

CHROM. 3864

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

## VI. MITTEILUNG.\*\* PROBLEME DER DÜNNSCHICHTCHROMATOGRAPHISCHEN STRUKTURANALYSE UNTER VERWENDUNG VON SILICAGEL ALS SCHICHTMATERIAL

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

Sektion Pharmazie der Martin-Luther-Universität, Lehrstuhl für Pharmakognosie, Halle, Forschungslaboratorium des VEB Ysa, Wernigerode, Institut für Biochemie der Pflanzen der Deutschen Akademie der Wissenschaften zu Berlin, Halle (D.D.R.)

(Eingegangen am 31. Oktober 1968)

## SUMMARY

*The relationship between chemical structure and chromatographic behaviour of heart glycosides. VI. Problems encountered in thin-layer chromatographic structure determination using silica gel as adsorbent.*

On the basis of thin-layer chromatographic data for more than 160 heart glycosides and genins as well as their peracetylated derivatives, the possibility of a thin-layer chromatographic (TLC) structure determination is discussed. Chromatography-structure relationships in TLC are connected with special problems originating from the structure of silica gel, viz. the "effect of neighbouring groups" and the "molecular sieve effect". The former is due to the limited amount of free Si-OH-groups on the silica gel surface, the mean distance between two of them being about 0.65 nm. The latter is a result of the silica gel mean pore diameter being 3.0 nm. Besides these general effects certain cases of specific adsorption of molecules with a characteristic arrangement of polar groups were observed. In contrast to our paper chromatographic results intramolecular hydrogen bonding has no influence on the TLC behaviour, at least not in our systems. All these effects are discussed on the basis of ten tables containing  $\Delta R_M$  values for hydroxy, acyloxy and other groups, for 19 sugar residues and their derivatives. Finally four examples of the calculation of  $R_M$  values are given.

## EINLEITUNG

Die theoretische Grundlage für die chromatographische Strukturanalyse (vgl. die ausführlichen Ableitungen in Lit. 2 und 6 und die vorstehende V. Mitt.<sup>5</sup>) wurde

\* Herrn Prof. Dr. K. SCHREIBER danken wir für zahlreiche freundliche Hinweise.

\*\* I.-V. Mitt. vgl. Lit. 1-5.

\*\*\* Anfragen bitten wir zu richten an: L. NOVER, Sektion Pharmazie der Martin-Luther-Universität, Lehrstuhl für Pharmakognosie, 402 Halle/Saale, Weinbergweg 2 (D.D.R.).

von MARTIN<sup>7</sup> 1949 in enger Anlehnung an die Papierchromatographie (Pc) entwickelt. Schon frühzeitig wurde jedoch darauf hingewiesen, dass von der theoretischen Seite her die Methode nicht auf die Pc beschränkt, sondern auch auf andere Verteilungssysteme und auf adsorptionschromatographische Verfahren anwendbar sei<sup>8,9</sup>. Tatsächlich hat sich die chromatographische Strukturanalyse, von ihrem Hauptanwendungsgebiet, der Pc (vgl. Literatur bei Lit. 2 und 6), ausgehend, auf die Gaschromatographie<sup>10-12</sup> und in den letzten Jahren auch auf die Dünnschichtchromatographie (Dc) ausgedehnt. GRAHAM, BARK und Mitarb. haben z.B. über umfangreichere dünnschichtchromatographische (dc) Untersuchungen mit phenolischen Verbindungen an Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>-, Cellulosepulver- und Polyamid-Schichten berichtet (vgl. z.B. Lit. 13 und 14, dort frühere Literatur). Daneben sind Chromatographie-Struktur-Beziehungen für die Dc bei Mutterkornalkaloiden<sup>15</sup>, verschiedenen Indolderivaten<sup>16-18</sup> und vor allem Steroiden<sup>10-21</sup> untersucht worden.

#### BESONDERE PROBLEME EINER DÜNNSCHICHTCHROMATOGRAPHISCHEN STRUKTURANALYSE

Bei den Untersuchungen von LISBOA<sup>10-21</sup> an einer umfangreichen Sammlung von Steroiden mit Kieselgel G als Schichtmaterial wurde in vielen Fällen keine gute Übereinstimmung zwischen den aus verschiedenen Verbindungen berechneten  $\Delta R_M$ -Werten für eine bestimmte funktionelle Gruppe gefunden. Der Autor stellt fest, dass man polare Steroide nicht mit apolaren vergleichen kann, da nach seiner Meinung durch die Entmischung zusammengesetzter Laufmittel (vgl. die Ausführung in der V. Mitt.<sup>5</sup>) offenbar in der Nähe des Starts Verteilungschromatographie, in der Nähe der Front aber Adsorptionschromatographie die Grundlage der Trennung bilden<sup>20</sup>. Hinzu kommen weitere störende Faktoren, welche "die Anwendbarkeit der  $\Delta R_M$ -Werte in der Dc begrenzen" (vgl. Lit. 20, S. 102).

Die nicht immer befriedigenden Ergebnisse von LISBOA finden jedoch ihre Erklärung, zumindest teilweise in der Inkonstanz der Zusammensetzung der mobilen Phase in Laufrichtung unter den von diesem Autor gewählten Chromatographie-Bedingungen. Es wurden einerseits Fliessmittelsysteme verwendet, die eine deutliche adsorptive Entmischung zeigen, andererseits bemühte sich der Autor nicht um einen Ausgleich des Schwerkraft-bedingten Phasengradienten (vgl. hierzu die Ausführungen in der V. Mitt.<sup>5</sup>).

Eine dc Strukturanalyse an Silicagel stösst aber neben diesen überwindbaren Schwierigkeiten auf weitere, die in der Struktur dieses Schichtmaterials begründet sind. Silicagel für die Dc ist ein sehr feinkörniges Material, dessen Eignung für die chromatographische Trennung wesentlich auf einem umfangreichen, an den Wänden mit Si-OH-Gruppen besetzten Hohlraumssystem beruht. Für das hier verwendete Kieselgel G gibt die Herstellerfirma folgende Kenndaten an<sup>22</sup>: Porenvolumen 0.68 cm<sup>3</sup>/g, Oberfläche 450 m<sup>2</sup>/g, mittlerer Porendurchmesser 3.0 nm (vgl. auch die Ausführungen von KOHLSCHÜTTER UND UNGER<sup>23</sup>).

Mit dem Gehalt an Si-OH-Gruppen sowie deren unterschiedlicher Funktion und Bedeutung für den chromatographischen Vorgang haben sich in neuerer Zeit vor allem EBERT<sup>24</sup> sowie KISILEV und Mitarb.<sup>25-27</sup> beschäftigt. Danach kann man die Si-OH-Gruppen in solche, die sich im Innern der Silicagel-Matrix und solche, die sich an der Oberfläche befinden, einteilen. Letztere sind, soweit sie sich in geeigneter

TABELLE I

 $\Delta R_M$ -WERTE FÜR HYDROXY-GRUPPEN IN DEN SYSTEMEN I-IV (vgl. Fig. 1)

Abkürzungen: a = axial, a' = pseudoaxial, e = äquatorial, e' = pseudoäquatorial, b = bisectionell, p = primär, s = sekundär, t = tertiär; Rhs = Rhamnose und Ac = Acetyl.

