

99. Die Busseine C, D, E, F, G, H, J, K, L und M, zehn neue Tetranortriterpene aus *Entandrophragma bussei* Harms.

von Matthias Guex und Christoph Tamm*

Institut für Organische Chemie der Universität Basel, St. Johannis-Ring 19, CH-4056 Basel

(21.II.84)

The Busseins C, D, E, F, G, H, J, K, L und M, Ten New Tetranortriterpenes from *Entandrophragma bussei* Harms.

Summary

Ten new tetranortriterpenes, busseins C, D, E, F, G, H, J, K, L and M have been isolated from the petroleum ether extract of the timber of *Entandrophragma bussei* Harms. utilizing separation by high-pressure liquid chromatography (HPLC). The structural assignments are based mainly on spectral evidence. For the ¹H-NMR spectroscopy extensive use of nuclear *Overhauser* effects (NOE) was made.

1. Einleitung. – Während der letzten zwei Jahrzehnte sind aus *Meliaceen* zahlreiche hochoxygenierte Tetranortriterpene (Limonoiden) isoliert worden [1] [2]. Sie treten häufig als komplexe Gemische auf, deren Trennung wegen ihrer sehr ähnlichen chemischen und physikalischen Eigenschaften – es handelt sich meist um Ester homologer Carbonsäuren – grosse Schwierigkeiten bereitet. So konnten *Hänni et al.* [3] aus dem Petrolätherextrakt des Holzes von *Entandrophragma bussei* Harms. die Busseine A und B nur als Gemisch gewinnen. In der Folge gelang es *Ragetti & Tamm* [4], die beiden Busseine mit Hilfe der präparativen Schichtchromatographie zu trennen. Sie isolierten gleichzeitig zwei neue Verbindungen, die Busseine C und D. Aus Extrakten von *Chukrasia tabularis* gewannen die gleichen Autoren die eng verwandten Chukrasine A, B, C, D und E¹⁾.

Nachdem sich die Hochdruckflüssigkeitschromatographie (HPLC) zu einem sehr effizienten analytischen Trennverfahren entwickelt hat, lag es nahe, die Zusammensetzung der erwähnten Rohextrakte durch Anwendung dieser Methode zu überprüfen. Im folgenden berichten wir über die Auftrennung des Gemisches «Bussein». Sie führte zu mehreren neuen Verbindungen, deren Konstitution mit Hilfe spektroskopischer Methoden bestimmt wurde.

2. Trennung und Charakterisierung der Busseine. – Das Gemisch «Bussein» ist erstmals von *Adesida & Taylor* [5] aus dem Holz der Bäume *Entandrophragma bussei* und *Entandrophragma caudatum* gewonnen worden. Beim Abdampfen des zur Extraktion des pulverisierten Holzes verwendeten Petroläthers fiel als erstes «Bussein» als amorpher Festkörper aus. Weiteres Eindampfen lieferte ein harzartiges Gemisch, das hauptsächlich aus Limonoiden und anderen terpenartigen Substanzen bestand, wegen seiner Komplexität aber nicht eingehend untersucht wurde. Der gesamte aus *E. bussei* erhal-

¹⁾ Herrn Prof. *D. A. H. Taylor*, University of Natal, Durban, Natal, South Africa, danken wir bestens für die Überlassung von Extrakten.

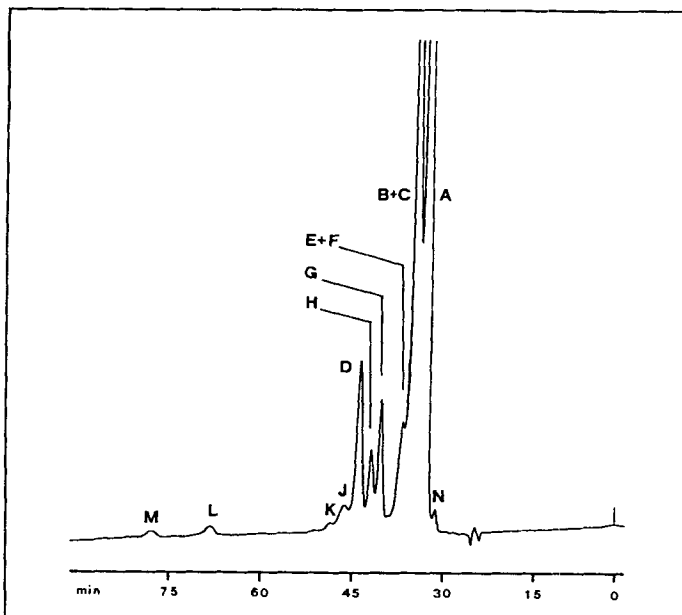


Fig. 1. HPLC-Chromatogramm des Busseingemisches (Li Chrosorb Si 6010, Säule: 22,5 × 500 mm, Fließmittel: CH₂Cl₂/2% CH₃OH/0,2% H₂O, Fließgeschwindigkeit: 6,25 ml/min)

Tab. 1. Die Mengenverhältnisse der Busseine A–M im ursprünglichen Gemisch (Busseine A = 100)

Busseine A	100	Busseine G	6
B	32	H	4,5
C	16	J	1
D	9	K	0,8
E	3	L	1
F	3	M	0,8

tene Petrolätherextrakt betrug 3% des eingesetzten Holzgewichts, das Gemisch der Busseine 0,1%.

Die analytische Auftrennung des Busseingemischs mittels HPLC gelang auf Kieselgel- und auf 'reversed-phase'-Säulen. Aus dem Chromatogramm (Fig. 1) ist ersichtlich, dass neben den bekannten Busseinen A–D und den neuen Busseinen E–M noch einige weitere Substanzen im Gemisch vorhanden sind. Auf ihre Isolierung wurde wegen der kleinen Menge und der sehr nahe beieinanderliegenden k' -Werte verzichtet. In Tab. 1 sind die Mengenverhältnisse der bekannten Busseine A–M im ursprünglichen Gemisch aufgeführt.

Die Auftrennung der Busseine in grösserem Maßstab war etwas komplizierter, da für präparative Zwecke ein HPLC-Gerät zur Verfügung stand, auf dem nur isokratisch gearbeitet werden konnte. Aus diesem Grund wurde der Trennvorgang in mehrere Schritte aufgeteilt.

Zuerst wurde das Gemisch säulenchromatographisch auf Kieselgel vorgetrennt. Dadurch konnten die selteneren Busseine angereichert und in verschiedene Polaritätsberei-

Tab. 2. Physikalische Daten der Busseine A–M

Bussein	$[\alpha]_D^{25}$ in CHCl_3 (alle Werte $\pm 2^\circ$)	M^{\ddagger} (nieder- aufgelöst)	Summen- formel	k' -Wert ^{a)}	
				a	b
A	-56° ($c = 2,64$)	872	$\text{C}_{44}\text{H}_{56}\text{O}_{18}$	0,43	0,36
B	-57° ($c = 1,06$)	858	$\text{C}_{43}\text{H}_{54}\text{O}_{18}$	0,52	0,42
C	-54° ($c = 0,57$)	858	$\text{C}_{43}\text{H}_{54}\text{O}_{18}$	0,52	0,46
D	-40° ($c = 1,22$)	886	$\text{C}_{44}\text{H}_{54}\text{O}_{19}$	0,93	0,70
E	-52° ($c = 0,75$)	870	$\text{C}_{44}\text{H}_{54}\text{O}_{18}$	0,59	0,56
F	-36° ($c = 0,41$)	844	$\text{C}_{42}\text{H}_{52}\text{O}_{18}$	0,59	0,56
G	-55° ($c = 1,01$)	888	$\text{C}_{44}\text{H}_{56}\text{O}_{19}$	0,77	0,74
H	-39° ($c = 0,51$)	830	$\text{C}_{41}\text{H}_{50}\text{O}_{18}$	0,84	0,74
J	-53° ($c = 0,82$)	830	$\text{C}_{43}\text{H}_{54}\text{O}_{17}$	1,05	0,88
K	-49° ($c = 0,41$)	816	$\text{C}_{41}\text{H}_{52}\text{O}_{17}$	1,16	1,00
L	-51° ($c = 0,78$)	874	$\text{C}_{43}\text{H}_{54}\text{O}_{19}$	2,04	1,68
M	-48° ($c = 1,06$)	904	$\text{C}_{44}\text{H}_{56}\text{O}_{20}$	2,48	2,10

^{a)} Auf *Li Chrosorb Si 6010*; Säulendimension: $22,5 \times 500$ mm; Fließmittel: a) $\text{CH}_2\text{Cl}_2/2\% \text{CH}_3\text{OH}/0,2\% \text{H}_2\text{O}$, b) $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{Cyclohexan}/\text{AcOEt}/\text{CH}_3\text{OH}/\text{H}_2\text{O}$ 100:50:50:2:0,2; Fließgeschwindigkeit: 6,25 ml/min.

