

180. Cardenolide aus dem chinesischen Krötengift *Ch'an Su*Über Krötengifte, 35. Mitteilung¹⁾von **Niklaus Höriger, Horst H. A. Linde** und **Kuno Meyer**

Pharmazeutisches Institut der Universität Basel

Herrn Dr. *O. Isler* zum 60. Geburtstag gewidmet

(26. III. 70)

Summary: From the toad venom *Ch'an Su* the cardenolides I, III and V have been isolated. It is the first time that cardenolides *and* bufadienolides are detected simultaneously in a biological material.

In der letzten Arbeit dieser Reihe [1] berichteten wir über Isolierung und Struktur- aufklärung zweier neuer 19-Oxobufadienolide. Bei der weiteren chromatographischen Auftrennung der Mutterlaugenrückstände der Resibufogenin[2]- und Cinobufagin[3]- Kristallisate sowie der zu Gruppen zusammengefassten Fraktionen, die Bufotalin[4] bzw. Cinobufotalin[5] enthielten, haben wir drei bisher in *Ch'an Su* noch nicht auf- gefundene Steroide isoliert, die sich überraschenderweise als Cardenolide erwiesen. Diese drei Substanzen I (Smp. 244–247°), III (Smp. 228–234°) und V (Smp. 223–231°) zeigten im UV. keine selektive Absorption bei 300 nm, wie sie für Bufadienolide typisch ist, sondern ein Absorptionsmaximum im Bereich von 212–214 nm ($\log \epsilon = 4,14\text{--}4,19$). Dieses spektrale Verhalten ist dem Butenolidring der Cardenolide eigen [6]. Auch die *Kedde*-Reaktion [7], die bei den Bufadienoliden negativ ist, war bei allen 3 Substanzen positiv (rotviolett). Die UV.-, IR.- (siehe Tabelle 1) und NMR.-Spektren (siehe Signale von C(21)-2H und C(22)-H in Tabelle 2) sprechen eindeutig dafür, dass es sich bei den Substanzen I, III und V um Cardenolide handelt.

Tabelle 1. *Charakteristische IR.-Daten der Substanzen I, III, V*
aufgenommen in CHCl_3 , Werte in cm^{-1} , *Sh* = Schulter, *dB* = Doppelbande

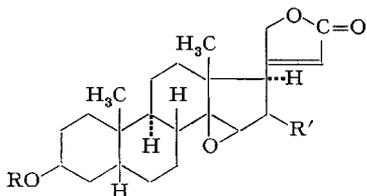
Substanz I	1780 (<i>Sh</i>)	1742	1624
Substanz III	1780 (<i>Sh</i>)	1740	1640/1625 (<i>Sh</i>)
Substanz V	1780 (<i>Sh</i>)	1740	1637, 1620 (<i>dB</i>)

Das M^+ von Substanz I zeigte $m/e = 430$ entsprechend $\text{C}_{25}\text{H}_{34}\text{O}_6$. Ihre weiteren konstitutionellen Merkmale und die ihrer Acetylverbindung II ergaben sich aus den NMR.-Daten (siehe die Fig. und Tabelle 2). Die gleichen UV.-, IR.- und NMR.-Spek- tren gaben das partialsynthetisch [8] aus Gitoxigenin bereitete 3β -Hydroxy-14,15 β - epoxy-16 β -acetoxy-5 β ,14 β -card-20(22)-enolid (I) und seine 3-O-Acetylverbindung II. Auch Smp., Mischprobe, DC. und Farbreaktionen ergaben völlige Identität.

Die Konstitution der Substanz III liess sich ebenfalls mit Hilfe der NMR.- Spektroskopie ableiten (siehe Tabelle 2). Die UV.-, IR.- und NMR.-Spektren sowie

¹⁾ 34. Mitt. siehe [1].

Smp., Mischprobe, DC. und Farbreaktionen von III und seiner Acetylverbindung IV waren identisch mit den entsprechenden Daten und Eigenschaften der bereits bekannten 14,15-Epoxy-cardenolide III und IV [9] [10].



