Mitarbeiter hat es ermöglicht, daß wir trotz der geringen Stoffmengen, die zur Verfügung standen, einen tieferen Einblick in den Aufbau des interessanten Giftes gewinnen konnten.

In der zitierten Abhandlung wird das Bufotalin als gesättigter Körper beschrieben, da es bei der Baeyerschen Probe auf Doppelbindungen der Einwirkung des Permanganats einige Zeit lang Stand hält. Als aber die Reaktion der katalytischen Hydrierung zu dieser Prüfung herangezogen wurde, ergab sich, daß Bufotalin ziemlich rasch Wasserstoff aufnimmt und dabei

[1]) Ber. d. deutschen chem. Ges. 46, 3315 (1913).

in eine schön krystallisierte neue Verbindung, das Hydrobufotalin übergeht. Es liegen also beim Bufotalin ähnliche Verhältnisse vor wie beim Cholesterin, dessen „versteckte" Doppelbindung nicht durch Permanganat, wohl aber bei der katalytischen Hydrierung enthüllt wird[1]). Die Hydrierungsreaktion ist demnach für die Aufdeckung ungesättigter Bindungen weitaus zuverlässiger als die Permanganatprobe.

Bei der vorsichtigen Oxydation mit Chromsäure verwandelt sich das Bufotalin in ein Keton, das wir als Bufotalon bezeichnen.

Hydrobufotalin und Bufotalon gaben nun bei der Analyse in steter Übereinstimmung Werte, die zu dem Bufotalin $C_{16}H_{24}O_4$ nicht in Beziehung gebracht werden konnten. Die analytische Nachprüfung der Substanz bestätigte aber diese Zusammensetzung, und das gleiche ergab sich für ihren wichtigen Abkömmling, das Bufotaliën, an dessen Formel $C_{16}H_{20}O_2$ mit den Mitteln der Analyse nicht zu rütteln war.

Angesichts dieser Unstimmigkeiten erhob sich der Verdacht, das Bufotalin könne ein isomorphes Gemisch zweier Stoffe sein, dessen einer Bestandteil in den Produkten der Hydrierung und Oxydation, dessen anderer als Anhydroprodukt (Bufotaliën) auftrete.

Als bei Abtrennungsversuchen das Präparat einmal aus Essigester umkrystallisiert wurde, stieg nun der Schmelzpunkt von 148° auf 156°, um aber dann bei Benützung des früheren Lösungsmittels (Alkohol) wieder auf 148° zu fallen. Aus dieser Beobachtung ging hervor, daß das Bufotalin zwar als Substanz einheitlich war, daß es aber mit Lösungsmitteln feste Verbindungen von verschiedenem Schmelzpunkt eingeht, die erst weit über dessen Siedepunkt das Lösungsmittel wieder abgeben. Ganz ähnliche Verhältnisse habe ich, gemeinsam mit Sorge, vor mehreren Jahren bei einem Stoff aus einer verwandten Gruppe, bei der Desoxycholsäure angetroffen[2]). Die beiden festgebundenen Lösungsmittel Alkohol und Essigester werden

[1]) Willstätter und Mayer, Ber. d. deutschen chem. Ges. 41, 2199 (1908).
[2]) Hoppe-Seyler, Zeitschr. f. physiol. Chem. 97, 1 (1916).

beim Erhitzen des Bufotalins auf 100° im Hochvacuum noch nicht abgegeben. Es war notwendig, die Substanz längere Zeit unter diesen Bedingungen auf 150° zu halten, um dies vollständig zu erreichen. Auf Grund quantitativer Bestimmungen hat sich das Bufotalin mit ca. 10 % Alkohol und ebensoviel Essigester vereinigt. Die davon befreite Substanz schmilzt bei 222° und läßt sich im Hochvacuum zu prächtigen Krystallen sublimieren.

