

62. Magnetische Protonenresonanz-Spektroskopie der Bufadienolide (steroidartigen Krötengifte)

von **L. Gsell** und **Ch. Tamm**

Institut für Organische Chemie der Universität Basel

(13. I. 69)

Summary. The NMR. spectra of nearly all bufadienolides (steroidal toad poisons) of known structure (aglycones and acetyl derivatives) were measured (some in various solvents) and evaluated. The results obtained allow the application of the principle of the self-consistent chemical shift values ('rule of additivity') for the calculation of the chemical shifts of the 18- and 19-methyl groups. The frequencies of resonance and the coupling of the protons of the 17 β -pentadienolide ring and of the α -protons of the functional groups were analysed. For the determination of the NMR. spectra of polyhydroxylated bufadienolides and cardenolides *d*₆-dimethylsulfoxide proved to be the most suitable solvent. In this solvent not only the nature but also the relative positions of several hydroxyl groups can be recognized, the rule of additivity being also applicable.

On the basis of the data recorded the position and stereochemistry of functional groups in steroidal toad poisons of unknown structure can be determined with a high degree of probability.

1. Einleitung. – Vor etwa zehn Jahren berichteten SHOOLERY & RODGERS [1] über die erste Untersuchung der magnetischen Protonenresonanz-Spektren (NMR.-Spektren) von Steroiden. Sie konnten zeigen, dass die Resonanzfrequenz der angulären 18- und 19-Methylgruppen von der Art und der Stellung weiterer Substituenten am Steroidgerüst abhängig ist. Bei Anwesenheit mehrerer funktioneller Gruppen setzt sie sich in erster Näherung additiv aus den Verschiebungsbeiträgen der einzelnen Substituenten zusammen (Prinzip der «self-consistent chemical shift values»). Es war dann vor allem ZÜRCHER [2], der die Additivitätsregel an vielen Beispielen untersucht und auf deren Anwendbarkeit zur Strukturaufklärung hingewiesen hat. Die weitere systematische Auswertung der NMR.-Daten von Steroiden eines gleichen Strukturtyps wie etwa von 3-Oxo- Δ^4 -Steroiden [3], Spirostanolen [4], Cardenoliden [5] und Lanostanderivaten [6] [7] bestätigten diese Ansichten. Auf Grund dieser Untersuchungen ist es möglich, die Stellung von Oxo-, Hydroxy- und Acetoxygruppen sowie von Doppelbindungen im Steroidgerüst mit grosser Wahrscheinlichkeit zu bestimmen. Über die NMR.-Spektroskopie der Bufadienolide liegt jedoch noch keine entsprechende systematische Studie vor. In der Literatur finden sich lediglich vereinzelte Hinweise. Für diese Stoffklasse ist auf Grund des ungesättigten Charakters des 17 β -ständigen Pentadienolidrings ein grosser Einfluss auf die chemische Verschiebung der 18-Methylgruppe zu erwarten. Anhand der im folgenden beschriebenen Messungen konnten wir die Grösse dieses Einflusses abklären und damit auch für die Klasse der Bufadienolide die Grundlagen zu einer exakten Anwendung der Additivitätsregel schaffen.

Wir haben 48 Bufadienolide untersucht (vgl. Tab. 1). Als Lösungsmittel dienten Deuteriochloroform (CDCl₃) (vorwiegend bei den Acetylderivaten) und Deuteriodimethylsulfoxid ((CD₃)₂SO) (vorwiegend bei Verbindungen mit mehreren Hydroxyl-

Tabelle 1. *Chemische Verschiebung der*

Nr.	Substanzen	Formel	Lit.
<i>Bufadienolide</i>			
1	<i>Bufalin</i>	I	[8]
2	3 β -O-acetyl-bufalin		[8]
3	3-Dehydro-bufalin		[8]
4	Scillarenon (3-Dehydro- <i>A</i> ⁴ -bufalin)		[9]
5	7 β -Hydroxy-bufalin		[10]
6	Di-O-acetyl-7 β -hydroxy-bufalin		[10]
7	Gammabufotalin (11 α -Hydroxy-bufalin)		[8] [11]
8	Di-O-acetyl-11 α -hydroxy-bufalin		[8] [11]
9	12 β -Hydroxy-bufalin		[12]
10	Di-O-acetyl-12 β -hydroxy-bufalin		[12]
11	Telocinobufagin (5 β -Hydroxy-bufalin)		[8]
12	3 β -O-acetyl-5 β -hydroxy-bufalin		[8]
13	16 β -Hydroxy-bufalin		[8]
14	Bufotalin (16 β -O-acetyl-bufalin)		[8]
15	Di-O-acetyl-16 β -hydroxy-bufalin		[8]
16	3 β , 12 β -Di-O-acetyl-bufanenogin (11-Oxo-3 β , 12 β -di-O-acetyl-bufalin)		[13]
17	3 β , 11 α -Di-O-acetyl-anenobufagin (12-Oxo-3 β , 11 α -di-O-acetyl-bufalin)		[13]
18	3 β , 12 α -Di-O-acetyl- ψ -bufanenogin (11-Oxo-3 β , 12 α -di-O-acetyl-bufalin)		[13]
19	<i>Resibufogenin</i> (14 β , 15 β -Epoxy-14-anhydro-bufalin)	II	[14]
20	3 β -O-acetyl-resibufogenin		[15]
21	Marinobufagin (5 β -Hydroxy-resibufogenin)		[16]
22	3 β -O-acetyl-5 β -hydroxy-resibufogenin		[16]
23	Di-O-acetyl-7 β -hydroxy-resibufogenin		[10]
24	12 α -Hydroxy-resibufogenin		[10]
25	Di-O-acetyl-12 α -hydroxy-resibufogenin		[17]
26	12 β -Hydroxy-resibufogenin		[17]
27	Di-O-acetyl-12 β -hydroxy-resibufogenin		[18]
28	16 β -Hydroxy-resibufogenin		[8] [19]
29	Cinobufagin (16 β -O-acetyl-resibufogenin)		[8]
30	Di-O-acetyl-16 β -hydroxy-resibufogenin		[8]
31	Cinobufaginol (16 β -O-acetyl-19-hydroxy-resibufogenin)		[20]
32	Tri-O-acetyl-16 β , 19-dihydroxy-resibufogenin		[20]
33	5 β , 16 β -Dihydroxy-resibufogenin		[8]
34	Cinobufotalin (5 β -Hydroxy-16 β -O-acetyl-resibufogenin)		[8]
35	5 β -Hydroxy-di-O-acetyl-16 β -hydroxy-resibufogenin		[21]
36	<i>Scillirubrosidin</i>	III	[22]
37	Scillarosidin (6 β -O-acetyl-scillirubrosidin)		[22]
38	Di-O-acetyl-6 β -hydroxy-scillirubrosidin		[22]
39	<i>Scilliphäosidin</i>	IV	[23]
40	<i>Anhydroscilliphäosidin</i>	V	[23]
41	3 β , 12 β -Di-O-acetyl-scilliphäosidin		[23]

1) Die Substanzen Nr. 1, 7, 11, 14, 19, 29 und 34 erhielten wir von Herrn Prof. Dr. K. MEYER, Pharmazeutisches Institut der Universität Basel; Nr. 4, 36 und 37 von Herrn Dr. A. VON WARTBURG, SANDOZ A.G., Basel, und Nr. 47 von Herrn Dr. A. KATZ, Basel. Allen diesen Herren sei auch an dieser Stelle für die Überlassung der Präparate bestens gedankt.