I (R = H, R' = OAc)

Smp. 244–247°²⁾
Smp. 244–248° [8]

II (R = Ac, R' = OAc)

Smp. 211–217°²⁾
Smp. 213–217° [8]

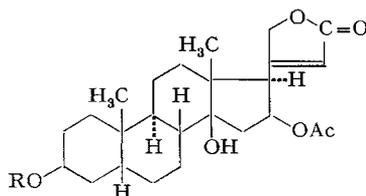
III (R = R' = H)

Smp. 228–234°²⁾
Smp. 218–226° [9]

IV (R = Ac, R' = H)

Smp. 173–180°²⁾
Smp. 172–179° [9]

Ac = CH₃–CO–



V (R = H) = Oleandrigenin
Smp. 223–231°²⁾

Smp. 223–225° [11]

VI (R = Ac) Smp. 248–251°²⁾

Smp. 249–250° [12]

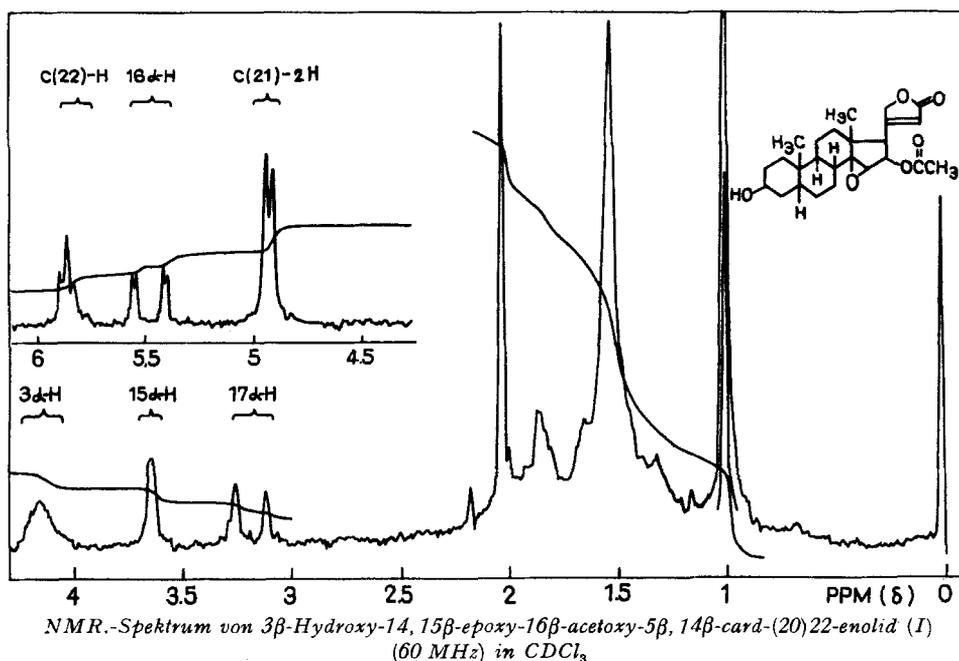
Tabelle 2. Protonenresonanzsignale bei 60 MHz der Substanzen I, II, III, IV, V aufgenommen in CDCl₃; Werte in ppm ± 0,02

Protonen	Substanz I	Substanz II	Substanz III	Substanz IV	Substanz V
C(3)-αH	4,13 <i>bS</i> (BH7)	5,06 <i>bS</i> (BH8)	4,08 <i>bS</i> (BH6)	5,07 <i>bS</i> (BH8)	4,13 <i>bS</i> (BH6)
C(3)-β-Acetoxygruppe		2,03 <i>S</i>		2,04 <i>S</i>	
C(15)-αH	3,64 <i>bS</i> (BH3)	3,63 <i>D</i> (1,0)	3,42 <i>bS</i> (BH3)	3,49 <i>bS</i> (BH3)	
C(16)-αH	5,45 <i>D</i> von <i>D</i> (9+1,5)	5,44 <i>D</i> von <i>D</i> (9+1)			5,48 <i>T</i> von <i>D</i> (9+3)
C(16)-β-Acetoxygruppe	2,03 <i>S</i>	2,00 <i>S</i>			1,96 <i>S</i>
C(21)-2H	4,90 <i>D</i> (1,5)	4,88 <i>D</i> (1,5)	4,73 « <i>D</i> von <i>D</i> » (3+2)	4,88 « <i>D</i> von <i>D</i> » (1,5+2,5)	4,92 « <i>T</i> » (2)
C(22)-H	5,83 <i>T</i> (1,5)	5,81 <i>T</i> (1,5)	5,87 <i>bS</i> (BH4)	5,79 « <i>T</i> » (1,5)	5,96 <i>T</i> (2)
C(18)-3H	1,00 [1,005] <i>S</i>	0,99 [1,005] <i>S</i>	0,93 [0,995] <i>S</i>	0,94 [0,995] <i>S</i>	0,94 [0,965] <i>S</i>
C(19)-3H	1,00 [1,015] <i>S</i>	0,99 [1,030] <i>S</i>	0,99 [1,010] <i>S</i>	1,01 [1,025] <i>S</i>	0,94 [0,970] <i>S</i>

D = Dublett, *S* = Singulett, *T* = Triplett, *b* = breit, *BH* = Signalbreite bei halber Höhe in Hz, () Aufspaltung(en) in Hz, [] berechneter Wert für die C(18)- bzw. C(19)-3H-Protonen [13].