Dem von Lösungsmittel freien Bufotalin kommt naturgemäß eine andere Zusammensetzung zu, als wie sie vor der Erkenntnis seines irreführenden Verhaltens ermittelt worden war. Auch die Molekulargröße wurde, im Einklang damit, erheblich höher, nämlich bei 416 i. D. gefunden. Jetzt eröffneten sich Beziehungen zum Hydrobufotalin und Bufotalon auf Grund der Formel $C_{26}H_{36}O_6$, der auch die Molekulargewichtsbestimmung gehorcht (Mol.-Gew. 444). Hydrobufotalin, davon abgeleitet, ist die Tetrahydroverbindung $C_{26}H_{40}O_6$. Bufotalin hat also zwei Doppelbindungen. Bufotalon ist das Keton $C_{26}H_{34}O_6$. Die früher für reines Bufotalin gehaltene Alkoholverbindung ist die Kombination von 1 Mol Bufotalin $C_{26}H_{36}O_6$ und 1 Mol Alkohol, die, wie gefunden, 10 % Alkohol enthält. Ihre Zusammensetzung entspricht genau den früheren Analysenwerten und dem früher gefundenen Molekulargewicht.

Bei der Einwirkung von Essigsäureanhydrid auf Bufotalin haben Wieland und Weil ein schön krystallisiertes Reaktionsprodukt erhalten, das sie nur durch eine komplizierte Deutung in den Bereich der damaligen Auffassung einbeziehen konnten. Sie gaben ihm die Konstitution eines Diacetylbufotalinäthers $C_{36}H_{50}O_9$ und mußten dabei annehmen, daß nach der Acetylierung zwischen zwei Molekülen Wasser abgespalten worden sei. Diese Verbindung ist jetzt eindeutig als Acetylbufotalin $C_{28}H_{38}O_7$ erkannt. Bufotalin ist ein Lakton. Durch Alkalien wird es langsam zu einer Säure aufgespalten, der sogenannten Bufotalsäure. Sie ist auch jetzt nicht in krystallisiertem Zustand erhalten worden, aber zwei Analysen, die Weil mit dem Rohprodukt ausgeführt hat, stimmen befriedigend auf die neue Zusammensetzung $C_{26}H_{38}O_7$.

Die besprochenen Umsetzungen und Beziehungen stehen in vollem Einklang mit der neuen Formel des Bufotalins. Nicht aber fügt sich ihr das durch konzentrierte Salzsäure aus ihm hervorgehende wichtige Derivat Bufotaliën, dessen Zusammensetzung $C_{16}H_{20}O_2$, wie erwähnt, bestätigt wurde, und bei dem der geringe Sauerstoffgehalt keine Variation über das Verhältnis $C_8H_{10}O$ hinaus zuläßt. Die Bestimmung des Molekulargewichts weist auf den dreifachen Wert dieser Einheit, auf die Formel $C_{24}H_{30}O_3$. Sie unterscheidet sich von der des Bufotalins $C_{26}H_{36}O_6$ um den Betrag $C_2H_6O_3$, also nicht wie bei der früher angenommenen Beziehung $C_{16}H_{24}O_4 \longrightarrow C_{16}H_{20}O_2$ um 2 Mol. Wasser. Es ist möglich gewesen, auch diese Reaktion aufzuklären und die durch die Wirkung der Salzsäure weggenommene Masse $C_2H_6O_3$ in 1 Mol. Essigsäure und 1 Mol. Wasser aufzulösen. Wenn man nämlich Bufotalin längere Zeit mit Alkalien erhitzt, so wird aus ihm Essigsäure abgespalten; Bufotalin enthält daher eine Essigestergruppe.

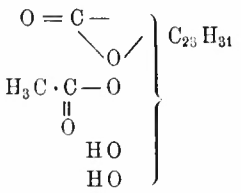
Der Verlust von je einem Mol. Essigsäure und Wasser zieht die Bildung zweier Kohlenstoffdoppelbindungen nach sich. Das intensiv gelbe Bufotaliën ist demgemäß vierfach ungesättigt. Bei der katalytischen Hydrierung nimmt es 4 Mol. Wasserstoff auf; das Perhydrierungsprodukt $C_{24}H_{38}O_3$ hat den Namen Bufotalan erhalten.

Bufotaliën läßt sich, wie schon Wieland und Weil festgestellt haben, zu einem prachtvollen orangegelben Körper acetylieren, der auch bei der Einwirkung von konzentrierter Salzsäure auf Acetylbufotalin entsteht.

Zur Konstitution des Bufotalins.

Wenn auch von einer völligen Klarstellung der Konstitutionsfrage im jetzigen Stadium der Untersuchung noch nicht die Rede sein kann, so erlauben die vorliegenden Ergebnisse doch schon recht weitgehende Schlüsse in jener Richtung zu ziehen. Fürs erste sind Natur und Charakter der sechs Sauerstoffatome des Moleküls scharf erkannt.

