

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

III. MITTEILUNG. DER EINFLUSS DER ZUCKERKETTE AUF DAS CHROMATOGRAPHISCHE VERHALTEN DER GENINE**

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

*Pharmakognostisches Institut der Martin-Luther-Universität, Halle (D.D.R.)**Forschungslaboratorium des VEB Ysat, Wernigerode (D.D.R.)**Institut für Biochemie der Pflanzen der DAW zu Berlin, Halle (D.D.R.)*

(Eingegangen den 28. Februar 1967)

Die meisten Herzglykoside enthalten ungewöhnliche, sonst in der Natur nur selten vorkommende Zucker. Neben dem biochemischen Interesse, das diese Verbindungen verdienen, hat insbesondere ihr Einfluss auf die Löslichkeit, die pharmakologische Wirkung (vgl. TAMM³ und FÖRSTER⁴, S. 199) und die therapeutische Anwendung der Herzglykoside (vgl. REPKE⁵) zu einer eingehenden Bearbeitung ihrer Chemie geführt (vgl. REICHSTEIN UND WEISS⁶).

Die ersten grundlegenden Untersuchungen über den Zusammenhang zwischen Struktur der Kohlenhydrate und ihrem chromatographischen Verhalten im Sinne der R_M -Wert-Theorie gehen auf ISHERWOOD UND JERMYN⁷ und FRENCH UND WILD⁸ zurück (vgl. auch KOWKABANY⁹). Ein wesentlicher Fortschritt im Verständnis konnte allerdings erst erzielt werden, nachdem die von REEVES¹⁰ angestellten Betrachtungen über die Konformation der Kohlenhydrate bei der Interpretation der Ergebnisse berücksichtigt wurden. Bei der Chromatographie von freien Zuckern macht sich jedoch eine Störung bemerkbar, die die Betrachtungen über Beziehungen zwischen R_M -Wert und Struktur erschwert. Freie Zucker liegen als Mischung der beiden wohl stets unterschiedlich polaren Anomeren vor, deren Verhältnis zueinander nicht gleich und oft nur ungenügend oder gar nicht bekannt ist. Nur die Untersuchung von Glykosiden, bei denen ja die Struktur am anomeren C-Atom festgelegt ist, kann aus diesem Grunde zu eindeutigen Aussagen über die Polarität der Zucker führen. Im Folgenden wird deshalb der Versuch unternommen, einige bei der Chromatographie von Herzglykosiden erhaltenen Ergebnisse in Hinblick auf die Zuckerkomponente zu diskutieren.

KONFORMATION DER ZUCKER

Unserer Diskussion sollen einige Bemerkungen über die Konformation und Konfiguration von Zuckern vorausgehen. Die heutigen Kenntnisse auf diesem

* 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; II. Mitt. vgl. Lit. 2.

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

Gebiet (vgl. ELIEL *et al.*¹¹) gehen auf die Angaben von REEVES¹⁰ zurück. Danach kann man im Allgemeinen für die D- und L-Reihen der Zucker zwei spiegelbildliche Sessel-Konformationen annehmen, die REEVES C₁- und 1C-Form genannt hat und die von ELIEL *et al.*, da sie sterisch gleichwertig sind, beide als N-Form (= normale Konformation) bezeichnet wurden (Fig. 1). Die β ,D- und β ,L- sowie die α ,D- und α ,L-Verbindungen bilden jeweils ein Enantiomerenpaar. Die Glieder jedes Paares verhalten sich daher chemisch und chromatographisch gleich (vgl. jedoch die Möglichkeit zur papierchromatographischen Trennung von optischen Antipoden, Lit. 12, S. 74).

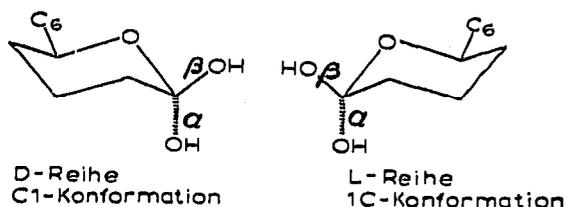


Fig. 1. N-Form der Zucker von D- und L-Reihe.

Die besondere Bevorzugung der in Fig. 1 angegebenen Konformation von der jeweils möglichen anderen Sesselform hat ihren Grund vor allem in der hier äquatorialen Lage des C-Atom 6. Diese eindeutige Zuordnung ist nur im Falle der Idose- und Altrose-Konfiguration nicht möglich (vgl. dazu Lit. 11). Tabelle I enthält die Konformation der Sauerstoff-Funktionen für die N-Form der im Folgenden diskutierten Zucker. Da diese bei unseren Untersuchungen stets glykosidisch gebunden waren, ist auch die Konformation am anomeren C-Atom vermerkt.

Entsprechend Tabelle I sind β ,D- und β ,L-Glucose sowie die von ihr abgeleiteten Zucker (Glucomethylose, Thevetose, 2-Desoxyglucose, Canarose und Oleandrose) die einzigen, die nur äquatoriale Sauerstoff-Funktionen besitzen. Alle anderen haben mindestens eine axiale Hydroxy-Gruppe (Galaktose an C₄, Allose an C₃, Mannose an C₂). Nach den Erfahrungen, die an anderen Ringsystemen gesammelt wurden, müsste man daher erwarten, dass Glucose-Abkömmlinge einen höheren Polaritätsbeitrag liefern als die entsprechenden Mitglieder der anderen Konfigurationsreihen. Dem stehen jedoch die experimentellen Ergebnisse entgegen (vgl. die unten wiedergegebenen Polaritätsfolgen, sowie CAPON UND OVEREND¹³ und Lit. 12, S. 332).

TABELLE I

KONFORMATION DER SAUERSTOFF-FUNKTIONEN IN DEN DISKUTIERTEN ZUCKERREIHEN

Konfiguration	Allose β ,D	Glucose β ,D α ,D β ,L α ,L	Mannose β ,D α ,D β ,L α ,L	Gulose β ,D	Galaktose β ,D
C ₁	e	e a	e a	e	e
C ₂	e	e	a	e	e
C ₃	a	e	e	a	e
C ₄	e	e	e	a	a

TABELLE II

R_M -WERT-BEITRÄGE DER β ,D-FORMEN GLYKOSIDISCH GEBUNDENER ZUCKER (AN DIGITOXIGENIN, WENN NICHT ANDERS ANGEZEIGT)

Konfiguration (vgl. Tabelle I)	Allose (Als)	Glucose (Gls)	Mannose (Mns)	Gulose (Gus)	Galaktose (Gas)
6-Desoxyhexosen	Allo-methylose (Alms)	Glucos-methylose (Glms)	Rhamnose (Rhs)	Gulo-methylose (Gums)	Fucose (Fcs)
System o (ac)	+ 0.352 ^a	+ 0.313 ^a	+ 0.532 ^a	+ 0.349 ^b	+ 0.780 ^b
I	+ 1.114	+ 1.459	—	—	+ 1.605
II	+ 1.145	+ 1.474	+ 1.677	—	+ 1.733
III	+ 0.830	+ 1.011	+ 1.082	+ 0.699 ^c	+ 1.175
IV	+ 0.774	+ 1.087	+ 1.164	+ 0.826 ^c	+ 1.236
3-O-Methyl-6-desoxyhexosen	3-O-Methyl-allomethylose (Methyl-Alms)	Thevetose (Ths)	Acofriose (Afs)	3-O-Methyl-gulomethylose (Methyl-Gums)	Digitalose (Dls)
System o (ac)	—	+ 0.563 ^a	—	—	+ 0.892 ^a
o	—	+ 0.854	—	—	—
I	—	+ 0.477	—	—	+ 1.012
II	—	+ 0.396	—	—	+ 1.010
III	—	—	—	—	+ 0.725
IV	—	—	—	—	+ 0.648
2-Desoxyhexosen	2-Desoxyallose (2-Des-Als)	2-Desoxyglucose (2-Des-Gls)	2-Desoxyglucose (2-Des-Gls)	2-Desoxygulose	2-Desoxygalaktose
System o	+ 0.478 ^a	+ 0.563 ^a	+ 0.563 ^a	—	—
I	+ 1.198	+ 1.574	+ 1.574	—	—
II	+ 1.281	+ 1.685	+ 1.685	—	—
III	+ 0.895	+ 1.102	+ 1.102	—	—
IV	+ 0.875	+ 1.205	+ 1.205	—	—
2,6-Didesoxyhexosen	Digitoxose (Dxs)	Canarose	Canarose	Boivinose (Bvs)	2,6-Didesoxygalaktose
System o (ac)	+ 0.048 ^a	—	—	ca. + 0.25 ^d	—
o	+ 0.473	—	—	—	—
I	+ 0.094	—	—	ca. + 0.45 ^f	—
II	+ 0.035	—	—	ca. + 0.38 ^f	—
III	+ 0.005 ^e	—	—	ca. + 0.14 ^f	—
IV	— 0.043 ^e	—	—	ca. + 0.20 ^f	—
3-O-Methyl-2,6-didesoxyhexosen	Cymarose (Cys)	Oleandrose (Ols)	Oleandrose (Ols)	Sarmentose (Srs)	Diginose (Dns)
System o (ac)	ca. — 0.14 ^g	—	—	—	+ 0.520 ^a
o	—	ca. — 0.08 ^l	ca. — 0.08 ^l	—	+ 0.250
I	— 0.445 ^h	ca. — 0.16 ^l	ca. — 0.16 ^l	—	— 0.126
II	— 0.696 ^h	ca. — 0.60 ^l	ca. — 0.60 ^l	—	— 0.167
III	ca. — 0.49 ^j	—	—	—	ca. — 0.20 ^k
IV	ca. — 0.80 ^j	—	—	—	ca. — 0.17 ^k

^a Bezogen auf 3-O-Acetyldigitoxigenin.