²⁾ Exp. Teil dieser Arbeit.

Die dritte Substanz (V) schliesslich erwies sich aufgrund des spektralen Verhaltens (siehe Tabellen 1 und 2) als Oleandrigenin [11], was ein direkter Vergleich mit diesem schon lange bekannten Cardenolid bestätigte.



Die Feststellung, dass die chinesische Krötengiftdroge *Ch'an Su* auch Cardenolide enthält, ist überraschend. Bisher sind nämlich weder in pflanzlichem noch in tierischem Material gleichzeitig Vertreter von herzaktiven Steroiden der C_{23} - (*Digitalis-Strophanthus*-Typ) und der C_{24} -Reihe (*Scilla-Bufo*-Typ) nachgewiesen worden. Diese Befunde werfen eine Reihe von Fragen auf und als erste diese: Sind diese Cardenolide vielleicht exogen, d.h. gar nicht primär in der Kröte gebildet, sondern von dieser durch Verzehr von Insekten, die Cardenolide enthalten, aufgenommen? Reichstein & Mitarb. [14] haben in neuerer Zeit Cardenolidglykoside als Abwehrstoffe bei Insekten aufgefunden, denen Pflanzen mit herzaktiven Glykosiden als Nahrung dienen. Eine direkte Kontamination der *Ch'an Su*-Droge mit Cardenolid-führenden Pflanzen dürfte weniger in Betracht kommen. Liesse sich feststellen, dass in den Gebieten, in denen *Ch'an Su* gewonnen wird, keine Cardenolid-haltigen Pflanzen vorkommen³⁾, so würde es wahrscheinlich, dass die im *Ch'an Su* gefundenen Butenolide endogenen Ursprungs sind. Diese Möglichkeit drängt sich *a priori* auf, weil 2 der 3 bis jetzt aus *Ch'an Su* isolierten Cardenolide den bisher nur bei den eigentlichen Krötengiftsteroiden aufgefundenen C(14)/C(15)-Oxiranring aufweisen. Was die Biogenese der Bufadienolide betrifft, so steht bisher folgendes fest: In der Kröte entstehen die Bufadienolide sowohl aus Cholesterin [15] als auch aus Cholsäuren [16], nicht aber aus Pregnenolon [16] [17]; die Pflanzen *Helleborus atrorubens* [18] bzw. *Scilla maritima*

³⁾ Diese Frage abzuklären, sind wir z. Z. bemüht.

(rote Varietät) [17] dagegen bilden aus Pregnenolon-glucosid das Bufadienolid Hellebrigenin bzw. aus Pregnenolon das *Scilla*-Glykosid Scillirosid.

Dem *Schweizerischen Nationalfonds zur Förderung der wissenschaftlichen Forschung* danken wir für die Unterstützung dieser Arbeit, Frau Dr. *D. Zivanov* und Herrn *E. Hauser* für ihre Mitarbeit bei der Auftrennung von Substanzgemischen, Fr. *S. Spengel* (von unserem Institut) für die Aufnahme der NMR.-Spektren und Herrn Dr. *W. Vetter* (*F. Hoffmann-La Roche & Co. AG*, Basel) für die Aufnahme der MS.-Spektren.

Experimenteller Teil

A. Allgemeine Angaben. – Alle *Smp.* wurden auf dem *Kofler*-Block bestimmt und sind korrigiert. Fehlergrenze bis 200° etwa $\pm 2^\circ$, darüber etwa $\pm 3^\circ$.

Abkürzungen: AcOH = Essigsäure, Ac₂O = Essigsäureanhydrid, Ä = Diäthyläther, Alk = Äthanol, Al₂O₃ = Aluminiumoxid «*Merck*» gewaschen auf pH 6 eingestellt [19], Chf = Chloroform, Cy = Cyclohexan, DC. = Dünnschicht, Dünnschichtchromatographie bzw. dünn-schichtchromatographisch, E = Essigsäure-äthylester, Fr. = Fraktion(en), Ipalk = Isopropylalkohol, Ipä = Isopropyläther, SiO₂ = Kieselgel (Säulenchromatographie: «*Merck*» 0,05–0,2 mm; DC. und PDC.: «*Camag*» D 5 mit 0,5% Leuchtpigment ZS Super «*Riedel de Haen*»), LMG. = Lösungsmittelgemisch, Me = Methanol, ML. = Mutterlauge(n)rückstände, PDC. = präparative Dünnschichtchromatographie, Pe = Petroläther, Py = Pyridin, SC. = Säulenchromatographie, W = Wasser.