Signale der 18- und 19-Methylgruppen¹⁾

Gefundene und berechnete Resonanzfrequenzen der angulären Methylgruppen (Werte in ppm)

in CDCl ₃			in (CD ₃) ₂ SO								
C-18			C-19			C-18			C-19		
Gef.	Ber.	Δ ^{a)}	Gef.	Ber.	Δ ^{a)}	Gef.	Ber.	Δ ^{b)}	Gef.	Ber.	Δ ^{b)}
0,710	0,710		0,950	0,950		0,610	0,610 ^{c)}		0,875	0,875 ^{c)}	
0,710	0,710		0,965	0,958		0,610	0,610 ^{c)}		0,895	0,895 ^{c)}	
0,745	0,744		1,020	1,017							
0,775	0,777		1,190	1,184							
						0,640	0,640		0,900	0,905	+ 0,005
0,745	0,752		1,030	1,000	– 0,03	0,625	0,620	– 0,005	0,975	0,970	– 0,005
0,795	0,768	– 0,03	1,050	1,050		0,520	0,510	– 0,010	0,875	0,875	
0,755	0,777	+ 0,02	0,925	0,958	+ 0,03						
0,755	0,750		0,970	0,970							
0,720	0,710		0,950	0,950		0,605	0,605 ^{c)}		0,825	0,825 ^{c)}	
0,725	0,710		0,970	0,958							
						0,655	0,650	– 0,005	0,855	0,860	+ 0,005
0,790	0,790		0,955	0,950		0,680	0,680 ^{c)}		0,875	0,875 ^{c)}	
0,790	0,790		0,970	0,958							
0,65 ^{d)}			1,24 ^{d)}								
0,96 ^{d)}			1,13 ^{d)}								
0,98 ^{d)}			1,18 ^{d)}								
0,780	0,780		0,995	0,995		0,700	0,700 ^{c)}		0,925	0,925 ^{c)}	
0,785	0,780		1,000	1,003							
0,785	0,780		0,985	0,995		0,700	0,695	– 0,005	0,885	0,875	– 0,010
0,795	0,780		1,010	1,003							
0,800	0,823	+ 0,02	1,040	1,045							
0,745	0,821	+ 0,08	0,990	0,987		0,645	0,650	+ 0,005	0,910	0,910	
0,835	0,863	+ 0,03	0,985	0,978							
						0,595	0,600	+ 0,005	0,910	0,925	+ 0,015
0,825	0,780	+ 0,05	1,005	1,003		0,680	0,680 ^{c)}		0,910	0,910 ^{c)}	
0,825	0,830		0,995	0,995							
0,825	0,830		1,000	1,003							
0,82 ^{c)}	0,830										
0,82 ^{e)}	0,830										
						0,675	0,675		0,870	0,860	– 0,010
0,835	0,830		0,990	0,995		0,720	0,720 ^{c)}		0,875	0,875 ^{c)}	
0,835	0,830		1,010	1,003							
						0,78 ^{g)}			1,12 ^{g)}		
0,855	0,985	– 0,13	1,280	1,242	+ 0,04	0,795	0,795 ^{c)}		1,300	1,300 ^{c)}	
0,860	0,985	– 0,13	1,300	1,334	– 0,03	0,790	0,795	+ 0,005	1,305	1,315	+ 0,010
						0,57 ^{h)}			0,97 ^{h)}		
						0,58 ^{h)}			0,86 ^{h)}		
						0,68 ^{h)}			0,99 ^{h)}		

a) Abweichungen von mehr als 0,02 ppm zwischen den gefundenen und berechneten Werten.

b) Abweichungen zwischen den gefundenen und berechneten Werten.

c) Diese Werte werden zur Berechnung der übrigen Werte eingesetzt.

 d) Werte von HUBER *et al.* [13].

Nr.	Substanzen	Formel	Lit.
42	12-Dehydro-anhydro-scilliphäosidin		[23]
43	<i>Hellebrigenin</i>	VI	[8] [24]
44	3 β -O-acetyl-hellebrigenin		[8] [24]
45	3 β ,5 β -Di-O-acetyl-hellebrigenin		[25]
46	<i>Bufotalinin</i>	VII	[26]
47	<i>Bovogenin A</i>	VIII	[27]
48	3 β -O-acetyl-bovogenin A		[27]
<i>Cardenolide</i>			
49	Digitoxigenin	IX	[28]
50	7 β -Hydroxy-digitoxigenin		[29]
51	Sarmentogenin (11 α -Hydroxy-digitoxigenin)		[30]
52	Digoxigenin (16 β -Hydroxy-digitoxigenin)		[31]
53	Acovenosigenin A (1 β -Hydroxy-digitoxigenin)		[32]
54	1 β ,7 β -Dihydroxy-digitoxigenin		[29] [33]
55	7 β ,11 α -Dihydroxy-digitoxigenin		[33]
56	7 β -Hydroxy-14 β ,15 β -epoxy-14-anhydro-digitoxigenin		[10]
57	12 α -Hydroxy-14 β ,15 β -epoxy-14-anhydro-digitoxigenin		[10]
58	3 β -O-acetyl-14 β ,15 β -epoxy-14-anhydro-digitoxigenin		[34]
59	Gitoxigenin (16 β -Hydroxy-digitoxigenin)		[35]

e) Werte von HOFER *et al.* [20].

f) Werte von KUPCHAN *et al.* [25].

gruppen). Zur Gewinnung von zusätzlichen Informationen über die Spektren in (CD₃)₂SO-Lösung wurden noch 11 Cardenolide beigezogen.

2. Experimentelles. – Die NMR.-Spektren wurden mit einem VARIAN-Spektrometer A-60 bei 60 MHz im Spektrollabor unseres Instituts (K. AEGERTER) aufgenommen. Einige 100-MHz-Spektren verdanken wir Herrn PD. Dr. R. F. ZÜRCHER, CIBA AKTIENGESELLSCHAFT, Basel. Feldänderungsgeschwindigkeit 1 Hz/s. Die Lage der Signale ist in δ -Werten (ppm) angegeben, die mit einem Stechzirkel mit einer Genauigkeit von $\pm 0,01$ ppm ausgemessen wurden, bezogen auf Tetramethylsilan ($\delta = 0$) als interne Referenzsubstanz. Positive Werte bedeuten eine Verschiebung nach tieferem Magnetfeld, d. h. Verschiebungen werden in ppm, Kopplungen (J) in Hz angegeben. Die Konzentration der Messlösung betrug in der Regel 0,1 M, was 20–25 mg Substanz in 0,4 ml Lösungsmittel entspricht.

3. Resultate und Diskussion

3.1. *Einfluss des Pentadienolidrings auf die chemische Verschiebung der 18- und 19-Methylgruppe.* Der Vergleich der 18- und 19-Methylsignale in Spektren von Steroiden, die sich nur in der 17 β -Seitenkette voneinander unterscheiden, lässt bei den Bufadienoliden die sehr starke Verschiebung der 18-Methylgruppe nach höherem Feld erkennen. Zur Berechnung des Substituenteneinflusses des Pentadienolidrings in CDCl₃-Lösung diente im Falle der 14 β -Hydroxy-Derivate (Verbindungen Nr. 1–15 und 36–38 sowie 43–46, Tab. 1) das 5 β ,14 β -Androstangerüst. Hingegen wurden für

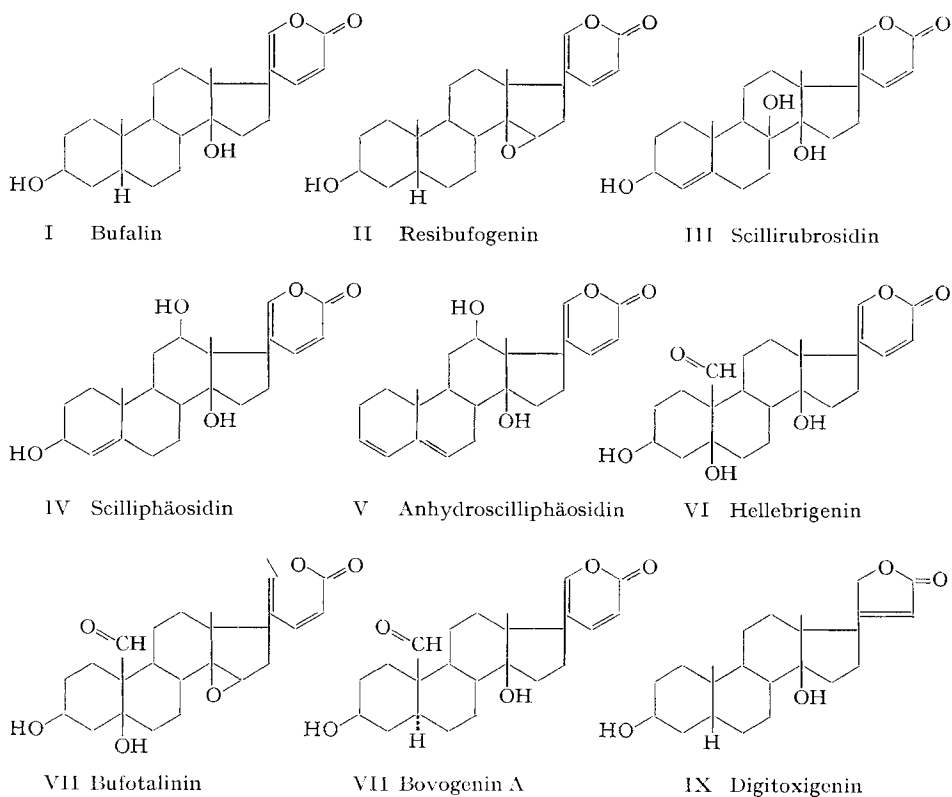
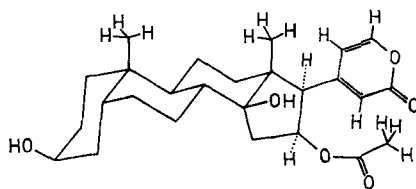