^b Bezogen auf 3-O-Acetylcannogenol.

^c Berechnet aus den Cannogenolderivaten (101/102).

^d Berechnet aus Acetylstrophanthidin/Acetylcorchorosid (114/129) unter Berücksichtigung von ΔR_M (114/118)/(1/5) (s. Tabelle V).

^e Berechnet aus den Digoxigeninderivaten (71/72).

^f Berechnet aus Strophanthidin/Corchorosid (114/129) unter Berücksichtigung von ΔR_M (114/118)/(1/5) (s. Tabelle V).

^g Berechnet aus Acetylstrophanthidin/Acetylcymarin (114/115) unter Berücksichtigung von ΔR_M (114/118)/(1/5) (s. Tabelle V).

^h Berechnet aus den Cannogeninderivaten (97/98).

ⁱ Berechnet aus Gitoxigenin/Desacetyloleandrin (42/53) bzw. Oleandrigenin/Oleandrin (63/66) unter Berücksichtigung von ΔR_M Evatromonosid/Digitoxigenin- α ,D-digitoxosid (5/6) (für das Korrekturglied vgl. die Diskussion zu Tabelle III).

^j Berechnet aus Strophanthidin/Cymarin (114/115) unter Berücksichtigung von ΔR_M (114/118)/(1/5) (s. Tabelle V).

^k Berechnet aus Strophanthidin/Vernadigin (145/146) unter Berücksichtigung von ΔR_M (114/118)/(1/5) (s. Tabelle V).

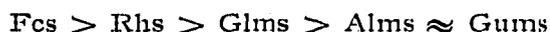
(ac) Diese Angaben beziehen sich auf die peracetylierten Zucker und wurden ausgehend von den peracetylierten Geninen berechnet.

DISKUSSION DER ERGEBNISSE BEI HERZGLYKOSIDEN

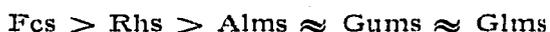
Polaritätsreihen der Zucker

In Tabelle II sind die aus den in Tabelle I der I. Mitt.¹ angegebenen R_M -Werten errechneten ΔR_M -Werte für β, D -Zucker zusammengestellt. Sie sind, falls nichts anderes vermerkt ist, auf Digitoxigenin und seine Glykoside bezogen. An den gekennzeichneten Stellen wurden andere Verbindungen der Berechnung zugrunde gelegt, weil hier die entsprechenden Digitoxigenin-Derivate fehlten. Dabei sind einige Werte mit "ca" versehen und nur mit zwei Dezimalstellen angegeben, da sie auf Grund der Schwierigkeiten, die bei den Berechnungen der Polaritätsbeiträge der "polyfunktionellen" Zucker auftreten, evtl. mit einer grösseren Unsicherheit behaftet sind.

Tabelle II enthält noch grosse Lücken. Jedoch ist bei den Hexamethylosen folgende Reihe geringer werdender Polaritätsbeiträge zu erkennen:



Für die acetylierten Zucker ergibt sich folgende Reihenfolge:

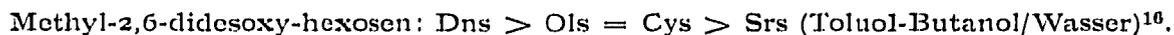
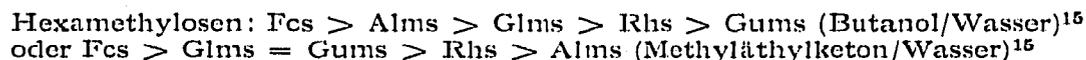
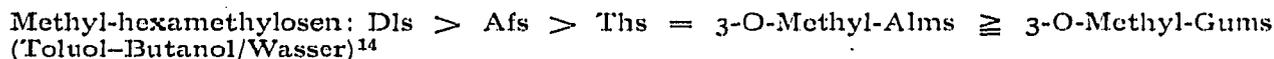
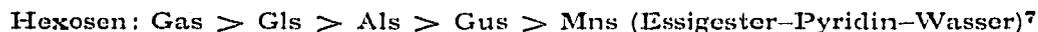


und für die 3-O-Methyl-didesoxy-hexosen findet man



Das bedeutet, dass in allen Fällen der Polaritätsbeitrag der Zucker mit Galaktose-Konfiguration (Fucose und Diginose) grösser ist als der mit Glucose-Konfiguration (Glucomethylose und Oleandrose)*. Selbst die Rhamnose (Mannose-Konfiguration) ist noch polarer als die Glucomethylose.

Das steht in guter Übereinstimmung mit den Befunden anderer Autoren an freien Zuckern, für die folgende Reihen geringer werdender Polarität aufgestellt werden konnten:

* *Anmerkung bei der Korrektur*

In einem Übersichtsreferat von W. W. ZORBACH UND K. VENKATRAMANA BHAT, *Advan. Carbohydrate Chem.*, 21 (1966) 273 wird an Stelle der ursprünglich angenommenen β, L -Konfiguration für das von uns untersuchte Strophanthidin-arabinosid (vgl. Nr. 128 der Tabelle I, I. Mitt.¹) die α, L -Konfiguration wahrscheinlich gemacht. Da zwischen der α, L -Arabinopyranose in der A-Form (vgl. Lit. 11, S. 370) und der N-Form der β, D -Fucose die gleichen strukturellen Beziehungen bestehen wie zwischen den N-Formen von β, D -Xylopyranose und β, D -Glucomethylose sollten auch die R_M -Wert-Relationen gleich sein, d.h. die Arabinose sollte wiederum polarer sein als die Xylose. Das steht in guter Übereinstimmung mit unseren Befunden (vgl. die Strophanthidin-Derivate 128 und 127 und die Digitoxigenin-Derivate 23 und 13 aus Tabelle I, I. Mitt.), wodurch die Vermutung ZORBACHS erhärtet wird.

Bei dem Versuch einer Deutung dieser z.T. recht überraschenden Polaritätsfolgen müssen nach unserer Ansicht zunächst 3 Gesichtspunkte berücksichtigt werden:

(1) Eine axiale Hydroxy-Gruppe ist weniger polar als eine äquatoriale. Dieser Effekt ist offensichtlich stärker ausgeprägt an den C-Atomen 1 und 3, bei denen eine axiale Hydroxy-Gruppe in Wechselwirkung mit zwei synaxialen Wasserstoffatomen tritt, während im Fall der C-Atome 2 und 4 nur ein synaxiales H-Atom vorhanden ist, wobei angenommen wird, dass die Abschirmung durch das eine freie Elektronenpaar des Ringsauerstoffatoms geringer ist als die durch ein axiales Wasserstoffatom (vgl. dazu Lit. 11, S. 372 ff).

(2) Eine axiale Hydroxy-Gruppe führt zu einer Abschirmung des Zuckermoleküls auf der von ihr eingenommenen Seite. Das bedeutet eine geringere Möglichkeit zur Wechselwirkung der apolaren mobilen Phase mit den apolaren C-H-Bindungen des Moleküls, d.h. eine Erniedrigung der R_F -Werte (vgl. JÄGER *et al.*¹⁰). Hierbei sollte die Wirkung eines axialen Hydroxyls an C₄ besonders gross sein, da über eine Wasserstoffbrücke zum Ringsauerstoff die ganze Molekülseite für hydrophobe Wechselwirkungen blockiert wird. Das einzige bei der Galaktose-Konfiguration auf dieser Seite stehende Wasserstoffatom (an C₂) ist allseitig von hydrophilen Gruppen umgeben. In Fig. 2 sind zur Veranschaulichung dieses Effektes die Kalottenmodelle von Glucomethylose und Galaktomethylose (= Fucose) wiedergegeben.

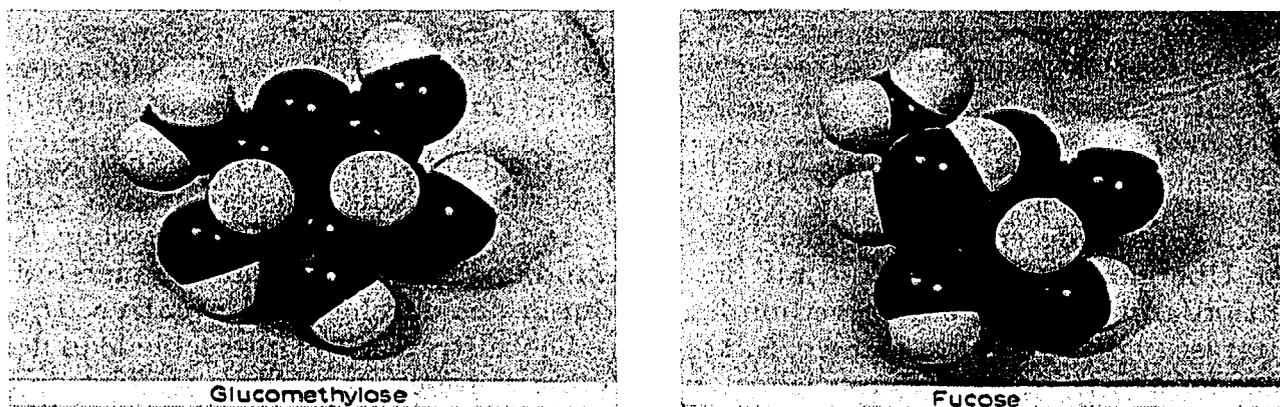


Fig. 2. Kalottenmodelle von β ,D-Glucomethylose und β ,D-Fucose.