DC.: Zur Sichtbarmachung der Substanzen wurde nach Besprühen mit konz. H₂SO₄-Alk-(1:1) auf etwa 130–150° erhitzt. Die Flecke wurden bei Tageslicht und im UV.-Licht (Universal-UV.-Lampe «*Camag*», Typ TL 900 bei Schaltung 254 nm und 350 nm) ausgewertet. – **PDC.:** Platten von 20 × 20 cm mit einer Schichtdicke von 0,5 mm; Sichtbarmachung und Markierung der gewanderten Substanzen im UV.-Licht (bei Schaltung 254 nm); Extraktion der herausgeschabten SiO₂-Schichten mit Chf-Alk-(4:1).

SC.: Das SiO₂ wurde im jeweiligen LMG. aufgeschwemmt und direkt in die Säule gegossen. – **SC*:** Abweichend vom gewohnten Verfahren wurden die Substanzgemische in wenig CH₂Cl₂ gelöst, mit der gleichen Gewichtsmenge (wie das zur Chromatographie bestimmte Material) SiO₂ versetzt und im Vakuum getrocknet; diese Mischung wurde trocken auf die vorbereitete Säule gegeben.

Analytisches: Die Mol.-Gew. wurden massenspektroskopisch (MS9-Massenspektrometer der Firma *AEI* bei etwa 70 eV und mit Direkteinlass) bestimmt. Die NMR.-Spektren sind in CDCl₃ mit Tetramethylsilan (= 0 ppm) als internem Standard aufgenommen. Als Lösungsmittel für die Aufnahme der UV.-Spektren diente 96-proz. Alk. für diejenige der IR.-Spektren Chf.

B. Isolierungen. – *Substanz I und Substanz III* [9] [10]. Die in erster Linie Resibufogenin [2] und Cinobufagin [3] enthaltenden Fr. wurden zu einer Gruppe zusammengefasst (total 91 g, entsprechend 1,2 kg *Ch'an Su*). (Siehe experim. Teil, 2., von [1].) Aus An 42 g kristallisiertes Cino-bufagin. 47 g ML. wurden säulenchromatographisch (siehe in Tab. 3 SC. 1, SC*. 2–5, SC. 6 + 7 und SC.* 8) aufgetrennt

Tabelle 3. *Säulenchromatographien SC. 1–SC*. 8*
SC. 1: Cinobufagin-ML. (47 g) an 1,8 kg Al₂O₃ (Säule \varnothing 6,5 cm)

Fr.	LMG. 500 ml/Fr.	Eindampfrückstand	
		Menge (g)	DC. E-Cy-(2:3)
1–9	Bz-Chf-(19:1)	1,5	Gemische (Rf. > Resibufogenin)
10–24	Bz-Chf-(9:1)	11,4	Resibufogenin, Cinobufagin, Spur I + III
25–35	Chf-Me-(13:7) + 1% AcOH	29,2	Resibufogenin, Cinobufagin, I, III, 14 α -Artebufogenin [2] und Gemische (Rf. < 14 α -Artebufogenin)

Tabelle 3 (Fortsetzung)

SC.*2: Fr. 10-24 von SC.1 (11,4 g) an 400 g SiO₂ (Säule ø 3,8 cm)

Fr.	LMG. 500 ml/Fr.	Eindampfrückstand			
		Menge (g)	DC. E-Cy-(2:3)	Kristalle (g)	ML. (g)
1-10	E-Cy-(2:3)	0,80	Resibufogenin, Gemische (Rf. > Resibufogenin)		
11-13	"	3,10	Resibufogenin	aus An-W 1,6	} 1,5
14	"	1,00	Cinobufagin (wenig)		
15-25	"	5,35	Resibufogenin, Cinobufagin	aus An 2,79	} 2,56
			Cinobufagin (wenig)		
26-36	Chf-Me-(13:7) + 1% AcOH	0,20	Cinobufagin, Spur I + III		

SC.*3: Fr. 25-35 (29,2 g) von SC.1 und Fr. 14 (1,0 g) + Fr. 15-25 ML. (2,56 g) von SC.*2 (total 32,76 g) an 2 kg SiO₂ (Säule ø 6,5 cm)

