

ÜBER DIE BEZIEHUNGEN ZWISCHEN CHEMISCHER STRUKTUR UND CHROMATOGRAPHISCHEM VERHALTEN BEI HERZGLYKOSIDEN*

II. MITTEILUNG. DIE ANWENDUNG DER R_M -WERT-THEORIE BEI HERZGLYKOSIDEN UND IHREN GENINEN**

L. NOVER***, G. BAUMGARTEN UND M. LUCKNER

Pharmakognostisches Institut der Martin-Luther-Universität, Halle (D.D.R.)

Forschungslaboratorium des VEB Ysa, Wernigerode (D.D.R.)

Institut für Biochemie der Pflanzen der DAW zu Berlin, Halle (D.D.R.)

(Eingegangen den 28. Februar 1967)

EINLEITUNG

Schon die Begründer der Papierchromatographie CONSDEN, GORDON, MARTIN UND SYNGE haben Formeln für den Zusammenhang zwischen dem R_F Wert und dem Verteilungskoeffizienten einer Substanz abgeleitet^{3,4} und MARTIN⁵ hat 1949 aus diesen Beziehungen die Theorie der chromatographischen Strukturanalyse entwickelt. Die hierbei von ihm aufgestellte, heute als "MARTIN'sche Beziehung" bezeichnete Gleichung:

$$\Delta F^0 = RT \ln \left(\frac{1}{R_F} - 1 \right) \varrho \quad (1)$$

ist von BATE-SMITH UND WESTALL⁶ durch Einführung des Ausdrucks $R_M = \log (1/R_F - 1)$ in die Form:

$$\frac{\Delta F^0}{2.3 RT} = R_M + \log \varrho \quad (2)$$

gebracht worden. ΔF^0 bedeutet hierbei die Menge an freier Energie, die unter Standardbedingungen nötig ist, um 1 Mol der Substanz von der mobilen in die stationäre Phase oder umgekehrt zu überführen. ϱ , das Phasenverhältnis, ist gegeben durch

$$\varrho = \frac{V_m}{V_s}$$

(V_m , V_s = Volumen der mobilen bzw. der stationären Phase) und wird in dieser Gleichung als konstant betrachtet.

* Wir danken Herrn Prof. Dr. Dr. h.c. mult. K. MOTHES und Herrn Prof. Dr. O. BESSLER für ihre stets fördernde Anteilnahme an dieser Arbeit.

** I. Mitt. vgl. Lit. 1; III. Mitt. vgl. Lit. 2.

*** Anfragen bitten wir zu richten an: L. NOVER, Pharmakognostisches Institut der Universität Halle, 402 Halle (Saale), Weinbergweg 2, D.D.R.

Die von MARTIN aufgestellte Theorie sagt weiter aus, dass sich die freie Überführungsenergie (ΔF°) additiv aus den Energiebeiträgen der einzelnen Teile eines Moleküls errechnen lassen muss, wenn deren wechselseitige Beeinflussung vernachlässigt werden kann. Das gleiche müsste dann auch für den R_M -Wert gelten, für den nach Umwandlung von Formel (2):

$$R_M = R_M^\circ + m\Delta R_{Mx} + n\Delta R_{My} + \dots \quad (3)$$

geschrieben werden kann, wobei in den R_M -Wert für die Grundgruppe oder die Ausgangsverbindung ($= R_M^\circ$) der Logarithmus des nur selten experimentell zu ermittelnden Phasenverhältnisses ϱ mit einbezogen wird. Man kann also durch Addition entsprechend Gleichung (3) den R_M - und damit auch den R_F -Wert einer Substanz errechnen, die sich durch m Substituenten der Art x und n Substituenten der Art y usw. von der Ausgangsverbindung unterscheidet, sofern man aus den R_M -Wert-Differenzen anderer Substanzen die Grösse der ΔR_M -Werte dieser Substituenten bestimmen kann. Zahlreiche Autoren haben sich mit Erfolg dieser Methode bedient und die Gültigkeit der MARTIN'schen Theorie in der Papier-, Dünnschicht- und Gaschromatographie bestätigt (vgl. dazu die ausführliche Erörterung der theoretischen Grundlagen und der älteren Arbeiten durch BRENNER *et al.*⁷, BUSH^{8,9} und MARCINKIEWICZ *et al.*¹⁰).

In der Papierchromatographie der Steroidhormone sind seit langem Chromatographie-Struktur-Beziehungen genutzt worden (vgl. die Monographien von BUSH⁸ und NEHER¹¹). Neuere Arbeiten beschäftigen sich mit diesem Gebiet vor allem unter Verwendung von Dünnschichtchromatographie (vgl. LISBOA¹²⁻²⁰) und Gaschromatographie (vgl. die Zusammenfassung von KUKSIS²¹). Aus der angeführten Vielzahl von Untersuchungen wird deutlich, dass die Steroide der chromatographischen Strukturanalyse in besonderer Weise bedürfen. Der Grund dafür liegt in ihrer grossen chemischen Mannigfaltigkeit und den geringen Konzentrationen, in denen sie vorkommen und zahlreiche physiologische Wirkungen ausüben. Dabei sind sie jedoch trotz der unübersehbaren Zahl verschiedener Derivate eine in sich geschlossene Gruppe und damit dieser Methode besser zugänglich als andere Naturstoffe.

Für die herzwirksamen Glykoside sind entsprechende Arbeiten noch nicht vorhanden, wenn man von einer Publikation von AMATO²² absieht, die versucht, auf Grund von grösstenteils der Literatur entnommenen Polaritätsfolgen von Digitalis-Glykosiden ohne Anwendung der R_M -Wert-Theorie chromatographische Strukturanalyse zu betreiben. Die von uns durchgeführten chromatographischen Untersuchungen an einer grossen Zahl von Cardenoliden und Bufadienoliden unter vergleichbaren Bedingungen (vgl. I. MITT.¹) ermöglichen es erstmals, Betrachtungen über Zusammenhänge zwischen chemischer Struktur und R_M -Wert auch bei den Herzglykosiden und ihren Geninen anzustellen.

BEMERKUNGEN ZUR R_M -WERT-THEORIE.

Die im vorstehenden Kapitel behandelte MARTIN'sche Theorie sagt aus, dass ein linearer Zusammenhang zwischen der Struktur einer Substanz und ihrem chromatographischen Verhalten gefunden werden kann, wenn die R_M -Wert-Skala der Betrachtung zu Grunde gelegt wird. Die R_M -Wert-Skala trägt der Erscheinung Rechnung, dass am Start und in der Nähe der Front die Substanzen bei gleichen absoluten

Polaritätsunterschieden näher beieinander liegen als in der Mitte des Chromatogramms und dass die chromatographische Trennung im R_F -Wert-Bereich um 0.5 am besten ist. Wenn auch in einigen Fällen eine lineare Beziehung zwischen R_F -Wert und chemischer Struktur demonstriert werden konnte, so nur deshalb, weil R_F und R_M bei R_F -Werten um 0.5 in annähernd linearer Beziehung zueinander stehen.