(3) Schliesslich glauben wir, neben den sterischen Gründen auch noch intramolekulare H-Brücken in Betracht ziehen zu müssen. Diese sind bei der Glucose-Konfiguration, die als einzige unter den β ,D-Zuckern die Möglichkeit zur Ausbildung einer maximalen Zahl von gleichwertigen, "konjugierten" Wasserstoffbrücken bietet, besonders begünstigt (vgl. Fig. 3). In Fig. 3 haben wir an den Bindungen durch Pfeile die Änderungen der Torsionswinkel angezeigt, die notwendig sind, um die Hydroxy-Gruppen in eine für die Ausbildung von Wasserstoffbrücken geeignete koplanare Lage zu bringen. Nur in der all-*trans*-Konfiguration der Glucose sind die Bewegungen der Hydroxy-Gruppen so gerichtet, dass sie die H-Brücke zu beiden benachbarten Sauerstoff-Funktionen verstärken.

Mit diesen drei Annahmen kann allerdings nur ein Teil der experimentellen Ergebnisse erklärt werden. So müsste hiernach z.B. die Gulose-Konfiguration polarer sein als die Allose-Konfiguration (vgl. dazu auch die Konformationsangaben in Tabelle I). Das ist jedoch nur in einer der der Literatur entnommenen Polaritätsreihen der Fall und trifft bei unseren Ergebnissen mit Herzglykosiden nur für die 2,6-Di-desoxy-hexosen (Boivinoose, Digitoxose) zu, während die 6-Desoxy-hexosen, Gulomethylose und Allomethylose, praktisch gleiche Polaritätsbeiträge liefern.

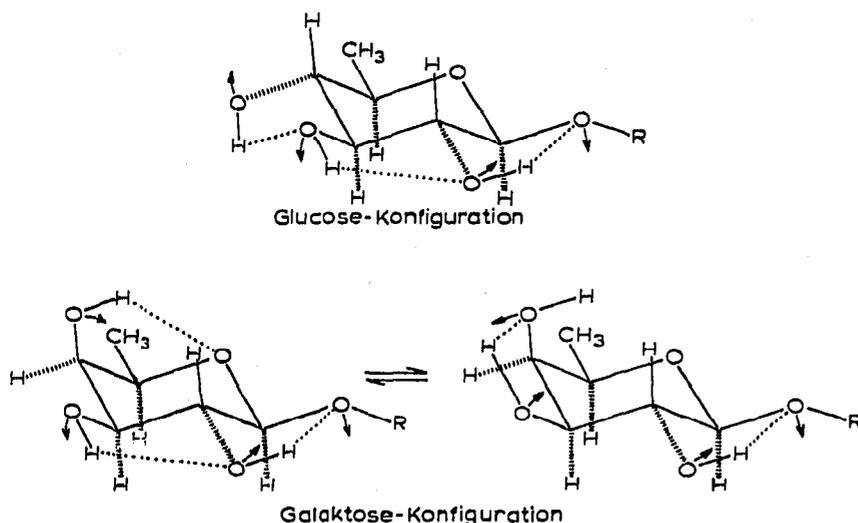


Fig. 3. Ausbildung intramolekularer Wasserstoffbrücken bei Zuckern.

Darüber hinaus bietet die Interpretation derjenigen ΔR_M -Werte Schwierigkeiten, die bei der Überführung von β ,D-Glykosiden in die diastereomeren α ,D- bzw. α ,L-Glykoside erhalten werden (vgl. Tabelle III). Stereochemisch gesehen ist dieser Übergang in allen Fällen mit der Umwandlung der äquatorialen Sauerstoff-Funktion an C_1 in eine axiale verbunden, wodurch das durchgehend negative ΔR_M bedingt ist (vgl. die Punkte 1 und 2, S. 144–145). Die auftretenden Unterschiede in der Grösse der Werte sind hierdurch jedoch nicht ohne weiteres zu erklären.

Besonders fallen die beträchtlichen Differenzen zwischen den ΔR_M -Werten für Digitoxose und Rhamnose auf der einen Seite und Thevetose auf der anderen Seite auf. Bei der Digitoxose ist das Auftreten eines negativeren Wertes verständlich, da die hier vorhandene axiale Sauerstoff-Funktion an C_1 in der α ,D-Digitoxose über eine starke Wasserstoffbrücke an die koplanare, *cis*-axiale Hydroxy-Gruppe an C_3 gebunden ist und die Knüpfung dieser Wasserstoffbrücke einen zusätzlichen Polaritätsverlust bedingt. Für den Wert der Rhamnose, von der sich die Thevetose nur durch die Methylierung der Hydroxy-Gruppe an C_3 und in der Konfiguration an C_2 unterscheidet (Rhamnose hat eine axiale, Thevetose eine äquatoriale Hydroxy-Gruppe), können jedoch intramolekulare Wasserstoffbrücken kaum zur Erklärung herangezogen werden. Es bleibt daher die Vermutung, dass die *trans*-diaxiale Anordnung der Sauerstoff-Funktionen an C_1 und C_2 in der α ,D- und α ,L-Rhamnose gegenüber der *cis*-äquatorial-axialen Anordnung in der α ,L-Thevetose durch Dipol-Dipol-Wechselwirkungen zu einer Polaritätsverminderung d.h. in diesem Falle zu

einer Vergrößerung der R_M -Wert-Differenz führt. Bemerkenswerterweise liegt auch bei der Gulose-Konfiguration, deren Polarität, wie oben erwähnt, niedriger ist, als nach den drei Annahmen (S. 144–145) zu erwarten wäre, eine solche *trans*-diaxiale Anordnung an den C-Atomen 3 und 4 vor. Möglicherweise spielen deshalb die Dipolmomente der Zucker für ihr chromatographisches Verhalten eine wichtige Rolle (zum Einfluss von Dipolmomenten bei Aromaten vgl. z.B. die Diskussion von MARCINKIEWICZ UND GREEN¹⁷). Leider konnten wir jedoch in der Literatur keine Angaben über die Grösse der Dipolmomente von Zuckern finden, und ihre rechnerische Ermittlung erschien uns, in Anbetracht der intramolekularen Wechselwirkungen der einzelnen Gruppen, zu kompliziert.

Aus Tabelle III ist weiter zu entnehmen, dass die beiden diastereomeren α ,D- und α ,L-Rhamnoside des Strophanthidins praktisch gleiche Polarität in allen von uns untersuchten Systemen haben. Dieser Befund ist im Zusammenhang mit dem bisher gesagten nur verständlich, wenn keine Wechselwirkungen zwischen Zuckerkette und Genin auftreten. Für die α ,D- und α ,L-Glykoside mit *cis*-Verknüpfung zwischen Ring A und B des Steroidteils sind im Gegensatz zu den β ,D- und β ,L-Glykosiden solche Wechselwirkungen nicht ohne weiteres auszuschliessen, wenn die Zucker in der N-Form vorliegen. Wir glauben aber aus der Übereinstimmung zwischen den ΔR_M -Werten in Tabelle III für die im Steroidring A ausser an C₃ unsubstituierten Digitoxigenin-rhamnoside und die beiden Paare der im Ring A noch zweifach mit polaren Substituenten versehenen Strophanthidin-rhamnoside schliessen zu können, dass die wechselseitige Beeinflussung der polaren Gruppen im Zuckermolekül und im Genin—z.B. durch die Ausbildung einer Wasserstoffbrücke—so klein ist, dass sie vernachlässigt werden kann. Eine derartige Wasserstoffbrücke würde zu der Ausbildung eines Ringes mit 9–11 Gliedern führen und ist offenbar wegen des hohen Energiegehalts von Ringen dieser Grösse überhaupt nicht oder wenigstens in Lösung nicht beständig. Die in Tabelle III eingetragenen Werte für die diastereomeren β ,D- und α ,L-Thevetoside des Digitoxigenins sind unserer Meinung nach deshalb mit denen der anderen Verbindungen durchaus vergleichbar.

TABELLE III

 ΔR_M -WERTE FÜR DIE ÜBERFÜHRUNG VON β ,D-GLYKOSIDEN IN DIE α ,D- BZW. α ,L-ISOMEREN

Glykoside	Systeme				
	0	I	II	III	IV
Dg- β ,D-digitoxosid (= Evatromonosid) (5)	—0.403	—0.308	—0.373	—	—
Dg- α ,D-digitoxosid (6)	—	—	—	—	—
Dg- β ,D-rhamnosid (29)	—	—	—0.488	—0.303	—0.396
Dg- α ,D-rhamnosid (28)	—	—	—	—	—
Strophanthidin- β ,D-rhamnosid (122)	—	—	—	—0.328	—0.331
Strophanthidin- α ,D-rhamnosid (121)	—	—	—	—	—
Strophanthidin- β ,D-rhamnosid (122)	—	—	—0.403	—0.305	—0.317
Strophanthidin- α ,L-rhamnosid (= Convallatoxin) (120)	—	—	—	—	—
Dg- β ,D-thevetosid (= Honghelin) (19)	—0.148	—0.093	—0.091	—	—
Dg- α ,L-thevetosid (= Neriifolin) (20)	—	—	—	—	—

Bei Betrachtung der aus unseren Versuchen abgeleiteten Polaritäts-Reihen der Zucker und denen der Literatur fällt auf, dass wir für die Rhamnose einen relativ hohen Polaritätsbeitrag finden, während in den Folgen der anderen Autoren die Mannosekonfiguration stets ziemlich apolar ist. Wir führen das auf den wohl durch den Δz -Effekt bedingten hohen Anteil der apolaren α -Form im Anomerengemisch der von der Mannose abgeleiteten freien Zucker zurück. Die Untersuchung von Glykosiden vermittelt hier ein klareres Bild.

