

## LITERATURVERZEICHNIS

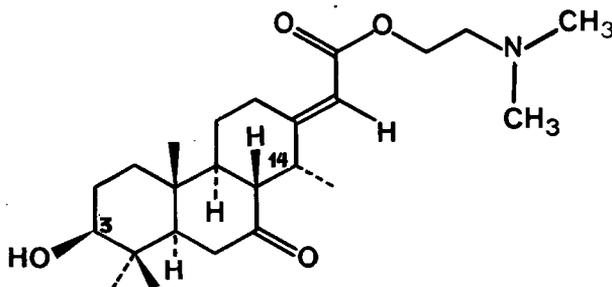
- [1] 7. Mitteilung: W. ZÜRCHER, J. GUTZWILLER & CH. TAMM, *Helv.* **48**, 840 (1965).  
 [2] E. HÄRRI, W. LOEFFLER, H. P. SIGG, H. STÄHELIN, CH. STOLL, CH. TAMM & D. WIESINGER, *Helv.* **45**, 839 (1962).  
 [3] J. GUTZWILLER & CH. TAMM, *Helv.* **47**, 157 (1964).  
 [4] J. GUTZWILLER & CH. TAMM, *Helv.* **47**, 177 (1964).  
 [5] CH. TAMM, J. GUTZWILLER, B. BÖHNER & E. FETZ, XIXth Congress of Pure and Applied Chemistry, London, 10.–17. Juli 1963, Abstracts A, p. 311.  
 [6] CH. TAMM, I.A.M. Symposia on Microbiology, Number 6 «Chemistry of Microbial Products», Tokyo, Japan, 24.–25. April 1964, Preprint p. 194.  
 [7] Vgl. W. SIMON & W. TOMLINSON, *Chimia* **14**, 305 (1960); CH. CHYLEWSKI & W. SIMON, *Helv.* **47**, 515 (1964).  
 [8] J. S. VITTIMBERGA & B. M. VITTIMBERGA, *J. org. Chemistry* **30**, 746 (1965).  
 [9] J. GUTZWILLER, R. MAULI, H. P. SIGG & CH. TAMM, *Helv.* **47**, 2234 (1964).  
 [10] M. BRENNER, A. NIEDERWIESER, G. PATAKI & A. R. FAHMY, *Experientia* **18**, 104 (1962).  
 [11] Vgl. T. REICHSTEIN & C. W. SHOPPEE, *Discuss. Farad. Soc.* Nr. 7, 305 (1949).  
 [12] Vgl. E. STAHL, «Dünnschichtchromatographie», Springer-Verlag, Berlin-Göttingen-Heidelberg 1962; K. RANDERATH, «Dünnschichtchromatographie», Verlag Chemie, Weinheim 1962.

## 119. Zur absoluten Konfiguration von Cassain

von H. Hauth<sup>1)</sup>, D. Stauffacher<sup>1)</sup>, P. Niklaus<sup>1)</sup> und A. Melera<sup>2)</sup>

(15. V. 65)

Die Stereochemie der Alkaloide aus *Erythrophleum*-Arten war Gegenstand zahlreicher Untersuchungen [1] [2]. Dabei konnte für Cassain (I), den bekanntesten Vertreter dieser Alkaloidklasse, die absolute Konfiguration der C-Atome 3, 5, 8, 9 und 10 abgeleitet werden, während die bisher angenommene axiale Stellung der Methylgruppe an C-14 kürzlich wieder angezweifelt wurde [2]. Über die Konfiguration der  $\alpha,\beta$ -ungesättigten Estergruppierung lagen dagegen bisher keinerlei Untersuchungsergebnisse vor. Gestützt auf eine eingehende Untersuchung von Protonenresonanzspektren gelang es uns nun, für Cassainsäure-methylester und somit auch für das Cassain die aus Formel I ersichtliche Stereochemie der Seitenkette zu beweisen und die axiale Stellung der Methylgruppe an C-14 zu bestätigen.



Cassain (I)

<sup>1)</sup> Pharmazeutisch-chemische Forschungslaboratorien, SANDOZ AG., Basel

<sup>2)</sup> Forschungslaboratorium der VARIAN AG., Zürich.