In Tabelle I und ebenso in den folgenden Tabellen kennzeichnen unterbrochene Striche innerhalb einer Gruppe von  $\Delta R_M$ -Werten für eine bestimmte Gruppierung, dass diese Werte nur bedingt miteinander vergleichbar sind (vgl. hierzu die jeweilige Diskussion im Text).

Hydroxy-Gruppe	Spalte	Ausgangsverbindung und substituierte Verbindung (Nummern aus Tabelle I, V. Mitt. <sup>5</sup> )	$\Delta R_M$ -Werte in den Systemen					
			I	II	III	IV	O <sup>a</sup>	
1 $\beta$ a(s)		7 $\beta$ -Hydroxy-digitoxigenin (45/91)	+0.17	+0.11	+0.11	+0.22	—	
		7 $\beta$ -Hydroxy-digitoxigenon (aus 32/92)	+0.16	+0.13	+0.23	+0.16	—	
5 $\beta$ a,e(t)	1	Digitoxigenin- $\alpha$ ,L-Rhs (aus 8/42)	+0.59	+0.52	+0.53	+0.67	—	
	1a	Ac-digitoxigenin- $\alpha$ ,L-Rhs (aus 8a/42a)	+0.30	+0.25	+0.17	+0.24	—	
		Ac-rhodexin A (49/93a)	+0.26	+0.18	+0.10	+0.25	+0.90	
	2	16-Desoxy-adonitoxin (aus 135/112)	+0.41	+0.33	+0.30	+0.40	+0.87 <sup>b</sup>	
		Apocannosid (99/121)	+0.47	+0.35	+0.22	+0.51	—	
	2a	Ac-apocannosid (99a/121a)	+0.31	+0.29	+0.16	+0.33	—	
	3	Digitoxigenin (1/41)	+0.35	+0.25	+0.25	+0.36	+0.63	
		Bufalin (34/123)	+0.34	+0.32	+0.26	+0.40	+0.64	
		Digitoxigenon (32/44)	+0.32	+0.35	+0.27	+0.35	—	
	3a	Ac-digitoxigenin (1a/41a)	+0.43	+0.41	+0.25	+0.42	+1.22	
		Ac-bufalin (34a/123a)	+0.36	+0.38	+0.17	+0.35	+1.19	
	4	Cannogenin (98/107)	+0.19	+0.10	+0.07	+0.26	—	
	4a	Ac-cannogenin (98a/107a)	+0.30	+0.27	+0.17	+0.29	+0.96	
	5	Cannogenol (101/128)	+0.03	-0.04	-0.01	+0.04	—	
	5a	Ac-cannogenol (101a/128a)	+0.38	+0.29	+0.19	+0.31	+0.91	
	7 $\beta$ e(s)	1	Digitoxigenin (1/45)	+0.17	+0.23	+0.03	+0.13	—
		2	Digitoxin (25/46)	+0.02	+0.02	+0.07	+0.04	—
	11 $\alpha$ e(s)	1	Digitoxigenin (1/48)	+0.42	+0.29	+0.25	+0.40	—
Bufalin (34/51)			+0.38	+0.30	+0.24	+0.39	—	
2		Odosid H (17/50)	+0.31	+0.23	+0.25	+0.33	—	
3		Strophanthidin (107/133)	+0.22	+0.24	+0.24	+0.23	—	
11 $\beta$ a(s)		Uzariogenin- $\alpha$ ,L-Rhs (aus 35/52)	+0.26	+0.28	+0.19	+0.20	—	

TABELLE I (Fortsetzung)

Hydroxy-Gruppe	Spalte	Ausgangsverbindung und substituierte Verbindung (Nummern aus Tabelle I, V. Mitt. <sup>b</sup> )	$\Delta R_M$ -Werte in den Systemen				
			I	II	III	IV	
12 $\beta$ e(s)	1	Digitoxigenin (1/53)	+0.34	+0.25	+0.14	+0.34	
		Bufoalin (34/60)	+0.41	+0.34	+0.21	+0.29	
		Gitoxigenin (64/95)	+0.34	+0.34	+0.21	+0.40	
		Strophanthidin (107/137)	+0.39	+0.37	+0.26	+0.31	
		Oleandrigenin (82/97)	+0.32	—	—	+0.33	
		Mittelwert	+0.36	+0.33	+0.21	+0.33	
	2	Evatromonosid (20/54)	+0.21	+0.17	+0.15	+0.25	
		Digitoxigenin-bis-digitoxosid (23/55)	+0.26	+0.22	+0.17	+0.24	
		Digitoxin (25/56)	+0.25	+0.20	+0.11	+0.19	
		Gitoxin (70/96)	+0.29	+0.20	+0.14	+0.35	
		Lanatosid A (27/57)	+0.15	+0.21	+0.08	+0.21	
		Mittelwert	+0.23	+0.20	+0.13	+0.25	
	14 $\beta$ e(a)(t)		14-Desoxy-17 $\beta$ H-digitoxigenin (169/33)	+0.32	+0.26	+0.07	+0.27
	15 $\alpha$ a'(s)		Digitoxigenin (1/61)	+0.20	+0.13	+0.03	+0.17
15 $\beta$ e'(s)		Digitoxigenin (1/62)	+0.15	+0.22	+0.10	+0.23	
		Corotoxigenin (103/136)	+0.27	+0.24	+0.15	+0.29	
16 $\alpha$ b(s)	1	Digitoxigenin (1/89)	+0.32	+0.35	+0.31	+0.45	
	2	Digitoxin (25/90)	+0.19	+0.24	+0.12	+0.29	
16 $\beta$ b(s)	1	Digitoxigenin (1/64)	+0.29	+0.26	+0.17	+0.24	
		Digoxigenin (53/95)	+0.29	+0.35	+0.24	+0.30	
		Strophanthidin (107/139)	+0.22	+0.39	+0.26	+0.33	
		Mittelwert	+0.27	+0.33	+0.22	+0.29	
	2	Evatromonosid (20/68)	+0.12	+0.12	+0.05	+0.20	
		Odorosid H (17/67)	+0.21	+0.23	+0.11	+0.27	
		Gluc-evatromonosid (22/69)	+0.33	+0.28	+0.17	+0.30	
		Digitoxin (25/70)	+0.19	+0.17	+0.13	+0.16	
		Digoxin (56/96)	+0.23	+0.17	+0.16	+0.32	
		Purpureaglykosid A (26/71)	+0.22	+0.15	+0.12	+0.21	
		Lanatosid A (27/72)	+0.23	+0.21	+0.14	+0.21	
		Mittelwert	+0.22	+0.19	+0.13	+0.24	
	19 (p)	1	Digitoxigenin (1/101)	+0.60	+0.50	+0.51	+0.62
		2	Uzarigenin (35/105)	+0.45	+0.49	+0.40	+0.56
3		Mallosid (52/94)	+0.48	+0.40	+0.34	+0.50	
4		Periplogenin (41/125)	+0.28	+0.21	+0.25	+0.30	
	Periplorhamnosid (42/126)	+0.30	+0.24	+0.35	+0.40		
	Telocinobufagin (43/129)	+0.29	+0.23	+0.22	+0.31		

<sup>a</sup> Es handelt sich hier um das System O der papierchromatographischen Untersuchungen. (vgl. Tabelle II, II. Mitt.<sup>a</sup>).