Das komplizierte Zusammenspiel der oben genannten Faktoren führt zu einem recht unterschiedlichen Einfluss der Zuckerkette auf das chromatographische Verhalten des Genins. Es ist aus diesem Grunde heute noch unmöglich, im Sinne der R_M -Wert-Theorie den Polaritätsbeitrag eines Zuckermoleküls aus den einzelnen Gruppen-Inkrementen zu errechnen. Wir haben deshalb jeden Zucker als funktionelle Einheit behandelt und seinen ΔR_M -Wert gesondert bestimmt.

Erwartungsgemäss ändert sich der ΔR_M -Wert eines Zuckers, wenn die nähere Umgebung oder die Polarität der die glykosidische Bindung eingehenden Hydroxy-Gruppen verschieden sind. In Tabelle IV sind als Beispiel die Werte für den Polaritätsbeitrag der Glucose zusammengestellt. Obwohl die hierbei auftretenden Werte in weiten Grenzen variieren, stimmen sie doch an den Stellen gut überein, an denen die Glucose mit dem gleichen Zuckermolekül verknüpft ist oder wo die Stereochemie der näheren Umgebung der Verknüpfungsstelle (C_4) unverändert ist (vgl. die Paare Glucose/Glucomethylose, Boivinose/Gulomethylose). Auch hier findet sich also bei Beachtung der besonderen Gegebenheiten die MARTIN'sche Theorie bestätigt (vgl. hierzu auch den folgenden Absatz und Tabelle V).

TABELLE IV

 ΔR_M FÜR GLUCOSE IN DER VERKNÜPFUNG MIT VERSCHIEDENEN ZUCKERN

An Glykosid	Endständiger Zucker	ΔR_M -Werte im dem Systemen	
		III	IV
Convallatoxin (120/123)	Rhamnose	+ 1.455	+ 1.709
Desglucohellebrin (135/136)	Rhamnose	+ 1.458	+ 1.638
Desacetyl rhodexin B ^a (52/65)	Rhamnose	+ 1.277	+ 1.622
Desglucouzarin (36/37)	Glucose	+ 1.509	+ 1.780
Dg-glucomethylosid (13/14)	Glucomethylose	+ 1.397	+ 1.889
Helveticosid (118/119)	Digitoxose	+ 1.955	+ 2.266
Digoxin (74/78)	Digitoxose	+ 1.856	+ 2.243
Gitosid (43/44)	Digitoxose	+ 1.841	+ 2.179
Gitoxin (45/47)	Digitoxose	+ 1.840	+ 2.075
Odosid H (2/3)	Digitalose	+ 1.373	+ 1.951
Strospesid (48/49)	Digitalose	+ 1.537	+ 1.904
Verodoxin (61/62)	Digitalose	+ 1.365	+ 1.991
Corchorosid A (129/130)	Boivinose	+ 1.819	—
Desglucoericordin (102/103)	Gulomethylose	+ 1.936	+ 1.831

^a Vgl. dazu die Berechnungen für Rhodexin C, S. 157-160.

TABELLE V

 ΔR_M -WERTE DER ZUCKER IN 5-UNSUBSTITUIERTEN UND 5 β -HYDROXYLIERTEN CARDENOLIDEN UND BUFADIENOLIDEN

Zucker	Genin (Genin/Glykosid)	ΔR_M -Werte in den Systemen				
		I	II	III	IV	
α ,L-Rhamnose	Gitoxigenin (42/52)	+ 0.014	—	+ 1.354	+ 0.717	+ 0.863
	Sarmentogenin (82/83)	+ 0.015	—	+ 1.330	+ 0.651	+ 0.883
	Adonitoxigenin (104/105)	— 0.026 ^o	—	+ 1.289	+ 0.818	+ 0.989
	Adonitoxigenol ^b (aus 101/107)	— 0.092 ^e	—	—	+ 0.771	+ 0.958
	Strophanthidin (114/120)	+ 0.123	+ 0.889	+ 1.737	+ 1.186	+ 1.394
	Hellebrigenin (134/135)	— 0.267	—	—	+ 1.075	+ 1.471
	Strophanthidol (137/138)	— 0.175	—	—	+ 1.259	+ 1.435
	Antiogenin (108/109)	— 0.124 ^o	—	—	+ 1.118	+ 1.398
Antiarigenin (110/112)	— 0.221 ^o	—	—	+ 1.297	+ 1.400	
α ,D-Rhamnose	Digitoxigenin (1/28)	— 0.148	—	+ 1.189	+ 0.779	+ 0.768
	Strophanthidin (114/121)	— 0.206	—	—	+ 1.163	+ 1.380
β ,D-Rhamnose	Digitoxigenin (1/29)	+ 0.532	—	+ 1.677	+ 1.078	+ 1.164
	Strophanthidin (114/122)	+ 0.112	—	+ 2.140	+ 1.491	+ 1.711
β ,D-Digitoxose	Digitoxigenin (1/5)	+ 0.048	+ 0.167	+ 0.081	—	—
	Gitoxigenin (42/43)	+ 0.029	+ 0.160	+ 0.070	— 0.038	— 0.014
	Digoxigenin (71/72)	—	+ 0.179	+ 0.099	+ 0.005	— 0.043
	Uzarigenin (33/34)	+ 0.159	+ 0.150	+ 0.075	—	—
	Strophanthidin (114/118)	— 0.298	+ 0.386	+ 0.379	+ 0.301	+ 0.274
β ,D-Diginose	Digitoxigenin (1/27)	+ 0.520	— 0.126	— 0.167	—	—
	Uzarigenin (33/35)	+ 0.508	— 0.135	— 0.203	—	—
	Strophadogenin (145/146)	—	—	+ 0.206	+ 0.116	+ 0.136
β ,D-Cymarose	Cannogenin (97/98)	—	— 0.445	— 0.696	—	—
	Strophanthidin (114/115)	— 0.435	— 0.325	— 0.488	(— 0.188)	— 0.503
	Strophanthidol (137/138)	— 0.439	— 0.307	— 0.389	— 0.124	— 0.335
	Strophanthidinsäure (142/143)	—	— 0.229	— 0.341	—	—
β ,D-Gulo-methylose	Cannogenol (101/102)	+ 0.349	—	—	+ 0.699	+ 0.826
	Antiarigenin (110/111)	— 0.199 ^o	—	—	+ 1.072	+ 1.168
	Strophanthidin (114/131)	— 0.087	—	—	+ 0.922	+ 1.141
β ,D-Glucose	Uzarigenin (33/36)	+ 0.612	—	+ 2.920	—	—
	Digitoxigenin (1/18)	+ 0.836	—	+ 2.853	+ 1.850	+ 2.233
	Strophanthidin (114/124)	—	—	—	+ 2.177	+ 2.586

^a Die hier angegebenen Werte beziehen sich wie schon in Tabelle II auf die peracetylierten Zucker und die peracetylierten Genine (vgl. Diskussion).

^b Adonitoxigenol stand nicht zur Verfügung. Der R_M -Wert der Verbindung wurde aus Cannogenol und dem aus Tabelle II der II. Mitt. entnommenen Wert für eine 16 β -Hydroxy-Gruppe berechnet.

^c Die hier zugrunde liegenden R_M -Werte der peracetylierten Genine (Diacetylodonitoxigenin, Triacetylodonitoxigenol, Diacetylantiogenin, Diacetylantiarigenin) wurden ihrerseits berechnet.

Wirkung intramolekularer Wasserstoffbrücken im Genin auf das ΔR_M der Zucker

In der II. Mitt.² wurde der höhere Polaritätsbeitrag einer 5β -Hydroxy-Gruppe in Glykosiden gegenüber den entsprechenden Geninen damit erklärt, dass die Wasserstoffbrücke zur koplanaren Sauerstoff-Funktion an C_3 schwächer wird, wenn der Sauerstoff durch Glykosidierung an Basizität verliert (vgl. S. 132). Der gleiche Effekt kommt in den ΔR_M -Werten für die Zucker zum Ausdruck, die, wie Tabelle V zeigt, einen höheren Polaritätsbeitrag bei Einführung in ein 5β OH-Genin verglichen mit einem 5β H-Genin liefern. Wenn man dagegen die in System 0 angegebenen Differenzen zwischen den peracetylierten Geninen und Glykosiden vergleicht, so findet man das Umgekehrte. Die ΔR_M -Werte geben in diesem Fall jedoch die Polaritätsänderung bei dem Austausch der O-Acetylgruppe an C_3 gegen das jeweilige peracetylierte Zuckermolekül wider. Der ΔR_M -Beitrag ist bei den 5β OH-Steroiden um 0.1–0.4 kleiner als bei den 5β H-Verbindungen. Dies hat seinen Grund darin, dass, wie ebenfalls schon in der II. Mitt. ausgeführt, der Estersauerstoff der Acetylgruppe wahrscheinlich nicht mehr zur Bildung von Wasserstoffbrücken befähigt ist. Bei der Überführung eines 3-O-Acetyl-Genins in ein 3-O-Glykosid tritt bei den 5β OH-Geninen eine Neuknüpfung der Wasserstoffbrücke und damit ein Polaritätsverlust auf (vgl. Tabelle II der II. Mitt.²). Die oben angeführten 0.1–0.4 R_M -Wert-Einheiten sind daher ein Mass für die unterschiedliche Basizität von glykosidischem Sauerstoffatom und Ester-Sauerstoffatom.

Besondere Ergebnisse mit peracetylierten Verbindungen

Nach der R_M -Wert-Theorie muss gefordert werden, dass das ΔR_M für die Reaktion Genin-O-Zucker \rightarrow Genin-O-Peracetyl-Zucker für den jeweiligen Zucker konstant sein sollte. Das wird durch die in Tabelle VI angegebenen Beispiele belegt.