Um den Einfluss der Stereochemie an Ring C und der Seitenkette auf das Protonenresonanzspektrum abzuklären, untersuchten wir zunächst das Verhalten von einfachen Modellsubstanzen. Hierzu wählten wir die zwei stereoisomeren Racemate von 2-Methylcyclohexyliden-essigsäure (II, III, R = H), die wir auf folgende Weise erhielten.



2-Methylcyclohexanon lieferte bei der Umsetzung mit Phosphonoessigsäuretriäthylester [3] ein Gemisch der Äthylester<sup>3)</sup> (II, III, R = C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>), aus dem nach Verseifen die Hauptmenge der *trans*-Verbindung (II, R = H) kristallin abgetrennt werden konnte. Die an *cis*-Verbindung angereicherte Mutterlauge wurde vorsichtig *via* Säurechlorid in den Äthylester zurückverwandelt, der nun seinerseits durch präparative Gas-Chromatographie<sup>4)</sup> in *cis*- und *trans*-Isomere aufgetrennt werden konnte.

Die physikalischen Daten der reinen Verbindungen sind in Tab. 1 zusammengestellt. Die deutlichen Unterschiede der IR.-Absorptionsspektren von II (R = C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>) und III (R = C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>) sind aus den Fig. 1 und 2 ersichtlich.

Tabelle 1. *Physikalische Daten der stereoisomeren 2-Methylcyclohexyliden-essigsäure-äthylester und der entsprechenden freien Säuren*

		II ( <i>cis</i> )	III ( <i>trans</i> )
Äthylester (R = C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> )	Sdp. 12 Torr	108–109°	113–114°
	$n_D^{21}$	1,4768	1,4798
	$d_4^{21}$	0,9676	0,9714
	UV.-Maximum (nm) <sup>5)</sup>	219	217
	IR.-Banden (cm <sup>-1</sup> ) <sup>6)</sup>	1710; 1640	1712; 1642
freie Säure (R = H)	Smp.	72–75° (Subl.)	69–71°
	pK <sub>MCS</sub> <sup>7)</sup>	7,45	7,33
	UV.-Maximum (nm) <sup>5)</sup>	225	220

Die Zuordnung «*cis*» und «*trans*» erfolgte zunächst auf Grund von Modellbetrachtungen. Der in grösserer Menge angefallenen Komponente wurde die *trans*-Konfiguration zugesprochen, da diese bei der Synthese aus sterischen Gründen bevorzugt sein musste. Gestützt wurde diese Zuordnung durch die physikalischen Daten: Der *cis*-Äthylester (II, R = C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>) siedet etwas tiefer als der *trans*-Äthylester (III, R = C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>), und die *cis*-Säure (II, R = H) sublimiert leichter als die *trans*-Säure (III, R = H).

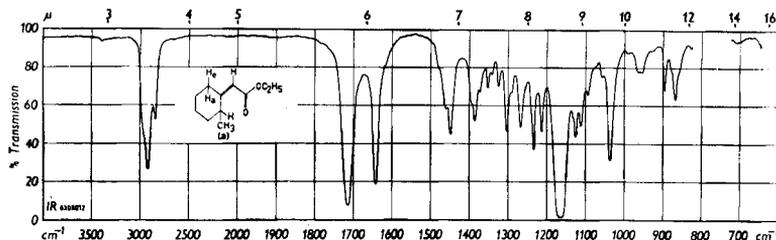
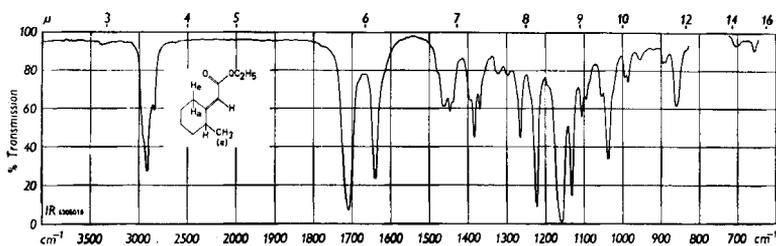
<sup>3)</sup> Gaschromatographisch bestimmtes Verhältnis von *cis:trans* = 2:8.