Zwei Sauerstoffatome gehören der Laktongruppe, zwei weitere der Essigestergruppe an. Die Oxydation zum Bufotalon weist auf ein sekundäres alkoholisches Hydroxyl, dem der fünfte Sauerstoff angehört. Endlich muß noch eine zweite Hydroxylgruppe vorhanden sein, die von der Acetylierung betroffen wird. Sie ist tertiär, denn auch ein Überschuß von Chromsäure oxydiert das Bufotalin nicht weiter als bis zum Bufotalon. Diese zweite, tertiäre Hydroxylgruppe ist im Bufotaliën noch vorhanden und definiert das dritte neben der Laktongruppe noch darin enthaltene Sauerstoffatom. Daß sie identisch ist mit dem im Bufotalin acetylierten Hydroxyl, geht daraus hervor, daß Acetylbufotalin unter Abspaltung von Essigsäure und Wasser sich zu Acetylbufotaliën umwandelt. Siehe S. 332. Das nachstehende Schema gibt die Erschließung der sechs Sauerstoffatome wieder

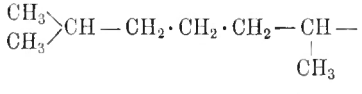


Die weitere Folgerung, die sich aus dieser Erkenntnis ziehen läßt, betrifft die Anzahl der Ringsysteme im Bufotalin-Molekül. Der gesättigte aliphatische Kohlenwasserstoff mit 26 C-Atomen ist $C_{26}H_{54}$. Dem Bufotalin $C_{26}H_{36}O_6$ gehört der Kohlenwasserstoff $C_{26}H_{42}$ an; er ist doppelt ungesättigt und geht unter Aufnahme der zur Sättigung erforderlichen zwei Mol. Wasserstoff in den Kohlenwasserstoff $C_{26}H_{46}$ über. Gegenüber der offenen Kette fehlen also 4 Mol. Wasserstoff, die durch vier Ringschlüsse ersetzt sein müssen.

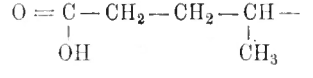
Es ist oben nachgewiesen worden, daß das Bufotalin eine acetylierte Alkoholgruppe enthält, und durch Abspaltung der Acetoxylgruppe sind wir beim Übergang zum Bufotaliën in die Gruppe C_{24} gekommen, in der wir das Grundgerüst des Moleküls anzunehmen haben.

Die Gruppe C_{24} mit vier Ringsystemen ist aber die der Gallensäuren. Der ganze chemische Habitus des Bufotalins und seiner Derivate stellt es außer Zweifel, daß in ihm ein Glied dieser biologisch wichtigen Klasse vorliegt. Die einfachste Verbindung, zu der wir gelangt sind, ist das Bufotalan $C_{24}H_{38}O_3$. Als Lakton gehört ihm die Oxysäure $C_{24}H_{40}O_4$ an, die mit der Desoxycholsäure isomer und gleich dieser als eine Dioxycholansäure aufzufassen ist.

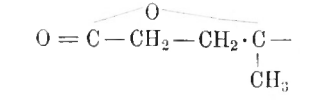
Wir können noch einen Schritt weiter gehen. Windaus[1]) hat im letzten Jahr den ungemein wichtigen Nachweis geführt, daß die Gallensäuren aus der Oxydation des Cholesterins hervorgehen, daß dieser Alkohol $C_{27}H_{45}OH$ unter Verlust einer Isopropylgruppe $(CH_3)_2 \cdot CH —$ auf den Carboxyl-führenden Komplex C_{24} abgebaut wird. Die Isopropylgruppe steht im Cholesterin am Ende einer Kette, deren Struktur ebenfalls durch die Arbeiten von Windaus aufgeklärt ist. Sie entspricht der nachstehenden Gliederung



und enthüllt auf Grund des erwähnten Abbaus gleichzeitig den Stand der Carboxylgruppe in den Gallensäuren gemäß dem Formelbild



Es ist nun außerordentlich wahrscheinlich, daß die Laktonisierung an diesem dazu prädestinierten Komplex einsetzt, daß also Bufotalin und seine Derivate γ-Laktone der Form



sind. Anders als bei der Bildung der Gallensäuren aus Cholesterin, wobei nur in die Ringe Hydroxylgruppen eingeführt

[1]) Ber. d. deutschen chem. Ges. 52, 1915 (1919).

werden, wird vermutlich im Organismus der Kröte auch die Seitenkette von der Hydroxylierung betroffen. Die Laktongruppe trägt die typische Giftwirkung des Bufotalins; sie ist bei der Bufotalsäure nicht mehr vorhanden.