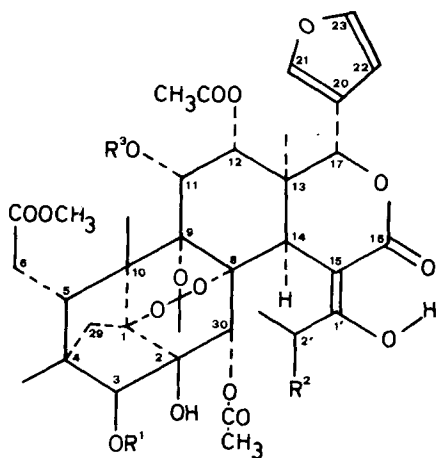
che unterteilt werden. Die so erhaltenen Fraktionen wurden mittels HPLC in mehreren Durchgängen weiter aufgetrennt.

Während der Trennarbeiten wurde vom Busseingemisch jeweils eine konzentrierte Vorratslösung in CH_2Cl_2 oder CHCl_3 eingesetzt, welche manchmal mehrere Tage lang stehen blieb. Dabei wurde festgestellt, dass die Busseine sich langsam zersetzen. Im Chromatogramm erschien eine etwas früher als Bussein A eluierte Spitze. Eines der Zersetzungsprodukte konnte relativ leicht isoliert werden. Über seine Struktur wird später berichtet [6].

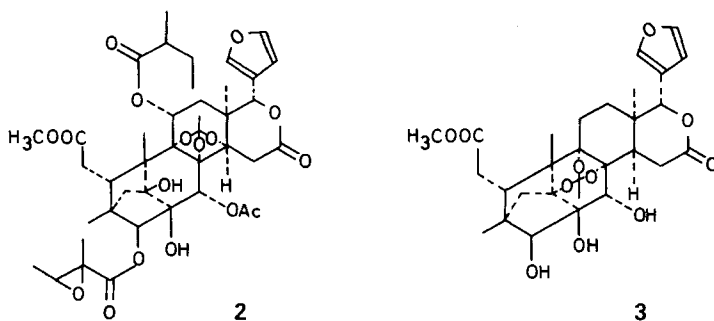
Die Busseine lassen sich aus $\text{MeOH}/\text{H}_2\text{O}$ und aus $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{Cyclohexan}$ als farbloses, amorphes Pulver ausfällen. Es ist nicht gelungen, von ihnen saubere kristalline Proben zu erhalten. Sie wurden deshalb nach der letzten HPLC-Reinigung durch Eindampfen des Fließmittels als amorphe Lacke oder Pulver isoliert. Für die meisten analytischen Zwecke waren sie damit genügend rein. Die Summenformeln der Busseine E–M liessen sich aus den Molekülspitzen ihrer niederaufgelösten Massenspektren ermitteln. Dies war nur möglich, weil von den Busseinen A–D hochaufgelöste Massenspektren zur Verfügung standen und somit deren Summenformeln gesichert sind. Aufgrund der grossen Ähnlichkeit der Busseine untereinander konnte, in Kombination mit den ^1H - und ^{13}C -NMR-Spektren, für jede Verbindung eine eindeutige Summenformel bestimmt werden. Sie sind in *Tab. 2* zusammengefasst. Sie enthält auch die optischen Drehwerte.

Aus den niederaufgelösten Massenspektren und den ^{13}C -NMR-Spektren der Busseine E und F ist zu ersehen, dass diese beiden Stoffe nicht vollständig getrennt werden konnten. Das CH_3O -Signal der ^{13}C -NMR-Spektren zeigte, dass die beiden Stoffe nur zu je 75% angereichert waren. Dies beeinträchtigte weder die Interpretation der Spektren noch die Konstitutionsermittlung.

3. Konstitution der Busseine A–M. – Die früher für die Busseine A–D (**1a–d**) vorgeschlagenen Strukturformeln konnten aufgrund der ^{13}C - und der 400-MHz- ^1H -NMR-Spektren bestätigt werden. Für die neu isolierten Busseine E–M werden die Strukturen **1e–m** vorgeschlagen. Diese Vorschläge stützen sich auf den Vergleich mit den chemischen, spektroskopischen und physikalischen Eigenschaften der Busseine A–D [3] [4], der Chukrasine A–E [4], des Utilins (2) [7], des Phragmalins (3) [8] und von Derivaten



BUSSEIN	R ¹	R ²	R ³
A 1a		CH ₃	CH ₃ CO
C 1c		H	CH ₃ CO
J 1j		CH ₃	H
B 1b		CH ₃	CH ₃ CO
F 1f		H	CH ₃ CO
K 1k		CH ₃	H
E 1e		CH ₃	CH ₃ CO
G 1g		CH ₃	CH ₃ CO
H 1h	CH ₃ CO	CH ₃	CH ₃ CO
L 1l		CH ₃	CH ₃ CO
M 1m		CH ₃	CH ₃ CO
D 1d		CH ₃	CH ₃ CO



der Busseine (vgl. [6]). Eine weitere Absicherung erfahren die Strukturvorschläge durch die NOE-Messungen an Bussein A.

Alle Busseine besitzen das gleiche Grundgerüst. Sie unterscheiden sich lediglich in der Natur der Acyloxygruppe an C(3) und des Restes an C(2'). Bei den Busseinen J und K ist zudem die OH-Gruppe an C(11) nicht acetyliert. Die Konfiguration der an C(3) haftenden Acyloxygruppe der Busseine G und M liess sich nicht aufklären.

Im folgenden werden die spektralen Eigenschaften, die zur Konstitutionsermittlung der einzelnen Verbindungen beigetragen haben, besprochen.

Die IR-Spektren der Busseine in KBr sind weitgehend identisch. Sie zeigen unter anderem Schwingungen bei 3580 cm^{-1} (scharf, freies OH), 3480 cm^{-1} (br., assoziiertes OH), 1750 cm^{-1} (δ -Lacton- und Ester-Carbonyl) und eine starke Acetatbande bei 1215 cm^{-1} . Die für Limonoide charakteristische Furanbande bei 875 cm^{-1} ist bei den Busseinen nur schwach sichtbar und kann nicht mit Sicherheit zugeordnet werden.

Ausser demjenigen des Busseins E sind die UV-Spektren aller Busseine in MeOH identisch. Zu erkennen ist die Absorption des Furanrings bei 207 nm ($\log \epsilon = 3,84$) und eine starke Bande bei 268 nm ($\log \epsilon = 4,00$), die sich nach Zugabe von $0,1N$ NaOH nach 288 nm ($\log \epsilon = 4,24$) verschiebt (alle Werte sind gemittelt). Sie kommt durch die Absorption des enolisierten β -Ketolactons zustande. Bei Bussein E ist die Furanbande durch eine Absorption bei 216 nm ($\log \epsilon = 4,16$) überlagert, die vom Tiglinsäurerest an C(3) herrührt.

Massenspektren wurden hauptsächlich zur Ermittlung des Mol-Gewichts der isolierten Busseine herangezogen, da sie nur wenig identifizierbare Fragmente und Abspaltungen zeigen. Sie bestätigen jedoch die vorgeschlagenen Strukturen. Die Busseine fragmentieren wenig, was für Moleküle dieser Grössenordnung überraschend ist. Vermutlich hängt dies mit ihrer kugelförmigen Struktur zusammen, weshalb das Grundgerüst nur wenig Tendenz hat, bei der Ionisation auseinanderzubrechen. Die Basisspitze der Massenspektren liegt bei m/z 43 (Acetyl), zweitgrösste Spitze ist jedoch meist $M^+ - 131$. Bei Busseinen, die an der Acyloxygruppe an C(3) eine OH-Gruppe tragen, ist $M^+ - 18$ etwa viermal intensiver als M^+ . Bei den anderen Busseinen ist diese Abspaltung unbedeutend.

Sehr aufschlussreich für die Aufklärung der Strukturen der Busseine E–M waren die $400\text{-MHz-}^1\text{H-NMR-Spektren}^2$). Die Signalzuordnungen sind in Tab. 3 zusammengefasst. Wie zu erwarten war, unterscheiden sich die Spektren vor allem durch die Signale des Acyloxyrestes an C(3).