<sup>4)</sup> Die Trennung wurde in unseren physikalisch-chemischen Laboratorien durch Herrn Dr. A. WEHRLI ausgeführt mit einem modifizierten PC-5-Apparat (Dr. W. NESS, Küssnacht ZH). Kolonnendimension: Länge 2,40 m, Innendurchmesser 10 mm; Träger: Celite C 22 CARLO ERBA; Korngrösse: 250–300  $\mu$ ; Stationäre Phase: Apiezon L; Temperatur: 210°; Trägergas: Helium, Strömung: 200 ml/Min.; Detector: 4-Filament-Hitzdrahtdetector; Recorder: Speedomax X<sub>1</sub>-X<sub>2</sub>; Probenmenge: 100  $\mu$ l/Schub.

<sup>5)</sup> Aufgenommen in Hexan als Lösungsmittel mit UV.-Spektrographen BECKMAN DK 2. – Den IUPAC-Regeln entsprechend wird in der Helvetica Chimica Acta ab 1965 die bisherige Bezeichnung  $m\mu$  durch nm (= Nanometer) ersetzt.

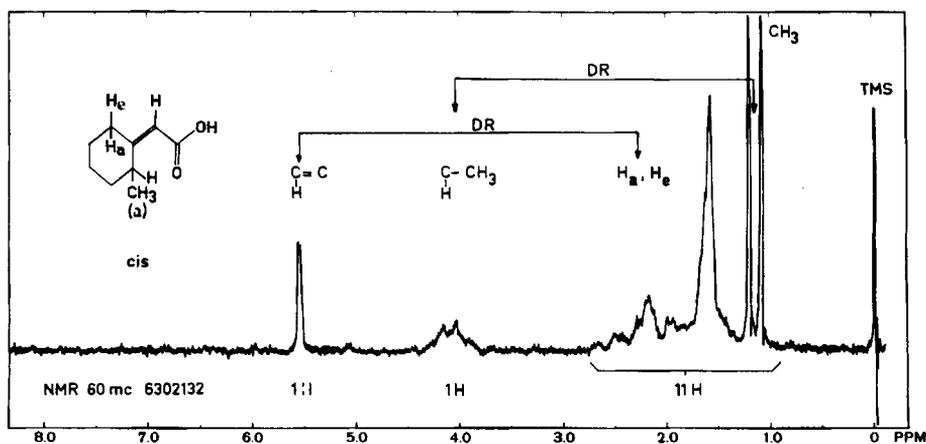
<sup>6)</sup> Aufgenommen in CCl<sub>4</sub> mit einem PERKIN-ELMER-IR.-Spektrographen, Mod. 21.

<sup>7)</sup> Gemessen in 80-proz. wässriger Methylcellosolve nach [4]; Fehler  $\Delta$  pK =  $\pm$  0,03.

Fig. 1. IR-Absorptionsspektrum von *cis*-2-Methylcyclohexyliden-essigsäure-äthylester<sup>8)</sup>Fig. 2. IR-Absorptionsspektrum von *trans*-2-Methylcyclohexyliden-essigsäure-äthylester<sup>8)</sup>

Der Unterschied der  $pK$ -Werte entspricht ebenfalls dieser Zuordnung, ist doch bei der *cis*-Säure (II, R = H) die Solvatation des Anions durch sterische Behinderung beeinträchtigt, was einen höheren  $pK$ -Wert zur Folge hat (Tab. 1).

Die Protonenresonanzspektren<sup>8)</sup> der *cis*- und der *trans*-Verbindungen zeigen bemerkenswerte Unterschiede, die es ermöglichen, die getroffenen Zuordnungen zu bestätigen, wobei wir zur Vereinfachung der Interpretation die Spektren der freien Säuren verwendeten (vgl. Fig. 3 und 4).

Fig. 3. 60-MHz-NMR.-Spektrum von *cis*-2-Methylcyclohexyliden-essigsäure (in  $\text{CCl}_4$ )<sup>8)</sup>

<sup>8)</sup> Die Aufnahme der Protonenresonanzspektren erfolgte mit einem VARIAN-Kernresonanzspektrographen A-60. Chemische Verschiebungen sind mit  $\delta$  bezeichnet und in ppm angegeben. Als interner Standard diente Tetramethylsilan (TMS) mit  $\delta_{\text{TMS}} = 0$ . Zur Aufnahme gelangten ca. 10-proz. Lösungen.