Tabelle 2. Berechnung des Verschiebungsbeitrages des Pentadienolidrings auf die angulären Methylgruppen in $CDCl_3$ (Werte in ppm)

	Bufalin (I)		Resibufogenin (II)	
	C-19	C-18	C-19	C-18
5 β , 14 β -Androstan	0,900	0,992		
5 β , 14 α -Androstan			0,925	0,692
3 β -OH	0,050	0,008	0,050	0,008
14 β -OH	0,017	-0,025		
Summe	0,967	0,975	0,975	0,700
Bufalin (I) (gef.)	0,950	0,710		
Resibufogenin (II) (gef.)			0,995	0,780
Beitrag des 17 β -Pentadienolidringes	-0,017	-0,265		
Beitrag der 14 β , 15 β -Epoxy-17 β -Pentadienolidgruppierung			+0,020	+0,080

In $(CD_3)_2SO$ -Lösung ist der Einfluss des Pentadienolidrings von der gleichen Grössenordnung. Doch ist aus den Tabellen 1, 3 und 4 ersichtlich, dass zwischen den Substituenteneinflüssen in $CDCl_3$ und $(CD_3)_2SO$ keine lineare Beziehung besteht.


 Fig. 1. 16 β -Acetoxybufadienolid

Differenz zu den Resonanzfrequenzen des 16 β -Acetoxycardenolids: C-18 = -0,27; 16 α H = +0,22; 16 β -Acetoxy = -0,22; 17 α H = +0,5 ppm

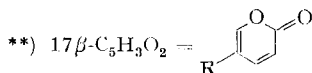
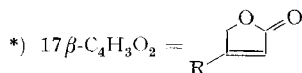
3.2. Einfluss weiterer Substituenten auf die chemische Verschiebung der 18- und 19-Methylgruppen. Anwendung der Additivitätsregel. Die charakteristischen Resonanzfrequenzen (chemischen Verschiebungen) der angulären 18- und 19-Methylgruppen beruhen auf einer Änderung des Magnetfeldes am Ort der Methylprotonen. Die primäre Änderung des Magnetfeldes wird durch die Elektronenwolke, welche die Protonenkerne umgibt, sowie durch die anisotrope magnetische Suszeptibilität und die Dipolmomente des Steroidgerüsts hervorgerufen. Die anisotrope magnetische Suszeptibilität und die Dipolmomente zusätzlicher Substituenten, sowie die Deformation des Grundgerüsts, hervorgerufen durch die Substituenten, haben eine weitere sekundäre, Substituenten-spezifische Magnetfeldänderung am Ort der angulären

Tabelle 3. Werte, die zur Berechnung der Resonanzfrequenz der angulären Methylgruppen in Tab. 1 eingesetzt wurden ($CDCl_3$)^{a)} (in ppm)

	C-19	C-18
<i>Grundgerüst</i>		
5 α , 14 β -Androstan	0,767	0,992
5 β , 14 α -Androstan	0,925	0,692
5 β , 14 β -Androstan	0,900	0,992
<i>Substituenten</i>		
3 β -OH, bei 5 β	0,050	0,008
3 β -OH, bei 5 α	0,033	0,008
3 β -OAc, bei 5 β	0,058	0,008
3 β -OAc, bei 5 α	0,050	0,008
3 β -OAc, bei Δ^4 (5 α)	0,042	0,008
3 β -OAc, bei Δ^5 (5 α)	0,017	0
3-Oxo	0,117	0,042
3-Oxo und Δ^4 (5 α)	0,417	0,075
Δ^4 (5 α)	0,250	0,042
Δ^5 (5 α)	0,233	0,042
5 α -OH	0,233	0,042
5 β -OH	0	0 ^{b)}
6 β -OH bei Δ^4 oder 5 β	0,192	0,042
6 β -OAc bei Δ^4 oder 5 β	0,092	0,050
7 β -OH	0,025	0,033 ^{c)}
7 β -OAc	0,042	0,043 ^{d)}
8 β -OH	0,183	0,183 ^{e)}
11-Oxo	0,217	-0,033

Tabelle 3 (Fortsetzung)

11 α -OH	0,117	0,025
11 α -OAc	0,092	0,058
12-Oxo	0,100	0,375
12 α -OH	-0,008	0,042
12 α -OAc	-0,025	0,083
12 α -OH und 17 β -COOCH ₃	-0,017	-0,042
12 β -OH	0,008	0,067
12 β -OAc	0	0 ^{f)}
14 β -OH	0,017	-0,025
14 β , 15 β -Epoxy (14 α)	0,050	0,150
16 β -OAc	0	0,08 ^{b)}
14 β -OH; 17 β -COOCH ₃	0,025	-0,017
14 β , 15 β -Epoxy; 17 β -C ₄ H ₃ O ₂ * (14 α)	0,03	0,24 ^{b)}
14 β , 15 β -Epoxy; 17 β -C ₅ H ₃ O ₂ ** (14 α)	0,020	0,080 ^{g)}
14 β , 15 β -Epoxy; 17 β -C ₅ H ₃ O ₂ **); 16 β -OAc (14 α)	0,02	0,13 ^{g)}
17 β -C ₄ H ₃ O ₂ (14 α)	-0,01	-0,08 ^{b)}
17 β -C ₄ H ₃ O ₂ (14 β)	-0,01	-0,09 ^{b)}
17 β -C ₅ H ₃ O ₂ (14 β)	-0,017	-0,265 ^{g)}
19-CHO neben 5 α -H	-	-0,05 ^{g)}
19-CHO neben 5 β -OH	-	-0,01 ^{g)}
19-CHO neben 5 β -H	-	0,09 ^{g)}



- a) Werte nach ZÜRCHER [2], falls nicht anders angegeben. Bezugssubstanz ist das 5 β , 14 β -Androstangerüst, falls nicht mit (5 α) oder (14 α) auf ein anderes Grundgerüst hingewiesen wird. Positive Werte zeigen eine Verschiebung nach tieferem Felde an.
- b) Nach TORI & AONO [5].
- c) Für 7 β -OH fanden KAWAZOE *et al.* [36] +0,040 bzw. +0,025 ppm.
- d) Nach KAWAZOE *et al.* [37].
- e) TORI & AONO [5] fanden +0,26 ppm für den Verschiebungsbeitrag der 8 β -Hydroxygruppe auf das 18-Methylsignal [4] [5].
- f) Nach TORI & AONO [5] liegen die Werte bei 17 β -C₄H₃O₂, in der 14 α - und 14 β -Reihe bei +0,02 bzw. +0,04 ppm.
- g) Werte nach eigenen Messungen.

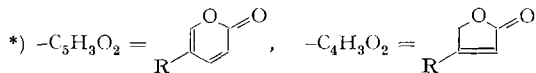
Methylgruppen zur Folge. Dieser Sachverhalt ist von mehreren Autoren eingehend diskutiert worden [2] [5] [36].

Die für die Bufadienolide berechneten und gefundenen Resonanzfrequenzen sind in Tab. 1 zusammengestellt. Zur Berechnung dienten die in Tab. 3 und 4 aufgeführten Werte. Berechnete und experimentelle Resonanzfrequenzen stimmen im allgemeinen sehr gut überein. Doch gibt es Abweichungen, die mehr als 0,02 ppm betragen. Im folgenden gehen wir auf sie näher ein.