<sup>b</sup> Berechnet für das Peracetat.

Entfernung von einander befinden, miteinander durch Wasserstoff-Brücken verbunden. Für die Adsorptionseigenschaften des Silicagels sind vor allem die freien, zur Ausbildung von intermolekularen Wasserstoff-Brücken befähigten Hydroxy-Gruppen an der Oberfläche verantwortlich<sup>26</sup>. Das Dipolmoment der adsorbierten Verbindung spielt bei der Bindung keine oder nur eine untergeordnete Rolle<sup>25</sup>. KISILEV und Mitarb.<sup>26,27</sup> stellten fest, dass Silicagele verschiedener Herkunft im Zustand maximaler Hydroxylierung unabhängig von ihrer spezifischen Oberfläche und Korngrösse an der Oberfläche ca.  $8.0 \mu\text{Mol Si-OH-Gruppen/m}^2$  enthalten, von denen etwa  $4.3 \mu\text{Mol}$  in freier und etwa  $3.7 \mu\text{Mol}$  in gebundener Form vorliegen. Die Autoren haben daraus einen mittleren Abstand der freien Si-OH-Gruppen von  $0.65 \text{ nm}$  berechnet.

Diese Besonderheiten der Struktur des Silicagels haben für die chromatographische Strukturanalyse grosse Bedeutung. Auf der einen Seite lässt sich aus dem Wert für den mittleren Porendurchmesser ableiten, dass die Molekülgrösse einen Einfluss auf die Adsorbierbarkeit haben kann. Dieser "Molekülsieb-Effekt" konnte im Verlaufe unserer Untersuchungen bei den Herzglykosiden deutlich gemacht werden, da hier Verbindungen mit recht unterschiedlichem Molekulargewicht aber mit annähernd gleicher Polarität verglichen werden konnten.

Andererseits bedingt die begrenzte Anzahl von Bindungszentren an der Oberfläche des Silicagels, dass bei einer Häufung zur Ausbildung von Wasserstoff-Brücken befähigter Gruppierungen in geringer Entfernung von einander innerhalb des adsorbierten Moleküls die Si-OH-Gruppen pro Flächeneinheit nicht mehr ausreichen, um mit allen polaren Gruppierungen in Wechselwirkung zu treten. Dieser "Nachbargruppen-Effekt" ist nur dann eindeutig belegbar, wenn der Einfluss intramolekularer Wasserstoff-Brücken ausgeschlossen werden kann.

Schliesslich birgt jedes adsorptionschromatographische Verfahren in sich die Möglichkeit, dass auf Grund der Struktur des Adsorbens spezielle Anordnungen funktioneller Gruppen innerhalb eines adsorbierten Moleküls eine Bindung besonders begünstigen und damit zu sehr schwer voraussagbaren Abweichungen von der  $R_M$ -Wert-Theorie führen.

Inwieweit unter all diesen Bedingungen eine dc Strukturanalyse möglich ist wird im folgenden anhand einiger Ergebnisse diskutiert.

#### DISKUSSION DER POLARITÄTSBEITRÄGE VON HYDROXY-GRUPPEN UND DEREN ACYL-ESTER

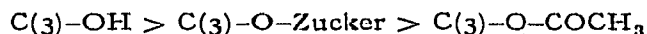
In Tabelle I haben wir—wie in der II. Mitt.<sup>2</sup> für die pc Befunde—die  $\Delta R_M$ -Werte für einige Hydroxy-Gruppen am Steroidkern aus den dc Ergebnissen (Tabelle I, V. Mitt.<sup>5</sup>) zusammengestellt. Bei Vergleich mit den pc Werten aus Tabelle I der II. Mitt. fällt auf, dass im allgemeinen die Polaritätsbeiträge der Hydroxy-Gruppen bei den verwendeten dc Systemen viel geringer sind. Auch sind die Unterschiede zwischen den  $\Delta R_M$ -Werten für die einzelnen Hydroxy-Gruppen weniger ausgeprägt. Diese Tatsache erschwert die praktische Verwendung der erhaltenen  $\Delta R_M$ -Werte für die Strukturanalyse. Sie beruht auf einer an sich vorteilhaften Eigenschaft der dc Systeme I-IV (Lit. 5), nämlich in ihrem im Vergleich zu den pc Systemen bedeutend grösseren Polaritätsumfang. Dieser entspricht nahezu dem von drei in ihrer Polarität aufeinanderfolgenden Systemen unser pc Untersuchungen.

Ohne zunächst die Einzelheiten der Werte zu betrachten, kann man für die durch Substitution von Digitoxigenin erhaltenen  $\Delta R_M$ -Werte folgende Reihe geringer werdender Polaritätsbeiträge aufstellen, der wir die in der pc erhaltene gegenüberstellen.

$$Dc: 19(p) > 16\alpha(b) \sim 11\alpha(c) > 12\beta(e) \sim 5\beta(a,e) > 16\beta(b) > 11\beta(a) \sim 15\beta(e') \sim 15\alpha(a') \\ \sim 1\beta(a) \sim 7\beta(e)$$

$$Pc^2: 19(p) > 11\alpha(e) \sim 12\beta(e) > 16\beta(b) > 15\alpha(a') \sim 5\beta(a,e) \sim 1\beta(a) > 7\beta(e)$$

Dabei fällt vor allem die vergleichsweise grosse Polarität der tertiären Hydroxy-Gruppe in  $5\beta$ -Stellung bei den dc Untersuchungen auf. Sie ergibt ungefähr den gleichen Polaritätsbeitrag wie die äquatoriale Hydroxy-Gruppe in  $12\beta$ . Allerdings erreicht die Polarität dieses Hydroxyls unter bestimmten Voraussetzungen die der Hydroxy-Gruppen in  $11\alpha$  und  $12\beta$  auch in den pc Systemen, nämlich dann, wenn die coaxiale Sauerstoff-Funktion an C(3) acetyliert und damit die Ausbildung einer Wasserstoff-Brücke unmöglich ist (vgl. die Ausführungen in der II. Mitt.<sup>2</sup>). Bei den pc Untersuchungen hatte sich eine deutliche Staffelung der Werte für das  $\Delta R_{M(5\beta OH)}$  in Abhängigkeit von anderen Substituenten in Ring A ergeben. Zum Vergleich haben wir nochmals die im System o erhaltenen Werte (vgl. Tabelle II der II. Mitt.) in Tabelle I mit eingetragen. Die Werte zeigen, dass bei der Pc die Stabilität der Wasserstoff-Brücke C(5)OH...OC(3) in dem Masse abnimmt, wie sich die Basizität der Sauerstoff-Funktion an C(3) verringert, also in der Reihenfolge



(vgl. die der II. Mitt. entnommenen Angaben für das pc System o, Spalten 3, 1a und 2 sowie 3a und die ausführlichen Erörterungen in der II. Mitt.<sup>2</sup>).