Nach unseren Erfahrungen sollten ΔR_M -Werte aber auch dann an Stelle von R_F -Wert-Beziehungen verwendet werden, wenn nur qualitative Aussagen über das chromatographische Verhalten einer Substanz gemacht werden sollen. Wenn in zahlreichen Publikationen versucht worden ist, die Unzuverlässigkeit, die dem R_F -Wert als physikalisch-chemischer Konstante einer Verbindung anhaftet, durch die Angabe von R_X -Werten zu verringern, so muss das aus der Sicht der R_M -Wert-Theorie abgelehnt werden (vgl. dazu z.B. BRENNER²³). Auch ist die Benutzung von R_X -Werten keinesfalls einfacher als die von ΔR_M -Werten. Die vorteilhafte Verwendung von ΔR_M -Werten auch in dieser Hinsicht beruht darauf, dass für die beim experimentellen Arbeiten zu beobachtenden R_F -Wert-Schwankungen insbesondere äussere Faktoren, die den Phasenquerschnitt im gesamten Chromatogramm ändern, verantwortlich sind. Zu solchen Einflüssen gehören unseres Erachtens z.B. Schwankungen der Temperatur, der Luftfeuchtigkeit, Änderungen in der Zusammensetzung des Systems durch das unterschiedlich schnelle Verdunsten einzelner Komponenten, Ungenauigkeiten bei der Herstellung des Laufmittels oder der Imprägnierung des Papiers. Diese Faktoren lassen jedoch die ΔR_M -Werte unbeeinflusst, da bei deren Berechnung nach Formel (3) das Phasenverhältnis ϱ , das in den R_M -Wert der Grundgruppe einbezogen ist, durch die Subtraktion der R_M -Werte zweier Substanzen eliminiert wird (vgl. auch BUSH⁰). Dies gilt jedoch nicht, wenn sich die qualitative Zusammensetzung des chromatographischen Systems, d.h. seine Eigenschaft als Elektronendonator bzw. -acceptor, ändern. In diesen Fällen werden sowohl die R_F - als auch die ΔR_M -Werte beeinflusst, wobei die ΔR_M -Werte der einzelnen Gruppen unabhängig voneinander variieren. Darauf beruhen z.B. die Nützlichkeit chromatographischer Spektren (vgl. Lit. 24, S. 173) sowie der Erfolg bei zweidimensionalen Trennungen mit verschiedenen Lösungsmittelsystemen. Andererseits wird hierdurch die Anwendbarkeit von Formeln sehr eingeschränkt, die die Übertragung von ΔR_M -Werten von einem System in andere gestatten sollen (vgl. z.B. KABASAKALIAN UND BASCH²⁵). Die R_M -Wert-Beziehungen verschieben sich darüberhinaus auch bei lokalen Veränderungen der Phasenzusammensetzung innerhalb des Chromatogrammes (vgl. Lit. 1) und bei Wechselwirkungen zwischen Substanz und Trägermaterial, d.h. Abweichungen von der reinen Verteilungschromatographie.

BETRACHTUNG DER AUFTRETENDEN FEHLER

Bei der Diskussion der Fehlerbreite chromatographischer Ergebnisse zeigen sich die R_M -Werte den R_F -Werten gleichfalls überlegen. So würde die unabhängig von der Lage der Flecke auf dem Chromatogramm allgemein geforderte, maximale Schwankungsbreite der R_F -Werte von ± 0.02 (Lit. 10), im mittleren R_F -Bereich (0.50) einem ΔR_M von ± 0.035 und in der Nähe des Starts bei R_F 0.10 einem ΔR_M von ± 0.100 entsprechen. Substanzen im mittleren R_F -Bereich zeigen jedoch in Übereinstimmung mit der Forderung nach einem konstanten R_M -Fehler-Bereich, eine grössere Schwankungsbreite in den R_F -Werten, als solche in der Nähe des Starts und

der Front. Es muss geradezu als Voraussetzung für die Anwendung der Durchlaufchromatographie bezeichnet werden, dass die R_F -Wert-Schwankungen mit kleineren R_F -Werten immer geringer werden.

In unseren Versuchen haben wir in den Systemen 0, I und II* jedes Chromatogramm für sich nach ΔR_M -Werten ausgewertet, die auf mit Chromatographiertes Digitoxigenin bezogen waren. In den Systemen III, IV und V wurden, da hier die Schwankungsbreite der R_F -Werte geringer war, die von verschiedenen Chromatogrammen erhaltenen R_F -Werte zunächst gemittelt und die mittleren R_F -Werte der Berechnung der R_M -Werte zugrunde gelegt. Obwohl in den Systemen 0-II die R_F -Werte z.T. grösseren Schwankungen unterworfen waren, blieben die ΔR_M -Werte in engen Grenzen konstant. Für alle Systeme zeigen die einzelnen R_M -Werte eine Streuung von ± 0.03 bis maximal $0.08 R_M$ -Wert-Einheiten und die erhaltenen Mittelwerte eine Streuung ("standard deviation") von ± 0.02 - 0.04 Einheiten. Das gilt für die Auswertung von vier bis sechs Einzelergebnissen.

Viel grösser als der eben diskutierte Versuchsfehler ist dagegen der Bereich, in dem die bei verschiedenen Verbindungen für die gleiche Gruppe gefundenen ΔR_M -Werte auch dann variieren können, wenn die Beeinflussung durch Nachbargruppen ausgeschlossen ist. Hier werden zwischen den Extremwerten stets Differenzen von etwa $0.2 R_M$ -Wert-Einheiten gefunden. Dieser Unterschied, der nur zu einem geringen Teil auf die versuchsbedingten Schwankungen der einzelnen R_M -Werte zurückzuführen ist, wird wahrscheinlich durch die Fernwirkungen der funktionellen Gruppen bedingt. Die Theorie von der Additivität des R_M -Wertes gilt eben nur angenähert, worauf schon MARTIN⁵ eindringlich hingewiesen hat. So verarmt z.B. durch die Einführung eines elektronegativen Substituenten der übrige Teil des Moleküls an Elektronen, wodurch die Fähigkeit einer anderen funktionellen Gruppe zur Ausbildung von Wasserstoffbrücken beeinträchtigt werden kann. Darüber hinaus ist in dem durch die trans-Verknüpfung zwischen Ring B und C konformativ starren Steroidmolekül die Erscheinung wichtig, dass sich eine Änderung des Torsionswinkels in einem Teil des Ringsystems über alle Ringe fortsetzt und mit einer sich mit der Entfernung abschwächenden Wirkung die relative Lage der Substituenten zueinander verändert**.

KONFORMATION DER GENINE

Bei Untersuchungen über den Zusammenhang zwischen chemischer Struktur und chromatographischem Verhalten bei Steroiden sind konformationstheoretische Betrachtungen unentbehrlich (vgl. Lit. 26, 30 und 31). Es genügt hier nicht, die im Molekül enthaltenen Substituenten nach ihrer Art und Anzahl festzustellen. Es muss darüber hinaus ihre Konfiguration und ihre genaue Lage in Beziehung zum Steroidringsystem berücksichtigt werden. Über die Konformation von Herzglykosiden liegen nur wenig Informationen vor, doch bietet die Betrachtung dieser Steroidabkömmlinge keine besondere Schwierigkeit. Die in der I. Mitt.¹ gezeigten Raum-

* Zusammensetzung der Chromatographie-Systeme 0-V, vgl. I. Mitt.¹.

** Näheres über diese "conformational transmission" findet sich bei ELIEL *et al.*²⁰ und BUCOURT UND HAINAUT²⁷. Reiches Material über solche Fernwirkungen innerhalb des Steroidmoleküls kann auch den NMR-Untersuchungen von ZÜRCHER²⁸ (vgl. auch²⁰) entnommen werden.

formeln geben das Molekül sicherlich richtig wieder, abgesehen von den Fällen, in denen es eine Doppelbindung enthält.

Besonderer Erörterung bedarf nur der fünfgliedrige Ring D, der sowohl in den Cardenoliden als auch in den Bufadienoliden mit Ring C *cis*-verknüpft und durch die mindestens dreifache Substitution (Methyl an C₁₃, Butenolid- bzw. Cumalinring an C₁₇, Hydroxyl an C₁₄) starker sterischer Beanspruchung ausgesetzt ist.

Ausgehend von den Arbeiten von BUCOURT UND HAINAUT²⁷, CROSS UND CRABBÉ³² und FISHMAN³³, kommen wir hier zu der in Fig. 1 gezeigten Halbsessel-Konformation für Ring D, wobei von folgenden Voraussetzungen ausgegangen wurde:

(1) Die für die nicht planaren 5-Ringe charakteristische Pseudorotation ist durch die Bindung an das Steroid-ringsystem aufgehoben.

(2) Der Diederwinkel an der Ring C und D gemeinsamen Bindung soll möglichst nahe dem in der normalen Cyclohexan-Sesselkonformation sein.