²⁾ Wir danken der *Spectrospin AG*, Fällanden, für ihr grosszügiges Entgegenkommen bei diesen Messungen.

Tab. 3. Zuordnung der Protonen in den 400-MHz-¹H-NMR-Spektren der Busseine (CDCl₃-Lösung)

	H-C(21)	H-C(23)	H-C(22)	H-C(3)	H-C(30)	H-C(11)	H-C(12)
Multiplizität	br. s	br. s	br. s	s	s	d, J = 2,5	d, J = 2,5
Busseine A	7,61	7,28	6,38	4,90	5,40	5,53	4,56
B	7,58	7,27	6,39	4,91	5,43	5,56	4,58
C	7,61	7,26	6,38	4,91	5,42	5,54	4,56
D	7,61	7,26	6,39	4,91	5,37	5,56	4,56
E	7,51	7,28	6,40	4,92	5,42	5,59	4,58
F	7,59	7,27	6,40	4,91	5,45	5,58	4,58
G	7,84	7,26	6,40	4,92	5,46	5,53	4,58
H	7,62	7,28	6,41	4,89	5,48	5,55	4,58
J	7,59	7,28	6,43	4,94	5,42	4,50 (br. s)	4,39
K	7,57	7,28	6,42	4,91	5,43	4,50 (br. s)	4,38
L	7,76	7,26	6,39	4,89	5,48	5,54	4,58
M	7,85	7,26	6,41	4,97	5,56	5,56	4,56

	H-C(17)	H-C(14)	H-C(29) a	b	H-C(6) a	b	H-C(5)
Multiplizität	s	s	d, J = 18	d, J = 18	br. d, J = 18	dd, J = 18, J = 11	br. d, J = 11
Busseine A	5,73	3,23	1,94	1,84	2,77	2,42	3,08
B	5,77	3,24	1,94	1,85	2,78	2,44	3,08
C	5,76	3,20	1,95	1,84	2,78	2,43	3,08
D	5,77	3,23	1,97	1,84	2,79	2,45	3,09
E	5,72	3,24	1,97	1,86	2,81	2,47	3,12
F	5,79	3,22	1,96	1,85	2,79	2,45	3,09
G	5,78	3,23	1,98	1,85	2,78	2,46	3,14
H	5,88	3,28	1,94	1,85	2,78	2,45	3,08
J	5,74	3,41	1,95	1,87	2,68	2,40	3,10
K	5,74	3,41	1,95	1,87	2,69	2,41	3,09
L	5,78	3,23	1,98	1,85	2,81	2,47	3,16
M	5,82	3,26	1,98	1,84	2,79	2,46	3,21

	H von Methoxy- carbonyl	H von Acetoxygruppen an C(11)	C(30)	C(12)	H von Ortho- acetat	OH-C(2)	H von Enol
Multiplizität	s	s	s	s	s	s	(z.T. d, J = 1)
Busseine A	3,67	2,11	1,94	1,57	1,58	2,69	13,92
B	3,70	2,12	1,96	1,58	1,59	2,72	13,92
C	3,67	2,12	1,96	1,57	1,59	2,71	12,76
D	3,73	2,12	1,94	1,56	1,56	2,76	12,93
E	3,70	2,12	1,95	1,57	1,59	2,89	13,92
F	3,71	2,12	1,96	1,57	1,59	2,73	13,75
G	3,73	2,12	1,95	1,57	1,59	2,74	13,92
H	3,72	2,12	1,98	1,58	1,59	2,71	13,83
J	3,70	–	1,94	1,66	1,65	2,76	13,96
K	3,70	–	1,95	1,66	1,65	2,76	13,96
L	3,75	2,12	1,95	1,57	1,59	2,75	13,93
M	3,72	2,12	1,97	1,56	1,59	2,68	13,82

Multiplizität	CH ₃ -C(13)	CH ₃ -C(10)	CH ₃ -C(4)	H-C(2')		CH ₃ -C(2')	
	<i>s</i>	<i>s</i>	<i>s</i>	<i>a</i>	<i>b</i>	<i>a</i>	<i>b</i>
				<i>m</i>	<i>m</i>	<i>d</i> oder <i>t</i> , <i>J</i> = 7	<i>d</i> , <i>J</i> = 7
Bussein A	1,48	1,22	0,95	2,98	–	1,31	1,15
B	1,48	1,22	0,96	2,98	–	1,31	1,16
C	1,48	1,22	0,95	2,55	2,46	1,24 (<i>t</i>)	–
D	1,49	1,23	0,97	2,98	–	1,31	1,15
E	1,48	1,23	0,98	2,99	–	1,32	1,15
F	1,49	1,23	0,96	2,56	2,41	1,25 (<i>t</i>)	–
G	1,52	1,23	0,98	2,99	–	1,32	1,16
H	1,48	1,22	0,97	2,98	–	1,32	1,15
J	1,55	1,16	0,95	3,01	–	1,32	1,13
K	1,55	1,17	0,95	3,00	–	1,33	1,14
L	1,51	1,23	0,98	2,99	–	1,32	1,16
M	1,50	1,23	1,00	2,98	–	1,32	1,16

Signale der H in R ¹	H von Methin	H von Methylen		H von CH ₃		Weitere Signale
		<i>a</i>	<i>b</i>	<i>a</i>	<i>b</i>	
Bussein A	2,69 (<i>m</i>)	1,85 (<i>m</i>)	1,62 (<i>m</i>)	1,32 (<i>d</i> , <i>J</i> = 7)	0,93 (<i>t</i> , <i>J</i> = 7)	
B	2,86 (<i>m</i>)			1,34 (<i>d</i> , <i>J</i> = 7)	1,34 (<i>d</i> , <i>J</i> = 7)	
C	2,72 (<i>m</i>)	1,86 (<i>m</i>)	1,61 (<i>m</i>)	1,31 (<i>d</i> , <i>J</i> = 7)	0,93 (<i>t</i> , <i>J</i> = 7)	
D	3,49 (<i>q</i> , <i>J</i> = 5)			1,78 (<i>s</i>)	1,36 (<i>d</i> , <i>J</i> = 5)	
E	7,22 (<i>qq</i> , <i>J</i> = 7, <i>J</i> = 1)			1,99 (<i>br. s</i>)	1,74 (<i>dq</i> , <i>J</i> = 7, <i>J</i> = 1)	
F	2,88 (<i>m</i>)			1,33 (<i>d</i> , <i>J</i> = 7)	1,34 (<i>d</i> , <i>J</i> = 1)	
G		1,94 (<i>m</i>)	1,79 (<i>m</i>)	1,56 (<i>s</i>)	0,95 (<i>t</i> , <i>J</i> = 7)	3,92 (<i>s</i> , OH in R ¹)
H				2,35 (<i>s</i>)		
J	2,71 (<i>m</i>)	1,85 (<i>m</i>)	<i>ca.</i> 1,62 (<i>m</i>) (verdeckt)	1,28 (<i>d</i> , <i>J</i> = 7)	0,93 (<i>t</i> , <i>J</i> = 7)	2,52 (<i>s</i> , OH-C(11))
K	2,87 (<i>m</i>)			1,34 (<i>d</i> , <i>J</i> = 7)	1,29 (<i>d</i> , <i>J</i> = 7)	2,52 (<i>s</i> , OH-C(11))
L				1,65 (<i>s</i>)	1,56 (<i>s</i>)	3,85 (<i>s</i> , OH in R ¹)
M	3,94 (<i>br. q</i> , <i>J</i> = 7)			1,56 (<i>s</i>)	1,20 (<i>d</i> , <i>J</i> = 7)	4,18 (<i>s</i>); 3,46 (<i>br. s</i> , OH in R ¹)

In den Spektren der Busseine J und K, die an C(11) eine OH-Gruppe tragen, sind gewisse Signale stärker verschoben. Dasselbe ist bei den Busseinen C und F der Fall, bei welchen an C(1') eine Äthylgruppe statt einer Isopropylgruppe sitzt.

Die ¹H-NMR-Signale des unveränderten Grundgerüsts sind bei allen Busseinen praktisch gleich. Einzelne, früher getroffene Zuordnungen, konnten bestätigt werden. Gewisse Signalverschiebungen, die sich aus den unterschiedlichen Substituenten an C(3) ergeben, lassen interessante Rückschlüsse auf die Stereochemie und die Konformation der Busseine zu.