Fr.	LMG. 500 ml/Fr.	Eindampfrückstand			
		Menge (g)	DC. E-Cy-(2:3)	Kristalle (g)	ML. (g)
1-50	E-Cy-(2:7)	-			
51-54	E-Cy-(2:3)	0,24	Gemische (Rf. > Resibufogenin)		
55-61	"	2,03	Gemische (Rf. > Resibufogenin)		} 1,23
			Resibufogenin	aus An-W 0,8	
62-71	"	7,45	Resibufogenin	aus An-W 5,85	} 1,6
72-76	"	7,05	Resibufogenin	aus An-W 2,03	
			Cinobufagin (wenig)		} 5,02
77-91	E-Cy-(1:1)	7,52	Resibufogenin (wenig)		
			Cinobufagin	aus An 5,02	} 2,5
92-102	Chf-Me-(13:7) + 1% AcOH	7,05	Cinobufagin, I, III, 14 α -Artebufogenin + Gemische (Rf. < 14 α -Artebufogenin)		

SC.*4: Fr. 11-13 ML. (1,5 g) von SC.*2 und Fr. 55-61 ML. (1,23 g) + Fr. 62-71 ML. (1,6 g) + Fr. 72-76 ML. (5,02 g) von SC.*3 (total 9,35 g) an 500 g SiO₂ (Säule ø 4 cm)

Fr.	LMG. 500 ml/Fr.	Eindampfrückstand			
		Menge (g)	DC. E-Cy-(3:2)	Kristalle (g)	ML. (g)
1-28	E-Cy-(2:7)	-			
29-46	"	0,79	Gemische (Rf. > Resibufogenin)		
47-68	E-Cy-(2:3)	6,23	Resibufogenin	aus An-W 1,90	} 4,33
69-79	"	1,39	Resibufogenin (wenig)	aus An 0,84	
			Cinobufagin		} 0,55
80-85	Chf-Me-(13:7) + 1% AcOH	0,67	Resibufogenin, Cinobufagin I + III		

Tabelle 3 (Fortsetzung)

SC.*5: Fr. 26–36 (0,2 g) von SC.*2, Fr. 92–102 (7,05 g) von SC.*3 und Fr. 69–79 ML. (0,55 g)
+ Fr. 80–85 (0,67 g) von SC.*4 (total 8,47 g) an 430 g SiO₂ (Säule ø 4 cm)

Fr.	LMG. 35 ml/Fr.	Eindampfrückstand			
		Menge (g)	DC. E-Cy-(3:2), Chf-AcOH-(9:1)	Kristalle (g)	ML. (g)
1–11	E-Cy-(2:3)	0,084	Gemisch (Rf. > Resibufogenin)		
12–13	"	0,090	Resibufogenin		
14	"	0,135	Resibufogenin, Cinobufagin		
15–18	"	1,040	Cinobufagin	aus An 0,28	0,760
19–25	"	1,200	Cinobufagin, I, III		
26–30	"	0,460	Cinobufagin, I, III, 14 α -Artebufogenin, Gemische (Rf. < 14 α -Artebufogenin)		
31–37	"	0,380	Cinobufagin (wenig) I, III, 14 α -Artebufogenin, Gemische (Rf. < 14 α -Artebufogenin)		
38–43	"	0,250	Gemische (Rf. < 14 α -Artebufogenin)		
44–49	E-Cy-(3:2)	0,320	"		
50–55	"	0,850	"		
56–59	"	0,470	"		
60–80	Chf-Me-(13:7) + 1% AcOH	2,060	"		

SC.6: Fr. 19–25 (1,2 g) von SC.*5 an 100 g SiO₂ (Säule ø 1,8 cm)

Fr.	LMG. 35 ml/Fr.	Eindampfrückstand			
		Menge (mg)	DC. Chf-Me-(49:1)	Kristalle (mg)	ML. (mg)
1–15	Chf-Me-(99:1)	340	Cinobufagin I + III (wenig)	aus An 100	} 240
16–24	"	416	Cinobufagin, I, III		
25–45	Chf-Me-(13:7) + 1% AcOH	106	Cinobufagin (wenig), I, III, Gemische (Rf. < III)		

SC.7: Fr. 16–24 (416 mg) von SC.6 an 100 g SiO₂ (Säule ø 1,8 cm)