Die Substituenten können sich gegenseitig durch sterische Hinderung, H-Brückenbildung und Dipol-Dipol-Wechselwirkung beeinflussen. Dadurch werden ihre freie Drehbarkeit, ihre Wirkung auf die Gerüstdeformation sowie ihr Winkel und Abstand zu den Methylgruppen verändert, so dass sie nicht mehr den für sie spezifischen Abschirmungseffekt ausüben. Daher fassen wir Substituenten, die nahe beieinander liegen und in der gleichen Anordnung öfters auftreten (z. B. die 14 β , 15 β -Epoxy-16 β -acetoxy-17 β -pentadienolid-Gruppierung), zu einer Gruppierung zusammen und tragen

Tabelle 4. Werte, die zur Berechnung der Resonanzfrequenzen der 18- und 19-Methylgruppen in Tabelle 5 eingesetzt wurden ($(CD_3)_2SO$) (in ppm)

Substituenten	Benutzte Spektren: Subst.-Nr. aus Tab. 1	$(CD_3)_2SO$		Entsprechende Werte in $CDCl_3$	
		C-18	C-19	C-18	C-19
«Grundgerüst» Digitoxigenin	49	0,775	0,875	0,885	0,965
1 β -OH (neben 3 β -OH)	53	0,010	0,100	0,005	0,145
3 β -OAc (statt 3 β -OH)	1, 2	0	0,020	0	0,015
5 β -OH (neben 3 β -OH)	1, 11	-0,005	-0,050	0,010	0
7 β -OH	50	0,030	0,030	0,02	0,05
11 α -OH	51	0,010	0,095		
12 α -OH	19, 57	-0,050	-0,015		
12 β -OH	52	-0,100	0	-0,065	0
16 β -OH (neben 14 β -OH)	59	0,040	-0,015	0,065	-0,015
16 β -OH (neben 14 β , 15 β -Epoxid)	19, 28	-0,020	-0,015		
14 β , 15 β -Epoxid (statt 14 β -OH)	1, 19	0,090	0,050	0,070	0,045
16 β -OAc (neben 14 β -OH)	1, 14	0,070	0	0,080	0,005
16 β -OAc (neben 14 β , 15 β -Epoxid)	21, 34	0,020	-0,010	0,050	0,005
17 β -C ₅ H ₃ O ₂ (statt 17 β -C ₄ H ₃ O ₂ *)	1	-0,160	0	-0,175	-0,015
1 ⁴ -6 β -OAc-8 β -OH	1, 37	0,185	0,425	0,145	0,320
19-CHO (neben 5 β -OH)	1, 43	-0,050	-		
5 α -H (neben 19-CHO)	43, 47	-0,010	-		



in Tab. 3 ihren Gesamteinfluss auf die Methylgruppen, der von der Summe der Einflüsse der einzelnen Funktionen abweicht, ein.

In Tab. 1 sind auch, wie erwähnt, die Abweichungen von mehr als 0,02 ppm aufgeführt (δ -Werte). Es handelt sich um die folgenden:

1. Ein Substituent in 7 β -Stellung tritt mit dem 14 β -Hydroxyl in Wechselwirkung [5] (vgl. Nr. 6 und Nr. 23).

2. Die Häufung von Substituenten in den Verbindungen Nr. 37 und 38 ergeben Abweichungen von der Additivität. Die 6 β -Acetoxy- und die 8 β -Hydroxylgruppe befinden sich in 1,3-diaxialer Anordnung und sind auch bezüglich des 19-Methyls axial. In bezug auf die 18-Methylgruppe befinden sich die 8 β - und 14 β -ständigen Substituenten in 1,3-diaxialer Lage. Die sterische Hinderung ist sehr gross. Infolgedessen ist keine Additivität zu erwarten.

3. In der 5 β , 14 β -Reihe bewirken Substituenten an C-11 eine Abweichung von der Additivität [2] [5] (vgl. Nr. 8).

4. Die Wechselwirkung zwischen funktionellen Gruppen an C-12 und C-17 ist vor allem in der 14 β -Reihe gross [2] [5]. Damit stimmen auch die Beobachtungen bei den Verbindungen Nr. 9 und 24 bis 27 überein.

5. 14 β -Hydroxyle können mit 17 β -ständigen Gruppierungen H-Brücken bilden. Ihr Einfluss verringert sich deshalb oft um 0,02 bis 0,05 ppm [5].

6. Die Wechselwirkung und der Einfluss auf die Deformation des Steroidgerüsts durch Substituenten an C-16, C-17 sowie des 14 β , 15 β -Oxiranrings ist besonders ausgeprägt. Daher werden in den Verbindungen Nr. 29 bis 32 sowie 34 und 35 alle

funktionellen Gruppen zusammengefasst. Ausgehend vom $5\beta,14\alpha$ -Androstangerüst lassen sich für die $14\beta,15\beta$ -Epoxy- 16β -acetoxy- 17β -pentadienolid-Gruppierung die folgenden Beiträge berechnen:

Subst.-Nr. aus Tab. 1	29	30	34	35
C-19	+ 0,020	+ 0,017	+ 0,015	+ 0,027
C-18	+ 0,125	+ 0,125	+ 0,135	+ 0,135

In Tabelle 3 wurden daher die Werte + 0,02 und + 0,13 eingesetzt. Unerwartet ist die gute Additivität bei der 14β -Hydroxy- 16β -acetoxy- 17β -pentadienolid-Gruppierung.

Ist die 19-Methylgruppe durch eine Aldehydgruppe ersetzt, so verschiebt sich das 18-Methylsignal in der 5α -Reihe um $- 0,05$ ppm (vgl. Nr. 48 in Tab. 1) und in der 5β -Reihe um $- 0,02$ ppm³⁾. Eine 5β -ständige HO-Gruppe bewirkt eine Verschiebung um + 0,08 ppm nach tieferem Feld (vgl. Nr. 43, 46 in Tab. 1).

3.3. *Die Protonen der Acetylgruppen.* Auf Grund der Resonanzfrequenz der Acetylprotonen lassen sich die Acetylderivate in vier Gruppen einteilen (vgl. Tab. 5):

1. 3β -Acetoxygruppe ohne weitere Substituenten an Ring A: Signal bei $2,04 \pm 0,02$ ppm.
2. 3β -Acetoxy- 5β -hydroxy-Gruppierung: Signal bei $2,09 \pm 0,01$ ppm.
3. 16β -Acetoxygruppe mit 14β -Hydroxyl: Signal bei $1,87 \pm 0,01$ ppm; mit $14\beta,15\beta$ -Epoxyd: Signal bei $1,89 \pm 0,01$ ppm.
4. Acetoxygruppen in den übrigen Stellungen.

Die H-Brückenbildung der 5β -Hydroxygruppe mit dem 3β -Acetoxysubstituenten dürfte für die Verschiebung (+ 0,04 ppm) nach niedrigerem Feld verantwortlich sein, während die hohe Resonanzfrequenz der 16β -Acetoxygruppe dem Einfluss des Pentadienolidrings zuzuschreiben ist (vgl. Fig. 1). Infolgedessen lassen sich in den Bufadienoliden die 16β -Acetoxygruppen leicht erkennen.

3.4. *Die Protonen der Hydroxylgruppen.* In der Regel lassen sich die Hydroxylprotonen mit D_2O austauschen und sind deshalb leicht erkennbar. Bei den Bufadienoliden treten aber verschiedene Schwierigkeiten auf:

1. Bufadienolide mit zwei Hydroxylgruppen sind in $CDCl_3$ zu wenig löslich. Drei Hydroxylgruppen erlauben in $CDCl_3$ überhaupt keine Messung mehr.
2. Bei starker H-Brückenbildung der Hydroxylprotonen mit benachbarten Substituenten findet kein Deuteriumaustausch statt (z. B. in einer 3β -O-acetoxy- 5β -hydroxy-Gruppierung).
3. Oft liegt das Signal der Hydroxylprotonen im Bereich der Signale der Protonen des Steroidgerüsts.

Die Protonen der Hydroxyle erscheinen bei folgenden Feldstärken:

3β -Hydroxyl: $1,75 \pm 0,05$ ppm. Ein benachbartes 5β -Hydroxyl verschiebt das Signal nach niedrigerem Feld, nämlich nach $3,35 \pm 0,10$ ppm.

³⁾ Auf Grund von Messungen an Alloglaucotoxigenin. Die Daten verdanken wir Herrn Prof. Dr. T. REICHSTEIN, Basel.

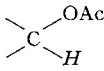
5β-Hydroxyl: Wenn gleichzeitig ein *3β*-Hydroxyl anwesend ist, erscheint das *5β*-Hydroxylproton als breites Signal bei 3,35 ppm.