Die ¹H-NMR-Spektren der Busseine zeigen wie die aller Limonoide die typischen drei Signale der Furanprotonen. Die beiden Protonen an C(21) und C(23) erscheinen erwartungsgemäss bei tieferem Feld als breite Singulette, dasjenige an C(22), ebenfalls als breite Singulette, bei höherem Feld. Die Zuordnung der Protonen an C(21) und C(23) sind durch NOE-Experimente an Bussein A gesichert (vgl. Tab. 6).

Bei der Betrachtung der Tab. 3 fällt auf, dass die chemischen Verschiebungen von H-C(22) und H-C(23) bei allen Busseinen praktisch gleich sind, die Werte für

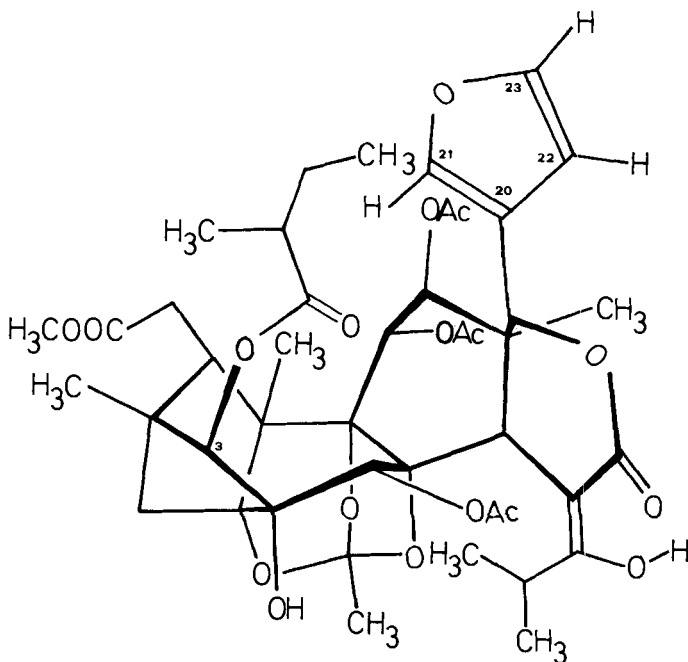


Fig. 2. Dreiding-Modell von Bussein A

H-C(21) hingegen relativ stark schwanken. Verschiebungen nach tieferem Feld dieses Signals können mit der Anwesenheit von OH-Gruppen im Acyloxyrest an C(3) korreliert werden (Busseine G, L und M), eine Verschiebung nach höherem Feld wird beim Bussein E beobachtet, welches an C(3) einen Tiglinsäurerest trägt. Diese Verschiebungen können nur zustande kommen, wenn die Acylreste an C(3) und H-C(21) räumlich nahe beieinander sind, da induktive oder mesomere Effekte ausgeschlossen werden können. Dies ist nur möglich, wenn der Substituent an C(3) β -ständig ist. Das *Dreiding*-Modell veranschaulicht diesen Sachverhalt (Fig. 2).

Erstaunlich ist, dass nur H-C(21) beeinflusst wird. Bei freier oder auch gehinderter Drehbarkeit des Furanrings würden für H-C(22) ähnliche Schwankungen der NMR-Resonanz erwartet. Demnach ist anzunehmen, dass der Furanring in seiner Lage fixiert ist und bevorzugt die in Fig. 2 angedeutete Orientierung einnimmt. Dabei sind die H-Atome an C(22) und C(23) nach aussen gerichtet, was ihre Unempfindlichkeit gegenüber Substituentenveränderungen an C(3) erklärt. Der Furanring wäre demzufolge in das Grundgerüst eingebettet und nähme im Sinne der vorgeschlagenen Anordnung die energieärmste Position ein.

Die Protonen H-C(3), H-C(11), H-C(12), H-C(17) und H-C(30) ergeben für die Busseine charakteristische NMR-Signale, deren Zuordnung durch die Analyse von Hydrolyseprodukten (vgl. [3] und NOE-Experimente an Bussein A) gesichert sind.

Die Protonen H-C(11) und H-C(12) erscheinen bei allen Busseinen, die an C(11) eine Acetylgruppe tragen, als Dublette bei 5,55 bzw. 4,57 ppm (gemittelte Werte). Die

Aufspaltung der Signale beträgt 2,5 Hz, was der vorgeschlagenen axialen/äquatorialen Anordnung entspricht. Beide Protonen sind β -ständig angeordnet, wie aus den NOE-Messungen hervorgeht.

Bei den Singulettten der H-Atome an C(17), C(3) und C(30) ist hingegen ein Einfluss der Acyloxygruppe an C(3) auf die chemischen Verschiebungen erkennbar. Auf den ersten Blick etwas überraschend scheint, dass diese Schwankungen bei H-C(3) am kleinsten sind. Nur gerade bei Bussein M, das in der Acyloxygruppe zwei OH-Gruppen trägt, ist eine Verschiebung nach tieferem Feld von 0,07 ppm zu beobachten. Bei den anderen Busseinen liegen die Abweichungen in der Grössenordnung der experimentellen Genauigkeit. Dies muss einerseits daran liegen, dass induktive Effekte über eine O-Bindung klein sind [9] und andererseits die Acyloxygruppe von H-C(3) weggedreht ist. Damit liessen sich auch die etwas stärkeren Schwankungen der Resonanzen von H-C(17) und H-C(30) erklären, die bei einer solchen Stellung der Acyloxygruppe in deren Nähe gerieten.

Das Signal von H-C(3) ist in den NMR-Spektren aller Busseine das schärfste Einprotonen-Singulett. Seine Halbwertsbreite beträgt nur 1,5 Hz im Vergleich zu den 2 Hz von H-C(17) und H-C(30). Die grössere Halbwertsbreite von H-C(17) könnte durch eine schwache allylische Kopplung mit H-C(21) entstehen.

Die Signalbreite von H-C(30) könnte von einer direkten Kopplung durch den Raum herrühren (vgl. [10]).

Die Protonen der Seitenkette an C(5) erscheinen in den 400-MHz-NMR-Spektren der Busseine als *AMX*-System³⁾. Im A-Teil tritt H-C(5) als verbreitertes Dublett bei 3,09 ppm auf. Die beiden diastereotopen Protonen an C(6) erscheinen im *M*-respektive im *X*-Teil bei 2,79 ppm (breites Dublett) und bei 2,43 ppm (doppeltes Dublett). Die Kopplungskonstanten für $J_{AM} \simeq 1$ Hz, $J_{MX} = 18$ Hz und für $J_{AX} = 11$ Hz bedeuten, dass die C(5)-C(6)-Bindung nicht frei drehbar ist. Der Diederwinkel zwischen dem Proton des *A*-Teils und demjenigen des *M*-Teils beträgt demnach *ca.* 90°.

In den Spektren der Busseine J und K, die an C(11) nicht acetyliert sind, wird der *M*-Teil des betrachteten Spinsystems um *ca.* 0,1 ppm nach höherem Feld verschoben, während der *X*-Teil praktisch unverändert bleibt. Dieser Befund legt die Vermutung nahe, dass das Proton des *M*-Teils in Richtung von C(11) zeigt. NOE-Experimente bestätigten diese Überlegung.

Wie aus der *Tab. 4* hervorgeht, sind auch die ¹³C-NMR-Spektren der Busseine sehr ähnlich. Die Zuordnungen beruhen auf dem Vergleich mit den Spektren der Chukrasine und insbesondere auf ausgedehnten selektiven Protonenkopplungsexperimenten an Chukrasin B [4].

Im Bereich der quartären C-O-Signale erscheinen in den ¹³C-NMR-Spektren der meisten Busseine vier Singulette bei 85,0, 83,5, 79,7 und 77,3 ppm, welche zu den C-Atomen C(1), C(2), C(8), C(9) gehören müssen. Nahezu dieselben Werte werden bei den meisten Chukrasinen gefunden [4].

Durch Veresterung der OH-Gruppe an C(2) bei den Chukrasinen D und E werden die beiden bei höherem Feld liegenden Signale verschoben und erscheinen bei 83,0 und 78,7 ppm, was den Schluss nahelegt, dass sie C(1) und C(2) zuzuordnen sind. Die


³⁾ Das Spinsystem H-C(5)/H-C(6a)/H-C(6b) kann nach der Näherungsmethode erster Ordnung analysiert werden, da das Verhältnis $J_{MX}/(\nu_M - \nu_X) = 7,8$ beträgt [11].