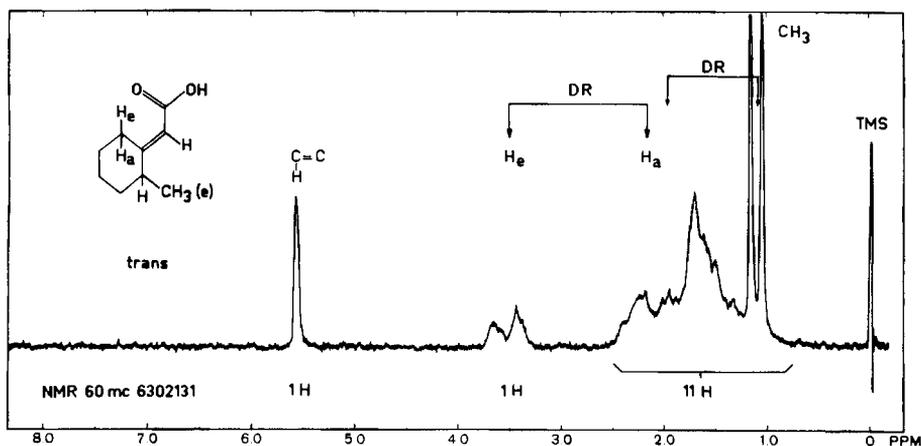


Fig. 4. 60-MHz-NMR.-Spektrum von *trans*-2-Methylcyclohexyliden-essigsäure (in  $\text{CCl}_4$ )<sup>8)</sup>

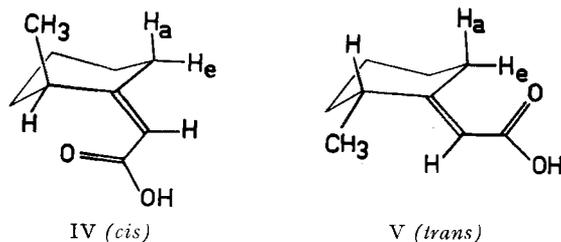
Das Signal eines einzelnen Ringprotons erscheint bei aussergewöhnlich tiefem Feld, seine chemische Verschiebung (*cis*:  $\delta = 4,1$ ; *trans*:  $\delta = 3,5$ ) und seine Form sind bei den beiden Isomeren deutlich verschieden. Doppelresonanzexperimente (DR)<sup>9)</sup> ergaben, dass es sich bei der *cis*-Verbindung um das Ringproton der  $\text{CH}-\text{CH}_3$ -Gruppierung handelt, während das Signal für das entsprechende Proton der *trans*-Verbindung bei  $\delta \approx 2$  zu suchen ist. Das Proton, dem das Multiplett bei  $\delta = 3,5$  zuzuordnen ist, erwies sich als ein H-Atom der  $\text{CH}_2$ -Gruppe in  $\alpha$ -Stellung zur Doppelbindung; das Signal des zweiten H-Atoms dieser Gruppe befindet sich bei  $\delta = 2,2$ . Der grosse Unterschied in der chemischen Verschiebung analoger Protonen der beiden Isomeren –  $\Delta\delta \approx 1,5$  ppm bei der  $\text{CH}_2$ -Gruppe,  $\Delta\delta \approx 2,0$  beim Proton der  $\text{CH}-\text{CH}_3$ -Gruppe – kann seine Ursache nur in der magnetischen Anisotropie der Carbonylgruppe haben. Dies wiederum bedeutet, dass in einem Falle die Carboxylgruppe sich auf der Seite der  $\text{CH}-\text{CH}_3$ -Gruppe («*cis*», IV), im anderen Falle sich auf der Seite der  $\text{CH}_2$ -Gruppe («*trans*», V) befindet. Damit ist die von uns getroffene Zuordnung von «*cis*» und «*trans*» vollauf bestätigt worden.