Bei Anwesenheit einer *3β*-Acetoxygruppe kann die Lage des *5β*-Hydroxylprotons nicht bestimmt werden, ausser wenn gleichzeitig eine *19*-Aldehydgruppe vorhanden ist.

14β-Hydroxyl: In keinem Fall gelang es, die *14β*-Hydroxygruppe eindeutig zu bestimmen.

3.5. *Geminale Protonen* (vgl. Fig. 2 und 3). – 3.5.1. *Protonen geminal zu den Acetoxygruppen*. Die Resultate sind in Tab. 5 zusammengestellt. Da diese Signale keine scharfen Singulette ergeben, schwankt der mittlere Wert etwas mehr als gewöhnlich. Die *3α*-Protonen erscheinen bei $5,08 \pm 0,03$ ppm, wenn sich an Ring A kein

Tabelle 5. Resonanzfrequenz der Acetyl-Protonen sowie der zu den Acetoxygruppen geminalen Protonen (in ppm)

Subst.-Nr. aus Tab.1	Substituent	$-\text{COCH}_3$		Signal- form des gem. Protons
2	<i>3β</i> -OAc	2,055	5,08	
6	<i>3β</i> -OAc	2,02	5,06	
8	<i>3β</i> -OAc	2,045	5,11	
10	<i>3β</i> -OAc	2,06	5,11	
15	<i>3β</i> -OAc	2,05	5,11	
20	<i>3β</i> -OAc	2,03	5,05	
23	<i>3β</i> -OAc	2,03	5,09	
25	<i>3β</i> -OAc	2,05	5,10	
12	<i>3β</i> -OAc, <i>5β</i> -OH	2,09	5,28	
22	<i>3β</i> -OAc, <i>5β</i> -OH	2,09	5,25	
35	<i>3β</i> -OAc, <i>5β</i> -OH	2,09	5,29	
44	<i>3β</i> -OAc, <i>5β</i> -OH, <i>19</i> -CHO	2,09	5,27	
14	<i>16β</i> -OAc, <i>14β</i> -OH	1,86	5,49	Quartett ?
15	<i>16β</i> -OAc, <i>14β</i> -OH	1,87	5,5	Quartett ?
29	<i>16β</i> -OAc; <i>14β</i> , <i>15β</i> -Epoxy	1,895	5,45	Quartett
30	<i>16β</i> -OAc; <i>14β</i> , <i>15β</i> -Epoxy	1,89	5,50	Quartett
34	<i>16β</i> -OAc; <i>14β</i> , <i>15β</i> -Epoxy	1,89	5,46	Quartett
35	<i>16β</i> -OAc; <i>14β</i> , <i>15β</i> -Epoxy	1,905	5,50	Quartett
6	<i>7β</i> -OAc	2,11	5,06	breit
23	<i>7β</i> -OAc	2,06	5,06	breit
8	<i>11α</i> -OAc	1,96	5,0	sehr breit
17	<i>11α</i> -OAc (neben <i>12</i> -Oxo)		5,38 ^{a)}	
10	<i>12β</i> -OAc	2,105	4,67	Multipllett
16	<i>12β</i> -OAc (neben <i>11</i> -Oxo)		4,83 ^{a)}	
25	<i>12α</i> -OAc	2,12	4,97	Multipllett
18	<i>12α</i> -OAc (neben <i>11</i> -Oxo)		5,11 ^{a)}	
37	<i>A</i> ⁴ , <i>6β</i> -OAc	2,05	5,58	Quartett
38	<i>A</i> ⁴ , <i>6β</i> -OAc	2,07	5,58	breit
	<i>A</i> ⁴ , <i>3β</i> -OAc	2,07	5,32	
48	<i>3β</i> -OAc, <i>5α</i> -H	2,01	4,62	

^{a)} Nach HUBER *et al.* [13].

weiterer Substituent befindet. Eine 5β -Hydroxylgruppe verschiebt das Signal nach tieferem Feld, nach $5,27 \pm 0,02$ ppm. Sowohl bei der Anwesenheit einer 14β -Hydroxywie einer $14\beta,15\beta$ -Epoxygruppe zeigt das 16α -H Resonanz bei $5,5 \pm 0,05$ ppm. Schliesslich sind vor allem die C-12-Protonen zu beachten, da sie bei höherem Feld erscheinen.

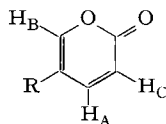
3.5.2. *Protonen geminal zur 3β -Hydroxygruppe (3α -H)*. Das 3α -H-Atom erscheint als breites Signal bei $4,18 \pm 0,04$ ppm. Eine benachbarte 5β -Hydroxyfunktion hat eine leichte Verschiebung nach $4,24$ ppm zur Folge.

3.5.3. *Protonen geminal zur $14\beta,15\beta$ -Epoxygruppe (15α -H)*. Das leicht verbreiterte Singulett bei $3,51 \pm 0,01$ ppm der $14\beta,15\beta$ -Epoxybufadienolide ist dem 15α -Proton zuzuordnen. Die Verbreiterung ($\sim 1,5$ Hz) beruht auf der Kopplung mit den 16α - und 16β -Protonen. Ein 16β -Acetoxysubstituent vermag das Signal um $0,14$ ppm nach $3,67 \pm 0,01$ ppm zu verschieben. Wiederum sind die C-12-Protonen zu beachten. Das 12β -Proton erscheint bei $3,63$, das 12α -Proton bei $3,66$ ppm.

3.6. *Das 17α -Proton*. – 3.6.1. *In $14\beta,15\beta$ -Epoxyden*. In den $14\beta,15\beta$ -Epoxy- 16β -acetoxy-Verbindungen erscheint das 17α -Proton als freistehendes Dublett bei $2,82 \pm 0,01$ ppm mit der Kopplungskonstante $J = 9-9,5$ Hz (vgl. Fig. 4). Die Aufspaltung beruht auf der Kopplung mit dem 16α -Proton, welches seinerseits die Kopplungskonstante von $9-9,5$ Hz aufweist. Wird die Acetoxygruppe entfernt, so erscheint das 17α -Proton bei $2,42 \pm 0,02$ ppm mit $J = 10$ Hz.

3.6.2. *In 14β -Hydroxyden*. Die Zuordnung bei den 14β -Hydroxyverbindungen, mit oder ohne 16β -Substituenten, stösst auf Schwierigkeiten. Das Signal bei $2,4 \pm 0,1$ ppm ($J = 10$ Hz), das oft unter den Gerüstschwingungen verdeckt ist, dürfte dem 17α -Proton zuzuordnen sein. Nach TORI & AONO [5] erscheint bei Cardenoliden, die ein 14β -Hydroxyl enthalten, das 17α -Proton als separates Multiplett bei $2,80-2,84$ ppm. Der anders geartete Lactonring der Bufadienolide verschiebt das 17α -Protonensignal um $0,5$ ppm nach höherem Feld und damit in den Bereich der Gerüstprotonen (vgl. Fig. 1).

3.7. *Die Protonen des Pentadienolidrings (vgl. Fig. 4)*. Der Pentadienolidring besitzt mit seinen zwei Doppelbindungen und der Lactongruppe ein dem Benzolring



ähnliches π -Elektronensystem. Die zwischen 6 und 8 ppm auftretenden Resonanzfrequenzen sind daher nichts Aussergewöhnliches. Die Zuordnung kann auf Grund der Kopplungen vorgenommen werden. Die vicinalen Protonen H_A und H_C zeigen eine Kopplungskonstante von $J = 9,5$ Hz. Das Signal des H_A -Protons ist durch eine weitere Kopplung von $J = 2,5$ Hz mit dem H_B -Proton zu einem Quartett aufgespalten. Wir finden also die folgenden Kopplungsverhältnisse:

$$J_{AC} = 9,5 \text{ Hz}; \quad J_{AB} = 2,5 \text{ Hz}; \quad J_{BC} = 0 \text{ Hz}.$$

Auf Grund der Resonanzfrequenzen der Protonen des Pentadienolidrings lassen sich die Bufadienolide in drei Gruppen einteilen:

1. 14 β -Hydroxide ohne Substituenten an C-7, C-12 oder an Ring D;
2. 14 β ,15 β -Epoxyde ohne weitere Substituenten an C-7, C-12 oder an Ring D;
3. Bufadienolide mit Substituenten an C-7, C-12 oder an Ring D.