Tab. 4. Zuordnung der Signale in den ^{13}C -NMR-Spektren der Busseine

	Carbonyl-C-Atome an C(7) und der Acetoxygruppen an C(7)				Furan-C-Atome				Quartäre C-Atome (C–O)			
	C(7)	C(11)	C(12)	C(30)	C(23)	C(21)	C(20)	C(22)	C(8)	C(9)	C(1)	C(2)
Busseine A	172,7	169,1	168,7	168,3	142,7	141,4	122,1	110,0	85,0	83,5	79,7	77,3
B	172,8	169,1	168,7	168,4	142,7	141,2	122,1	110,0	85,0	83,5	79,7	77,3
C	172,7	169,1	168,7	168,4	142,7	141,4	122,1	110,0	85,0	83,5	79,7	77,3
D	172,8	169,1	168,8	168,2	142,5	141,6	122,1	110,1	84,9	83,4	79,8	77,3
E	172,7	169,1	168,8	168,3	142,5	141,0	kein Signal	109,8	84,8	83,2	79,5	77,2
F	172,7	169,1	168,7	168,6	142,6	141,2	122,0	109,8	84,8	83,3	79,4	77,1
G	172,9	169,1	169,0	168,7	142,9	142,7	121,2	110,0	85,0	83,4	79,8	77,6
H	173,0	169,1	168,7	168,7	142,7	141,7	122,0	109,9	85,0	83,6	79,6	77,3
J	172,5	–	168,5	169,3	142,5	141,2	122,4	110,2	85,0	84,1	79,9	77,4
K	172,6	–	168,6	169,3	142,5	141,2	122,4	110,1	85,0	84,1	79,9	77,4
L	173,0	169,2	169,1	168,8	142,5	142,5	121,3	110,0	85,0	83,4	79,8	77,5
M	173,4	169,9	169,1	168,8	143,0	142,5	121,0	110,0	85,0	83,6	79,7	77,6

	Tertiäre C-Atome (C–O)				Ges. quartäre C-Atome				Methin		Methylen	
	C(3)	C(30)	C(12) / C(17)	C(11)	C(4) / C(10) / C(13)	C(14)	C(5)	C(14)	C(5)	C(29)	C(6)	
Busseine A	83,1	74,0	70,1	70,1	68,9	45,9	45,7	45,0	43,7	37,0	40,0	33,3
B	83,3	74,0	70,1	70,1	68,9	45,9	45,8	45,0	43,7	37,0	40,0	33,3
C	83,1	74,2	70,1	70,1	68,9	45,9	45,7	45,3	44,1	37,0	39,9	33,3
D	84,9	74,0	70,1	70,0	68,9	46,0	45,7	45,0	43,8	37,0	40,0	33,5
E	84,0	74,0	70,0	69,9	68,9	45,8	45,7	44,8	43,5	36,7	40,0	33,3
F	83,0	74,0	70,0	69,9	68,9	45,7	45,7	45,1	43,9	36,8	39,8	33,2
G	83,9	73,9	70,2	70,0	69,1	45,9	45,6	45,0	43,9	36,9	39,9	33,5
H	83,2	73,9	70,1	70,1	69,1	45,9	45,9	45,1	43,6	36,7	40,0	33,3
J	83,2	73,9	72,2	70,2	68,9	45,9	45,8	45,1	43,2	37,1	40,0	33,4
K	83,4	74,0	72,2	70,3	69,0	45,9	45,8	45,1	43,2	37,0	40,0	33,4
L	83,4	74,1	70,3	70,0	69,0	45,9	45,7	45,0	43,9	36,8	39,9	33,5
M	83,6	74,1	70,2	70,9	69,0	45,9	45,7	45,1	43,8	37,1	39,9	33,3

	Keto/Enol-System					Rest an C(3)			Methin C	Me- thylen	Methyl	
	C(16)	C(15)	C(1')	C(2')	C(3')	CH ₃ – C(2')	C=O	quart.				
Busseine A	170,5	91,0	183,3	30,3	20,3	18,5	176,1		41,4	26,5	16,7	11,5
B	170,5	91,0	183,2	30,2	20,2	18,4	176,6		34,3		19,1	19,0
C	170,2	92,3	180,1	25,7	11,0		176,2		41,3	26,5	16,7	11,5
D	170,5	91,0	183,4	30,3	20,3	18,5	171,5	57,8	58,6		13,5	13,4
E	170,4	90,8	183,2	30,2	20,3	18,5	167,7	128,0	139,0		14,6	12,4
F	170,1	92,0	180,0	25,7	11,1		176,7		34,3		19,1	19,0
G	170,4	91,0	183,3	30,3	20,3	18,5	175,5	76,1		33,5	25,5	8,1
H	170,3	91,0	183,1	30,3	20,3	18,4	170,6				20,6	
J	170,5	91,1	183,5	30,1	20,1	18,5	176,3		41,4	26,5	16,7	11,5
K	170,5	91,0	183,5	30,1	20,1	18,5	175,7		34,3		19,1	18,9
L	170,4	91,0	183,4	30,3	20,2	18,5	175,8	72,9			27,6	27,4
M	170,4	91,1	183,1	30,3	20,3	18,5	173,4	77,6	73,6		22,4	17,2

		CH ₃ -Gruppen von Methoxy- Ortho- carbonyl acetat		AcO–C(12)/C(30)	AcO an C(11)	CH ₃ -Gruppen an C(13) C(10) C(4)			
Busseine A	119,1	51,7	20,9	20,7	20,6	19,7	17,9	15,9	14,2
B	119,1	51,7	20,9	20,5	20,5	19,7	17,9	15,9	14,2
C	119,1	51,7	20,9	20,7	20,5	19,7	18,2	15,9	14,2
D	119,1	51,8	20,9	20,5	20,6	19,7	18,0	15,9	14,2
E	118,9	51,8	20,9	20,7	20,6	19,8	17,8	15,9	14,5
F	119,0	51,9	20,9	20,7	20,6	19,7	18,1	15,9	14,2
G	119,1	51,9	20,9	20,7	20,6	19,7	17,9	15,8	14,1
H	119,2	51,8	20,9	20,6	20,5	19,7	17,8	15,9	14,4
J	119,1	51,7	21,0	20,7	20,6		18,0	16,2	14,2
K	119,1	51,8	21,0	20,7	20,6		17,9	16,2	14,2
L	119,1	52,0	20,9	20,7	20,6	19,7	17,9	15,8	14,1
M	119,2	52,1	20,9	20,9	20,6	19,6	17,8	15,9	14,0

Veresterung einer OH-Gruppe hat bekanntlich für das α -C-Atom eine Verschiebung nach tieferem Feld von *ca.* 7,5 ppm zur Folge [9]. Wenn man annimmt, dass das Signal bei 77,3 ppm von C(2) verursacht wird, ergäbe das bei der Veresterung eine Verschiebung nach tieferem Feld von 6 ppm⁴⁾.

Die Zuordnung des Signals von 83,5 ppm zu C(9) ist relativ einfach, da es γ -ständig zur Acetylgruppe an C(11) liegt und deshalb in den Spektren der Busseine J und K um 0,5 ppm nach höherem Feld verschoben ist. Die Resonanz bei 85,0 ppm muss demnach zu C(8) gehören.

Die tertiären CH-O-Signale der Busseine sind ebenfalls in *Tab. 4* zusammengefasst. Wiederum können bei Chukrasin B sehr ähnliche Signale gefunden werden, nämlich bei 83,2, 73,9, 69,8, 69,8 und 68,5 ppm. Bei dieser Verbindung sind die obigen Signale soweit wie möglich mit Hilfe von selektiven Protonentkopplungsexperimenten zugeordnet worden. Dabei konnte aber zwischen C(11) und C(30) nicht unterschieden werden, da die entsprechenden Protonensignale von Chukrasin B isochron sind. Ebenso wenig liessen sich C(12) und C(17) auseinanderhalten, da diese beiden Signale, wie es auch häufig bei den Busseinen beobachtet wird, isochron erscheinen. Die Signale bei 73,9 und 68,5 ppm sind dem Paar C(30)/C(11) und die beiden isochronen Signale bei 69,8 dem Paar C(12)/C(17) zuzuordnen.