Über die Stellung der beiden freien und der acetylierten Hydroxylgruppe läßt sich vorläufig nichts weiter aussagen, als daß sie von Ringen getragen werden. Dort liegen auch die beiden Doppelbindungen, und zwar in Nachbarschaft zu Acetoxyl und sekundärem Hydroxyl. Denn das vierfach ungesättigte Bufotaliën, dem sonst jedes Chromogen fehlt, kann seine intensiv gelbe Farbe nur der koordinierten Lage seiner vier Doppelbindungen verdanken. Aus der Leichtigkeit, mit der sich Bufotaliën perhydrieren läßt, ergibt sich weiter, — dies schließt die Eigenfarbe schon aus, — daß in ihm kein aromatischer Ring enthalten ist. Mit der Annahme der Nachbarschaft von Doppelbindungen und sekundärer Hydroxylgruppe im Bufotalin deckt sich aufs beste der Umstand, daß auch Bufotalon deutlich gefärbt ist; es dürfte daher die Gruppe $O=C-C=C-C=C-$ führen.

Der Weg, auf dem die vorläufig noch hypothetischen Beziehungen des Krötengifts zu den Gallensäuren und damit zum Cholesterin, die von erheblichem biologischen Interesse sind, scharf bewiesen werden können, liegt klar zu Tage. Es handelt sich um die durch bewährte Methoden gesicherte Überführung des Bufotalans $C_{24}H_{38}O_3$ in Cholansäure $C_{24}H_{40}O_2$, die Stammsubstanz der Gallensäuren. Die Materialfrage wird für die Lösung des Problems entscheidend sein.

Bufotalin und Bufagin.

Fast zu gleicher Zeit mit der Entdeckung des krystallisierten Bufotalins haben J. J. Abel und D. J. Macht den Giftstoff der tropischen Kröte Bufo agua beschrieben[1]), den sie aus dem Hautdrüsensekret zu isolieren vermochten und den sie Bufagin nannten. Bufagin schmilzt bei 217°, also nur

[1]) Journ. of Pharmakology and Exp. Therap. 1912, S. 319.

wenige Grade tiefer als das lösungsmittelfreie Bufotalin; seine Analyse führte die amerikanischen Autoren zu der Formel $C_{18}H_{24}O_4$, die sich in den Verhältnissen ihrer Bestandteile auch nicht allzu sehr vom Bufotalin $C_{26}H_{36}O_6$ unterscheidet (für Kohlenstoff 71,0 %, für Wasserstoff 7,95 % gegen 70,2 % und 8,2 %). Trotz dieser Annäherung im Schmelzpunkt und in der Zusammensetzung sind die beiden Giftstoffe sicher nicht identisch, sondern zweifellos verschieden. Das geht schon aus der Tatsache hervor, daß Bufagin nicht mit Lösungsmitteln krystallisiert, eine so charakteristische Eigenschaft des Bufotalins, daß sie von Abel und Macht unmöglich hätte übersehen werden können. Ferner sind die Löslichkeitsverhältnisse zwischen den beiden Stoffen deutlich verschieden. Bufagin ist in sehr verdünntem Alkohol weit schwerer löslich als Bufotalin, und die Krystallisationsmethode, nach der es umkrystallisiert wird, läßt sich beim Bufotalin nicht anwenden. Dann ist auch die Farbreaktion mit Essigsäureanhydrid und konzentrierter Schwefelsäure für die beiden Substanzen nicht gleichartig. Bufagin gibt sofort eine rein grüne Färbung, während beim Bufotalin in prachtvollem Farbenspiel die Töne rot violett und blau durchlaufen werden, denen erst nach einiger Zeit die Einstellung auf grün folgt.

Die spezifische Drehung beträgt beim Bufagin $+ 11^0$, beim Bufotalin $+ 6^0$.