Tabelle 6. Die Pentadienolid-Protonen in $CDCl_3$
(in runden Klammern die Werte in $(CD_3)_2SO$)

Gruppe	H_A	H_B	H_C
a) 14 β -Hydroxide	7,84 \pm 0,03 (7,96 \pm 0,03)	7,26 \pm 0,03 (7,54 \pm 0,04)	6,27 \pm 0,03 (6,30 \pm 0,03)
b) 14 β ,15 β -Epoxyde	7,79 \pm 0,03 (7,80 \pm 0,02)	7,25 \pm 0,03 (7,56 \pm 0,02)	6,24 \pm 0,03 (6,27 \pm 0,01)
c) mit Substituenten an C-7, C-12 oder an Ring D	7,71 - 8,05 (7,88 - 8,21)	7,18 - 7,30 (7,46 - 7,54)	6,09 - 6,26 (6,15 - 6,30)

Die Tab. 6 fasst die Resultate zusammen und zeigt, dass vor allem die Resonanzfrequenz des Protons A mit der Natur der Substituenten an C-7, C-12 oder am D-Ring variiert. Bezogen auf das H_A -Signal von Bufalin (7) bei 7,84 ppm ergeben sich die in Tab. 7 verzeichneten Abweichungen. Wesentlich geringer sind die Verschiebungen,

Tabelle 7. Abweichung des Signals von H_A , bezogen auf das H_A -Signal von Bufalin, durch Substituenten

Substituent	Abweichung (ppm)	Substituent	Abweichung (ppm)
7 β -OAc	-0,13	7 β -OAc; 14 β ,15 β -Epoxy	-0,10
12 β -OAc	-0,11	12 α -OAc; 14 β ,15 β -Epoxy	-0,11
16 β -OAc	+0,19	12 α -OH; 14 β ,15 β -Epoxy	0
14 β ,15 β -Epoxy	-0,05	16 β -OAc; 14 β ,15 β -Epoxy	+0,08

welche die Protonen B und C durch Substituenteneinflüsse erfahren. H_B wird nur durch die 12 β -Acetoxygruppe (bei 14 β -OH) um +0,08 ppm und die 16 β -Acetoxygruppe (bei 14 β ,15 β -Epoxy) um -0,06 ppm verschoben. Bei H_C macht sich nur die

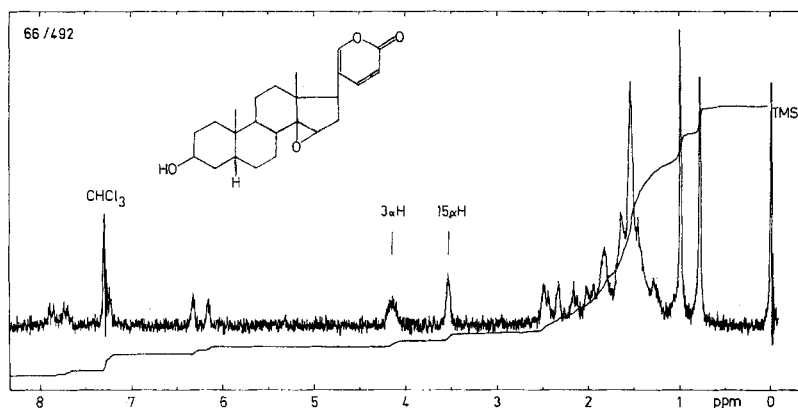


Fig. 2. NMR.-Spektrum von Resibufogenin (Nr. 19) (60 MHz) in $CDCl_3$
3 α -H: breites Singulett: 4,14 ppm; 15 α -H: Singulett: 3,35 ppm

14 β -Hydroxy-16 β -Acetoxygruppe mit der beträchtlichen Verschiebung von $-0,18$ ppm bemerkbar.

3.8. Deutero-dimethylsulfoxid ($(CD_3)_2SO$) als Lösungsmittel für polarere Bufadienolide. – 3.8.1. Der Anwendungsbereich von $(CD_3)_2SO$. Für Bufadienolide, die sich

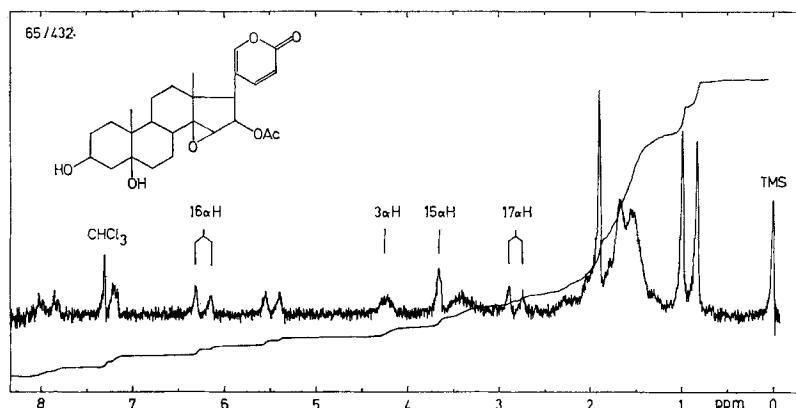


Fig. 3. NMR.-Spektrum von Cinobufotalin (Nr. 34) (60 MHz) in $CDCl_3$

16 α -H: Dublett ($J = 9$ Hz), 5,48 ppm; 3 α -H: 4,14 ppm; 15 α -H: 3,665 ppm; 17 α -H: Dublett ($J = 9$ Hz), 2,81 ppm

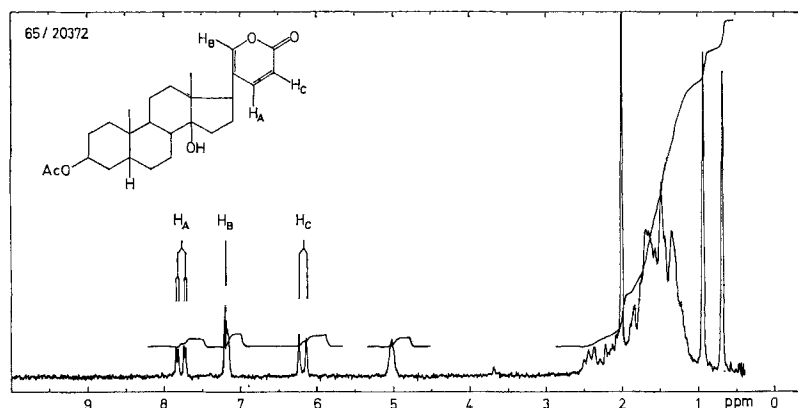


Fig. 4. NMR.-Spektrum von 3-O-Acetylbufalin (Nr. 2) (100 MHz) in $CDCl_3$

H_A ($J = 9,5$ Hz): 7,82 ppm; H_B ($J = 2,5$ Hz): 7,23 ppm (z. T. unter $CHCl_3$ -Signal);
 H_C ($J = 9,5$ Hz): 6,23 ppm

in $CDCl_3$ nicht genügend lösen, kommen folgende Lösungsmittel in Frage: d_6 -Aceton, d_5 -Pyridin, d_6 -Dimethylformamid oder d_6 -Dimethylsulfoxid ($(CD_3)_2SO$). Polare Steroide sind in d_6 -Aceton oft auch zu wenig löslich; d_6 -Dimethylformamid ist schwer erhältlich und sehr teuer. Wir haben $(CD_3)_2SO$ dem noch in Frage kommenden d_5 -Pyridin vorgezogen, da sich in diesem Lösungsmittel prim., sek. und tert. Hydroxylgruppen voneinander unterscheiden lassen [38]. Ferner werden 1,3-diaxiale Hydroxyle in $(CD_3)_2SO$ durch die charakteristische Verschiebung nach tieferem Feld leicht erkannt. Ausserdem ist $(CD_3)_2SO$ neutral und beeinflusst die Verschiebung der Methyl-

Tabelle 8. Resonanzfrequenzen und Multiplizität der Hydroxyl-Protonen in $(CD_3)_2SO^a)$