Die für Chukrasin B vorgenommenen Zuordnungen lassen sich auf die Busseine übertragen, obwohl sich auf den ersten Blick bei den Busseinen J und K Unstimmigkeiten ergeben. Bei diesen Verbindung wird für C(11) ein um 1–7 ppm nach höherem Feld verschobenes Signal erwartet [9] [12]. Für das Signal von C(21) wird ebenfalls eine

⁴⁾ Das Signal von C(1) erfährt somit eine Verschiebung nach höherem Feld von 1 ppm; nach Literaturangaben sollte sie jedoch 3,5 ppm betragen. Diese Diskrepanz könnte dadurch erklärt werden, dass bei diesem Wert von einer frei drehbaren Acetylgruppe ausgegangen wurde. Modellbetrachtungen lassen jedoch vermuten, dass eine in den Chukrasinen an C(2) sitzende Acetylgruppe in ihrer Drehbarkeit eingeschränkt ist. Diese Acetylgruppe ist γ -ständig zu C(1). In nicht frei drehbaren Systemen ist die chemische Verschiebung eines C-Atoms vom Diederwinkel zwischen ihm und dem γ -Substituenten abhängig. Bei der Berechnung chemischer Verschiebungen begegnet man diesem Effekt mit sogenannten Konformationskorrekturen. Da für das zur Diskussion stehende System keine Werte für solche Korrekturen bekannt sind, kann die obige Vermutung nicht überprüft werden. Dass dieser γ -Effekt beträchtlich sein kann, ist an den Resonanzen von C(3) und C(30) zu erkennen, die in gleicher Entfernung zur Acetylgruppe stehen wie C(1). Das Signal von C(3) wird um 3 ppm nach höherem Feld verschoben, während das Signal von C(30) unverändert bleibt.

Tab. 5. Die CH_3 -Gruppensignale in den ^{13}C -NMR-Spektren der Busseine

A	B	C	D	E	F	G	H	J	K	L	M	Zuordnung
20,9	20,9	20,9	20,9	20,9	20,9	20,9	20,9	21,0	21,0	20,9	20,9	} CH_3 aus Ortho-Ac AcO-C(30) und AcO-C(12)
20,7	20,5	20,7	20,6	20,7	20,7	20,7	20,6	20,7	20,7	20,7	20,9	
20,6	20,5	20,5	20,6	20,6	20,7	20,6	20,6	20,6	20,6	20,6	20,6	
20,3	20,3		20,3	20,3		20,3	20,3	20,1	20,1	20,2	20,3	$\text{H}_3\text{C}(3')$
19,7	19,7	19,7	19,7	19,8	19,7	19,7	19,7			19,7	19,6	AcO-C(11)
18,5	18,4		18,5	18,5		18,5	18,4	18,5	18,5	18,5	18,5	CH_3 -C(2')
17,9	17,9	18,2	18,0	17,8	18,1	17,9	17,8	18,0	17,9	17,9	17,8	CH_3 -C(13)
15,9	15,9	15,9	15,9	15,9	15,9	15,8	15,9	16,2	16,2	15,8	15,9	CH_3 -C(10)
14,2	14,2	14,2	14,2	14,5	14,2	14,1	14,4	14,2	14,2	14,1	14,0	CH_3 -C(4)
		11,0			11,1							$\text{H}_3\text{C}(3')$ in Bussein C und F
51,7	51,7	51,7	51,8	51,8	51,9	51,9	51,8	51,7	51,8	52,0	52,1	Methoxycarbonyl

Verschiebung erwartet, die in der Grössenordnung von 0–3 ppm liegen kann, deren Richtung aber nicht vorausgesagt werden kann.

Die ^{13}C -NMR-Spektren der Busseine J und K zeigen für das Paar C(11)/C(30) keine Veränderung. Eines der beiden isochronen Signale bei 70,1 ppm fehlt jedoch und ist durch eine Resonanz bei 72,2 ppm ersetzt. Dieser Befund kann erklärt werden, wenn man annimmt, dass sich das Signal von C(11) nicht verändert hat, dasjenige von C(12) aber um 2,2 ppm nach tieferem Feld verschoben wurde. Diese Annahme wird durch die ^{13}C -NMR-Spektren von 11,12-Desacetylbusseine A und B gestützt (vgl. [16]).

In Tab. 5 sind die ^{13}C -Resonanzen der CH_3 -Gruppen der Busseine zusammengestellt. Problemlos ist die Zuordnung des Signals bei 51,8 ppm, das zur Methoxycarbonylgruppe gehört. Ebenso leicht können die Signale der CH_3 -Gruppen aus dem jeweiligen Rest an C(3) zugeordnet werden.

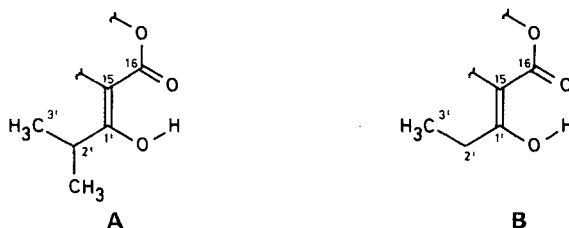
In den Spektren der Busseine C und F fällt auf, dass die Signale bei 20,3 ppm und bei 18,5 ppm fehlen, dass aber ein neues Signal bei 11,1 ppm erscheint. Diese Resonanzen werden den CH_3 -Gruppen aus dem Isopropylrest respektive dem Äthylrest an C(1') zugeordnet.

In den Spektren der Busseine J und K fehlt ein Signal im Acetyl-Methylgruppenbereich bei 19,7 ppm, das demzufolge zur Acetylgruppe an C(11) gehören muss. Die restlichen drei Resonanzen zwischen 20 und 21 ppm müssen zu den Acetylgruppen an C(12) und C(30) und der Orthoacetatgruppe gehören. Eine weitere Zuordnung ist dort nicht möglich.

Damit bleiben noch die drei Signale bei 17,9, 15,9 und 14,2 ppm, die von den Gerüst- CH_3 -Gruppen verursacht werden. Diese Signale haben alle auffallend kleine Intensitäten, die auf die vergleichsweise langen Relaxationszeiten der Gerüst- CH_3 -Gruppen zurückzuführen sind. Dieser Sachverhalt erlaubt auch eine saubere Zuordnung der Signale untereinander. Damit können Verwechslungen mit anderen CH_3 -Resonanzen ausgeschlossen werden.

Bei den Busseinen C und F ist das bei tiefstem Feld erscheinende Signal um etwa 0,2 ppm nach tieferem Feld verschoben, was auf die geringere Abschirmung durch die Äthylgruppe an C(1') gegenüber der Isopropylgruppe zurückzuführen ist.

Alle Busseine tragen an C(15) eine Enolgruppe. Während diese bei den Busseinen C und F durch eine Propionylgruppe gebildet wird, besteht sie bei den anderen Busseinen aus einer Isobutyrylgruppe (vgl. Teilformeln A und B). Im ^1H -NMR-Spektrum macht

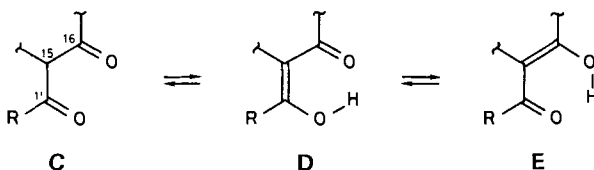


sich dieser Unterschied darin bemerkbar, dass statt einem Multipllett bei 2,98 ppm zwei Multiplette der diastereotopen Protonen an C(2') bei 2,56 und bei 2,42 ppm erscheinen. Die Dublette der beiden CH₃-Gruppen an C(3') bei 1,31 und 1,15 ppm sind in den Spektren der Busseine C und F durch ein Tripllett bei 1,24 ppm ersetzt. Die Kopplungskonstante $J(2',3')$ beträgt in beiden Fällen 7 Hz. Die Absorption des enolischen Protons der Busseine C und F erscheint bei 13,76 ppm. Bei den anderen Busseinen C und F erscheint bei 13,76 ppm. Bei den anderen Busseinen tritt dieses Signal durchschnittlich bei 13,93 ppm auf, wobei hier allerdings relativ grosse Unterschiede festzustellen sind, liegt doch dieser Wert bei den Busseinen H und M bei 13,82 ppm und bei den Busseinen J und K bei 13,96 ppm.

Bei den ¹³C-Signalen wird die bei tiefstem Feld liegende Resonanz C(1') zugeordnet, da sie sich beim Substituentenwechsel an C(1') am meisten verschiebt. Die Absorption von 92,3 ppm der Busseine C und F und von 91,0 ppm der anderen Busseine ist typisch für ein zu einer enolischen OH-Gruppe β -ständiges sp²C-Atom und wird deshalb C(15) zugeordnet. Die chemische Verschiebung von C(16) ist bei allen Busseinen praktisch gleich. Sie beträgt bei den Busseinen C und F 170,2 ppm und bei den anderen Busseinen 170,5 ppm. Das C(2')-Atom in der Äthylgruppe der Busseine C und F erscheint bei 25,7 ppm als Tripllett, während die CH₃-Gruppe (C(3')) bei 11,0 ppm auftritt. Die Isopropylgruppe der anderen Busseine ergibt zwei Quartette bei 20,3 und 18,5 ppm, die den CH₃-Gruppen C(3') zugeordnet werden, und das bei 30,3 ppm als Dublett erscheinende Signal von C(2').