Fr.	LMG. 35 ml/Fr.	Eindampfrückstand			
		Menge (mg)	DC. Chf-Me-(49:1)	Kristalle (mg)	ML. (mg)
1–22	Chf	84	Cinobufagin I	aus An 25	} 59
23–36	"	212	Cinobufagin (wenig), I (wenig) III	aus An-Ä 140	
37–60	Chf-Me-(13:7) + 1% AcOH	90	Gemische (Rf. < III)		

Tabelle 3 (Schluss)

SC.*8: Fr.1–15 ML. (240 mg) von SC.6 und Fr.1–22 ML. (59 mg) von SC.7 an 260 g SiO₂ (Säule ø 2,7 cm)

Fr.	LMG. 40 ml/Fr.	Eindampfrückstand	
		Menge (mg)	DC. Ä-Pe-(9:1) 2 × entwickelt
1–79	Ä-Cy-(9:1)	12	Resibufogenin, Cinobufagin
80–101	Ä	95	Cinobufagin
102–153	"	132	Cinobufagin, I
154–170	Chf-Me-(13:7) + 1% AcOH	25	Cinobufagin, I (wenig), III, Gemische (Rf. < III)

Tabelle 4. Säulenchromatographien SC.*9 und 10

SC.*9: 41 g der Bufotalin und Cinobufotalin enthaltenden Gruppe [1] an 2 kg SiO₂ (Säule ø 7 cm)
 SC.*10: ML. der Fr.51–116 (~30 g) von SC.* an 2 kg SiO₂ (Säule ø 7 cm)

SC.* Nr.	Fr.	LMG. 400 ml/Fr.	Eindampfrückstand					
			Menge (g)	DC. Ipalk-Pe-(3:7)	Kristalle (g)	ML. (g)		
9	1–37	Ipalk-Pe-(1:9)	–					
	38–50	Ipalk-Pe-(1:4)	–					
	51–58	"	4,97	Bufalin [20]	aus An 1,2	} ≈ 30		
	59–70	"	0,90	Bufalin, Cinobufagin, Bufotalin				
	71–83	"	11,80	Bufotalin	aus An 4,0			
	84–86	Ipalk-Pe-(3:7)	3,40	Bufotalin, Cinobufotalin				
	87–116	"	19,38	Bufotalin (wenig) Cinobufotalin	aus An 4,7			
	117–138	Chf-Me-(9:1)	1,05	Cinobufotalin, 19-Oxo- cinobufotalin [1] Gemisch (Rf. < 19- Oxocinobufotalin)				
	10	1–24	Ipalk-Cy-(3:17)	–				
		25–48	"	3,20	Bufalin Cinobufagin		aus An 1,17	} 2,03
49–64		"	0,66	Bufalin, Cinobufagin, unbekannte Substanz (Rf. < Cinobufagin und > V)				
65–68		"	0,27	Unbekannte Substanz (Rf. < Cinobufagin und > V), V, Bufotalin				
69–78		"	5,70	Bufotalin	aus An 4,34	1,4		
79–90		"	11,80	Bufotalin, Cinobufotalin				
91–115		Ipalk-Cy-(3:1)	4,41	Bufotalin (wenig) Cinobufotalin	aus An 1,1	} 3,31		
116–135		Chf-Me-(9:1)	0,37	Cinobufotalin, 19-Oxo- cinobufotalin, Gemisch (Rf. < 19-Oxocino- bufotalin)				