Nr.	3 β -OH	5 β -OH 1 β -OH	7 β -OH	12 α -OH 12 β -OH	11 α -OH 16 β -OH	14 β -OH	Bemerkung
<i>Bufadienolide</i>							
1	4,13 <i>d</i> (3)					4,08 <i>s</i>	
2	Acetyliert					4,09 <i>s</i>	
5	4,13 <i>d</i> (3)		5,50 <i>d</i> ?			5,55 <i>s</i>	sich überdeckend
7	4,08–4,00				11 α -OH: 4,08–4,00	4,08–4,00	
9	4,14 <i>d</i> (4)			12 β -OH: 4,46 <i>d</i> (5)		4,11 <i>s</i>	
11	5,21 <i>d</i> (4)	5 β -OH: 4,815 <i>s</i>				4,16 <i>s</i>	
13	3,8–4,7				16 β -OH: 3,8–4,7	3,8–4,7	
14	4,1 <i>s</i> <i>br</i>				Acetyliert	4,31 <i>s</i>	
19	3,7					Epoxid	
21	4,2–5,2	5 β -OH: 4,2–5,2				Epoxid	nicht aufg.
24	4,15 <i>d</i> (4)			4,71 <i>d</i> (4)		Epoxid	
33	5,18 <i>d</i> (4)	5 β -OH: 4,82 <i>s</i>			4,99 <i>d</i> (4)	Epoxid	
34	5,20 <i>d</i> (4)	4,84 <i>s</i>			Acetyliert	Epoxid	
37	4,70 <i>d</i> (4)		Δ^4 -6 β -OAc				
38	Acetyliert		Δ^4 -6 β -OAc				
39	4,58 <i>d</i> (9) ^{b)}			12 β -OH: 4,58 <i>d</i> (9) ^{b)}		4,25 <i>s</i> ^{b)}	
43	5,36 <i>d</i> (4)	5 β -OH: 5,23 <i>s</i>				4,31 <i>s</i>	19-CHO
44	Acetyliert	4?				~4	19-CHO
46	5,35 <i>d</i> (3,5)	5,21 <i>s</i>				Epoxid	19-CHO
47	4,46 <i>d</i> (5)					4,23 <i>s</i>	19-CHO
<i>Cardenolide</i>							
49	4,12 <i>d</i> (3,5)					4,00 <i>s</i>	
50	4,15 <i>d</i> (4)		5,47 <i>d</i> (7)			5,4 <i>s</i>	
51	3,95–4,05				11 β -OH: 3,95–4,05	3,95–4,05	
52	4,05 <i>d</i> (3,5)			4,56 <i>d</i> (6)		4,03 <i>s</i>	
53	5,11 <i>d</i> (4)	1 β -OH: 4,77 <i>d</i> (7,5)				4,03 <i>s</i>	
54	5,10	4,75	5,52 <i>d</i> (5)			5,43 <i>s</i>	
55	4,14		5,54 <i>d</i> (5)		11 α -OH: 4,05	5,56 <i>s</i>	
56	4,18 <i>d</i> (4)		4,04 <i>s</i>			Epoxid	
58	Acetyliert					Epoxid	

^{a)} *s* = Singulett; *d* = Dublett (in Klammern Kopplungskonstante *J* in Hz); *br* = breit

^{b)} Werte von VON WARTBURG *et al.* [23].

gruppen nicht in der schwer zu interpretierenden Weise, wie dies bei d_5 -Pyridin der Fall ist⁴). Schliesslich haben unsere Messungen gezeigt, dass sich die Additivitätsregel auch in diesem Lösungsmittel mit grosser Genauigkeit anwenden lässt.

3.8.2. *Die Additivitätsregel in $(CD_3)_2SO$.* Die gute Übereinstimmung berechneter und experimenteller Resonanzfrequenzen der angulären Methylgruppen geht aus Tab. 1 hervor. Die Beiträge, welche die Substituenten in $(CD_3)_2SO$ liefern, sind in Tab. 4 festgehalten. Sie wurden folgendermassen bestimmt: Digitoxigenin (IX) gilt als Bezugssubstanz. Cardenolide, welche sich um einen Substituenten von Digitoxigenin unterscheiden, lieferten die Beiträge der betreffenden Substituenten. In wenigen Fällen (aus Ermangelung des entsprechenden Cardenolids) musste das Bufadienolid-analogon dazu benutzt werden. Die Abweichungen liegen alle innerhalb $\pm 0,02$ ppm. Dies trifft sogar für Derivate zu, die an C-12 und C-7 eine funktionelle Gruppe tragen und bei welchen in $CDCl_3$ eine starke Abweichung von der Additivität beobachtet wurde (vgl. Tab. 1).

3.8.3. *Die Resonanzfrequenz und Multiplizität der Hydroxylprotonen.* Die Resonanzfrequenz der Hydroxylprotonen wird bestimmt durch die Solvatisierung der Hydroxylgruppen mit Dimethylsulfoxid. Sie erfolgt vor allem durch die Wasserstoffbrücken der Sulfonylgruppe mit den Hydroxylgruppen des Substrats⁵). Die einzelnen Resonanzfrequenzen sind in Tab. 8 zusammengefasst. Sie lassen sich in drei Gruppen einteilen: 1. «Freie» Hydroxylgruppen; keine weiteren Substituenten in β - oder γ -Stellung: Signal im Bereich von 4,04–4,18 ppm. 2. Hydroxylgruppen, die sich in der Nähe des 17β -Pentadienolidrings befinden: Signal im Bereich von 4,46–4,71 ppm. 3. 1,3-diaxiale Hydroxyle: Resonanzbereich: 4,77–5,54 ppm (vgl. Fig. 5).

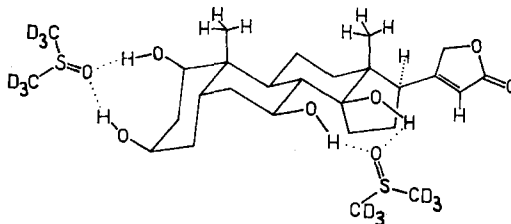


Fig. 5. $1\beta,7\beta$ -Dihydroxy-digitoxigenin
(Nv. 46)

In $14\beta,15\beta$ -Epoxy- 16β -hydroxy-Derivaten erfährt das 16 -Hydroxylproton durch den Oxiranring eine starke Verschiebung nach niedrigerem Feld, nämlich nach 4,99 ppm.

3.8.4. *Protonen geminal zu Hydroxylgruppen.* Obwohl die Signale dieser Protonen ziemlich breit sind, ist ihre Stellung charakteristisch und gibt Aufschluss über die Konfiguration der betreffenden Verbindungen. Z. B. sind die Resonanzfrequenzen des 3α -Protons von den Substituenten an C-5 abhängig (vgl. Tab. 9). Die Lage des Signals erlaubt entsprechende Rückschlüsse.

Die Resonanzfrequenzen weiterer geminaler Protonen sind in Tab. 10 festgehalten.

⁴) Vgl. die Untersuchungen von CROSS *et al.* [39] über NMR.-Spektren von Steroiden in 5 Lösungsmitteln. HAMPEL & KRAEMER haben die Spektren von 70 Steroiden in $(CD_3)_2SO$ und d_5 -Pyridin verglichen [40]. TORI & AONO [5] haben für die polaren Cardenolide d_5 -Pyridin vorgezogen.

⁵) Vermutlich bilden sich auch Wasserstoffbrücken zwischen $(CD_3)_2SO$ und dem Lactonring.

Tabelle 9. Resonanzfrequenz des 3 α -Protons in 3 β -Hydroxybufadienoliden (in (CD₃)₂SO)

C-5	3 α -H (ppm)	Anzahl der untersuchten Spektren
5 β -H	3,93 \pm 0,01	10
5 β -OH (mit oder ohne 19-CHO)	4,05 \pm 0,02	6
5 α -H	3,35 s, breit	1
4 ^a	3,97	1

 Tabelle 10. Protonen geminal zu Hydroxygruppen in (CD₃)₂SO

Nr. der Substanz	Proton	Resonanz in ppm
59	1 α -H	3,6
5, 50	7 α -H	3,85
7, 51	11 β -H	3,5 breit
9, 52	12 α -H	3,1 (?) s, breit
23	12 β -H	3,9

3.8.5. Das 15 α -Proton in 14 β ,15 β -Epoxiden. Das leicht verbreiterte Singulett erscheint bei 3,62 \pm 0,02 ppm (in CDCl₃: 3,53 \pm 0,01 ppm). Eine 16 β -Acetoxygruppe verschiebt das Signal nach 3,77 ppm und eine 16 β -Hydroxygruppe nach 3,53 ppm. Cardenolide zeigen das entsprechende Signal bei 3,56 ppm.