Die Interpretation ist hiermit aber noch nicht erschöpft. Auffallend ist, dass die chemische Verschiebung der  $\text{CH}_3$ -Signale bei beiden Isomeren nahezu gleich ist (*cis*:  $\delta = 1,16$ ,  $J_{\text{obs.}} = 7,2$  Hz; *trans*:  $\delta = 1,10$ ,  $J_{\text{obs.}} = 6,7$  Hz). Die Methylgruppe der *cis*-Verbindung wird also durch die magnetische Anisotropie der Carbonylgruppe nicht beeinflusst. Wie am Kalottenmodell gezeigt werden kann, ist dies nur dann der Fall, wenn die Methylgruppe die sterisch begünstigte axiale Stellung einnimmt (IV). Dies wird durch die Aufspaltung des Vinylprotons durch ein einziges axiales Proton in ein Dublett ( $J_{\text{obs.}} = 1,2$  Hz) bestätigt («allylic coupling») [5]<sup>10)</sup>. Im Gegensatz dazu zeigt bei der *trans*-Verbindung das Signal des Vinylprotons bei ungefähr gleicher Halbwertsbreite nur eine scharfe Spitze, was auf ein Triplett mit kleiner Kopplungs-

<sup>9)</sup> Die Doppelresonanzexperimente wurden bei 100 MHz mit einem VARIAN-Kernresonanzspektrographen HR-100 ausgeführt.

<sup>10)</sup> Dass das Proton der  $\text{CH}-\text{CH}_3$ -Gruppe nicht mit dem Vinylproton koppelt, konnte durch ein Doppelresonanzexperiment gezeigt werden (vgl. Fig. 3).

konstante hinweist. Dies wiederum verlangt das Vorhandensein von 2 Allylprotonen in axialer Lage, was aber nur dann möglich ist, wenn die Methylgruppe die äquatoriale Lage einnimmt (V).



Gestützt auf die erfolgreiche Deutung der Protonenresonanzspektren der Modellsubstanzen II und III, wandten wir uns der Untersuchung von Cassain (I) zu. Um die Interpretation zu vereinfachen, verwendeten wir den Cassainsäure-methylester (VI), der durch vorsichtige Verseifung von Cassain und anschließende Veresterung der freien Säure mit Diazomethan in einfacher und schonender Weise erhalten wurde.

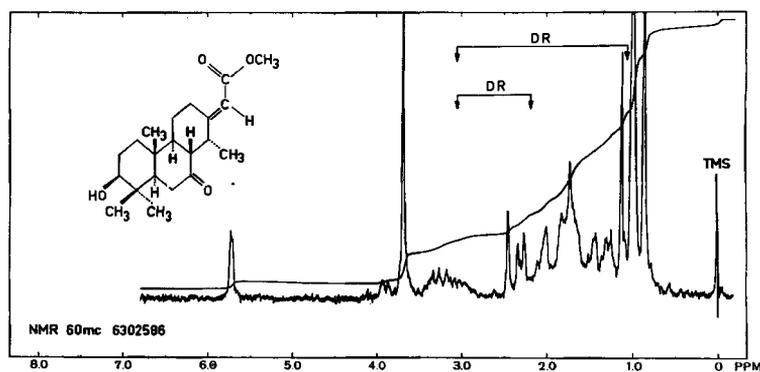
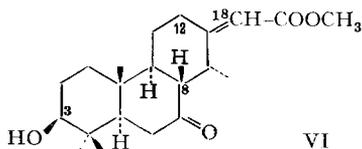


Fig. 5. 60-MHz-NMR.-Spektrum von Cassainsäure-methylester (VI) (in  $\text{CDCl}_3$ )<sup>8)</sup>

Das bei 60 MHz aufgenommene Protonenresonanzspektrum<sup>8)</sup> des Cassainsäure-methylesters (VI; Fig. 5) zeigt im Bereich von  $\delta = 2,8-3,5$  sich überlagernde Multipletts zweier Protonen, die im 100-MHz-Spektrum<sup>9)</sup> getrennt erscheinen (Fig. 6a). Wie die Untersuchung mit Hilfe der Doppelresonanz (DR)<sup>9)</sup> ergab, ist das Multiplett bei  $\delta = 3,05$  dem Proton an C-14 zuzuordnen (Fig. 5): bei der Einstrahlung auf die Methylgruppe entsteht aus dem Multiplett ein Dublett ( $J_{\text{obs.}} \approx 3-4$  Hz; Fig. 6b). Diese chemische Verschiebung des Protons an C-14 zeigt, dass es von der magnetischen Anisotropie der Carbonylgruppe in der Seitenkette nicht beeinflusst wird. Da gleichzeitig auch die chemische Verschiebung der  $\text{CH}_3$ -Gruppe an C-14 mit  $\delta = 1,04$