Die Eindampfrückstände der Fr. 102–153 (132 mg) von SC.*8 wurden auf 5 PDC.-Platten mit dem Fließmittel Ä-Me-(99:1) aufgetrennt. Der mittlere Teil der Zone, die nur I enthielt, gab 53 mg Substanz. Aus An-Ä 26,5 mg Nadeln vom Smp. 244–247°; $[\alpha]_D^{24} = +23^\circ \pm 2^\circ$ (in Chf); Misch-Smp. mit dem partialsynthetischen Produkt [8] (Smp. 244–248°) 244–248°; im Misch-DC. [System Ä-Me-(99:1)] nur ein Fleck. – *Acetylverbindung II*. Die ML. der obigen 26,5 mg Kristalle sowie das aus den Grenzschichten der obigen Zone erhaltene Material wurden in Py-Ac₂O 16 h bei 37° stehen gelassen. Das daraus erhaltene rohe Acetylierungsprodukt ergab mittels PDC. [Fließmittel Ä-Me-(99:1)] 33 mg rohes II. Aus An-Ä 16 mg Plättchen vom Smp. 211–217°; $[\alpha]_D^{24} = +20^\circ \pm 2^\circ$ (in Chf); Misch-Smp. mit dem auf partialsynthetischem Wege bereiteten Produkt [8] (Smp. 213–217°) 213–217°; im Misch-DC. [System Chf-Alk-(99,5:0,5)] nur ein Fleck. Die weiteren Konstitutionsbeweise für I bzw. II siehe Tab. 1 und 2. – Zur *Reinigung von III* wurden 75 mg der aus den Fr. 23–26 von SC.7 erhaltenen Rohkristalle auf drei PDC.-Platten mit Chf-AcOH-(9:1) aufgetrennt. Der innere Teil der Hauptzone lieferte 50 mg, die aus An 27 mg Prismen vom Smp. 228–234° und $[\alpha]_D^{24} = +29^\circ \pm 2^\circ$ (in Chf) gaben. Auf gleiche Weise wurden aus 75 mg einer Vergleichsprobe von III [9] Prismen vom Smp. 228–234°; $[\alpha]_D^{24} = +32^\circ \pm 2^\circ$ (in Chf) erhalten; Misch-Smp. 227–232°. Die aus III in Py-Ac₂O bereitete (16 h bei 37°) *Acetylverbindung IV* gab nach PDC.-Reinigung aus An-Ä Prismen, Smp. 173–180°, Misch-Smp. mit authentischem IV [9] (Smp. 167–180°) 167–180°.

Substanz V (Oleandrigenin [11]). Die Gruppe der Eindampfrückstände (41 g), die hauptsächlich Bufotalin [4] und Cinobufotalin [5] [1] enthielt, wurde säulenchromatographisch aufgetrennt (siehe Tabelle 4).

Die 270 mg aus Fr. 65–68 von SC.* 10 wurden auf 10 PDC.-Platten mit Ipä-Alk-(92,5:7,5) 3-mal entwickelt. Die die unbekanntene Substanz (Rf. < Cinobufagin und > V) enthaltende Zone ergab nach dem Aufarbeiten aus E Kristalle vom Smp. 175–177° (nicht untersucht). Aus dem mittleren Teil der Zone, die neben polaren Substanzen V enthielt, liessen sich 117 mg gewinnen, die nochmals auf 6 PDC.-Platten mit Chf-Me-(49:1) 3mal entwickelt wurden. Die Hauptzone lieferte 48 mg V, die noch etwas Bufotalin enthielten. Zur Abtrennung des letzteren wurde auf 2 PDC.-Platten 3mal mit Ipä-Alk-(92,5:7,5) entwickelt. Aus der nur V enthaltenden Zone erhielt man 16 mg, die aus Chf 7,5 mg Kristalle vom Smp. 223–231° gaben; Misch-Smp. mit authentischem Oleandrigenin (V) (Smp. 224–229°) 223–230°; im Misch-DC. [Chf-Alk-(95:5)] nur ein Fleck. – Die in Py-Ac₂O durch 2-stündiges Stehenlassen bei 60° bereitete Acetylverbindung VI schmolz bei 248–251°; Misch-Smp. mit 3-O-Acetyloleandrigenin (VI) = Di-O-acetylgitoxigenin (Smp. 242–250°) 246–251°; im Misch-DC. [Chf-Alk-(95:5)] nur ein Fleck.

LITERATURVERZEICHNIS

- [1] N. Höriger, H. H. A. Linde & K. Meyer, *Helv.* 52, 1097 (1969).
- [2] K. Meyer, *Helv.* 35, 2444 (1952); H. H. A. Linde & K. Meyer, *Experientia* 15, 238 (1958); *Helv.* 42, 802 (1959).
- [3] P. Hofer, H. H. A. Linde & K. Meyer, *Experientia* 15, 297 (1959); *Helv.* 43, 1955 (1960).
- [4] K. Meyer, *Helv.* 32, 1993 (1949).
- [5] F. Bernoulli, H. H. A. Linde & K. Meyer, *Helv.* 45, 240 (1962).
- [6] Ch. Tamm, *Fortschr. Chem. org. Naturstoffe* 13, 153 (1956).
- [7] D. L. Kedde, *Pharmac. Weekbl.* 82, 741 (1947); vgl. I. E. Bush & D. A. H. Taylor, *Biochem. J.* 52, 643 (1952); M. L. Lewbart, W. Wehrli & T. Reichstein, *Helv.* 46, 505 (1963).
- [8] U. Boffo, H. H. A. Linde & K. Meyer, *Helv.* 53, 1385 (1970).
- [9] P. Hofer, H. H. A. Linde & K. Meyer, *Helv.* 45, 1041 (1962).
- [10] H. Ishii, T. Tozoy & D. Satoh, *Chem. pharmaceut. Bull.* 10, 645 (1962).
- [11] W. Neumann, *Ber. deutsch. chem. Ges.* 70, 1547 (1937).
- [12] A. Windaus, K. Westphal & G. Stein, *Ber. deutsch. chem. Ges.* 61, 1847 (1928).
- [13] L. Gsell & Ch. Tamm, *Helv.* 52, 551 (1969); R. F. Zürcher, *Helv.* 46, 2054 (1963).
- [14] T. Reichstein, *Naturw. Rundschau* 20, 499 (1967); T. Reichstein, J. von Euw, J. A. Parsons & M. Rothschild, *Science* 161, 861 (1968).
- [15] M. D. Siperstein, A. W. Murray & E. Titus, *Arch. Biochemistry Biophysics* 67, 154 (1957).
- [16] Ch. Chen & M. V. Osuch, *Biochemic. Pharmacol.* 18, 1797 (1969).