(3) Die sterische Behinderung zwischen den Substituenten soll möglichst klein sein.

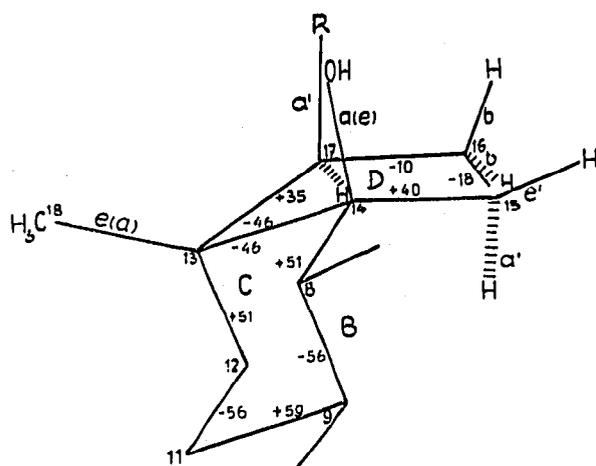


Fig. 1. Steroidteilformel (Ringe C und D); Halbsesselkonformation für Ring D. Das Teilmolekül in der Abbildung ist zur besseren Anschauung in einer von der üblichen Projektion abweichenden gezeigt. An den Ringbindungen stehen die Werte für die Torsionswinkel nach Angaben von BUCOURT UND HAINAUT²⁷. R = Butenolid- bzw. Cumalinring (vgl. I. Mitt.¹, Fig. 1).

Eine weitere Möglichkeit wäre eine Briefumschlag-Konformation, die sich von der hier gezeigten im Wesentlichen dadurch unterscheidet, dass der Diederwinkel zwischen C₁₆ und C₁₇ null ist und damit die beiden Bindungen an den C-Atomen ekliptisch sind. Wir haben daher der Halbsesselform aus energetischen Gründen den Vorzug gegeben, und in der folgenden Diskussion beziehen sich die Konformationsangaben für Substituenten am Ring D stets auf diese.

DISKUSSION EINIGER BEI HERZGLYKOSIDEN GEFUNDENER ΔR_M -WERTE FÜR HYDROXYGRUPPEN

In Tabelle I sind die aus Angaben von Tabelle I der I. Mitt.¹ errechneten ΔR_M -Werte für einige, sich in verschiedenen Stellungen des Steroidringsystems befindende Hydroxy-Gruppen zusammengefasst. Dabei ist bei der jeweiligen Gruppe unter der Konfigurations- auch die Konformationsbezeichnung und in Klammern die

TABELLE I

 ΔR_M -WERTE FÜR HYDROXY-GRUPPEN IN DEN SYSTEMEN I-IV

Abkürzungen: *a* = axial; *e* = äquatorial; *a'* = pseudoaxial; *e'* = pseudoäquatorial; *b* = bisecti-
onell; *p* = primär; *s* = sekundär; *t* = tertiär; Rhs = Rhamnose.

Die unterbrochenen Querstriche sollen andeuten, dass die durch diese Linien voneinander ge-
trennten Werte nicht miteinander vergleichbar sind (s. Diskussion).

Die beiden Systeme o und V wurden bei der Aufstellung der Tabelle nicht berücksichtigt, da
dort nur wenige der notwendigen Daten vorhanden sind.

Hy- droxy- Gruppe	Ausgangsverbindung u. subst. Verb. (Nummern aus Tabelle I der I. Mitt. ¹)	ΔR_M -Werte in den Systemen				
		I	II	III	IV	
$\frac{7\beta}{e(s)}$	Digitoxigenin (1/38)	+0.282	+0.291	—	—	
	Digitoxin (9/39)	+0.296	+0.285	—	—	
	Acovenosigenin (94/41)	+0.218	+0.281	(+0.043)	+0.083	
$\frac{1\beta}{a(s)}$	Digitoxigenin (1/94)	+0.615	+0.738	+0.473	+0.662	
	7 β -Hydroxy-digitoxigenin (38/41)	+0.551	+0.728	—	—	
$\frac{5\beta}{a(e)(t)}$	Spalte I Rhodexin A (83/113)	—	—	+0.846	+1.103	
	Digoxigenin- α L-Rhs ^a (aus 71/109)	—	—	+0.982	+1.235	
	2 16-Desoxyadonitoxin ^a (aus 105/120)	—	+0.950	+0.656	+0.863	
	3 16-Desoxyadonitoxol ^a (aus 107/139)	—	—	+0.437	+0.686	
	4 Digitoxigenin (1/88)	+0.562	+0.714	+0.454	+0.613	
	Digoxigenin (71/108)	+0.535	+0.706	+0.486	+0.710	
	Bufalin (32/90)	+0.556	+0.819	—	—	
	5 Cannogenin (97/114)	+0.472	+0.638	+0.340	+0.560	
	Adonitoxigenin (104/145)	—	+0.580	+0.284	+0.526	
	6 Cannogenol (101/137)	-0.088	+0.048	-0.050	+0.035	
	19-Hydroxy-bufalin ^a (aus 32/141)	-0.058	+0.065	—	—	
	$\frac{15\alpha}{a'(s)}$	Digitoxigenin (1/40)	+0.656	+0.672	—	—
	$\frac{16\beta}{b(s)}$	Digitoxigenin (1/42)	+0.813	+0.855	+0.530	+0.747
Odorosid H (2/48)		+0.836	+0.900	+0.548	+0.846	
Odorobiosid G (3/49)		—	—	+0.712?	+0.799	
Evatromonosid (5/43)		+0.806	+0.844	—	—	
Glucoevatromonosid (8/44)		—	—	+0.585	+0.833	
Digitoxin (9/45)		+0.839	+0.787	—	—	
Lanatosid A (11/46)		—	+0.773	+0.541	+0.614	
Purpureaglykosid A (12/47)		—	—	+0.547	+0.715	
Strophanthidin (114/145)		—	+0.913	+0.529	+0.825	
Cannogenin (97/104)		+0.956	+0.971	+0.585	+0.859	
Digoxigenin (71/79)		+0.576?	+0.741	+0.498	+0.700	
Digoxin (74/80)		—	+0.731	+0.431	+0.630	
Mittelwert		+0.850	+0.835	+0.533	+0.757	
Differenz der Extremwerte		0.150	0.240	0.154	0.245	

(Fortsetzung S. 129)

TABELLE I (Fortsetzung)

Hydroxy-Gruppe	Ausgangsverbindung u. subst. Verb. (Nummern aus Tabelle I der I. Mitt. ¹)	ΔR_M -Werte in den Systemen			
		I	II	III	IV
12β <i>e(s)</i>	Digitoxigenin (1/71)	+ 1.203	+ 1.349	+ 0.899	+ 1.203
	Digitoxin (9/74)	+ 1.199	+ 1.235	—	—
	Evatromonosid (5/72)	+ 1.215	+ 1.367	—	—
	Digitoxigenin-bis-digitoxosid (7/73)	+ 1.246	+ 1.355	—	—
	Lanatosid A (11/77)	—	+ 1.169	+ 0.921	+ 1.050
	Gitoxigenin (42/79)	+ 0.966	+ 1.235	+ 0.867	+ 1.154
	Gitoxin (45/80)	—	+ 1.179	+ 0.844	+ 0.939
	Oleandrigenin (63/81)	—	+ 1.224	—	—
	Strophanthidin (114/110)	—	—	+ 0.824	+ 1.204
	Convallatoxin (120/112)	—	—	+ 0.933	+ 1.210
	Desglucocheirotxin (131/111)	—	—	+ 0.972	+ 1.231
Mittelwert	+ 1.166	+ 1.246	+ 0.905	+ 1.149	
Differenz der Extremwerte	0.280	0.198	0.152	0.292	
11α <i>e(s)</i>	Digitoxigenin (1/82)	+ 1.110	+ 1.346	+ 0.982	+ 1.285
	Bufalin (32/87)	+ 1.143	+ 1.365	—	—
	Digitoxigenin- α ,L-Rhs ^a (aus 1/83)	—	+ 1.334	+ 1.029	+ 1.269
	Odorosid H (2/84)	+ 1.044	+ 1.402	+ 0.994	+ 1.491
	Strophanthidin (114/85)	—	+ 1.011	+ 0.766	+ 0.920
19 <i>(p)</i>	Digitoxigenin (1/101)	+ 1.361	+ 1.648	+ 1.166	+ 1.525
	Desacetyl-rhodexin B (52/107)	—	—	+ 1.221	+ 1.430
	Periplogenin (88/137)	+ 0.711	+ 0.982	+ 0.652	+ 0.921
	Telocinobufagin (90/141)	+ 0.747	+ 0.894	—	—

Die Werte für die mit a gekennzeichneten Verbindungen wurden ausgehend von der ersten der in Klammern angegebenen Substanzen berechnet. Zwei Werte sind mit ? versehen. Sie wurden bei der Berechnung der Mittelwerte und der Differenz der Extremwerte nicht berücksichtigt, da sie aus unerklärlichen Gründen grössere Abweichungen zeigen.