Anders ist es bei Digitoxigenin- α ,D-digitoxosid (6), bei dem zwar die gleichen Hydroxy-Gruppen acetyliert werden wie in den anderen Monodigitoxosiden, wobei aber nur ein ΔR_M von -1.037 auftritt. Die Erklärung hierfür ist in der starken Wasserstoffbrücke zwischen den synaxialen Sauerstoff-Funktionen an C_3 und C_1 , bei der α ,D-Digitoxose zu suchen, die bei der Acetylierung gelöst wird.

Schliesslich soll noch erörtert werden, welchen Einfluss auf den R_M -Wert Unterschiede in der Verknüpfung zweier Zucker haben. Für die beiden Paare Glucodigifucosid/Neoglucodigifucosid (24/25) und Odorobiosid G/Neodorobiosid G (3/4) findet man, dass jeweils die Neo-Verbindung polarer ist (vgl. Tabelle I der I. Mitt.¹). Alle vier Verbindungen sind Digitoxigeninderivate. Bei den ersten beiden bilden D-Fucose und D-Glucose, bei den letzten 3-O-Methyl-D-fucose (= D-Digitalose) und

TABELLE VI

ΔR_M -WERTE FÜR DIE ACETYLIERUNG VON HYDROXY-GRUPPEN AN ZUCKERN

<i>Diginose</i> \longrightarrow <i>Acetyl-</i> <i>diginose</i> <i>Glykosid</i>	ΔR_M -Werte im System 0	<i>Digitoxose</i> \longrightarrow <i>Acetyl-</i> <i>digitoxose</i> <i>Glykosid</i>	ΔR_M -Werte im System 0
Odorosid A (27)	—0.772	Evatromonosid (5)	—1.512
Odorosid B (35)	—0.815	Uzariigenindigitoxosid (34)	—1.358
Adynerin (156)	—0.794	Canarigenindigitoxosid (153)	—1.427

D-Glucose die Zuckerkette. Die beiden Verbindungen innerhalb der Paare unterscheiden sich darin, dass bei den Neoverbindungen eine 2,1- und bei den anderen die sonst übliche 4,1-Verknüpfung der beiden Zucker vorliegt. Die 2,1-Verknüpfung für Neodorobiosid G ist sicher, für Neoglucodigifucosid kann sie als wohl begründete Annahme gelten (vgl. Lit. 18 und 19). Da bei beiden Glykosidpaaren der Übergang von der normalen zur Neo-Verbindung theoretisch durch die Verschiebung der Glucose vom axialen Hydroxyl an C₄ zum äquatorialen an C₂ vor sich geht, sollte man, wenn die Strukturvorstellungen richtig sind, annähernd gleiche ΔR_M -Werte zwischen den Paaren erwarten, wie dies tatsächlich auch der Fall ist (vgl. Tabelle VII). Die gefundenen ΔR_M -Werte stützen also die Strukturvorstellungen für Neoglucodigifucosid. Selbst im apolaren System o, in dem die Reihenfolge der vier Substanzen als peracetylierte Verbindungen gegenüber den anderen Systemen sich umkehrt, stimmen die ermittelten ΔR_M -Werte gut überein.

TABELLE VII

 $\Delta R_{M-4,1} \rightarrow -2,1$ -VERKNÜPFUNG ZWISCHEN FUCOSE BZW. DIGITALOSE UND GLUCOSE

	Systeme			
	III	IV	V	o ^a
Odorobiosid (3/4)	+ 0.315	+ 0.451 ^b	+ 0.174	- 0.507
Glucodigifucosid (24/25)	+ 0.310	+ 0.255 ^b	+ 0.182	- 0.467

^a Untersuchung der peracetylierten Verbindungen.

^b Die Differenz zwischen diesen beiden Werten sehen wir nicht als signifikant an (vgl. S. 126), II. Mitt.).

Die Umkehr der Reihenfolge der Verbindungen im System o liegt darin begründet, dass die äquatoriale Methoxy-Gruppe im peracetylierten Odorobiosid G und Neodorobiosid G deutlich polarer ist als die entsprechende äquatoriale Acetoxy-Gruppe im peracetylierten Glucodigifucosid und Neoglucodigifucosid. Dadurch ist der Polaritätsbeitrag des Triacetyl-3-O-methyl-fucosido- (= Triacetyl-digitalosido-) Restes grösser als der des Tetraacetylfucosido-Restes (vgl. Tabelle II, System o (ac)), während für die unacetylierten Reste (Fucose, Digitalose) das Umgekehrte gilt (Systeme I-IV). Ähnliches wird bei Vergleich der entsprechenden Spalten in Tabelle II für das Paar Thevetose und Glucomethylose gefunden. Eine Erklärung für dieses Verhalten könnte im Folgenden zu suchen sein. Durch Resonanz ist die freie Drehbarkeit der —CO—O-Einfachbindung aufgehoben und der Acyl-Sauerstoff positiviert (Fig. 4). Da für die Acetyl-Gruppe die cisoide Konformation wahrscheinlich ist (vgl. ELIEL *et al.*¹¹), liegt ein äquatoriales Acetoxyl an einem Sechsring in Sesselkonformation in zwei energetisch bevorzugten Formen vor, deren eine in Fig. 4a gezeigt ist*. Der polare Teil, die Carbonyl-Gruppe, erscheint hier von den zwei axialen Wasserstoffatomen abgeschirmt. Der apolare Teil, die Methyl-Gruppe, ist frei zugänglich. Die Methyl-Gruppe eines äquatorialen Methoxyls ist ebenfalls sterisch

* Bemerkenswerterweise findet MATHIESON²⁰ in Kristallen ausschliesslich die hier nicht dargestellte andere Konformation (man erhält diese durch Drehen der Acetoxy-Funktion in Fig. 4a um die O—C-Einfachbindung um 180°). Die oben im Folgenden dargestellte Argumentation gilt jedoch für beide Formen in prinzipiell gleicher Weise.

ungehindert. Der Unterschied in der Polarität beider Gruppierungen geht also auf die beträchtlich höhere Basizität des Äther-Sauerstoffs verglichen mit dem Acyl-Sauerstoff zurück (vgl. auch MATHIESON²⁰).

Bei den entsprechenden axialen Gruppen tritt offensichtlich der umgekehrte Effekt auf (vgl. Digitoxose-Cymarose in Tabelle II). Das muss hauptsächlich auf die sterische Abschirmung des polaren Teils der Methoxy-Funktion, des Äther-Sauerstoffs, in axialer Lage zurückgeführt werden. Leider liegt hier nur ein Wert vor, der etwas unsicher ist.

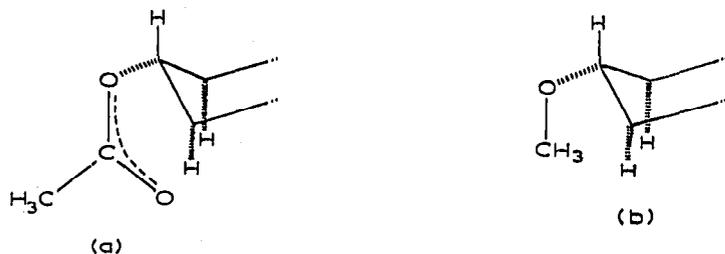


Fig. 4. Räumliche Lage einer äquatorialen Acetoxy- und einer äquatorialen Methoxy-Gruppe.

R_M -WERT-BERECHNUNGEN

Das wichtigste Anwendungsgebiet der MARTIN'schen Theorie ist die in der Einleitung zur II. Mitt.² erläuterte Vorausberechnung von R_M - und R_F -Werten. Hierdurch wird einerseits der gezielte Einsatz chromatographischer Trennverfahren erleichtert, andererseits bei Vergleich von experimentell ermittelten R_M - (R_F -)Werten ein Verfahren zur chromatographischen Strukturanalyse erhalten. In einigen Berechnungsbeispielen soll im folgenden die gute Anwendbarkeit der Methode auch bei Herzglykosiden und ihren Geninen unter Beweis gestellt werden.

Berechnung des R_M -Wertes des Digitoxigenins (I) in den Systemen III und IV

Digitoxigenin liegt in beiden Systemen ausserhalb des auswertbaren R_F -Wert-Bereiches. Es ist aber als Bezugssubstanz (R_M^0) für die anderen Verbindungen wichtig, da alle durch Substitution oder Isomerisierung des Digitoxigenins entstanden gedacht werden können. Bei der Aufstellung von Berechnungsmöglichkeiten (Tabelle VIII) steht an erster Stelle die Ausgangssubstanz. Es folgen die Gruppe, um die sich die Ausgangssubstanz von Digitoxigenin unterscheidet, und in Klammern die Verbindungen, aus deren R_M -Werten der Polaritätsbeitrag dieser Gruppe berechnet wird.

Berechnung des R_M -Wertes von Antiogenin (108)

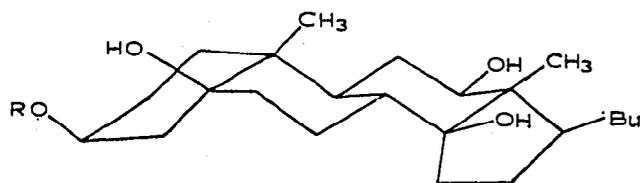
Das Genin stand uns nicht zur Verfügung und wurde bei der sauren Spaltung aus Antiosid (vgl. I. Mitt.¹, Experimentelles) neben einer grösseren Menge von Anhydroprodukten erhalten. Der auf den Chromatogrammen auftretende Hauptfleck wurde als Antiogenin angesehen, was durch die in Tabelle IX angegebenen Rechnungen bestätigt werden konnte.