Die Lage der ¹³C-Signale lässt den Schluss zu, dass die Elektronenverteilung im Keto-Enol-System nahe bei **D** liegt. Wären die Doppelbindungen voll delokalisiert, so würde man für die Absorption von C(16) und C(1') ähnliche Werte erwarten. C(16) müsste eher bei höherem Feld erscheinen, da es neben einem O-Atom sitzt. Läge Struktur **E** vor, so würden die erwarteten Resonanzen den experimentellen Werten entsprechen. Die Zuordnungen der Signale von C(16) und von C(1') müssten dann aber vertauscht sein, was aus den oben ausgeführten Gründen nicht möglich ist.

Die NMR-Signale der an C(3) haftenden Acyloxygruppen sind in *Tab. 6* zusammengetellt. Ihre Zuordnungen sind im grossen ganzen problemlos.



Wie eingangs erwähnt, sind die vorgeschlagenen Konfigurationszuordnungen in den Busseinen in Analogie zu denen des Utilins (2) und des Phragmalins (3) [7] [8] vorgenommen worden. Letztere stützen sich auf Röntgen-Strukturanalysen.

Utilin (2) unterscheidet sich von den Busseinen vor allem durch die fehlende Acetoxygruppe an C(12), durch die unterschiedliche Verknüpfung der Orthoacetatgruppe und durch das fehlende Enol-System an C(15). Im Phragmalin (3) sitzt die Orthoacetatgruppe an der gleichen Stelle wie in den Busseinen, hingegen fehlen die beiden Acetoxygruppen an C(11) und C(12) und die Enolgruppe an C(15). Die Kombination dieser beiden Strukturen lässt nur noch die Stereochemie von C(12) offen. Aufgrund der Kopplungskonstanten zwischen H–C(11) und H–C(12) in den $^1\text{H-NMR}$ -Spektren der Busseine, die 2,5 Hz beträgt, kann geschlossen werden, dass der Diederwinkel zwischen diesen beiden Protonen 60 bis 70° beträgt. Dieser Winkel ist nur möglich, wenn die Acetoxygruppe an C(12) *a*-ständig ist.

Das *Dreiding*-Modell von Bussein A (vgl. *Fig. 2*) zeigt, dass die oben getroffenen Annahmen durch Messung des nuklearen *Overhauser*-Effektes (NOE) bei mehreren Protonen leicht geprüft werden können (vgl. *Tab. 7*). Dadurch, dass bei den Busseinen ein Norbornan-Gerüst und drei Ringe *cis*-verknüpft sind, werden die Moleküle praktisch kugelförmig. Dies hat zur Folge, dass die «innen» liegenden Protonen an C(5), C(12), C(30) und C(17) räumlich sehr nahe beieinander stehen.

Die gefundenen NOE lassen den Schluss zu, dass bei Bussein A in gelöstem Zustand alle Ringe eine wannenähnliche Konformation einnehmen. Bei den Ringen A und B wird diese durch die Methylenbrücke und das Orthoacetat erzwungen. Die Ringe C und D nehmen diese Konformation wahrscheinlich wegen den voluminösen Substituenten an C(11), C(12) und C(15) ein.

Wir danken dem *Schweizerischen Nationalfonds zur Förderung der wissenschaftlichen Forschung* für die finanzielle Unterstützung.

Experimenteller Teil

1. *Allgemeines.* Die Schmelzpunkte wurden auf dem *Kofler*-Block bestimmt und sind korrigiert. Die Substanzproben für Spektralanalysen werden während mindestens 6 Std. bei 0,02 Torr und RT. getrocknet. Zur Bestimmung der optischen Drehungen wurde ein *Perkin-Elmer* Polarimeter, Modell 141, benützt. Zur Aufnahme von UV-Spektren diente ein *Beckmann D.K. 2* oder ein *Varian Cary 219* Spektrometer. IR-Spektren wurden auf *Perkin-Elmer* Gitterspektrometer Modell 125 oder 1310 aufgenommen. 90 MHz- $^1\text{H-NMR}$ - und 22,63-MHz- $^{13}\text{C-NMR}$ -Spektren wurden von Herrn K. Aegerter im Spektrollabor des Instituts für Organische Chemie auf einem *Bruker WH-90*-Spektrometer aufgenommen. Die 400-MHz- $^1\text{H-NMR}$ -Spektren wurden auf einem *Bruker WM-400* Spektrometer bei der Firma *Spectrospin AG*, Fällanden, gemessen. Auf einem gleichen Gerät wurden auch die 100-MHz- ^{13}C -Spektren von Herrn Prof. Dr. H. Fritz bei der *Ciba-Geigy AG*, Basel, aufgenommen. Zur Messung von nuklearen *Overhauser*-Effekten diente ein *Bruker WP-200 SY* Spektrometer im Pharmazeutischen Institut der Universität Basel. Diese Experimente wurden von Herrn PD Dr. U. Séquin durchgeführt. Die Messung von Massenspektren wurde bei der Firma *F. Hoffmann-La-Roche* von Herrn Dr. W. Vetter vorgenommen. Für die Aufnahme von FAB-Spektren wurden die Proben in Thioglycerin verrieben und mit Xe-Atomen bombardiert. Allen erwähnten Herren sei an dieser Stelle für ihre Hilfsbereitschaft herzlich gedankt.

Für die Hochdruckflüssigkeitschromatographie (HPLC) stand für präparative Zwecke ein *Du Pont 830* Flüssig-Chromatograph, ausgerüstet mit UV-Detektor (fixe Wellenlänge bei 254 nm), zur Verfügung. Für die analytischen Arbeiten diente ein *Pye Unicam*-Gerät, versehen mit Gradientensteuerung und einem *Kontron Uvikon 722-LC*-Detektor. Für die Säulenchromatographie nach der Durchlaufmethode wurde Kieselgel 60 (220–400 mesh) der Firma *Merck AG*, Darmstadt, verwendet. Bei der gleichen Firma wurden auch die «Fertig-

Tab. 8. Säulenchromatographische Vortrennung des Busseingemisches

Fraktion	1	2	3	4	5	6	7	8
Eluens	Et ₂ O	Et ₂ O + 1% MeOH			Et ₂ O + 5% MeOH			
Volumen [ml]	500	200	200	200	200	500	500	1000
Substanzmenge [g]	unbedeutend		1,67	4,9	1,15	0,62	0,29	0,26
Zusammensetzung [%]								
A			85	71	28	7	3	
B			11	17	18	6	2	
C			4	9	16	5	2	
D					20	20	10	
E + F				3	10	4	1	
G + H					6	50	40	45
J							3	8
K							3	6
L							15	20
M							15	14

platten 60F₂₅₄» für die präp. (PDC) und die analytische (DC) Dünnschichtchromatographie bezogen. Das Sichtbarmachen der Substanzen erfolgte bei der PDC mit UV-Licht oder durch Betrachten der Platten in sehr flachem Winkel bei Tageslicht. Für DC erfolgte es mit UV-Licht, Jod-Dampf, Benetzen mit H₂O oder Besprühen mit 50% H₂SO₄ und anschließendem Erhitzen. Zur Trocknung der Substanzlösungen wurde wasserfreies Na₂SO₄ verwendet. Eindampfen im Vakuum erfolgte, sofern nicht anders vermerkt, im Rotationsverdampfer bei einer Badtemperatur von 40°.

2. *Trennung des Busseingemisches.* Ein Busseingemisch von 8 g wurde an 400 g Kieselgel chromatographiert. Die Elution der Substanzen erfolgte mit Et₂O und einem steigenden Gradienten von MeOH. Es wurden 8 Fraktionen zunehmender Grösse aufgefangen. Die Ergebnisse dieser Trennung sind in Tab. 8 zusammengefasst.

3. *Isolierung der Busseine.* Mit Ausnahme der Busseine G und H wurden alle Busseine mit einer Kieselgelsäule getrennt. Es wurde eine mit *Zorbax Sil* (10 μm) gefüllte *Du Pont*-Säule der Dimension 22,5 × 500 mm verwendet. Um eine Schwanzbildung der Substanzen zu unterdrücken, wurde das Kieselgel mit 5% H₂O desaktiviert. Aus dem gleichen Grund wurde auch den Fließmitteln H₂O zugesetzt.