Art der Hydroxy-Gruppe vermerkt. Hinter den Namen für die Stammverbindung, an welche die jeweilige Hydroxy-Gruppe angefügt zu denken wäre, geben zwei in Klammern geschriebene Zahlen die laufenden Nummern der Stammverbindung und der substituierten Verbindungen in der Tabelle I der I. Mitt.¹ an, so dass dort leicht die genaue Konstitution ermittelt werden kann.

Tabelle I beweist die Gültigkeit der MARTIN'schen Theorie bei den Herzglykosiden, besonders im Hinblick auf die Werte für die 12β - und 16β -ständige Hydroxy-Gruppen. Im ganzen wird folgende Reihe für die Polaritätsbeiträge der Hydroxy-Gruppen sichtbar:

$$7\beta(e) < 1\beta(a) \approx 5\beta(a) (\text{Dg}) \approx 15\alpha(a') < 16\beta(b) \\ 12\beta(e) \approx 11\alpha(e) < 19(p) (\text{Dg}).$$

Diese Polaritätssequenz hat jedoch nur begrenzte Aussagekraft, da der Polaritätsbeitrag einer Hydroxy-Gruppe, z.B. in 1β -, 5β -, 7β - und 16β -Stellung durch Wechselwirkungen mit den bei Herzglykosiden stets vorhandenen Substituenten (3β - und 14β -Hydroxy-Gruppen, 17-ungesättigter Lactonring) stark beeinflusst

werden kann. Bei den Hydroxy-Gruppen in Stellung 5β und 19, in denen eine besonders vielfältige Wechselwirkung auch mit andern, in Nachbarschaft befindlichen Substituenten zu beobachten ist, haben wir der Einfachheit halber den Wert eingesetzt, der bei der Einführung dieser Gruppen in das Digitoxigenin (Dg) gefunden wird. In der nun folgenden Diskussion sollen einige der Faktoren eingehender besprochen werden, die die Grösse des Polaritätsbeitrages von Hydroxy-Gruppen beeinflussen.

EINFLUSS INTRAMOLEKULARER WASSERSTOFFBRÜCKEN UND STERISCHER MOMENTE AUF DIE GRÖSSE DER POLARITÄTSBEITRÄGE VON HYDROXY-GRUPPEN

Bei Betrachtung von Tabelle I fällt zunächst auf, dass die *tertiäre* Hydroxy-Gruppe an C_6 und die *sekundäre* an C_1 praktisch identische Polaritätsbeiträge (ΔR_M -Werte) liefern. Offenbar sind also nicht die Art der Hydroxy-Gruppe, sondern ihre Konformation und die sterische Umgebung für die Polarität von ausschlaggebender Bedeutung. Beide Hydroxy-Gruppen sind nämlich β -ständig und axial, befinden sich in 1,2-Stellung zu der in Bezug auf Ring A äquatorialen Gruppierung an C_{10} und sind in gleicher Weise mit der ebenfalls axial angeordneten Hydroxy-Gruppe an C_3 durch eine Wasserstoffbrücke verbunden (vgl. Fig. 2).

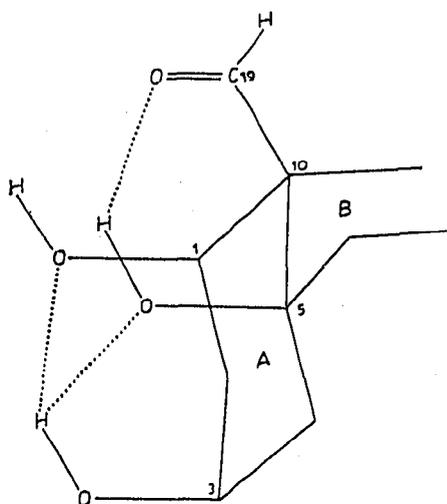
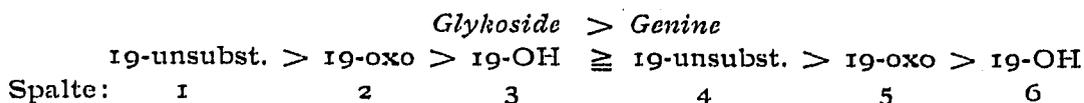


Fig. 2. Ausbildung intramolekularer Wasserstoffbrücken zwischen den Sauerstoff-Funktionen an C_1 , C_3 , C_6 und C_{19} .

Solche Wasserstoffbrücken zwischen 1,3-diaxialen Hydroxy-Gruppen sind wohlbekannt und auch für die Cardenolide diskutiert (vgl. Lit. 24, S. 459 ff). Sie sind besonders stabil, weil beide Sauerstoff-Funktionen koplanar sind und weil bei der Ausbildung der H-Brücke ein Sechsring entsteht (vgl. Lit. 34). Bei den untersuchten Herzglykosiden ist eine beträchtliche Abnahme der Energie dieser Wasserstoffbrücke (= Zunahme des Polaritätsbeitrages der 5β -Hydroxy-Gruppe) beim Übergang vom Genin zu der in Stellung 3 glykosidierten Verbindungen zu bemerken. Dieser Effekt muss auf die geringere Basizität des glykosidischen Sauerstoffatoms gegenüber dem hydroxylichen zurückgeführt werden.

Eine Verringerung der Polarität der Hydroxy-Gruppe an C_6 (= Abnahme des

ΔR_M -Wertes) ist in der Reihe: 19-unsubstituierte \rightarrow 19-oxo- \rightarrow 19-hydroxy-substituierte Verbindung sowohl bei den Geninen als auch bei den Glykosiden nachweisbar. Als Erklärung bieten sich eine zusätzliche Wasserstoff-Brückenbindung zwischen der Sauerstoff-Funktion an C_{19} und der Hydroxy-Gruppe an C_5 (s. ebenfalls Fig. 2) sowie eine zunächst abnehmende ($-\text{CH}_3 \rightarrow \text{CHO}$) dann wieder zunehmende ($-\text{CHO} \rightarrow \text{CH}_2\text{OH}$) sterische Abschirmung durch den Substituenten an C_{10} an. Im ganzen ergibt sich folgende Reihe für den Polaritätsbeitrag der 5β -Hydroxy-Gruppe:



Bei den 19-Hydroxy-Geninen (z.B. Cannogenol (101)) kann die Einführung der Hydroxy-Gruppe in Stellung 5β sogar apolaren Einfluss haben. Anscheinend ist die Ausbildung eines "konjugierten" Systems gleichwertiger Wasserstoffbrücken im Strophanthidol (137) bzw. Hellebrigenol (141) durch Resonanz energetisch besonders begünstigt.

In interessanter Übereinstimmung damit befinden sich die Daten, die man dem System o entnehmen kann (Tabelle II). Die Differenz zwischen den ΔR_M -Werten der beiden ersten Spalten von Tabelle II hat ähnliche Ursachen wie der Unterschied zwischen Genin und Glykosid, der für die ΔR_M ($5\beta\text{OH}$) bei Tabelle I diskutiert wurde.