Bei den dc Untersuchungen ergibt sich ein ganz anderes Bild. Die Übereinstimmung der  $\Delta R_{M(5\beta OH)}$ -Werte ist weit grösser als bei der Pc (vgl. Tabelle I, Systeme I-IV, Spalten 1a, 2a, 3, 3a, 4a, 5a). Offenbar spielt die oben diskutierte Wasserstoff-Brücke bei der Dc keine Rolle. Sie ist natürlich als intramolekulare H-Brücke nach wie vor vorhanden. Nur reagieren bei den hier untersuchten dc Systemen Adsorbens und mobile Phase auf den durch H-Brücken-Bildung bedingten Polaritätsverlust in gleicher Weise.

Die überraschende Uniformität der  $\Delta R_{M(5\beta OH)}$ -Werte wird in den Spalten 1, 2, 4 und 5 durchbrochen. Auf die besonderen Probleme mit den Glykosiden, die eine  $5\beta$ -Hydroxy-Gruppe besitzen (Spalten 1, 2), wird noch ausführlich eingegangen (vgl. S. 466-470). Bei Cannogenin (Spalte 4) und Cannogenol (Spalte 5) spielen die zusätzliche Sauerstoff-Funktion an C(19) sowie die unterschiedliche Raumbeanspruchung der trigonalen Carbonyl- im Cannogenin und der tetragonalen Hydroxymethyl-Gruppierung im Cannogenol eine Rolle. Während aber in der Pc neben diesen sterischen Momenten vor allem die Ausbildung eines konjugierten Systems von Wasserstoff-Brücken im Strophanthidin und Strophanthidol zu dem auch dort beobachteten starken Polaritätsverlust führt, scheinen hier andere Gründe massgebend zu sein. Im Gegensatz zu den pc Befunden geht diese Abschirmung der  $5\beta$ -Hydroxy-Gruppe bei der Acetylierung nämlich verloren (vgl. die Daten der Spalten 3, 3a, 4a im pc System o und in den dc Systemen I-IV). Wir sind daher der Meinung, dass hier ein solcher

Nachbargruppen-Effekt vorliegt, wie er auf S. 454 aus der Struktur des Silicagels abgeleitet wurde.

Die Feststellung, dass die Ausbildung von intramolekularen Wasserstoff-Brücken in diesen dc Systemen keine experimentell erfassbare Bedeutung für das chromatographische Verhalten der Verbindung hat, trifft natürlich auch für andere Hydroxy-Gruppen zu. Bei Vergleich der genauen Werte aus den pc und dc Untersuchungen kann festgestellt werden, dass z.B. die Polarität der 7 $\beta$ - und 16 $\beta$ -Hydroxy-Gruppen, die mit der 14 $\beta$ -Hydroxy-Gruppe über eine H-Brücke verbunden sind (vgl. Fig. 1), im Vergleich zu den freistehenden OH-Gruppen in 11 $\alpha$ - oder 12 $\beta$ -Position relativ grösser geworden ist.

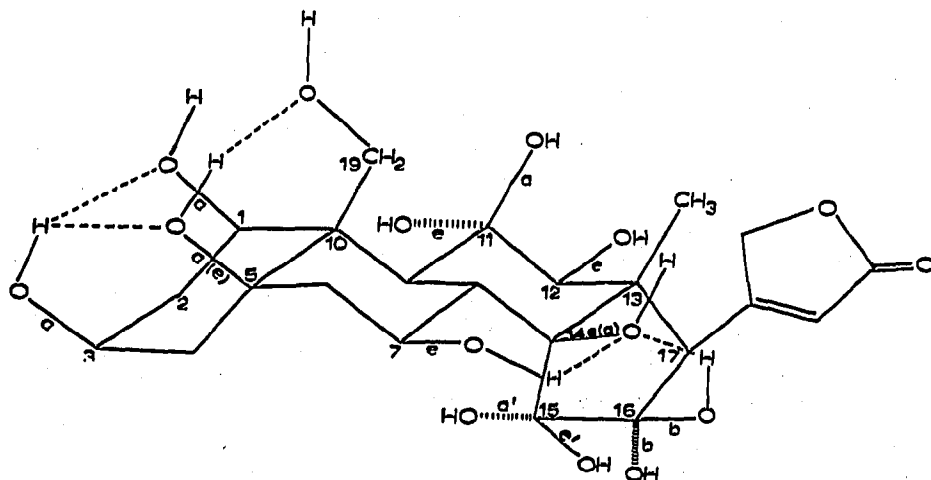


Fig. 1. Stereoformel eines Cardenolids mit allen in Tabelle I aufgeführten Hydroxy-Gruppen und den im Text diskutierten intramolekularen Wasserstoff-Brücken (Abkürzungen vgl. Kopf zu Tabelle I).

Bei den pc Untersuchungen war die gute Übereinstimmung der für die 12 $\beta$ - und 16 $\beta$ -Hydroxy-Gruppen gefundenen  $\Delta R_M$ -Werte unabhängig von der Polarität der Verbindung ein wichtiges Indiz für die Anwendbarkeit der chromatographischen Strukturanalyse. Auch die Dc ergibt bei oberflächlicher Betrachtung Werte, die nicht wesentlich über das vertretbare Mass hinaus voneinander abweichen (Differenz der Extremwerte 0.2  $R_M$ -Wert-Einheiten). Ordnet man jedoch die Verbindungen nach steigendem Molekulargewicht, wie das in Tabelle I geschehen ist, so wird deutlich sichtbar, dass die  $\Delta R_M$ -Werte abnehmen. Die Reihen werden jeweils vom Digitoxigenin angeführt (MG 375) und enden bei Lanatosid A (MG 969). Hier manifestiert sich augenscheinlich der sich aus der Struktur des Silicagels ableitende "Molekülsieb-Effekt" (vgl. S. 454).

Natürlich ist für die Fähigkeit von Verbindungen, in das Porensystem des Silicagels einzudringen, in erster Linie nicht ihr Molekulargewicht, sondern ihre Molekülgrösse massgebend. Diese ist bei den Geninen annähernd gleich, während sie bei den Glykosiden stark von der Konformation der Zuckerkette abhängt, über die man folgende allgemeine Aussagen machen kann:

Die freie Drehbarkeit um die Einfachbindungen an den glykosidischen Sauerstoffatomen ist aus sterischen Gründen eingeschränkt. Aus Röntgenstrukturanalysen (vgl. die Zusammenfassung<sup>28</sup>) aber auch aus N.M.R.- und I.R.-Untersuchungen an Kohlenhydraten in Lösung<sup>29</sup> ist bekannt, dass Cellobiose und deren Polymere in einer

Konformation vorliegen, bei der die Ringebenen jeweils benachbarter Glucose-Moleküle gegeneinander etwas verdreht sind und bei der sich insgesamt lineare Ketten ergeben (vgl. die schematische Darstellung Fig. 2a, bei der die Verdrehung der Ringebenen ausser Acht gelassen wurde).