Schließlich unterscheiden sich die beiden Gifte sehr erheblich im Grade ihrer Giftigkeit. Beide sind Herzgifte und wirken nach Art der Digitalis-glucoside. Aber die Giftigkeit von Bufotalin ist nach der Untersuchung des Herrn Kollegen E. St. Faust-Würzburg am isolierten Froschherzen eine zehnmal größere als beim Bufagin.

Abel und Macht glauben zwar durch Molekulargewichtsbestimmungen die von ihnen aufgestellte Formel $C_{18}H_{24}O_4$ für das Bufagin gesichert zu haben. Aber die von ihnen angewandten Methoden finden nicht unser volles Vertrauen. Es erscheint dringend geboten, das Molekulargewicht auf kryoskopischem Wege, z. B. in Eisessig, zu kontrollieren. Wir ver-

muten, daß es erheblich höher gefunden wird. Denn Bufagin muß, allen seinen Eigenschaften und seiner Herkunft nach, nahe mit Bufotalin verwandt sein. In der Zusammensetzung stimmt es auf die Formel $C_{27}H_{38}O_6$, und es besteht begründeter Anlaß zu der Vermutung, daß in ihm der Methyläther des Bufotalins vorliegt.

So ist der Stoffwechsel der tropischen und unserer einheimischen Kröte hinsichtlich der Produktion des Giftstoffs deutlich verschieden. Ein noch viel größerer Unterschied besteht darin, daß nach den Feststellungen von Abel und Macht Bufo agua im Hautdrüsensekret ganz gewaltige Mengen von Adrenalin ausscheidet (beinahe 7 % des frischen Sekrets), während dieser Bestandteil in den Hautdrüsen unserer Kröte auch nicht in Spuren sich findet. Wir haben dies neuerdings mit aller Bestimmtheit festgestellt, und unser Befund wird durch eine vor kurzem erschienene Arbeit von Handovsky[1]) bestätigt.

Über Bufotalidin.

Schon bei der ersten Bearbeitung des Gebiets habe ich gemeinsam mit F. J. Weil neben dem Bufotalin einen zweiten Giftstoff aus den Hautdrüsen der Kröte in krystallisiertem Zustand isoliert, der damals Bufotalëin genannt wurde. Ich gebe ihm die markantere Bezeichnung Bufotalidin. Bufotalidin krystallisiert aus den wässerigen Mutterlaugen von der Bufotalindarstellung in großen schönen Tafeln aus. Es teilt die Eigenschaft des Bufotalins, mit Lösungsmitteln zu krystallisieren. Die mit Alkohol verbundene Substanz schmilzt unter Aufschäumen bei 175°, wenn der Alkohol im Hochvacuum entfernt ist, liegt der Schmelzpunkt bei 228—230°. Die Farbreaktion ist ähnlich der des Bufotalins, jedoch verläuft der Wechsel der Farben viel rascher. Gegen Permanganat verhält sich Bufotalidin ungesättigter als Bufotalin. Mit konzentrierter Salzsäure reagiert es gleich diesem. Die Analysen des noch nicht näher untersuchten Stoffes stimmen mit der Formel $C_{26}H_{36}O_7$ überein. Darnach wäre Bufotalidin als Oxybufotalin anzusehen.

[1]) Arch. f. exp. Path. u. Pharm., Bd. 86, 138 (1920).

Experimenteller Teil.

Bufotalin $C_{26}H_{36}O_6$.

Die Isolierung aus Krötenhäuten und die Reindarstellung der Substanz geschah nach dem schon mitgeteilten Verfahren. Das aus Alkohol mehrfach umkrystallisierte Bufotalin schmolz im Einklang mit den früheren Angaben bei 148° unter Aufschäumen. Erhitzt man weiter, so wird der Inhalt des Röhrchens wieder fest, um dann gegen 220° erneut unter schwacher Blasenbildung zu schmelzen. Die im Exsiccator zur Konstanz getrocknete Substanz verliert, im Hochvacuum längere Zeit auf 150° erhitzt, ziemlich genau 10 % an Gewicht; es ist daher 1 Mol. Alkohol an ein Mol. Bufotalin gebunden. Wenn man vorsichtig im Hochvacuum auf 225°—230° erhitzt, so gelingt es, das Bufotalin bei dieser Temperatur zu sublimieren. Die mit einem Stern bezeichnete Analyse ist mit einem sublimierten Präparat ausgeführt. Besonders schön krystallisiert Bufotalin aus Essigester. Der Schmelzpunkt liegt jetzt bei 154°, unter den gleichen Erscheinungen, die die Alkoholverbindung zeigt. Unter den gleichen Bedingungen wie der Alkohol wird auch der angelagerte Essigester entfernt, die Gewichtsabnahme ist ebenso groß wie dort. Daraus ergibt sich, daß 1 Mol. Essigester sich mit 2 Mol. Bufotalin vereinigt hat. Die Zusammensetzung des Bufotalins haben wir durch zahlreiche Analysen besonders scharf festgelegt; die zwei ersten sind Makroanalysen, die übrigen sind nach der trefflichen Mikromethode von Pregl ausgeführt.