3.9. Die Lösungsmittelabhängigkeit der NMR.-Spektren von Bufalin (I) und 3 β -O-Acetylbufalin. Die Lage der Signale ist oft vom Lösungsmittel abhängig. Die beeinflussenden Faktoren sind die basischen und sauren Eigenschaften des Lösungsmittels, H-Brückenbildung sowie spezifische Anlagerung an das Substrat. Dadurch kann die freie Drehbarkeit der Methylgruppen und der funktionellen Gruppen geändert werden. Die in Tab. 11 am Beispiel des Bufalins und 3-O-Acetylbufalins dargelegte Gegenüberstellung der in verschiedenen Lösungsmitteln erhaltenen Werte zeigt, dass die Lösungsmittelabhängigkeit der Signale auch bei den Bufadienoliden stark ausgeprägt ist.

 Tabelle 11. Die NMR.-Spektren von Bufalin (I) und 3 β -O-Acetylbufalin in verschiedenen Lösungsmitteln^{a)}

Substanz	Lösungsmittel	Pentadienolidring									
		C-18	C-19	H _A	H _B	H _C ^{a)}	3 β -OH	14 β -OH	3 α -H	17 α -H	3 β -OAc
Bufalin (I)	CDCl ₃	0,705	0,94	7,86	7,23	6,26	1,78	1,78	4,23	2,40	
Bufalin	(CD ₃) ₂ SO	0,61	0,88	7,96	7,53	6,29	4,13	4,08	3,93		
Bufalin	d ₅ -Pyridin	0,915	0,99	8,26	7,50	6,39	5,44	5,17	4,41		
3-O-Acetylbufalin	CDCl ₃	0,71	0,96	7,82	7,23	6,23		?	5,08	2,4?	2,06
3-O-Acetylbufalin	(CD ₃) ₂ SO	0,59	0,88	7,91	7,47	6,23		4,09	4,92		1,96
3-O-Acetylbufalin	d ₆ -Aceton	0,750	0,975	8,02	7,44	6,22			5,08	2,4?	2,00

a) In Benzol sind Bufalin und 3 β -O-Acetylbufalin nicht genügend löslich.

Wir danken dem SCHWEIZERISCHEN NATIONALFONDS ZUR FÖRDERUNG DER WISSENSCHAFTLICHEN FORSCHUNG (Projekt Nr. 2535 bzw. 3976) für die finanzielle Unterstützung dieser Arbeit.

LITERATURVERZEICHNIS

- [1] J. N. SHOOLERY & M. T. RODGERS, *J. Amer. chem. Soc.* **80**, 5121 (1958).
- [2] R. F. ZÜRCHER, *Helv.* **44**, 1380 (1961); **46**, 2054 (1963).
- [3] K. TORI & E. KONDO, *Steroids* **4**, 713 (1964); *Tetrahedron Letters* **1963**, 645.
- [4] K. TORI & K. AONO, *Annual Reports, Shionogi Res. Lab.* **14**, 136 (1964).
- [5] K. TORI & K. AONO, *Annual Reports, Shionogi Res. Lab.* **15**, 130 (1965).
- [6] A. I. COHEN, D. ROSENTHAL, G. W. KRAKOWO, J. FRIED, *Tetrahedron* **21**, 3171 (1965).
- [7] F. HEMMERT, B. LACOUME, J. LEVISALLE, G. P. PETIT, *Bull. Soc. chim. France* **1966**, 976; F. HEMMERT, B. LACOUME, A. LABLANCHE-COMBIER, J. LEVISALLE, *ibid.* **1966**, 982.
- [8] J. P. RUCKSTUHL & K. MEYER, *Helv.* **40**, 1270 (1957); K. MEYER, *Pharmaceut. Acta Helv.* **24**, 222 (1949).
- [9] A. STOLL, J. RENZ & A. BRACK, *Helv.* **35**, 1934 (1952).
- [10] L. GSELL & CH. TAMM, *Helv.* **52**, 150 (1969).
- [11] M. KOTAKE, *Liebigs Ann. Chem.* **465**, 11 (1928).
- [12] CH. TAMM & A. GUBLER, *Helv.* **42**, 473 (1959).
- [13] K. HUBER, H. LINDE & K. MEYER, *Helv.* **50**, 1994 (1967).
- [14] H. LINDE & K. MEYER, *Pharmaceut. Acta Helv.* **33**, 327 (1958).
- [15] K. MEYER, *Helv.* **35**, 2444 (1952).
- [16] M. BHARUCHA, H. JÄGER, K. MEYER, T. REICHSTEIN, O. SCHINDLER, *Helv.* **42**, 1385 (1959).
- [17] M. SCHÜPBACH & CH. TAMM, *Helv.* **47**, 2226 (1964).
- [18] P. HOFER & K. MEYER, *Helv.* **43**, 1495 (1960).
- [19] P. HOFER, H. LINDE & K. MEYER, *Tetrahedron Letters* **1959**, Nr. 7, 8.
- [20] P. HOFER, H. LINDE & K. MEYER, *Helv.* **49**, 1243 (1966).
- [21] A. v. WARTBURG, *Helv.* **49**, 30 (1966).
- [22] J. RENZ & A. v. WARTBURG, *Helv.* **42**, 1620, 1643 (1959).
- [23] A. v. WARTBURG, M. KUHN & K. HUBER, *Helv.* **51**, 1317 (1968).
- [24] J. SCHMUTZ, *Helv.* **32**, 1442 (1949).
- [25] S. M. KUPCHAN, R. J. HEMINGWAY & J. C. HEMINGWAY, *Tetrahedron Letters* **1968**, Nr. 2, 149.
- [26] H. R. URSCHELER, CH. TAMM & T. REICHSTEIN, *Helv.* **40**, 1664 (1957).
- [27] A. KATZ, *Helv.* **37**, 451 (1954); *Helv.* **38**, 1572 (1955).
- [28] A. WINDAUS & G. STEIN, *Ber. deutsch. chem. Ges.* **61**, 2436 (1928); F. HUNZIKER & T. REICHSTEIN, *Helv.* **28**, 1472 (1945).
- [29] G. JUHASZ & CH. TAMM, *Helv.* **44**, 1063 (1961).
- [30] W. A. JACOBS & M. HEIDELBERGER, *J. biol. Chemistry* **81**, 765 (1929); A. KATZ, *Helv.* **37**, 993 (1948).
- [31] S. SMITS, *J. chem. Soc.* **1930**, 508; D. A. H. TAYLOR, *ibid.* **1953**, 3325; S. PATAKI, K. MEYER & T. REICHSTEIN, *Helv.* **26**, 1295 (1953).
- [32] J. v. EUW & T. REICHSTEIN, *Helv.* **33**, 485 (1950); CH. TAMM & T. REICHSTEIN, *Helv.* **34**, 1224 (1951); W. SCHLEGEL, CH. TAMM & T. REICHSTEIN, *Helv.* **33**, 1013 (1955).
- [33] H. ISHII, Y. NOZAKI, T. OKUMURA & D. SATOH, *Yakugaku Zasshi* **81**, 1051 (1961).
- [34] P. HOFER, H. LINDE & K. MEYER, *Helv.* **45**, 1041 (1962).
- [35] A. WINDAUS & G. SCHWARTE, *Ber. deutsch. chem. Ges.* **58**, 1515 (1925); J. A. MOORE, *Helv.* **37**, 659 (1954).
- [36] M. S. BHACCA & D. H. WILLIAMS, "Applications of NMR.-Spectroscopy in Organic Chemistry (Illustrations from the Steroid Field)", Holden-Day, Inc., San Francisco 1964; D. H. WILLIAMS, N. S. BHACCA & C. DJERASSI, *J. Amer. chem. Soc.* **85**, 2810 (1963).
- [37] Y. KAWAZOE, Y. SATO, M. NATSUME, H. HASEGAWA, T. OKAMOTA & K. TSUDA, *Chem. & Pharmaceut. Bull.* **10**, 338 (1962).
- [38] O. L. CHAPMAN & R. W. KING, *J. Amer. chem. Soc.* **86**, 1221 (1964); O. L. CHAPMAN, *Proc. chem. Soc.* **1964**, 294.
- [39] A. D. CROSS, P. W. LANDIS & J. W. MURPHY, *Steroids* **5**, 655 (1965).
- [40] B. HAMPEL & J. M. KRAEMER, *Chem. Ber.* **98**, 3255 (1965); *Tetrahedron* **22**, 1601 (1966).