( $J_{\text{obs.}} \approx 6-7$  Hz) durchaus normal ist, kann die Carbomethoxygruppe an der Doppelbindung sich nicht auf der Seite der  $\text{CH}-\text{CH}_3$ -Gruppe befinden.

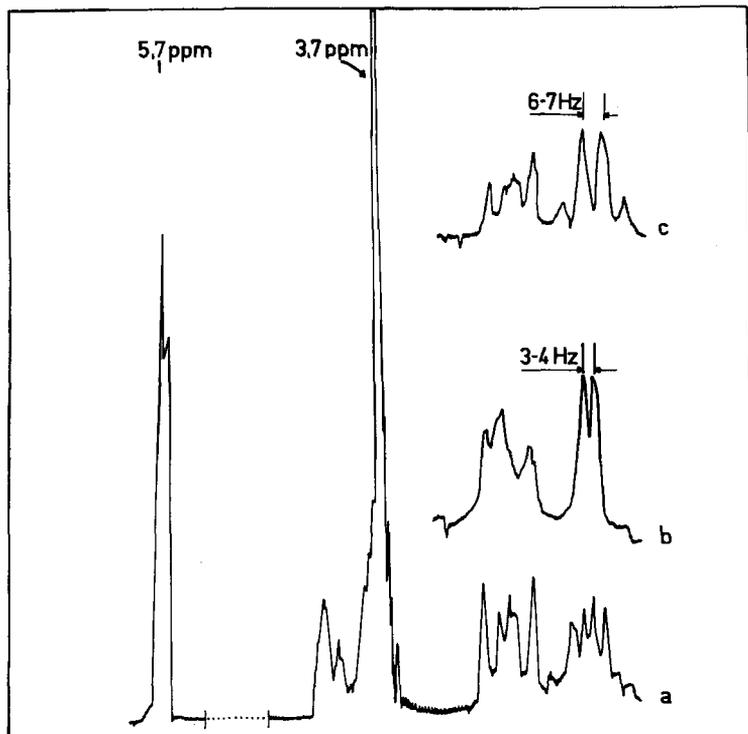


Fig. 6. Ausschnitt aus dem 100-MHz-NMR.-Spektrum von *Cassainsäure-methylester* (VI) (in  $\text{CDCl}_3$ )<sup>8)9)</sup>

Eine Aussage über die Konfiguration der  $\text{CH}-\text{CH}_3$ -Gruppe erhält man aus dem Signal des Vinylprotons bei  $\delta = 5,71$ , das als Dublett auftritt ( $J_{\text{obs.}} \approx 1$  Hz; Fig. 5 und 6a). Da demnach das Vinylproton an C-18 nur durch das axiale Proton an C-12 aufgespalten wird [5], kann wie bei *cis*-2-Methylcyclohexylenessigsäure (V; Fig. 4) geschlossen werden, dass die  $\text{CH}_3$ -Gruppe an C-14 die axiale Lage einnimmt. Diese Folgerung findet insofern eine Bestätigung als das bei der Entkopplung mit der  $\text{CH}_3$ -Gruppe auftretende Dublett (Fig. 6b) der Spin-Spin-Wechselwirkung der Protonen an C-14 und C-8 entspricht. Letzteres befindet sich, wie durch Doppelresonanz (DR)<sup>9)</sup> gezeigt werden konnte, bei  $\delta = 2,18$  (Fig. 5), entsprechende Einstrahlung vereinfacht das Multiplett bei  $\delta = 3,05$  zu einem Quadruplett mit der Kopplungskonstante der  $\text{CH}_3$ -Gruppe (Fig. 6c). Aus der Grösse der Spin-Kopplung der H-Atome an C-8 und C-14 mit  $J_{\text{obs.}} \approx 3-4$  Hz (Fig. 6b) ergibt sich ein Betrag von  $45^\circ$  (bzw.  $120^\circ$ ) für den aus der NEWMAN-Projektion ersichtlichen Winkel zwischen den Bindungen der H-Atome an C-8 und C-14 [6]. Wie eine Betrachtung am DREIDING-Modell zeigt, bedeutet dies – unter der Voraussetzung, dass der Ring C in der stabileren Sesselform vorliegt –, dass an C-14 die  $\text{CH}_3$ -Gruppe die axiale und das H-Atom die äquatoriale Lage einnehmen muss.