0,1531	g	gaben	0,3939	g	CO_2	und	0,1150	g H_2O
0,1509	„	„	0,3874	„	„	„	0,1109	„ „
7,172	mg	„	18,536	mg	„	„	5,367	mg „
7,303	„	„	18,854	„	„	„	5,273	„ „
5,807*	„	„	15,004	„	„	„	4,131	„ „
5,211	„	„	13,479	„	„	„	3,792	„ „
4,801	„	„	12,395	„	„	„	3,475	„ „

Für $C_{26}H_{36}O_6$, Ber. C 70,22 %, H 8,17 %.
Gef. C 70,17, 70,02, 70,49, 70,42, 70,43, 70,54, 70,41,
„ H 8,40, 8,22, 8,37, 8,08, 7,96, 8,14, 8,10.
Molekulargewicht. Lösungsmittel Eisessig. Konst. = 39.
0,2076 g in 15,546 g gaben eine Depression von 0,130°.
0,1938 „ „ 14,444 „ „ „ „ „ 0,121°.
Molekulargewicht für $C_{26}H_{36}O_6$ ber. 444, gef. 401 und 431.

Nachweis der Acetylgruppe im Bufotalin.

0,2 g Bufotalin wurden in 15 ccm n-methyl-alkoholischem Kali eine Stunde lang auf dem Wasserbad gekocht. Nach dem Verdünnen mit Wasser säuerte man vorsichtig an, bis Congopapier eben wahrnehmbar violett gefärbt wurde, filtrierte von der ausgeschiedenen Bufotalsäure ab und destillierte dann die Flüssigkeit aus dem Ölbad ab. Das Destillat reagierte bis zum letzten Tropfen auf Lakmus sauer und verbrauchte zur Neutralisation gegen Phenolphtalein 2,5 ccm n/10 Kalilauge. Auf Essigsäure umgerechnet entspricht dies 56 % der theoretisch zu erwartenden Menge. Der nach dem Abdampfen der neutralisierten Lösung hinterbleibende Salzrückstand wurde einwandfrei als Kaliumacetat erkannt durch die Bildung von Essigester, durch die Kakodylreaktion und durch den beim Ansäuern auftretenden unverkennbaren Geruch der Essigsäure.

Acetylbufotalin $C_{28}H_{38}O_7$.

Die früher als Diacetylbufotalinäther beschriebene Substanz schmilzt nach sorgfältiger Reinigung bei 254° unter gelindem Schäumen, entsprechend der Angabe von Wieland und Weil. Beim Trocknen im Hochvacuum bei 160° wurde eine Gewichtsabnahme um 1,5 % festgestellt, ohne daß der Schmelzpunkt sich änderte.

Die Analyse gab ähnliche Werte, wie sie früher gefunden worden sind.

5,267 mg gaben 13,358 mg CO_2 und 3,870 mg H_2O.
Für $C_{28}H_{38}O_7$ ber. C 69,09 %, H 7,88 %,
gef. „ 69,17 „ „ 8,22 „

Wenn man berücksichtigt, daß die früheren, aus Alkohol umkrystallisierten Präparate nicht im Hochvacuum getrocknet waren, also noch 1,5% Alkohol enthalten haben, so stimmt das von Weil gefundene Molekulargewicht von 421 gut mit dem berechneten von 486 überein.

Hydrobufotalin $C_{26}H_{40}O_6$.