- [17] *A. M. Porto & E. G. Gros*, *Experientia* **26**, 11 (1970).
[18] *R. Tschesche & B. Prassat*, *Z. Naturforsch.* **20**, 707 (1965).
[19] *J.-P. Ruckstuhl & K. Meyer*, *Helv.* **40**, 1270 (1957), Fussnote 26.
[20] *M. Kotake & K. Kuwada*, *Sci. Pap. Inst. phys. chem. Res. (Tokyo)* **36**, 106 (1939) [*Chem. Zbl.* **70**, II, 1681 (1939)]; *K. Meyer*, *Helv.* **32**, 1238 (1949).

181. Recherches dans la série des cyclitols XXXIX RMN. de protons d'hydroxyles de cyclopentane- et de cyclopentène-polyols

par **F. G. Cocu¹⁾**, **G. Wolczunowicz**, **L. Bors** et **Th. Posternak**

Laboratoire de Chimie biologique et organique spéciale de l'Université, Genève

(26 VI 70)

Summary. Several mono-, di-, and tri-hydroxy derivatives of cyclopentane and cyclopentene have been studied by NMR. spectroscopy. The chemical shifts and the coupling constants of the OH groups have been correlated with their position, with their configuration and, in some cases, with their conformation.

Divers cyclitols dérivés du cyclopentène et du cyclopentane dont les configurations avaient été établies par voie chimique [1] [2] [3] ont été étudiés par RMN. Cette méthode a permis au moyen des résonances de protons C-H de confirmer les configurations établies pour les cyclopentènes disubstitués-3,5 [4] [5] et pour des cyclopentanes tétrasubstitués-1,2,3,4 [4] [6] et même d'obtenir des renseignements sur les conformations préférentielles des dérivés disubstitués-3,5 [5].

Le présent travail concerne essentiellement les résonances de protons d'hydroxyle ainsi que les couplages vicinaux $J_{\text{H-C-O-H}}$ de mono-, de di- et de tri-hydroxy-cyclopentanes et -cyclopentènes. On a cherché à établir des corrélations avec la position, la configuration et, dans certains cas, avec la conformation des groupes OH. Des études analogues avaient déjà été effectuées avec succès pour distinguer des alcools primaires, secondaires et tertiaires [7] [8] et pour résoudre diverses questions de chimie de sucres [9] ou d'analyse conformationnelle [10] [11] [12].

On sait que le couplage $J_{\text{H-C-O-H}}$ est difficile à étudier dans des solvants non polaires, car des traces d'acide ou de base catalysent les échanges de protons d'hydroxyle [10]. Par contre, des solvants tels que le diméthylsulfoxyde (DMSO), la tétraméthylurée, l'acétone, la pyridine ou le nitrométhane [10] [11] [13] [14] [15], pouvant former des liaisons hydrogène fortes avec les protons d'hydroxyle, prolongent la durée de vie moyenne d'une molécule, ce qui rend possible l'observation du couplage.

Déplacements chimiques de dérivés cyclopenténiques et cyclopentaniques. Dans DMSO, δ_{OH} est constant pour des concentrations inférieures à 0,12M; chaque OH est alors associé uniquement avec le solvant. La valeur de δ , pour un hydroxyle donné, dépend de la force de la liaison OH ... DMSO: *grosso modo*, plus cette liaison est forte, plus la résonance du proton OH est déplacée vers des champs faibles. Si la molécule contient

¹⁾ Adresse permanente: Département de Chimie organique de l'Université de Bucarest.