TABELLE II

 ΔR_M FÜR DIE 5β -HYDROXY-GRUPPE IM SYSTEM o

Spalte	Ausgangsverb. u. subst. Verb. (Nummern aus Tabelle I der I. Mitt. ¹⁾)	Substituenten in β -Stellung an		ΔR_M
		C_3	C_{10}	
1	Digitoxigenin (1/88)	—OH	—CH ₃	+ 0.631
	Bufalin (32/90)			+ 0.639
2	Acetyldigitoxigenin (1/88)	—OAc	—CH ₃	+ 1.222
	Acetylbufalin (32/90)			+ 1.193
3	Acetylcannogenin (97/114)	—OAc	—CHO	+ 0.963
4	Acetylcannogenol (101/137)	—OAc	—CH ₂ OAc	+ 0.907
5	Acetylrrhodexin A (83/113)			+ 0.901
	Acetyldigoxigenin-acetyl- α ,L-rhamnosid ^a (aus 71/109)	—O—AcRhs	—CH ₃	+ 1.052
6	16-Desacetoxy-acetylodonitoxin ^a (aus 105/120)	—O—AcRhs	—CHO	+ 0.866
7	16-Desacetoxy-acetylodonitoxol ^a (aus 107/139)	—O—AcRhs	—CH ₂ OAc	+ 0.834

^a Die Werte für diese Verbindungen wurden ausgehend von der ersten, der in Klammern angegeben Substanzen berechnet.

Dort führte die glykosidische Bindung der freien Hydroxy-Gruppe an C_3 zu einer Störung des Resonanzeffektes zwischen der von den beiden 1,3-diaxialen Hydroxy-Gruppen an C_3 und C_5 ausgebildeten Wasserstoffbrücke und zu einer weiteren Schwächung derselben durch die geringere Basizität des glykosidischen Sauerstoffatoms gegenüber dem hydroxylyischen. Hier bewirkt die Acetylierung (Spalte 2) das gleiche, wobei der Schwund an Basizität und damit die Zunahme des $\Delta R_{M(5\beta OH)}$ —wie zu erwarten—noch grösser ist, was ein Vergleich mit den Zahlen für die Glykoside (Spalte 5) deutlich macht. Die Neuknüpfung einer Wasserstoffbrücke zwischen dem Carbonyl des Acetylrestes und der Hydroxy-Gruppe in 5β -Stellung ist bei Vorliegen der für die Essigsäureester nachgewiesenen cisoiden Konformation (vgl. III. Mitt.²) unmöglich, und die Aufhebung dieser durch Resonanz stabilisierten, Konformation würde die Wasserstoffbrücke energetisch ungünstig machen.

Der Einfluss einer 19-Oxo-Funktion ist in Tabelle II (Spalten 3 und 6) wie in Tabelle I zwar deutlich sichtbar, aber nicht sehr gross. Auffallend ist, dass bei Vorhandensein einer Acetoxymethylgruppe (Spalten 4 und 7) oder einer Formylgruppe (Spalten 3 und 6) and C_{10} praktisch gleiche Werte für das $\Delta R_{M(5\beta OH)}$ gefunden werden, während in Tabelle I der Polaritätseinfluss einer 5β -Hydroxy-Gruppe bei 10β Hydroxymethyl- (Spalten 3 und 6) deutlich geringer ist als bei 10β -Formyl-Verbindungen (Spalten 2 und 5). Der S. 131 diskutierten Zunahme der Raumbesprechung beim Übergang von der trigonalen Formyl- zur tetragonalen Hydroxymethyl- bzw. Acetoxymethyl-Gruppe wirkt hier (Tabelle II) die Schwächung der Wasserstoffbrücke zwischen den Sauerstoff-Funktionen an C_5 und C_{10} bei der Überführung der 19-Oxo- in die 19-Acetoxy-Gruppierung entgegen, während sich im anderen Fall (Tabelle I) beide Einflüsse addieren. Die wieder zu diskutierende Wasserstoffbrücke zur Carbonyl-Gruppe des Acetylrestes an C_{10} ist aus sterischen Gründen unmöglich.

In Übereinstimmung mit den oben diskutierten Gründen ändert sich der Polaritätsbeitrag der 19-Hydroxy-Gruppe, wenn bei den zur Berechnung herangezogenen Verbindungen der Substituent an C_5 verschieden ist. Der $\Delta R_{M(19OH)}$ für die 5β -Hydroxy-Genine (Periplogenin (88), Telocinobufagin (90)) liegt beträchtlich tiefer als der für die an C_5 unsubstituierten Genine und Glykoside (vgl. Tabelle I).

Auch der relativ niedrige Einfluss der 11α -Hydroxy-Gruppe (Tabelle I) in Gegenwart einer 19-Oxo-Funktion (Übergang von Strophanthidin (114)) zu Nigrescigenin (85)) lässt sich ähnlich erklären. Die Nähe der Sauerstoff-Funktionen in 11α -Position und C_{10} ermöglicht sogar die Ausbildung eines fünfgliedrigen Lactonringes im Sarmentosigenin E, wobei Ring B eine flexible Konformation (Wannen- oder Twist-Form) einnimmt²⁵. In ähnlicher Weise könnte man für Nigrescigenin (= Sarmentosigenin A) eine Halbacetal-Form mit Fünfring formulieren. Eine andere Möglichkeit zur wechselseitigen Beeinflussung beider Gruppen wäre durch eine Wasserstoffbrücke $11\alpha OH \rightarrow 19 CHO$ unter Ausbildung eines siebengliedrige Ringes gegeben.

Zuletzt müssen noch die sehr niedrigen Werte für die äquatoriale Hydroxy-Gruppe in 7β -Stellung erörtert werden. Die sterischen Besonderheiten dieser Hydroxy-Funktion werden am besten in der schon in Fig. 1 verwendeten Betrachtungsweise des Steroidmoleküls veranschaulicht (Fig. 3). Die 7β -Hydroxy-Gruppe und das in Herzglykosiden stets vorhandene Hydroxyl an C_{14} stehen 1,3-koplanar zueinander. Es ist deshalb anzunehmen, dass sich in gleicher Weise wie zwischen den 3β - und 1β -

bzw. 5β -Hydroxy-Gruppen eine starke Wasserstoffbrücke ausbildet (vgl. S. 130). Darüber hinaus ist die Hydroxy-Gruppe an C_7 von den Substituenten am Ring D und den Ringen C und D abgeschirmt. Dass diesem sterischen Moment eine beträchtliche Bedeutung zukommt, geht u.a. aus den Untersuchungen von LISBOA²⁰ hervor, der zeigen konnte, dass die 7β -Hydroxy-Gruppe bei Steroiden ohne Hydroxyl am C_{14} bereits einen relativ geringen Polaritätsbeitrag liefert.

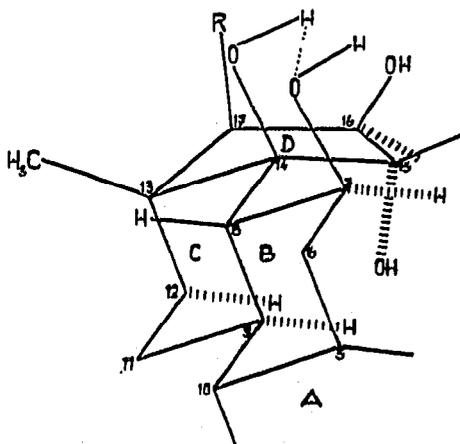


Fig. 3. Geninteilformel mit Substituenten an Ring B, C und D.

Auch die in Fig. 3 zum Vergleich eingetragenen Hydroxy-Gruppen an C_{15} und C_{16} werden sterisch und im Falle der 16β -Hydroxy-Gruppe zusätzlich durch intramolekulare Wasserstoffbrücken in ihren Möglichkeiten zu Wechselwirkungen mit dem Lösungsmittelsystem eingeschränkt.