TABELLE VIII

 R_M -WERTE VON DIGITOXIGENIN (1)

	R_M -Wert in den Systemen	
	III	IV
Gitoxigenin (42), 16 β -Hydroxyl (Diginatigenin (79)/Digoxigenin (71))	-1.248	-1.365
Gitoxigenin (42), 16 β -Hydroxyl (Strophadogenin (145)/Strophanthidin (114))	-1.279	-1.490
Strosesid (48), 16 β -Hydroxyl; - β ,D-Dls (Diginatigenin (79)/Digoxigenin (71); (Sarmetogenin (82)/Sarnovid (84))	-1.242	-1.498
Digoxigenin (71), 12 β -Hydroxyl (Antiariagenin (110)/Strophanthidin (114))	-1.203	-1.415
Lanatosid A (11), (β ,D-Dxs) ₂ -Ac- β ,D-Dxs- β ,D-Gls (Lanatosid B (46)/Gitoxigenin (42))	-1.291	-1.279
Purpureaglykosid A (12), (- β ,D-Dxs) ₃ - β ,D-Gls (Purpureaglykosid B (47)/Gitoxigenin (42))	-1.297	-1.380
Cannogenol (101), 19-Hydroxyl (Adonitoxol (107)/Desacetyl-rhodexin B (52))	-1.337	-1.343
Cannogenin (97), 19-Oxo-Gruppe (Adonitoxigenin (104)/Gitoxigenin (42))	-1.335	-1.524
Mittelwert	-1.280	-1.412
Differenz der Extremwerte	0.134	0.245

TABELLE IX

 R_M -WERTE VON ANTIIOGENIN (108)

R = H = Antiogenin
 R = α L-Rhs = Antiosid

 R_M - und ΔR_M -Werte in den Systemen

I II III IV

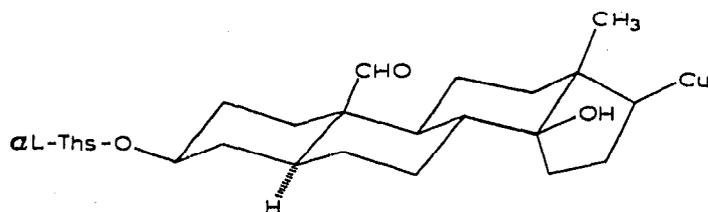
Digitoxigenin (1)	-0.189	-0.508	-1.280	-1.412
+ ΔR_M 5 β -Hydroxyl (vgl. Tabelle I der II. Mitt. ²)	+ 0.562	+ 0.714	+ 0.454	+ 0.615
+ ΔR_M 12 β -Hydroxyl (vgl. Tabelle I der II. Mitt. ²)	+ 1.166	+ 1.246	+ 0.905	+ 1.149
R_M Antiogenin ber. gef.	+ 1.539	+ 1.452	+ 0.079	+ 0.350
	+ 1.549	+ 1.547	+ 0.105	+ 0.499

Berechnung der R_M -Werte für Bovosid A und Scillaren A

Obwohl man aus Gründen, die in der II. Mitt.², S. 126 diskutiert wurden, stets versuchen sollte, bei der Berechnung des R_M -Wertes einer Substanz so wenig Inkremente wie möglich zu benutzen, d.h. als Ausgangspunkt eine Verbindung zu wählen, die strukturell der zu errechnenden möglichst nahe steht, haben wir im Folgenden an Bovosid A und Scillaren A zwei umfangreichere Berechnungen durchgeführt, weil die hier gefundene gute Übereinstimmung zwischen errechnetem und experimentell gefundenem Wert uns veranlasst hat, bei einigen untersuchten Herzglykosiden Zweifel an der Richtigkeit ihrer Struktur zu äussern. Wir haben für Bovosid A und Scillaren A z.T. zwei unterschiedliche Berechnungswege für ein chromatographisches System angegeben, um die Vielfalt der vorhandenen Möglichkeiten zu zeigen (Tabelle X und XI).

Die Übereinstimmung selbst bei so umfangreichen Berechnungen war auch in anderen Fällen befriedigend. Für Erycanosid (133), Syriogenin und seine Glykoside (167, 168) sowie für Rhodexin C (65) wurden jedoch R_M -Werte errechnet, die sich von den experimentell gefundenen stark unterschieden. Bei diesen Verbindungen haben wir daher versucht, auf Grund von Berechnungen und z.T. von Mikroreaktionen, zu einem neuen Strukturvorschlag zu kommen. Wir möchten diesen zunächst jedoch nur als Anregung zur Diskussion verstanden wissen, da es uns sicherlich nicht möglich war, alle Besonderheiten zu erfassen, die zu Störungen bei der Anwendung der R_M -Wert-Theorie führen können. Möglicherweise sind deshalb die von uns errechneten Werte noch geringfügig zu korrigieren.

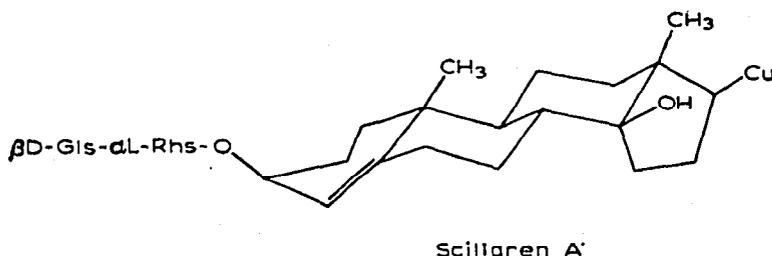
TABELLE X

 R_M -WERTE VON BOVOSID A (166)

Bovosid A

	R_M - und ΔR_M -Werte in den Systemen				
	II	III	IV		
Digitoxigenin (1)	—0.508	—	—1.280	—	—1.412
Cannogenin (97)	—	—0.841	—	—0.810	—
+ ΔR_M 19-oxo (1/97)	+0.650	—	—	—	—
+ ΔR_M 19-oxo (42/104)	—	—	+0.494	—	+0.714
+ ΔR_M 17 β -Butenolid \rightarrow 17 β -Cumalin (114/134)	—0.342	—0.166	—0.166	—0.403	—0.403
+ ΔR_M 5 β H \rightarrow 5 α H (1/33) oder (18/36)	+0.194	—	—	—	—
+ ΔR_M α ,L-Thevetose (1/20)	+0.305	+0.124	+0.124	+0.100	+0.100
+ ΔR_M α ,L-Thevetose (160/161)	—	+0.146	+0.146	+0.129	+0.129
R_M Bovosid A ber.	+0.299	—0.737	—0.682	—0.984	—0.872
gef.	+0.316	—0.747	—	—0.767	—

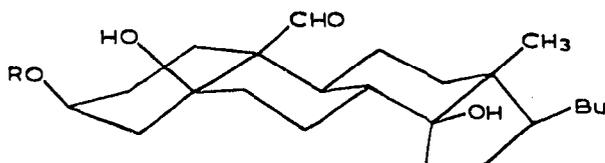
TABELLE XI

 R_M -WERTE VON SCILLAREN A (163)


	R_M - und ΔR_M -Werte in den Systemen			
	III		IV	
Digitoxigenin (I)	-1.280	—	-1.412	—
Glucocanaridigitoxosid (154)	—	+0.653	—	+0.829
+ ΔR_M 17 β -Butenolid \rightarrow 17 β -Cumalin (82/87)	-0.239	-0.239	-0.360	-0.360
- ΔR_M Digilanidobiose (42/44)	—	-1.803	—	-2.165
+ ΔR_M $\Delta^{4,5}$ (8/154)	+0.185	—	+0.162	—
+ ΔR_M α ,L-Rhamnose (Tabelle V)	+0.684	+0.684	+0.873	+0.873
+ ΔR_M β ,D-Glucose an Rhamnose (Tabelle IV)	+1.458	+1.458	+1.636	+1.636
R_M Scillaren A ber. gef.	+0.808	+0.753	+0.899	+0.813
		+0.552		+0.818

 Berechnung des R_M -Wertes von Erycanosid (133)

Erycanosid wurde von BAUER *et al.*²¹ aus *Erysimum canescens* Roth isoliert. Für die Verbindung wurde auf Grund von Abbauprobieren die Struktur eines Strophanthidin- β ,D-glucosido-2-desoxy- β ,D-glucosids vorgeschlagen.



R=H=Strophanthidin
 R=2-Desoxy- β D-Gls- β D-Gls=Erycanosid (Š. BAUER *et al.*)
 R=3'-Ac- β D-Dxs- α D-Gls=Erycanosid (unser Vorschlag)

Die uns von den Autoren grosszügigerweise übersandten beiden Proben des Glykosids stimmten im Schmelzpunkt miteinander und mit dem in der Originalarbeit²¹ angegebenen überein. Sie waren jedoch im Papierchromatogramm wesentlich weniger polar als nach dieser Struktur zu erwarten gewesen wäre (Tabelle XII).

Auf Grund unserer chromatographischen Untersuchungen und einiger zusätzlicher Mikroreaktionen (Kombination von enzymatischer und milder saurer Hydrolyse, Aufnahme eines I.R.-Spektrums, quantitative Acyl-Gruppen-Bestimmung) konnten wir für Erycanosid die Struktur eines Strophanthidin- α ,D-glucosido-3'-acetyl- β ,D-digitoxosids wahrscheinlich machen*. Danach würde es sich um das 3'-Acetyl-

* Eine ausführliche Mitteilung darüber befindet sich im Druck²².

TABELLE XII

 R_M -WERTE VON ERYCANOSID (133)

	R_M - und ΔR_M -Werte in den Systemen	
	III	IV
Strophanthidin (114)	-0.501	-0.250
+ ΔR_M 2-Desoxy- β ,D-glucose (1/17)	+ 1.102	+ 1.205
+ ΔR_M Dg- β ,D-glucose \rightarrow Strophanthidin- β ,D-glucosid (Tabelle V)	+ 0.327	+ 0.353
+ ΔR_M β ,D-Glucose an Glucomethylose (13/14) (vgl. Tabelle IV)	+ 1.397	+ 1.889
R_M Erycanosid ber.	+ 2.330	+ 3.223
gef.	+ 0.865	+ 1.475

Derivat des Eryperosids handeln, eines Glykosids, das 1960 von KOWALEWSKI *et al.*²³ aus *Erysimum perofskianum* Fisch. et Mey. isoliert wurde. Der neue Strukturvorschlag steht in guter Übereinstimmung mit allen physikalischen Daten und dem chromatographischen Verhalten von Erycanosid (Tabelle XIII).