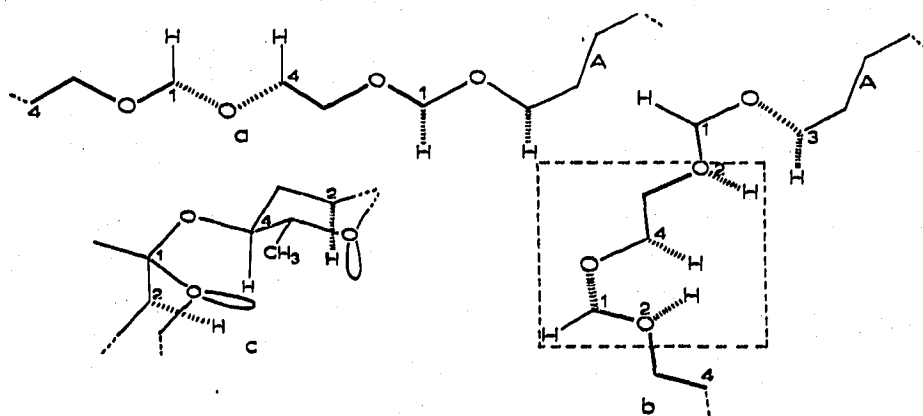


Fig. 2. Schematische Darstellung der linearen (a) und gewinkelten (b) Konformation der Zuckerketten in Glykosiden. Detail-Zeichnung des markierten Teils der gewinkelten Konformation (c). (A = Ring A des Steroidgerüsts).

Energetisch wahrscheinlich weniger günstig ist die in Fig. 2b dargestellt gewinkelte Konformation. Bei dieser steht der axiale Wasserstoff an C(4) des vorausgehenden Zuckermoleküls jeweils zwischen dem axialen Wasserstoff an C(2) und dem freien Elektronenpaar des Ringsauerstoffs des folgenden Zuckers (vgl. Fig. 2c). Der Energiegehalt dieser Konformation ist stark von der nicht gut bekannten Raumerfüllung (vgl. Lit. 30) des freien Elektronenpaares des Ringsauerstoffs abhängig. Diese Ausführungen gelten streng nur für Zuckerketten, deren Zucker in der Cr- oder N-Form vorliegen,  $\beta$ -Konfiguration haben und deren glykosidische Bindungen äquatorial sind. Das trifft jedoch für die meisten Digitalis-Glykoside, insbesondere für alle in Verbindung mit den  $7\beta$ -,  $12\beta$ -,  $16\alpha$ - und  $16\beta$ -Hydroxy-Gruppen diskutierten Glykoside zu.

Die lineare Anordnung der Zuckerkette müsste zu einer stärkeren Vergrößerung des Moleküls führen als die gewinkelte. Allerdings sind die Unterschiede wohl zu gering, um chromatographisch erfassbar zu sein. Wir haben daher diese spezielle Problematik hinsichtlich des Molekülsieb-Effekts und damit zusammenhängend auch die Anzahl der Zucker in den Glykosiden zunächst ausser Acht gelassen und für die  $\Delta R_M$ -Werte bei beiden Hydroxy-Gruppen ( $12\beta$  und  $16\beta$ ) jeweils für die Genine und die Glykoside einen Mittelwert errechnet. Die Mittelwerte machen diesen durch die Porenweite des Kieselgels hervorgerufenen Effekt besonders deutlich, da sie die bei den verhältnismässig geringen Unterschieden störenden experimentellen Schwankungen ausgleichen\*. Auch bei anderen Hydroxy-Gruppen in sehr unterschiedlichen Stellungen am Steroidkern ist der Molekülsieb-Effekt nachweisbar (vgl. hierzu jeweils die Spalten 1 und 2 bei den Hydroxy-Gruppen in  $7\beta$ -,  $11\alpha$ - und  $16\alpha$ -Stellung). Diese Tatsache macht deutlich, dass es sich tatsächlich um einen allgemeinen Effekt und nicht um Beispiele spezifischer Wechselwirkungen mit dem Schichtmaterial handelt.

\* Es soll hier noch einmal ausdrücklich darauf hingewiesen werden, dass diese Staffelung nicht auf einen irgendwie gearteten Fliessmittelgradienten zurückzuführen ist (vgl. Ausführungen in der V. Mitt.<sup>5</sup>).



Der Nachweis eines Einflusses der Molekülgrösse auch auf die Grösse der  $\Delta R_M$ -Werte für die Hydroxy-Gruppen in  $5\beta$ -Stellung und an C(19), bei denen gleichfalls Werte für Genine neben solchen für Glykoside vorliegen, scheidet an der Vielfalt der bei diesen auftretenden sonstigen Wechselwirkungen mit anderen Sauerstoff-Funktionen. Auch die Werte für das primäre Hydroxyl an C(19) in Tabelle I dürfen nämlich nicht miteinander gleichgesetzt werden. Digitoxigenin (Spalte 1) und Uzarigenin (Spalte 2) unterscheiden sich durch ihre Konfiguration an C(5), was für die Polarität der angulären Hydroxymethyl-Gruppierung von Bedeutung ist (vgl. Fig. 3). Bei der *trans*-Verknüpfung der Ringe A und B im Uzarigenin und seinen Derivaten wird der anguläre Substituent an C(10) von fünf axialen Wasserstoffatomen gegenüber nur drei bei der *cis*-Verknüpfung abgeschirmt. Die Einführung einer Hydroxy-Gruppe in  $11\beta$  (vgl. Fig. 3, A/B *trans*,  $R_2 = \text{OH}$ ) hat keinen grossen Einfluss auf das  $\Delta R_{M(19\text{HO})}$  (Spalte 3), während eine Hydroxy-Gruppe in  $5\beta$  (A/B *cis*,  $R_1 = \text{OH}$ ) wegen der grösseren Nähe zur Hydroxymethyl-Gruppierung den  $\Delta R_M$ -Wert deutlich erniedrigt (Spalte 4). Auch hier scheint die Ausbildung von Wasserstoff-Brücken keine wesentliche Rolle zu spielen.

Zusammenfassend kann gesagt werden, dass zwar die in der Pc erhaltene Polaritätsfolge der Hydroxy-Gruppen in der Dc im wesentlichen wiedergefunden wird, dass es daneben aber zu einigen charakteristischen Veränderungen kommt, die vor allem die  $5\beta$ -OH-Gruppe betreffen. Darüber hinaus lassen schon die  $\Delta R_M$ -Werte in Tabelle I erkennen, dass die aus der Struktur des Silicagels hergeleiteten Störungen, der Nachbargruppen- und der Molekülsieb-Effekt, tatsächlich Anlass zu Abweichungen von der  $R_M$ -Wert-Theorie geben.