ÄNDERUNGEN DER R_M -WERTE BEI DER UMWANDLUNG EINER 19-CARBONYL- IN EINE 19-HYDROXY- ODER 19-ACETOXY-GRUPPE

In Tabelle III sind die ΔR_M -Werte zusammengestellt, die bei Ersatz der 19-Oxo- durch eine 19-Hydroxy- bzw. 19-Acetoxy-Gruppierung bei verschiedenen Geninen und Glykosiden erhalten werden. Neben dem bereits diskutierten engen Zusammenhang zwischen den Gruppen an C_3 , C_5 und C_{10} zeigt sich hierbei, dass in Übereinstimmung mit unseren Ausführungen (S. 130–132) die Art des Zuckers in den untersuchten Glykosiden auf das $\Delta R_M(-CHO \rightarrow CH_2OH)$ praktisch keinen Einfluss hat (vgl. Spalte 2). Eine Erklärung des Unterschiedes, der bei Vergleich des in Stellung 5 unsubstituierten Glykosids (Adonitoxin (105)) mit dem entsprechenden Genin (Cannogenin (97)) sichtbar wird, kann z.Z. nicht gegeben werden.

Die Zahlenangaben für das System o beziehen sich auf die peracetylierten Verbindungen. Es handelt sich also hier um das $\Delta R_M(-CHO \rightarrow CH_2OAc)$. Die hierbei gefundenen Werte sind negativ und für alle Paare praktisch gleich. Dies liegt z.T. in der Tatsache begründet, dass, wie auch schon andere Autoren (vgl. Lit. 24, S. 460) fanden, die Acylierung von polaren Hydroxy-Gruppen einen grösseren Polaritätsverlust bedeutet als die Acylierung von weniger polaren, da die eingeführte Acylgruppe mit ihrem apolaren Alkylrest sterisch nur wenig gehindert ist, wenn auch die

TABELLE III

 ΔR_M -WERTE FÜR DIE UMWANDLUNG VON 19 CHO \rightarrow 19 CH₂OH bzw. 19 CHO \rightarrow 19 CH₂OAc

Spalte	Ausgangsverbindung Umwandlungsprodukt	Substituenten in β -Stellung an				Systeme			
		C ₃ ^a	C ₅	I	II	III	IV		
1	Strophanthidin (114)	—OH	—OH	—0.157	+0.330	+0.408	+0.327	+0.372	
	Strophanthidol (137)	bzw.—OAc							
	Hellebrigenin (134)	—OH	—OH	—0.233	+0.310	+0.411	+0.293	+0.394	
	Hellebrigenol (141)	bzw.—OAc							
2	Cymarin (115)	—O—Cys	—OH	—0.161	+0.348	+0.507	+0.391	+0.540	
	Cymarol (138)	bzw.—O—AcCys							
	Convallatoxin (120)	—O—Rhs	—OH	—0.209	—	—	+0.399	+0.413	
	Convallatoxol (139)	bzw.—O—AcRhs							
	Erysimosid (119)	—O—Dxs—Gls	—OH	—	—	—	+0.535	+0.454	
	Erysimosol (140)								
3	Cannogenin (97)	—OH	—H	—0.101	+0.890	+0.998	+0.717	+0.897	
	Cannogenol (101)	bzw.—OAc							
4	Adonitoxin (105)	—O—Rhs	—H	—0.167	—	—	+0.618	+0.590	
	Adonitoxol (107)	bzw.—O—AcRhs							

^a Abkürzungen: Ac = Acetyl-; Cys = Cymarose; Rhs = Rhamnose; Dxs = Digitoxose; Gls = Glucose.

Hydroxy-Gruppe frei zugänglich gewesen ist. Zum anderen führt die Acylierung bei Hydroxy-Gruppen, die stark Wasserstoffbrücken-gebunden und daher wenig polar sind, zu einer Schwächung dieser Bindungen, wodurch ein Polaritätsgewinn erreicht wird, der dem Acylierungseffekt entgegengerichtet ist (vgl. S. 132).

Um den Einfluss der Acylierung noch deutlicher zu machen, haben wir für die 3β -Hydroxy-Gruppe, für die besonders viele Versuchsdaten vorlagen, in Tabelle IV die ΔR_M ($3\beta\text{OH} \rightarrow 3\beta\text{OAc}$) für das System o zusammengetragen. Die Angaben in Spalte 1 stimmen innerhalb enger Grenzen miteinander überein und zeigen, dass Substituenten im Steroidkern, die nicht in unmittelbare Wechselwirkung mit der 3β -Hydroxy-Gruppe treten, den bei der Acetylierung dieser Gruppe entstehenden Polaritätsverlust nicht beeinflussen. Dagegen sind die Werte für die 5β -Hydroxy-Genine (Periplogenin (88) und Telocinobufagin (90), Spalte 3) beträchtlich kleiner, was wieder durch den Einfluss intramolekularer Wasserstoffbrücken bedingt ist. Obwohl die Werte für Uzarigenin (33) und Canarigenin (152) (Spalte 2) bei Vergleich mit den Werten von Spalte 1 noch innerhalb der üblichen Schwankungsbreite liegen, wurden sie bei der Berechnung des Mittelwertes nicht berücksichtigt, da die 3β -Hydroxy-Gruppe bei Uzarigenin äquatorial und bei Canarigenin pseudoaxial steht, während bei allen anderen in Tabelle IV aufgeführten Verbindungen die Hydroxy-Gruppe an C_3 axial angeordnet ist.

In Tabelle IV haben wir ausnahmsweise auch die R_F -Werte der unacetylierten und acetylierten Verbindungen eingetragen, aus denen die ΔR_M -Werte berechnet wurden. Hiermit soll gezeigt werden, dass die ermittelten ΔR_M -Werte von der Grösse der R_F -Werte unabhängig sind und deshalb ein Phasengradient (vgl. I. Mitt.¹) in

TABELLE IV

 ΔR_M FÜR DIE REAKTION $3\beta\text{OH} \rightarrow 3\beta\text{OAc}$ IN SYSTEM o

Spalte	Verbindung ^a	R_F -Werte der acetyl. unacetyl. Verbindung		ΔR_M
1	Digitoxigenin (1)	0.157	0.695	—1.087
	Menabegenin (31)	0.0835	0.558	—1.142
	Bufalin (32)	0.250	0.803	—1.086
	Gitoxigenin (42/68)	0.024	0.240	—1.100
	Oleandrigenin (63/42)	0.0785	0.518	—1.101
	16-Propionylgitoxigenin (69)	0.153	0.625	—0.967
	Xysmalogenin (155)	0.087	0.578	—1.158
	3β -Hydroxy-15-oxo- $5\beta,14\alpha$ -cardenolid (177)	0.136	0.622	—1.021
Mittelwert			—1.082	
2	Uzarigenin (33)	0.101	0.61	—1.142
	Canarigenin (152)	0.084	0.553	—1.129
3	Resibufogenin (175) ^b	0.505	0.919	—1.046
4	Periplogenin (88)	0.0417	0.120	—0.496
	Telocinobufagin (90)	0.0713	0.207	—0.532

^a Wenn nicht anders vermerkt, finden sich die unacetylierte und die acetylierte Verbindung unter der gleichen Nummer in Tabelle I der I. Mitt.¹.

^b Der R_F -Wert des Acetylresibufogenins liegt ausserhalb des für R_M -Berechnungen zulässigen R_F -Wert-Bereichs (s. S. 94, I. Mitt.¹).