1 g Bufotalin wird in 10 ccm Alkohol gelöst und mit 0,5 g Palladiumschwarz unter Wasserstoff geschüttelt. Die anfangs recht lebhafte Wasserstoffaufnahme ist gewöhnlich bereits nach 3 Stunden zum Stillstand gekommen. Sie macht durchschnittlich 140 ccm aus, wovon etwa 40 ccm auf Rechnung des Palladiums zu setzen sind, so daß rund 100 ccm an das Bufotalin angelagert werden. Soviel berechnet sich für die Aufnahme von 2 H_2 durch ein Mol. Bufotalin. Die vom Palladium abfiltrierte Lösung überläßt man in einer offenen Schale der freiwilligen Verdunstung. Der krystallinische Rückstand wird mehrmals mit Äther verrieben und kann dann aus Alkohol umkrystallisiert werden. Nach mehrmaliger Krystallisation bleibt der Schmelzpunkt bei 204—205° stehen; das Schmelzen ist von schwachem Aufschäumen begleitet. Hydrobufotalin krystallisiert aus Alkohol in gedrungenen Prismen, die teilweise zu schräg gerichteten Kreuzen zusammengelagert sind. Im Gegensatz zum Bufotalin ist die Hydroverbindung auch in Eisessig gegen Permanganat einige Zeit stabil. Die Laktongruppe ist noch erhalten, alkoholisches Kali spaltet zur Säure auf. Die Farbreaktion mit Essigsäureanhydrid und konzentrierter Schwefelsäure geht von kirschrot über blau und grün rasch in ein bleibendes Hellbraun über.

Die bei 160° im Hochvacuum getrocknete Substanz erfuhr keine Gewichtsverminderung.

0,1306 g gaben 0,3312 g CO_2 und 0,1058 g H_2O.
0,1554 „ „ 0,3958 „ „ „ 0,1274 „ „
6,426 mg „ 16,449 mg „ „ 5,236 mg „
4,436 „ „ 11,352 „ „ „ 3,620 „ „
5,135 „ „ 13,062 „ „ „ 4,226 „ „

Für $C_{26}H_{40}O_6$ ber. C 69,59 %, H 8,99 %,
gef. „ 69,17, 69,46, 69,81, 69,79, 69,38.
„ H 9,07, 9,17, 9,12, 9,13, 9,21.

Bufotalon $C_{26}H_{34}O_6$.

0,2 g Bufotalin werden, in 2,5 ccm Eisessig gelöst, mit der Lösung von 0,1 g Chromtrioxyd in einigen Tropfen Wasser versetzt. Dabei steigt die Temperatur um etwas mehr als 5°. Zunächst scheidet sich eine flockige dunkelbraune Masse ab, die aber bald wieder in Lösung geht. Nach mehrstündigem Stehen des Gemischs entfärbt man die noch überschüssiges Chromtrioxyd enthaltende Lösung mit einigen Tropfen schwefliger Säure und bringt dann im Vacuumexsiccator über Schwefelsäure und Ätzkali zur Trockene. Durch Extraktion mit Äther wird dem pulverisierten Rückstand das Bufotalon entzogen. Zur Reinigung krystallisiert man aus Alkohol um, in dem das Keton in der Kälte ziemlich schwer löslich ist; auch in Essigester ist die Löslichkeit geringer als wie beim Bufotalin. Bufotalon krystallisiert in schwach gelben rhomboedrischen Blättchen. Sein Schmelzpunkt liegt bei 261°. Das Schmelzen zu einer braungelben Flüssigkeit erfolgt unter gelindem Schäumen.

Analysen.

5,174 mg gaben 13,367 mg CO_2 und 3,630 mg H_2O
5,922 „ „ 15,271 „ „ „ 4,104 „ „
5,852 „ „ 15,146 „ „ „ 4,206 „ „
6,198 „ „ 15,947 „ „ „ 4,348 „ „

Für $C_{26}H_{34}O_6$ ber. C 70,54 %, H 7,75 %,
gef. „ 70,46, 70,33, 70,59, 70,17,
„ H 7,85, 7,76, 8,04, 7,84.

Die Farbreaktion des Bufotalons mit Essigsäureanhydrid und konzentrierter Schwefelsäure nach Liebermann zeigt das gleiche prächtige Farbenspiel wie beim Bufotalin.