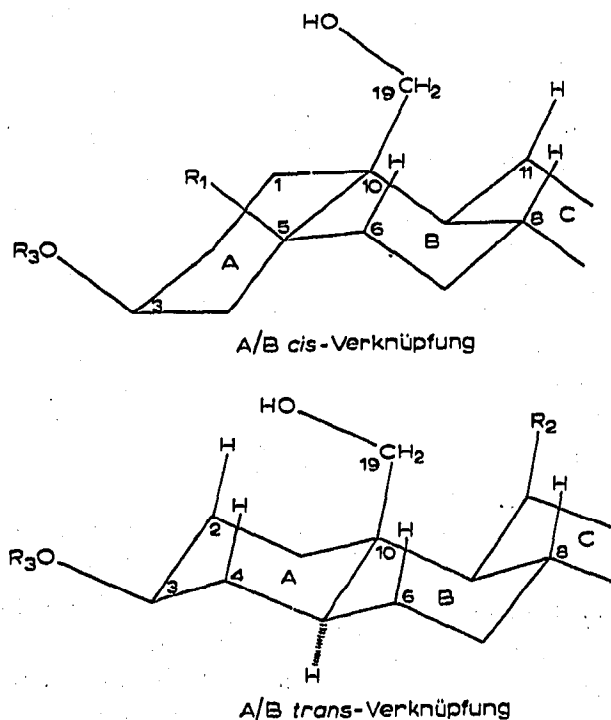


Fig. 3. Einfluss der Konfiguration an C(5) und von Substituenten in Ring A und C des Steroidringsystems auf den Polaritätsbeitrag einer 19-OH-Gruppe. (Steroidteilformeln mit den Ringen A, B und C.)

TABELLE II

POLARITÄTSBEITRÄGE FÜR DIE 16 $\beta$ -FORMYLOXY-GRUPPIERUNG

<i>Ausgangsverbindung</i> (Nummern aus Tabelle I, V. Mitt. <sup>5</sup> )		$\Delta R_M$ -Werte in den Systemen			
		I	II	III	IV
Genine	Digitoxigenin (1/74)	-0.01	-0.06	-0.05	+0.05
	-peracetat (1a/74a)	+0.22	+0.23	+0.12	+0.18
	Strophanthidin (107/140)	+0.28	+0.19	+0.19	+0.31
	-peracetat (107a/140a)	+0.13	+0.16	+0.02	+0.24
	Mittelwert	+0.16	+0.13	+0.07	+0.20
Glykoside	Evatromonosid (20/77)	-0.10	-0.08	-0.09	-0.01
	-peracetat (20a/77a)	-0.10	-0.02	-0.02	-0.01
	Glucoevatromonosid (22/78)	-0.08	-0.05	-0.22	-0.02
	-peracetat (22a/78a)	-0.01	+0.10	-0.01	+0.06
	Odorosid H (17/75)	-0.07	+0.01	-0.01	-0.05
	-peracetat (17a/75a)	-0.01	-0.10	-0.06	-0.02
	Odorobiosid G-peracetat (18a/76a)	-0.05	-0.15	-0.11	$\pm 0.00$
	Digitoxin (25/79)	-0.12	-0.05	-0.17	-0.05
	-peracetat (25a/79a)	+0.02	—	—	+0.01
	Purpureaglykosid A (26/81)	-0.16	-0.08	-0.07	-0.03
-peracetat (27a/81a)	+0.05	+0.02	+0.11	+0.01	
Mittelwert	-0.06	-0.04	-0.06	-0.01	

Während Tabelle II an Hand des Polaritätsbeitrages für die besonders häufig auftretende 16 $\beta$ -Formyloxy-Gruppierung noch einmal den Einfluss der Molekülgrösse auf die  $\Delta R_M$ -Werte demonstriert, haben wir in Tabelle III für zahlreiche Genine die bei der Acetylierung der 3 $\beta$ -Hydroxy-Gruppe erhaltenen  $\Delta R_M$ -Werte zusammengestellt. Diese befinden sich in befriedigender Übereinstimmung miteinander, da bei den hier vorliegenden Verbindungen Einflüsse der Molekülgrösse nicht auftreten können. Die Kongruenz ist sogar besser als die in den pc Untersuchungen gefundene (vgl. Tabelle IV, II. Mitt.<sup>2</sup>). Dort wichen nämlich die Werte für die 5 $\beta$ -HO-Derivate beträchtlich von den anderen ab. Hier hingegen zeigt sich erneut, dass die Wasserstoff-Brücke zwischen den coaxialen Hydroxy-Gruppen an C(3) und C(5) keine Polaritäts-vermindernde Wirkung in den dc Systemen hat (vgl. Spalten 1 und 2). Die für die Acetylierung einer äquatorialen Hydroxy-Gruppe erhaltenen Polaritätsverluste sind wie auch bei den pc Ergebnissen geringfügig grösser als bei einer axialen (Spalte 3).

In diesem Zusammenhang muss auf die Bedeutung der Acetylierungsreaktion für die chromatographische Strukturanalyse hingewiesen werden. Der ungewöhnlich grosse Polaritätsumfang der hier verwendeten vier dc Systeme, der mit einer Verringerung der Unterschiede zwischen den  $\Delta R_M$ -Werten für einzelne funktionelle Gruppen einhergeht (vgl. S. 454), eröffnet zugleich die Möglichkeit zu einer viel umfassenderen Ausnutzung der Acetylierungsreaktion zur Differenzierung von Gruppierungen mit gleichem Polaritätsbeitrag, da die meisten Verbindungen mit ihren Peracetaten in dem gleichen System chromatographiert werden können.

TABELLE III

 $\Delta R_M$ -WERTE FÜR DIE ACETYLIERUNG DER HYDROXY-GRUPPE AN C(3)

Spalte	Unacetylierte Verbindung (Nummern aus Tabelle I, V. Mitt. <sup>5</sup> )	$\Delta R_M$ -Werte in den Systemen			
		I	II	III	IV
1 (axiales OH, 5 $\beta$ H)	Digitoxigenin (1/1a)	-0.30	-0.37	-0.21	-0.27
	Menabegenin (33/33a)	-0.25	-0.25	-0.14	-0.24
	Bufalin (34/34a)	-0.15	-0.26	-0.12	-0.17
	Oleandrigenin (82/82a)	-0.23	—	—	-0.29
	Gitaloxigenin (74/74a)	-0.07	-0.08	-0.04	-0.14
	Bufotalin (88/88a)	-0.34	-0.23	-0.16	-0.28
	Canarigenin (141/141a)	-0.25	-0.24	-0.15	-0.20
	Scillaren A (144/144a)	-0.30	-0.34	-0.17	-0.24
	Xysmalogenin (149/149a)	-0.31	-0.34	-0.29	-0.27
	Cerberigenin (153/153a)	-0.37	-0.25	-0.28	-0.28
	Cannogenin (98/98a)	-0.38	-0.42	-0.22	-0.33
	Resibufogenin (158/158a)	-0.18	-0.29	-0.17	-0.22
	3 $\beta$ -Hydroxy-15-oxo-5 $\beta$ ,14 $\alpha$ -cardenolid (162/162a)	-0.28	-0.37	-0.11	-0.23
	3 $\beta$ -Hydroxy-5 $\alpha$ ,14 $\alpha$ ,17 $\beta$ H-cardenolid (165/165a)	-0.21	-0.36	-0.21	-0.25
2 (axiales OH, 5 $\beta$ OH)	Periplogenin (41/41a)	-0.22	-0.21	-0.21	-0.21
	Telocinobufagin (43/43a)	-0.13	-0.20	-0.21	-0.22
	Strophanthidin (107/107a)	-0.27	-0.25	-0.12	-0.30
	Hellebrigenin (123/123a)	-0.23	-0.24	-0.17	-0.24
	Formylstrophadogenin (140/140a)	-0.42	-0.28	-0.29	-0.37
	10 $\beta$ -Hydroxy-19-nor-periplogenin (157/157a)	-0.29	-0.22	-0.19	-0.23
3 (äquatoriales OH, 5 $\beta$ H bzw. 5 $\alpha$ H)	Uzarigenin (35/35a)	-0.44	-0.32	-0.33	-0.38
	Corotoxigenin (103/103a)	-0.41	-0.44	-0.31	-0.39
	Carpogenin (100/100a)	-0.39	-0.46	-0.17	-0.33