Ein einzelner Trennungsgang dauerte, je nach Flussrate, zwischen 15 und 20 Min. Da bei den meisten Trennungen die Substanzen innerhalb enger Zeitgrenzen eluierten, konnten Substanzgemische auch überschneidend eingespritzt werden. Die Reinsubstanzen wurden durch Eindampfen des Fließmittels als Lack oder Schaum erhalten.

Die oben beschriebene Kieselgelsäule wurde für die späteren Trennungen neu gestopft. Als Füllmaterial diente *Li Chrosorb Si 6010*. Dieses Material zeigte gegenüber dem früher verwendeten deutliche Unterschiede in der Selektivität. So liessen sich die Busseine D, G und H in einem einzigen Durchgang voneinander trennen (Fließmittel: CH₂Cl₂/MeOH/0,2% H₂O). Die Busseine B und C wurden jedoch gleichzeitig eluiert. Durch Verwendung eine Fließmittelgemischs aus CH₂Cl₂/MeOH/H₂O und zwei je gleichen Teilen Cyclohexan und AcOEt konnten ähnliche Bedingungen wie auf der *Zorbax*-Säule erreicht werden.

Busseine A (1a), B (1b) und C (1c). Zur Abtrennung von Bussein A wurden die Fraktionen 2 und 3 zuerst mit einem Gemisch von CH₂Cl₂/1,5% MeOH/0,15% H₂O bei einer Fließgeschwindigkeit von 20 ml/Min. chromatographiert. Das zuerst eluierte Bussein A (*k'* = 1,25) wurde dabei rein erhalten, die Busseine B und C fielen als Gemisch an (*k'*(Bussein B) = 1,57; *k'*(Bussein C) = 1,52). Pro Durchgang wurde eine Lösung von 100 mg Gemisch in 200 μl CH₂Cl₂ eingespritzt.

Für die Trennung der Busseine B und C wurde die Fließgeschwindigkeit auf 10,5 ml/Min. reduziert. Auf diese Weise konnten die beiden Verbindungen bei einer Beladung von 5 mg Gemisch in einem einzigen Durchgang auf je 80% angereichert werden. Aus den angereicherten Substanzgemischen liessen sich nach zwei weiteren gleichen Trennvorgängen reines Bussein B und C gewinnen.

Busseine E (1e) und F (1f). Zur Isolierung der Busseine E und F wurde zuerst Fraktion 5 in die Substanzgruppen Bussein A, Bussein B, C, E und F und Bussein D, G und H vorgetrennt. Fließmittel war CH₂Cl₂/2% MeOH/0,2% H₂O; die Fließgeschwindigkeit betrug 18,5 ml/Min. Pro Durchgang wurden 500 mg Gemisch getrennt.

Die mittlere Gruppe wurde unter Verwendung eines Gemischs von $\text{CH}_2\text{Cl}_2/1,5\% \text{ MeOH}/0,15\% \text{ H}_2\text{O}$ als Fließmittel bei der gleichen Fließgeschwindigkeit noch einmal chromatographiert. Unter diesen Bedingungen wurden die Busseine E und F als Gemisch ($k' = 1,85$) isoliert. Pro Durchgang wurden 20 mg Substanzgemisch eingespritzt. Aus dem isolierten Gemisch der Busseine E und F liessen sich die beiden Komponenten bis zu einem Gehalt von je 75% anreichern. Dies geschah durch zweimaliges Chromatographieren mit dem Fließmittel $\text{CH}_2\text{Cl}_2/1\% \text{ MeOH}/0,1\% \text{ H}_2\text{O}$ und bei einer Flussrate von 11 ml/Min. (k' (Bussein E) = 1,80; k' (Bussein F) = 1,82). Pro Durchgang wurden 2 mg Substanzgemisch eingespritzt.

Busseine D (1d), G (1g) und H (1h). Fraktion 6 wurde durch Chromatographieren mit $\text{CH}_2\text{Cl}_2/3\% \text{ MeOH}/0,3\% \text{ H}_2\text{O}$ bei einer Fließgeschwindigkeit von 19,5 ml/Min. in den Substanzgruppen Bussein A bis F und Bussein D, G und H aufgetrennt. Pro Durchgang wurden 200 mg Gemisch eingespritzt.

Die zweite Gruppe wurde mit dem gleichen Fließmittel bei einer Fließgeschwindigkeit von 10 ml/Min. noch einmal chromatographiert. Die Einspritzmenge betrug 5 mg. Bussein D eluierte unter diesen Bedingungen knapp vor den Busseinen G und H, die zusammen erschienen, und konnte rein isoliert werden (k' (Bussein D) = 0,28; k' (Bussein G und H) = 0,33). Das Gemisch der Busseine G und H (70% Bussein G, 30% Bussein H) wurde auf einer $22,5 \times 250$ mm-Säule, die mit *Li Chrosorb 10 RP-8* gefüllt war, aufgetrennt. Als Fließmittel diente 25% H_2O in MeOH, die Fließgeschwindigkeit betrug 8,3 ml/Min. (k' (Bussein G) = 2,15; k' (Bussein H) = 1,77). Pro Durchgang wurden 10 mg Gemisch getrennt.

Busseine J (1j) und K (1k). Fraktion 7 wurde analog zu Fraktion 6 vorgetrennt. Dabei fielen die Gruppen Bussein A bis F, Bussein D, G und H, Bussein J und K und Bussein L und M an.

Die Gruppe Busseine J und K wurde mit einem Gemisch von $\text{CH}_2\text{Cl}_2/3\% \text{ MeOH}/0,3\% \text{ H}_2\text{O}$ als Fließmittel bei einer Fließgeschwindigkeit von 10 ml/Min. in die Komponenten aufgetrennt (k' (Bussein J) = 0,49; k' (Bussein K) = 0,55). Pro Durchgang wurden 10 mg Gemisch eingespritzt.

Busseine L (1l) und M (1m). Die Busseine L und M fielen bei der Vortrennung von Fraktion 7 in reiner Form an.

Aus Fraktion 8 liessen sie sich rein durch Chromatographie mit einem Gemisch von $\text{CH}_2\text{Cl}_2/3\% \text{ MeOH}/0,3\% \text{ H}_2\text{O}$ bei einer Fließgeschwindigkeit von 19,5 ml/Min. isolieren (k' (Bussein L) = 1,34; k' (Bussein M) = 1,81). Pro Durchgang wurden 20 mg Gemisch eingespritzt.

LITERATURVERZEICHNIS

- [1] *D. L. Dreyer*, 'Fortschritte der Chemie organischer Naturstoffe', Vol. 26, Springer Verlag, Wien–New York, 1968, S. 190.
- [2] *M. C. Das & S. B. Mahato*, *Phytochemistry* 22, 1071 (1983).
- [3] a) *R. Hänni*, Dissertation Universität Basel, 1972; b) *R. Hänni, Ch. Tamm, V. Gullo & K. Nakanishi*, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* 1975, 563.
- [4] a) *T. Ragettli*, Dissertation Universität Basel, 1977; b) *T. Ragettli & Ch. Tamm*, *Helv. Chim. Acta* 61, 1814 (1978).
- [5] *G. A. Adesida & D. A. H. Taylor*, *Phytochemistry* 6, 1429 (1967).
- [6] *M. Guex & Ch. Tamm*, in Vorbereitung.
- [7] *H. R. Harrison, O. J. R. Hodder, C. W. L. Bevan, D. A. H. Taylor & T. G. Halsall*, *Chem. Commun.* 1970, 1388.
- [8] *R. R. Arndt & W. H. Baarschers*, *Tetrahedron* 28, 2333 (1972).
- [9] *E. Pretsch, T. Clerc, J. Seibl & W. Simon*, 'Tabellen zur Strukturaufklärung organischer Verbindungen', Springer Verlag, Berlin–Heidelberg–New York, 1976, S. C 10.
- [10] *H. Günther*, 'NMR-Spektroskopie', Georg Thieme Verlag, Stuttgart, 1973, S. 128.
- [11] *E. D. Becker*, 'High Resolution NMR', Academic Press, New York, 1980, S. 90.
- [12] *J. T. Clerc, E. Pretsch & S. Sternhell*, ' ^{13}C -Kernresonanzspektroskopie', Akademische Verlagsgesellschaft, Frankfurt a. M., 1973, S. 88.