TABELLE XIII

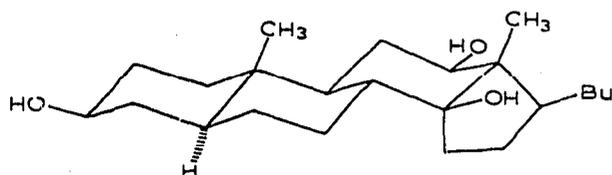
 R_M -WERTE VON ERYCANOSID

	R_M - und ΔR_M -Werte in den Systemen	
	III	IV
R_M Strophanthidin (114)	-0.501	-0.250
+ ΔR_M β ,D-Dxs (Tabelle V)	+ 0.301	+ 0.274
+ ΔR_M β ,D-Gls an Dxs (Mittelwert Tabelle IV)	+ 1.873	+ 2.191
+ ΔR_M β ,D-Gls \rightarrow α ,D-Gls ^a	ca. -0.1	ca. -0.1
+ ΔR_M Acetyl an Dxs (11/12)	-0.639	-0.640
R_M Erycanosid ber.	+ 0.934	+ 1.475
gef.	+ 0.865	+ 1.475

^a Die genaue Grösse des Korrekturgliedes für die ungewöhnliche Verknüpfung der Glucose ist ziemlich unsicher. Sie wurde ausgehend von den Werten für die stereochemisch verwandte Thevetose (vgl. Tabelle III) geschätzt.

Diskussion der Struktur von Syriogenin und seinen Glykosiden

Syriogenin, Syriobiosid (= Syriogenin-glucosido-rhamnosid) und Syriosid (= Syriogenin-glucosido-glucosido-rhamnosid) wurden von MASLER *et al.*²⁴ aus *Asclepias syriaca* L. isoliert. Syriogenin konnte von uns leider nicht untersucht



Syriogenin

werden, da nur das Diacetat in minimaler Menge zur Verfügung stand. Die Verbindung sollte aber als 5-Iso-digoxigenin um $+0.1-0.2 R_M$ -Wert-Einheiten von Digoxigenin verschieden sein. Unter Berücksichtigung dieser Annahme müsste man für Syriobiosid und Syriosid je eine Glucose weniger veranschlagen, um zumindest zu einer annähernden Übereinstimmung zwischen zu fordernden und gefundenen Werten zu kommen.

Auch die von den Autoren angegebenen R_F -Werte für Syriogenin (0.72, $R_M - 0.410$), Syriobiosid (0.40, $R_M + 0.176$) und Syriosid (0.05, $R_M + 1.279$) im System Toluol-Butanol-Wasser (2:1:3) sprechen gegen die vorgeschlagenen strukturellen Beziehungen der drei Verbindungen. So müsste der ΔR_M -Wert zwischen den beiden ersten ($+0.586$) dem Polaritätsbeitrag einer Rhamnose plus einer Glucose und der ΔR_M -Wert zwischen Syriobiosid und Syriosid ($+1.103$) dem einer β ,D-Glucose entsprechen. Das bedeutet aber, auch in Anbetracht der von den Autoren vermuteten unterschiedlichen Konfiguration der beiden Glucosemoleküle, einen stark negativen ΔR_M -Wert für die Rhamnose, was in diesem Polaritätsbereich unmöglich ist (vgl. dazu Tabelle II).

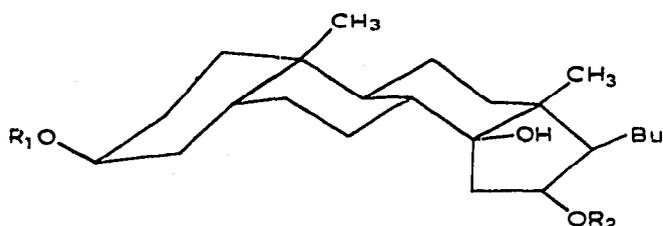
Auf eine detaillierte Berechnung von R_M -Werten für die drei Verbindungen in unserem System haben wir aus folgenden Gründen jedoch zunächst verzichtet:

(1) Die Konstitution des Syriogenins muss als fraglich bezeichnet werden, da die hierzu angestellten Untersuchungen unseres Erachtens zu wenig beweiskräftig sind. Das Ausbleiben der für die 12β -Hydroxy-steroiden charakteristischen stahlblauen Fluoreszenz nach Behandlung mit Trichloressigsäure-Chloramin bei den von uns untersuchten Syriogenin-Glykosiden spricht z.B. gegen das Vorliegen einer 12β -Hydroxy-Gruppierung. Auch die für die beiden Glykoside von den Autoren mitgeteilten Toxizitätswerte an der Katze (Syriobiosid 0.191 mg/kg, Syriosid 0.313 mg/kg) würden bei der Annahme einer 5β H-Struktur leichter verständlich sein, da es nur wenige Beispiele dafür gibt, dass auch 5α H-Cardenolide eine solche hohe Giftigkeit besitzen (vgl. Gofrusid und Frugosid, Lit. 4, S. 191).

(2) In den von uns benutzten Systemen traten bei der Chromatographie sowohl von Syriobiosid als auch von Syriosid zwei etwa gleichstarke Flecken auf. Beide uns übersandte Proben bestehen deshalb aus Gemischen von zwei Substanzen, die sich in ihrer Polarität geringfügig, aber deutlich unterscheiden.

Untersuchungen an Rhodexin C (65)

Die Rhodexine A, B und C wurden 1951 von NAWA aus der japanischen Liliacee *Rhodea japonica* Roth isoliert und in ihrer Struktur untersucht²⁵. 1958 korrigierten NAWA UND UCHIBAYASHI²⁶ die von NAWA 1951 angegebene Konstitution der Rhodexine B und C, nachdem sie aus den Produkten der Mannich-Hydrolyse des



$R_1 = \alpha$ L-Rhs - β D-Gls; $R_2 = \text{Ac} = \text{Rhodexin C (H. NAWA)}$

$R_1 = \alpha$ L-Rhs - β D-Gls; $R_2 = \text{H} = \text{Rhodexin C (unser Vorschlag)}$

Rhodexin B Oleandrigenin isoliert hatten. Da die 1951 durchgeführte enzymatische Hydrolyse von Rhodexin C zu Rhodexin B zu führen schien, ergab sich für beide Verbindungen anstelle der ursprünglich angenommenen Gitoxigenin-Glykoside die Struktur von 16-Acetyl-gitoxigenin-Glykosiden, d.h. Oleandrigenin- α ,L-rhamnosid für Rhodexin B und Oleandrigenin- β ,D-glucosido- α ,L-rhamnosid für Rhodexin C.

Bei unseren Untersuchungen zeigte Rhodexin B ein Verhalten, das mit dieser Struktur in Übereinstimmung steht. Für Rhodexin C stellte sich dagegen folgendes heraus:

(1) Bei einer Mikroverseifung mit KHCO_3 entsprechend der Vorschrift in der I. Mitt.¹ wurde Rhodexin B glatt zu Desacetyl-rhodexin B gespalten. Rhodexin C blieb unverändert.

(2) Die gefundenen ΔR_M -Werte für Glucose an Rhamnose (in Tabelle IV) stimmen nur dann mit den entsprechenden anderen Werten überein, wenn man Rhodexin C (Zuckerkette: Rhs-Gls) mit Desacetyl-rhodexin B (Zucker: Rhs) vergleicht.

(3) Bei der Berechnung des R_M -Wertes von Scillaren A (163) in System V (vgl. dazu auch S. 155) muss Rhodexin C als Gitoxigenin-glucosido-rhamnosid eingesetzt werden, wenn eine Übereinstimmung von gefundenem und berechnetem Wert erreicht werden soll.

Bei der Durchführung der Berechnung ist zunächst die Ermittlung der R_M -Werte von Digitoxigenin und Gitoxigenin notwendig, weil deren experimentelle Bestimmung im System V nicht möglich ist. Dabei ist der Kürze halber jeweils nur eine Möglichkeit angeführt:

$$\text{Diginatigenin (79)} - \Delta R_M (12/78) - \Delta R_M (8/44) = \text{Digitoxigenin (Dg) (1)} \\ -0.432 - 0.515 - 0.363 = -1.310$$

$$\text{Diginatigenin (79)} - \Delta R_M (12/78) = \text{Gitoxigenin (42)} \\ -0.432 - 0.515 = -0.947.$$

Für das Scillaren A (163) ergibt sich hieraus der in Tabelle XIV angegebene Wert.

TABELLE XIV

 R_M -WERTE VON SCILLAREN A

	R_M - und ΔR_M - Werte im System V
Glucocanaridigitoxosid (154)	-0.331
$-\Delta R_M$ Digilanidobiose (aus Dg (s.o.) u. Glucoevatromonosid (8))	-0.900
$+\Delta R_M$ 17 β Butenolid \rightarrow 17 β Cumalin (120/135)	-0.167
$+\Delta R_M$ Rhs-Gls (aus Gitoxigenin (s.o.) und Rhodexin C (65))	+1.014
R_M Scillaren A ber.	-0.384
gef.	-0.329

(4) Ein Beweis dafür, dass mit Ausnahme der 16-Acetylgruppe die Struktur des Rhodexins C der von NAWA *et al.*²⁶ angegebenen entspricht, ist die gute Überein-

stimmung zwischen berechnetem und gefundenem Wert für das peracetylierte Rhodexin C (Tabelle XV).