## SUMMARY

The NMR.-spectra of pure *cis*- and *trans*-2-methylcyclohexylidene acetic acids are interpreted with the aid of the double resonance method. These results lead to the correct interpretation of many signals in the NMR.-spectrum of cassaic acid methyl-ester and therefore to the determination of its side chain configuration as well as to the verification of the axial position of its secondary methyl group. The configuration of the *Erythrophleum* alkaloid cassain (I) is now completely established by this evidence.

Pharmazeutisch-chemische Forschungslaboratorien,  
SANDOZ AG., Basel und  
Forschungslaboratorium der VARIAN AG., Zürich

## LITERATURVERZEICHNIS

- [1] F. E. KING, T. J. KING & J. M. UPRICHARD, *J. chem. Soc.* 1958, 3428; R. B. TURNER, E. G. HERZOG, R. B. MORIN & A. RIEBEL, *Tetrahedron Letters* 1959, Nr. 2, 7; V. P. ARAYA & B. G. ENGEL, *Helv.* 44, 1650 (1961).  
 [2] G. T. CHAPMAN, B. JAQUES, D. W. MATHIESON & V. P. ARAYA, *J. chem. Soc.* 1963, 4010.  
 [3] S. TRIPPETT & D. M. WALKER, *Chemistry & Ind.* 1961, 990.  
 [4] W. SIMON, *Helv.* 41, 1835 (1958).  
 [5] D. J. COLLINS, J. J. HOBBS & S. STERNHELL, *Tetrahedron Letters* 1963, 197, 1072.  
 [6] H. CONROY in *Adv. Org. Chemistry* 2, 310ff (1960).

## 120. Die Sterine und Bufadienolide der Haut von *Bufo formosus* BOULENGER<sup>1)</sup>

Über Krötengifte, 31. Mitteilung<sup>2)</sup>

von E. Iseli, M. Kotake, Ek. Weiss und T. Reichstein

(15. V. 65)

1. *Bisherige Literatur.* Die Giftstoffe der japanischen Erdkröte *Bufo formosus* BOULENGER (Nomenklatur vgl. GESSNER [2]) sind schon öfters untersucht worden. Über die Basen aus der Haut berichteten WIELAND & VOCKE [3] sowie OHNO *et al.* [4] (Struktur vgl. die Zusammenstellung bei FIESER & FIESER [5], p. 867–869). Von den Steroiden der Haut isolierten KOTAKE [6] und WIELAND & VOCKE [3] das krist. Gamabufotalin (18) sowie der erstere [7] krist. Bufotalin (12). Nach HÜTTEL & BEHRINGER [8] bestehen die Sterine der Haut zur Hauptsache aus Cholesterol und zu ca. 5% aus  $\gamma$ -Sitosterol. KOMATSU [9] isolierte krist. Bufalin (6). Papierchromatographisch haben BARBIER *et al.* [10] in der Haut neben Sterinen 9 Bufadienolide nachgewiesen, von denen 6 Laufstrecken zeigten, die mit denjenigen von Resibufogenin, Bufalin, Marinobufagin, Bufotalin, Arenobufagin und Gamabufotalin identisch waren. Aus den Ovarien konnten OHNO & OHMOTO [11] Palmitinsäure,  $\gamma$ -Sitosterol und Gamabufotalin isolieren, ausserdem durch Papierchromatographie Desacetylcinobufagin, Desacetylcinobufotalin, Cinobufotalin, Telocinobufagin und Hellebrigenin nachweisen.

<sup>1)</sup> Auszug aus der Diss. E. ISELI, Basel 1963.

<sup>2)</sup> 30. Mitt. vgl. E. ISELI *et al.* [1].