## DER EINFLUSS DER ZUCKERKOMPONENTE AUF DAS DÜNNSCICHTCHROMATOGRAPHISCHE VERHALTEN DER GENINE

Bei den pc Untersuchungen war versucht worden, das chromatographische Verhalten der Zucker, die hinsichtlich ihrer Strukturtypen bei den Herzglykosiden eine besondere Mannigfaltigkeit aufweisen, durch Parameter ihrer Konstitution, Konfiguration und Konformation zu erklären. Die Verwendung von Glykosiden zu diesem Zweck ist deshalb besonders vorteilhaft, da in diesen die Konfiguration am anomeren C-Atom festgelegt ist und daher das oftmals unbekanntes Verhältnis der beiden Anomeren zu einander ausser Acht gelassen werden kann (bezüglich der Nomenklatur, Stereochemie und Konformation der Zucker vgl. die Ausführungen in der III. Mitt.<sup>3</sup>).

Der Diskussion über Beziehungen zwischen der Struktur und dem chromatographischen Verhalten bei Zuckern sind enge Grenzen gesetzt. Wegen der vielen polaren Gruppen auf engem Raum kommt es zu mannigfaltigen Wechselwirkungen, die es notwendig machen, die Zucker als Einheit durch einen  $\Delta R_M$ -Wert zu erfassen und zu versuchen, allgemeine Gesetzmässigkeiten zwischen dessen Grösse und der Struktur festzustellen. Besondere Schwierigkeiten machen dabei Zucker solcher Konfigurationsreihen (Talose-, Idose-Konfiguration), bei denen mehrere energetisch

nahezu gleichwertige Konformeren möglich sind. Diese wurden daher bei der Diskussion der pc Befunde ausgeklammert und das gleiche geschieht in dieser Arbeit.

Neuerdings hat AMATO<sup>31</sup> versucht, auf der Grundlage von der Literatur entnommenen  $R_F$ -Wert-Tabellen für Hexosen und Hexamethylosen mit Hilfe der  $R_M$ -Wert-Theorie das chromatographische Verhalten dieser Zucker aus ihren Strukturelementen vorauszuberechnen. Dabei wurden Unterschiede in der Konformation und im Anomerenverhältnis vollständig ausser Acht gelassen, und es kann nur als Zufall bezeichnet werden, dass die in ihrer Grösse zwar willkürlich aber doch einheitlich festgesetzten Korrekturfaktoren diese strukturellen Unterschiede so gut ausgeglichen haben, dass die berechneten und gefundenen Werte vorzüglich miteinander übereinstimmen.

Bei unseren pc Untersuchungen war eine Polaritätsfolge für glykosidisch gebundene Zucker gefunden worden (vgl. Tabelle V), die in den wesentlichen Zügen der auch für freie Zucker erhaltenen entsprach und die durch die in der III. Mitt.<sup>3</sup> dargelegte Theorie befriedigend erklärt werden konnte. Inzwischen haben KAUFMANN *et al.*<sup>32</sup> ausführlich über die pc und dc Trennung von zahlreichen in diesem Zusammenhang interessierenden Zuckern in freiem Zustand berichtet. Dabei hat sich gezeigt, dass die nach Chromatographie an Kieselgel mit Äthylacetat-Isopropanol-Methanol (70:15:15) gefundenen Reihen abnehmender Polarität für 6-Desoxy-hexosen und 3-O-Methyl-6-desoxy-hexosen stark von den pc Polaritätsfolgen abweichen und damit in keiner Weise mit der in der III. Mitt.<sup>3</sup> entwickelten Theorie vereinbar sind.

Unsere dc Ergebnisse an einem gegenüber den pc Untersuchungen beträchtlich erweiterten Material glykosidisch gebundene Zucker sind in den Tabellen IV und V zusammengefasst. Sie zeigen, dass auch bei der Dc der Pc vergleichbare  $\Delta R_M$ -Wert-Sequenzen erhalten werden (Tabelle V). Diese Übereinstimmung macht besonders deutlich, wie weit die Ergebnisse mit freien Zuckern von denen mit glykosidisch gebundenen verschieden sein können. Demnach kann die in der III. Mitt. für die Pc abgeleitete Theorie über den Zusammenhang zwischen Struktur und chromatographischem Verhalten bei Zuckern auch auf die Dc übertragen werden, wobei gilt, dass offenbar den sterischen Momenten grössere Bedeutung zukommt, während die unterschiedliche Stabilität der intramolekularen Wasserstoff-Brücken keinen entscheidenden Einfluss hat (vgl. S. 455).

Ein Vergleich der absoluten Werte, die in den pc und dc Untersuchungen für die Zucker gefunden wurden, gibt noch einmal Anlass, auf den Nachbargruppen-Effekt hinzuweisen. Die relative Polarität der nur noch wenige polare Gruppierungen aufweisenden Zucker (2,6-Didesoxy-hexosen und deren 3-O-Methyl-Derivate) im Vergleich zu den 6-Desoxy-hexosen bzw. deren 3-O-Methyl-Derivate ist in den dc Systemen wesentlich höher. Man erhält z.B. bei der Pc im System I für Diginose einen  $\Delta R_M$  von  $-0.13$  und für Digitalose  $+1.01$  bei der Dc aber  $+0.13$  und  $+0.55$ . In der Dc werden eben die Möglichkeiten zur Ausbildung von Wasserstoff-Brücken durch die begrenzte Zahl von Si-OH-Gruppen an der Oberfläche des Silicagels eingeschränkt, ein Effekt, der sich um so stärker ausprägt, je mehr polare Substituenten auf engem Raum gehäuft sind.