(5) Mit Rhodexin C haben wir in Anlehnung an die von BAUMGARTEN UND NOVER²⁷ beschriebene Hydroxamsäuremethode wie folgt eine Mikroacetylbestimmung durchgeführt: 0.5 mg Substanz wurden in 0.5 ml Pyridin-Methanol (1:1) mit je 0.5 ml 2 N NH₂OH-HCl in Wasser und 3.5 N NaOH in Wasser versetzt und 5 Min. bei Zimmertemperatur aufbewahrt. Danach wurde die Lösung mit 0.55 ml HCl (HCl-Wasser, 2:1) angesäuert und mit 0.5 ml 0.37 M FeCl₃ in 0.1 N HCl vermischt.

TABELLE XV

 R_M-WERTE VON PERACETYL-RHODEXIN C

	<i>R_M- und ΔR_M- Werte im System 0</i>
Digitoxigenin (1)	+ 0.730
+ ΔR _M 16 β-O-Acetoxy (Peracetyl-odorosid H-Peracetyl-strospesid (2/48))	+ 0.366
+ ΔR _M Peracetyl-α,L-rhamnose (11-Monoacetyl-sarmentogenin, aus Diacetyl-sarmentogenin (82) und ΔR _M (3 βOH → 3 βOAc) s. Tabelle IV der II. Mitt. ² , Peracetyl-rhodexin A (83))	— 1.097
+ ΔR _M Peracetyl-glucose an Peracetyl-rhamnose (135/136) ^a	+ 0.401
<i>R_M</i> Peracetyl-rhodexin C ber. gef.	+ 0.400 + 0.487

^a Es handelt sich hier eigentlich um den Ersatz der Acetylgruppe im Zucker durch die Pentaacetyl-glucose.

Die Extinktion der entstandenen Färbung wurde sofort gegen eine Blindprobe bei 530 nm in der Schichtdicke von 0.5 cm bestimmt. In einem Parallelversuch wurden Oleandrogenin-tridigitoxosid (67), Diacetylgitoxin und Rhodexin C (65) geprüft und die in Tabelle XVI angegebenen Resultate erhalten.

Der Wert von 0.045 beim Rhodexin C entspricht der Lactongruppe im Cardenolidring, die ungefähr 1/3 der Extinktion einer Acylgruppe bedingt (vgl. Lit. 27).

Unter Berücksichtigung dieses Wertes wurden für Rhodexin C null, für Oleandrogenin-tridigitoxosid und Diacetyl-gitoxin jedoch die zu fordernde Anzahl von ein bzw. zwei Acetylgruppen/Molekül erhalten.

TABELLE XVI

ERGEBNIS DER MIKROACETYLBESTIMMUNG

	<i>E/μMol</i>
Diacetyl-gitoxin	0.310
Oleandrogenin-tridigitoxosid	0.165
Rhodexin C	0.045

Aus allen diesen Versuchen geht hervor, dass für Rhodexin C doch die ursprünglich angegebene Struktur eines Gitoxigenin- β ,D-glucosido- α ,L-rhamnosids richtig ist. Dieser Ansicht hat sich nach Kenntnis der von uns angestellten Untersuchungen auch Dr. NAWA angeschlossen*.

Die in diesem Teil der Arbeit angeführten Untersuchungen haben uns in der Meinung bestärkt, dass chromatographische Daten mit gutem Erfolg zu Strukturuntersuchungen bei Herzglykosiden herangezogen werden können, obwohl man dabei nur selten zu einem direkten Strukturvorschlag für eine vollkommen unbekannte Verbindung gelangen wird, da es im Allgemeinen zu viele Möglichkeiten der Addition und Subtraktion von ΔR_M -Werten gibt. Zumindest kann man jedoch, wenn bestimmte Hinweise auf den chemischen Bau einer Verbindung vorhanden sind, die Strukturmöglichkeiten stark einschränken. Neben anderen Befunden sollte deshalb stets auch der chromatographische für den Konstitutionsbeweis einer neuen Verbindung herangezogen werden.

DANK

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

ZUSAMMENFASSUNG

Unter Anwendung der R_M -Wert-Theorie wird am Beispiel von 15 Zuckern der Einfluss der Kohlenhydrat-Seitenkette auf das chromatographische Verhalten von Herzglykosiden und ihren Geninen diskutiert. Es wird versucht, die Unterschiede im Polaritätsbeitrag der Zucker auf Grund der Konformationstheorie, von intramolekularen Wasserstoff-Brücken, von sterischer Behinderung und von Dipolwechselwirkungen zu erklären. ΔR_M -Werte für die Acetylierung von Hydroxylgruppen und für Änderungen in der Konfiguration werden erörtert.

Ausgehend von chromatographischen Untersuchungen an etwa 180 Herzglykosiden und Geninen werden Beispiele für die Vorausberechnung von R_M -Werten gegeben. Anhand der Glykoside Erycanosid, Syriobiosid, Syriosid und Rhodexin C, deren chromatographisches Verhalten nicht in Übereinstimmung mit der vermuteten Struktur steht, wird der Wert der MARTIN'schen Theorie als Hilfsmittel bei der Strukturaufklärung demonstriert. Für Erycanosid und Rhodexin C können neue Strukturvorschläge unterbreitet werden.

SUMMARY

The influence of the carbohydrate moiety on the chromatographic behaviour of heart glycosides and their genins is demonstrated for 15 sugars using ΔR_M values.

* Dr. H. NAWA (Takeda Chemical Industries, Osaka, Japan) schrieb uns u.a. folgendes: "...I support your experimental results which suggest that Rhodexin C would be gitoxigenin-glucosido-rhamnoside and should be greatly obliged to you if you would write in your publication to that effect....". Wir möchten auch an dieser Stelle Herrn Dr. NAWA für sein freundliches Entgegenkommen danken.

On the basis of conformation theory, intramolecular hydrogen bonding, steric hindrance, and dipole interactions, an explanation for the differences between the polarity of these carbohydrates is presented. ΔR_M values arising from acetylation or configurational changes are discussed.

Starting from the chromatographic data of about 180 cardiac glycosides and genins examples for the calculation of R_M values are given. The application of MARTIN'S theory to problems of structure elucidation is shown with Erycanoside, Syriobioside, Syrioside, and Rhodexin C, the chromatographic behaviour of which does not correspond to their presumed chemical structure. For Erycanoside and Rhodexin C a revised structure is suggested.

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) 123.
- 3 CH. TAMM, *Proc. 1st Intern. Pharmacol. Meeting*, Vol. 3, Pergamon, Oxford, 1963, S. 11.
- 4 W. FÖRSTER, in G. BAUMGARTEN (Herausgeber), *Die herzwirksamen Glykoside*, Thieme, Leipzig, 1963.
- 5 K. REPKE, *Internist*, 7 (1966) 418.
- 6 T. REICHSTEIN UND EK. WEISS, *Advan. Carbohydrate Chem.*, 17 (1962) 65.
- 7 F. A. ISHERWOOD UND M. A. JERMYN, *Biochem. J.*, 48 (1951) 515.
- 8 D. FRENCH UND G. M. WILD, *J. Am. Chem. Soc.*, 75 (1953) 2612.
- 9 G. N. KOWKABANY, *Advan. Carbohydrate Chem.*, 9 (1954) 303.
- 10 R. E. REEVES, *Advan. Carbohydrate Chem.*, 6 (1951) 107.
- 11 E. L. ELIEL, N. L. ALLINGER, S. J. ANGYAL UND G. A. MORRISON, *Conformational Analysis*, Interscience, New York, 1965.
- 12 I. M. HAIS UND K. MACEK, *Handbuch der Papierchromatographie*, Bd. I, Fischer, Jena, 1963.
- 13 B. CAPON UND W. G. OVEREND, *Advan. Carbohydrate Chem.*, 15 (1960) 11.
- 14 P. MÜHLRADT, EK. WEISS UND T. REICHSTEIN, *Ann. Chem.*, 685 (1965) 253.
- 15 M. T. KRAUS, A. JÄGER, O. SCHINDLER UND T. REICHSTEIN, *J. Chromatog.*, 3 (1960) 63.
- 16 H. JÄGER, A. RAMEL UND O. SCHINDLER, *Helv. Chim. Acta*, 40 (1957) 1310.
- 17 S. MARCINKIEWICZ UND J. GREEN, *J. Chromatog.*, 10 (1963) 372.
- 18 F. KAISER, E. HAACK UND H. SPINGLER, *Ann. Chem.*, 688 (1965) 216.
- 19 F. KAISER, *Experientia*, 21 (1965) 575.
- 20 A. McL. MATHIESON, *Tetrahedron Letters*, (1965) 4137.
- 21 Š. BAUER, O. BAUEROVÁ, L. MASLER UND D. ŠIKL, *Experientia*, 18 (1962) 441.
- 22 L. NOVER, *Arch. Pharm.*, im Druck.
- 23 Z. KOWALEWSKI, H. JÄGER, O. SCHINDLER UND T. REICHSTEIN, *Helv. Chim. Acta*, 43 (1960) 957, 1280.
- 24 L. MASLER, Š. BAUER, O. BAUEROVÁ UND D. ŠIKL, *Coll. Czech. Chem. Commun.*, 27 (1962) 872, 895.
- 25 H. NAWA, *Proc. Japan Acad.*, 27 (1951) 436.
- 26 H. NAWA UND M. UCHIBAYASHI, *Chem. Pharm. Bull. (Tokyo)*, 6 (1958) 508.
- 27 G. BAUMGARTEN UND L. NOVER, *Arch. Pharm.*, 295 (1962) 311.