TABELLE V

 ΔR_M -WERTE FÜR DIE UMWANDLUNG VON CARDENOLIDEN IN BUFADIENOLIDE

Spalte	Cardenolid Bufadienolid	Zusätzliche Substituenten am Steroidgerüst ^a (außer 3 β - u. 14 β - Hydroxyl)	Systeme				
			I	II	III	IV	V
1	Digitoxigenin (1)	—	—0.254	—0.271	—0.356	—	—
	Bufalin (32)	—	—0.253	—	—	—	—
	Periplogenin (88)	5 β -Hydroxyl	—0.246	—0.277	—0.251	—	—
	Telocinobufagin (90)	—	—0.282	—	—	—	—
	Sarmentogenin (82)	11 α -Hydroxyl	—	—0.238	—0.337	—0.239	—0.360
	Garnabufotalin (87)	—	—0.253	—	—	—	—
	Strophanthidin (114)	5 β -Hydroxyl,	—	—0.221	—0.342	—0.166	—0.403
	Hellebrigenin (134)	19-Oxo	—0.157	—	—	—	—
	Strophanthidol (137)	5 β -Hydroxyl,	—	—0.241	—0.339	—0.196	—0.381
	Hellebrigenol (141)	19-Hydroxyl	—0.233	—	—	—	—0.184
	Convallatoxin (120)	3 β -O- α , L-Rhs, 5 β -Hydroxyl,	—	—	—	—0.277	—0.326
	Desglucohellebrin (135)	19-Oxo	—0.301	—	—	—	—0.167
	Convallolid (123)	3 β -O- α , L-Rhs- β , D-Gls, 5 β -	—	—	—	—0.274	—0.399
	Hellebrin (136)	Hydroxyl, 19-Oxo	—	—	—	—	—
	2	Gitoxigenin (42)	16 β -Hydroxyl	—0.106	—0.129	—0.208	—
Desacetyl-bufotalin (54)		—	—	—	—	—	
Oleandrigenin (63)		16 β -Acetoxy	—0.041	—0.138	—0.292	—	—
Bufotalin (68)		—	—0.021	—	—	—	—
3	3 β -Hydroxy-14 β ,15 β -epoxy-5 β - cardenolid ^b (176)	keine 14 β -Hydroxy-Gr., 14 β ,15 β - epoxy	—0.428	—	—	—	—
	Resibufogenin (177)	—	—0.404	—	—	—	

^a Obwohl im System 0 auch die ΔR_M -Werte der peracetylierten Verbindungen verzeichnet sind, haben wir das in Kolonne 2 nicht berücksichtigt.^b Der R_M -Wert für das unacetylierte Cardenolid wurde aus der 3 β -Acetoxy-Verbindung (176) mit dem Mittelwert aus Tabelle IV errechnet.^c Von den zwei Angaben im System 0 gilt die obere für die unacetylierten und die untere für die peracetylierten Verbindungen.

Startnähe nicht nachweisbar ist. In analoger Weise kann dies auch mit den ΔR_M -Werten der 12β - und 16β -Hydroxy-Gruppen, die in Tabelle I zusammengestellt sind, für die anderen Systeme nachgewiesen werden.

BEFUNDE BEI VERÄNDERUNGEN DES SUBSTITUTIONSMUSTERS VON RING D

Bereits auf Seite 127 wurde darauf hingewiesen, dass der Cyclopentanring in den Herzgiftgeninen zahlreiche Substituenten trägt (vgl. Fig. 1 und 3), die in vielfacher Weise miteinander in Wechselwirkungen stehen. Im folgenden soll zunächst besprochen werden, welchen Einfluss die für die Cardenolide und Bufadienolide charakteristischen ungesättigten Lactonringe auf die Polarität der Verbindungen haben und welche Nachbargruppeneffekte dabei auftreten.

In Tabelle V sind die ΔR_M -Werte zusammengestellt, die bei Ersatz des Butenolidringes durch den Cumalinring erhalten werden. Bei Vergleich der einzelnen Ergebnisse ist erkennbar, dass ein Einfluss von Substituenten an den Ringen A, B und C auf den erhaltenen Wert nicht feststellbar ist (Spalte 1), dass aber die Substituenten an Ring D den ΔR_M -Wert wesentlich verändern können (Spalten 2 und 3).

Der unterschiedliche Polaritätsbeitrag von Cumalin- und Butenolidring wird möglicherweise massgeblich durch deren teilweise Polarisierung bedingt (Fig. 4),

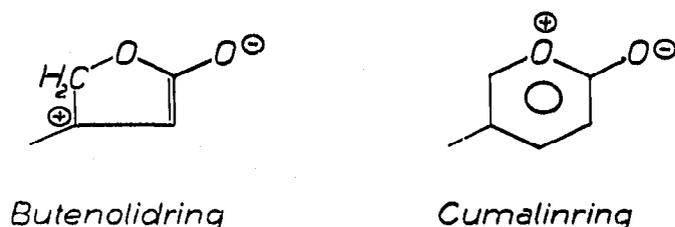


Fig. 4. Polarisierte Formen der Lactonringe an C_{17} .

die nach neueren Untersuchungen bei den Cardenoliden auch für die pharmakologische Wirkung spezifische Bedeutung haben soll (vgl. z.B. REPKE³⁶ und WASSERMANN³⁷) und in diesem Zusammenhang auch experimentell ermittelt worden ist³⁷. Nach Fig. 4 müsste der Cumalinring ein geringeres Dipolmoment als der Butenolidring besitzen, wodurch die in allen Fällen negativen ΔR_M -Werte in Tabelle V verständlich werden.

Die Abschirmung des Dipols der Lactonringe durch Substituenten an Ring D nimmt zu in der Reihe der:

14β , 15β -Epoxy- \rightarrow 14β -Hydroxy- \rightarrow 14β -Hydroxy-, 16β -Hydroxy- \rightarrow 14β -Hydroxy-, 16β -Acetoxy- Derivate.

Dieser Effekt hat für die Polarität des Butenolidringes, da dessen Dipol weniger frei zugänglich ist, grössere Bedeutung als für die des Cumalinrings. Das führt zu der beobachteten Verminderung der R_M -Wert-Differenzen bei den 16β -Hydroxy- und 16β -Acetoxy-Verbindungen (Spalte 2) sowie zu der Zunahme der ΔR_M -Werte beim Vergleich der 14β -Hydroxy- mit den 14β , 15β -Epoxy-Derivaten (Spalte 3).

Der Polaritätsbeitrag der Lactonringe wird ausser durch die Substituenten an Ring D auch durch ihre Stellung am C-Atom 17 beeinflusst. Das kann hier nur für die Cardenolide gezeigt werden, da uns 17 β H-Bufadienolide nicht zur Verfügung standen. Die Fig. 1 und 3 machen die besondere Stabilität und die grössere Polarität der 17 β H- gegenüber den 17 α H-Verbindungen verständlich. Durch die Isomerisierung der in der Natur besonders häufig vorkommenden 17 α H-Cardenolide an C₁₇ kommt der ungesättigte Lactonring in die pseudoäquatoriale Lage, wobei ein Energiegewinn erzielt wird und sowohl der Lactonring, als auch die an Ring D stehenden Hydroxy-Gruppen leichter zugänglich werden.

Die R_M -Wert-Differenzen zwischen 17 α H- und 17 β H-Verbindungen betragen für das Paar Digitoxigenin (1) und Menabegenin (31) + 0.310 und bei den entsprechenden acetylierten Verbindungen + 0.255. Dagegen findet man für die 3 β -Acetoxy-15-oxo-5 β ,14 β -cardenolide (178/180) nur den Wert von +0.072 (vgl. Tabelle I der I. Mitt.¹), was durch das Fehlen der Hydroxy-Gruppe an C₁₄ erklärt werden kann (s.o.).