Durch alkoholisches Kali wird Bufotalon wie alle Bufotalinderivate zum Kaliumsalz der Oxysäure aufgespalten, das

schön orangegelb gefärbt ist. Hier ist es gelungen, die Säure durch Krystallisation aus Alkohol in hellgelben rhomboedrischen Blättchen rein zu erhalten. Sie schmilzt bei 235° und gibt mit Essigsäureanhydrid und konzentrierter Schwefelsäure anfangs eine grün fluorescierende Rosafärbung, die nach einer Viertelstunde in ein tiefes Olivgrün übergeht. Materialmangel hat nicht erlaubt, die Zusammensetzung dieser Säure analytisch sicher festzulegen.

Bufotalien $C_{24}H_{30}O_3$.

Bei ihrer Bedeutung für die Konstitutionsfrage haben wir auf die Reindarstellung dieser Substanz ganz besondere Sorgfalt verwandt. Dreimaliges Umkrystallisieren aus Alkohol erhöhte den Schmelzpunkt auf 222—223°, während er früher zu 219° gefunden wurde. Im Hochvacuum bei 160° verlor das Präparat nur 1 % an Gewicht. Die Analysen bestätigen die früher festgestellte Zusammensetzung.

6,861 mg gaben 19,795 mg CO_2 und 5,104 mg H_2O,
4,992 „ „ 14,416 „ „ „ 3,720 „ „
4,283 „ „ 12,355 „ „ „ 3,182 „ „

Für $C_{24}H_{30}O_3$ ber. C 78,64 %, H 8,26 %,
gef. „ 78,69, 78,76, 78,66,
„ H 8,32, 8,34, 8,31.

Molekulargewichtsbestimmung.

0,0842 g in 14,789 g Eisessig verursachten eine Gefrierpunkts-Depression um 0,067°.

Mol.-Gew. für $C_{24}H_{30}O_3$ ber. 366, gef. 331.

Bufotalan $C_{24}H_{38}O_3$.

0,35 g Bufotalien wurden, in 15 ccm Alkohol gelöst, mit 0,3 g Palladiumschwarz unter Wasserstoff geschüttelt. Es erfolgte lebhafte Wasserstoffaufnahme. Schon nach einer Viertelstunde war die anfangs gelbe Lösung entfärbt. Nach einer Stunde waren 115 ccm Wasserstoff absorbiert, davon etwa 25 ccm vom Palladium. 90 ccm sind daher vom Bufotalien aufgenommen, das mit 4 Mol. H_2 der Berechnung nach 85 ccm

verbraucht. Die abfiltrierte alkoholische Lösung hinterläßt nach dem Verdunsten des Lösungsmittels einen nicht krystallinischen Rückstand, der durch Ausziehen mit Äther in zwei Teile zerlegt wird. Das Bufotalan wird dabei vom Äther aufgenommen, bleibt aber nach dem Eindunsten der Lösung auch noch ölig zurück. Man reibt nun diesen Rückstand des öfteren mit niedrig siedendem Petroläther durch und nimmt das ungelöst Gebliebene, die Hauptmenge, abermals in Äther auf. Beim langsamen Verdunsten, am besten im offenen Reagensglas, hinterläßt diese Lösung farblose Krystalle, die bei 185 bis 190° schmelzen. Sie werden zur Reinigung in ziemlich viel Alkohol gelöst, und in der Siedehitze fügt man zu dieser Lösung etwa 8 Tropfen Wasser, worauf beim Erkalten das Bufotalan in feinen, zu Büscheln gruppierten Nadeln herauskommt. Die so gereinigte Substanz schmilzt bei 198—199°, von 196° ab erweichend. Im Hochvacuum bei 110° trat kein Gewichtsverlust ein.

Analysen.

4,696 mg gaben 13,249 mg CO_2 und 4,360 mg H_2O,
3,952 „ „ 11,089 „ „ „ 3,458 „ „
Für $C_{24}H_{38}O_3$ ber. C 76,94 %, H 10,23,
gef. „ 76,95, 76,53, H 10,25, 9,79.

Beim Bufotalan tritt die Liebermannsche Farbreaktion nicht mehr auf.

Zur Beschaffung des Materials stand eine Zuwendung aus den Zinsen der A. v. Baeyer-Stiftung zur Verfügung.

ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: Sitzungsberichte der mathematisch-physikalischen Klasse der Bayerischen Akademie der Wissenschaften München

Jahr/Year: 1920

Band/Volume: 1920

Autor(en)/Author(s): Wieland Heinrich

Artikel/Article: Über den Giftstoff der Kröte 329-343