Abschliessend soll noch kurz auf den Einfluss hingewiesen werden, den Änderungen in der Verknüpfung der Ringe des Steroidgerüsts auf die Polarität ausüben. Stets haben wir gefunden, dass Verbindungen mit *trans*-Verknüpfung polarer als solche mit *cis*-Verknüpfung sind. Das kann für die Ringe A/B dem Vergleich von Digitoxigenin (1) mit Uzarigenin (33) und für die Ringe C/D dem Beispiel der Verbindungen (178/179) entnommen werden. Der bei der *cis-trans*-Isomerisierung auftretende Polaritätsgewinn wird jedoch in beiden Fällen zum grössten Teil durch hydrophile Substituenten bedingt. Digitoxigenin und Uzarigenin unterscheiden sich ausser in der Konfiguration an C₅ vor allem in der Konformation der Hydroxy-Gruppe an C₃ (Digitoxigenin-axial, Uzarigenin-äquatorial). Für die 3 β -Acetoxy-15-oxo-5 β -cardenolide (178/179) bedingt der Übergang der 14 β - in die 14 α -Konfiguration zugleich eine Konformationsänderung des Substituenten an C₁₇: der Butenolidring, im ersten Fall pseudoaxial, nimmt im zweiten Fall die polarere und stabilere pseudoäquatoriale Lage ein.

DANK

Wir möchten an dieser Stelle Herrn Prof. Dr. K. SCHREIBER, Gatersleben, und Herrn Dr. H. PRACEJUS, Rostock, für zahlreiche Anregungen und Hilfen herzlich danken. Dem VEB Ysat, Wernigerode, sind wir für die materielle Unterstützung der Arbeiten besonders verbunden.

ZUSAMMENFASSUNG

Die MARTIN'sche Theorie über den Zusammenhang zwischen chemischer Struktur und chromatographischem Verhalten bildet den Ausgang für eine Diskussion über die vorteilhafte Anwendung von ΔR_M -Werten nicht nur bei der chromatographischen Strukturanalyse sondern auch bei einer rein qualitativen Auswertung von Chromatogrammen, d.h. auf dem klassischen Feld der R_F - und relativen R_F -Werte.

In fünf Tabellen werden aus den chromatographischen Daten für über 180 Herzglykoside und ihre Genine ΔR_M -Werte für verschiedene funktionelle Gruppen

am Steroidkern zusammengestellt. Diese demonstrieren überzeugend die Gültigkeit und den Wert der MARTIN'schen Theorie bei diesen von den Steroiden abgeleiteten Naturstoffen. Die Konformationstheorie der Steroide wurde in erweiterter Form auf die Herzglykoside übertragen und neben intramolekularen Wasserstoff-Brücken und sterischen Faktoren zur Erklärung der experimentellen Ergebnisse herangezogen.

SUMMARY

Starting with MARTIN's theory on the relationship between chemical structure and chromatographic behaviour the advantages are discussed which arise by the use of R_M values not only in the case of chromatographic structure determination but also in the qualitative area of chromatography, *i.e.* in the common field of R_F and relative R_F values.

From the chromatographic data of about 180 heart glycosides and their genins ΔR_M values for several groups in the steroid moiety are calculated and listed in five tables, giving strong evidence for the validity and value of MARTIN's theory for these steroid derivatives. The interpretation of the experimental results is based on steroid conformation theory extended to cardenolides and bufadienolides. The influences of intramolecular hydrogen bonding and steric hindrance on the chromatographic behaviour are discussed.

LITERATUR

- 1 L. NOVER, G. BAUMGARTEN UND M. LUCKNER, *J. Chromatog.*, 32 (1968) 93.
- 2 L. NOVER, G. BAUMGARTEN UND M. LUCKNER, *J. Chromatog.*, 32 (1968) 141.
- 3 A. J. P. MARTIN UND R. L. M. SYNGE, *Biochem. J.*, 35 (1941) 1358.
- 4 R. CONSDEN, A. H. GORDON UND A. J. P. MARTIN, *Biochem. J.*, 38 (1944) 224.
- 5 A. J. P. MARTIN, *Biochem. Soc. Symp. (Cambridge, Engl.)*, 3 (1949) 4.
- 6 E. C. BATE-SMITH UND R. G. WESTALL, *Biochim. Biophys. Acta*, 4 (1950) 427, 441.
- 7 M. BRENNER, A. NIEDERWIESER, G. PATAKI UND R. WEBER, in E. STAHL (Herausgeber), *Dünnschichtchromatographie*, Springer-Verlag, Berlin, 1962, S. 79.
- 8 I. E. BUSH, *The Chromatography of Steroids*, Pergamon, Oxford, 1961 und 1964.
- 9 I. E. BUSH, in D. GLICK (Herausgeber), *Methods of Biochemical Analysis*, Vol. 13, Interscience, New York, 1965, S. 357.
- 10 J. GREEN UND S. MARCINKIEWICZ, *J. Chromatog.*, 10 (1963) 35;
S. MARCINKIEWICZ, J. GREEN UND D. McHALE, *J. Chromatog.*, 10 (1963) 42.
- 11 R. NEHER, *Steroid Chromatography*, Elsevier, Amsterdam, 1964.
- 12 B. P. LISBOA, III, *Intern. Symp. Chromatog., Brüssel, 14-15.9.64*.
- 13 B. P. LISBOA, *J. Chromatog.*, 13 (1964) 391.
- 14 B. P. LISBOA, *J. Chromatog.*, 19 (1965) 81, 333.
- 15 B. P. LISBOA, *Steroids*, 6 (1965) 605.
- 16 B. P. LISBOA, *Steroids*, 7 (1966) 41.
- 17 B. P. LISBOA, *Steroids*, 8 (1966) 319.
- 18 B. P. LISBOA, *J. Chromatog.*, 24 (1966) 475.
- 19 B. P. LISBOA, *Clin. Chim. Acta*, 13 (1966) 179.
- 20 B. P. LISBOA, *Systematic Analysis of Steroids*, Abeco Tryckeri, Stockholm, 1965.
- 21 A. KUKSIS, in D. GLICK (Herausgeber), *Methods of Biochemical Analysis*, Vol. 14, Interscience, New York, 1966, S. 325.
- 22 H. AMATO, *New Istanbul Contrib. Clin. Sci.*, 8 (1965) 35.
- 23 M. BRENNER, in K. MACEK UND I. M. HAIS (Herausgeber), *Stationary Phase in Paper and Thin-Layer Chromatography*, Elsevier, Amsterdam und Verlag der Tschechoslowak. Akad. der Wissenschaften, Prag, 1965, S. 326.
- 24 I. M. HAIS UND K. MACEK, *Handbuch der Papierchromatographie*, Bd. 1, Fischer, Jena, 1963.
- 25 P. KABASAKALIAN UND A. BASCH, *Anal. Chem.*, 32 (1960) 458.

- 26 E. L. ELIEL, N. L. ALLINGER, S. J. ANGYAL UND G. A. MORRISON, *Conformational Analysis*, Interscience, New York, 1965.
- 27 R. BUCOURT UND D. HAINAUT, *Bull. Soc. Chim. France*, (1965) 1366.
- 28 R. F. ZÜRCHER, *Helv. Chim. Acta*, 44 (1961) 1380, 1755; 46 (1963) 2054.
- 29 N. S. BHACCA UND D. H. WILLIAMS, *Application of NMR in Organic Chemistry, Illustrations from the Steroid Field*, Holden-Day Inc., San Francisco, 1966.
- 30 D. H. R. BARTON UND G. A. MORRISON, *Fortschr. Chem. Org. Naturstoffe*, 19 (1961) 165.
- 31 M. HANACK, *Conformation Theory*, Academic Press, New York, 1965.
- 32 A. D. GROSS UND P. CRABBÉ, *J. Am. Chem. Soc.*, 86 (1964) 1221.
- 33 J. FISHMAN, *J. Am. Chem. Soc.*, 87 (1965) 3455.
- 34 M. TICHY, *Advan. Org. Chem. Methods Results*, 5 (1965) 115.
- 35 B. FECHTIG, J. V. EUV, O. SCHINDLER UND T. REICHSTEIN, *Helv. Chim. Acta*, 43 (1960) 1570.
- 36 K. REPKE, *Internist*, 7 (1966) 418.
- 37 WASSERMANN, *Vortrag auf der 8. Tagung der Industrie- und Hochschulpharmakologen der D.D.R.*, 24-27 Okt. 1966, Leipzig.

J. Chromatog., 32 (1968) 123-140