Wenn auch eine vollständige Berechnung des Polaritätsbeitrages eines Zuckers aus den  $\Delta R_M$ -Werten seiner funktionellen Gruppen derzeit noch unmöglich ist, so lassen sich doch auch bei Zuckern über das chromatographische Verhalten einiger Gruppierungen detaillierte Aussagen machen. Wir hatten bereits Fragen zur Struktur

TABELLE IV

$R_M$ -WERT-BEITRÄGE DER  $\beta$ ,D-FORMEN GLYKOSIDISCH GEBUNDENER ZUCKER-RESTE  
(AN DIGITOXIGENIN, WENN NICHT ANDERS ANGEZEIGT)

Zucker <sup>a</sup>	$\Delta R_M$ -Werte in den Systemen			
	I	II	III	IV
<i>6-Desoxy-hexosen</i>				
Allomethylose (Alms) (1/3)	+0.47	+0.39	+0.47	+0.52
Glucomethylose (Glms) (1/5)	+0.54	+0.46	+0.54	+0.60
Rhamnose (Rhs) (1/7)	+0.68	+0.62	+0.72	+0.73
Gulomethylose (Gums) (101/102)	+0.37	+0.42	+0.44	+0.51
Fucose (Fcs) (1/9)	+0.69	+0.57	+0.64	+0.77
<i>3-O-Methyl-6-desoxy-hexosen</i>				
Thevetose (Ths) (1/13)	+0.19	+0.04	+0.11	+0.21
Acofriose (Afs) (82/84) <sup>b</sup>	+0.59	+0.35	+0.57	+0.57
Digitalose (Dls) (1/17)	+0.55	+0.43	+0.37	+0.60
<i>2-Desoxy-hexosen</i>				
2-Desoxy-allose (2-Des-Als) (1/4)	+0.53	+0.44	+0.50	+0.49
2-Desoxy-glucose (2-Des-Gls) (1/6)	+0.60	+0.61	+0.58	+0.77
<i>2,6-Didesoxy-hexosen</i>				
Digitoxose (Dxs) (1/20)	+0.15	+0.09	+0.15	+0.13
Canarose (Cns) (35/38)	+0.13	+0.32	+0.28	+0.28
Boivinose (Bvs) (107/120) <sup>c</sup>	+0.16	+0.09	+0.12	+0.06
<i>3-O-Methyl-2,6-didesoxy-hexosen</i>				
Cymarose (Cys) (1/28)	-0.09	-0.07	-0.05	-0.06
Oleandrose (Ols) (82/86) <sup>d</sup>	-0.08	-0.12	-0.14	-0.16
Sarmentose (Srs) (82/87)	-0.06	-0.18	-0.04	-0.12
Diginose (Dns) (1/30)	+0.13	+0.03	+0.06	+0.15

<sup>a</sup> Es handelt sich in Wirklichkeit um den jeweiligen Glykosyl-Rest.

<sup>b</sup> Aus  $\alpha$ ,L-Acofriose mit  $\Delta R_M$  (7/8).

<sup>c</sup> Aus dem Strophanthidinglykosid mit  $\Delta R_M$  (20/117). Diese Werte sind etwas unsicher (vgl. Diskussion zu Tabelle X).

<sup>d</sup> Aus  $\alpha$ ,L-Oleandrose mit  $\Delta R_M$  (28/29).

von Odorobiosid, Glucodigifucosid und deren Isomeren in der III. Mitt.<sup>3</sup> zum Anlass für eine Diskussion über Polarität und Konformation von Acetoxy- bzw. Methoxy-Gruppierungen an Zuckern genommen. Tabelle VI vereinigt noch einmal die pc Refunde in erweiterter Form mit den entsprechenden der Dc.

Dabei kann zunächst festgestellt werden, dass dc und pc Ergebnisse gut miteinander übereinstimmen. Vergleicht man die Angaben der Spalte 1a mit denen der Spalte 1b, so fällt auf, dass die Methylierung am C(3)-Hydroxyl bei Zuckern mit Glucose-Konfiguration (äquatoriales OH; Glucomethylosid, Canarosid) mit einem grösseren Polaritätsverlust verbunden ist als bei solchen mit Galaktose- oder Mannose- (beide ebenfalls äquatoriales OH; Fucosid bzw. Rhamnosid) und Allose-Konfiguration (axiales OH; Digitoxoside). Fucose und Rhamnose sind beide durch je eine axiale,  $\beta$ -ständige Hydroxy-Gruppe (an C(4) bzw. an C(2)) ausgezeichnet, die auf Grund ihrer Stellung und Wechselwirkung mit dem freien Elektronenpaar des Pyran-Sauerstoffs die besonders grosse Polarität dieser Zucker vor allem im Vergleich zur Glucomethylose bedingen (vgl. III. Mitt.<sup>3</sup>).

Aus sterischen Gründen ist die freie Drehbarkeit um die Ring-C-O-Einfachbindung bei einer Methoxy-Gruppierung an einem Sechsring in Sesselkonformation

stark eingeschränkt. Die stabilste, in einigen Fällen einzig mögliche\* Konformation ist in den Beispielen der Fig. 4 dargestellt. Sie entspricht der Konformation, die für Methylisopropyläther, der in seinen sterischen Beziehungen den in Fig. 4 stärker ausgezogenen Gruppierungen analog ist, durch genaue Analyse des I.R.-Spektrums gefunden wurde<sup>33</sup>. Aus Fig. 4 ist ersichtlich, dass die oben erwähnten Unterschiede zwischen den  $\Delta R_M$ -Werten für die Methylierung der äquatorialen Hydroxy-Gruppe an C(3) des Zuckers dadurch erklärt werden können, dass bei der Galaktose- und Mannose-Konfiguration der polare Teil (die  $\beta$ -Seite mit der axialen Sauerstoff-Funktion) von der Methylierung unbeeinflusst bleibt, während die Methylgruppe bei der Glucose-Konfiguration die beiden äquatorialen Sauerstoff-Gruppierungen an den benachbarten C-Atomen mehr oder weniger stark abschirmt. Die für die Digitoxose gefundenen Ergebnisse können nicht direkt mit den anderen verglichen werden, da hier die Hydroxy-Gruppe an C(2) fehlt und die Methoxy-Gruppierung an C(3) axial ist.

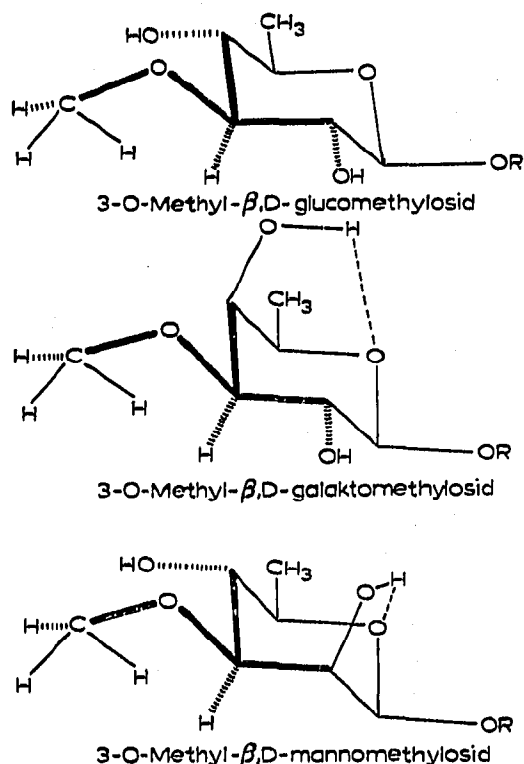


Fig. 4. Konformation der Methoxyl-Gruppierungen in 3-O-Methyl-hexamethylsosen.

Bei den in Tabelle VI, Spalte 2 für die Dc und Pc (System o) dargestellten Werte handelt es sich um das  $\Delta R_M$  für den Austausch einer Acetyl- gegen eine Methyl-Gruppierung am C(3)-Sauerstoff des jeweiligen Zuckers. Hier unterscheiden sich die Werte für eine äquatoriale von denen für eine axiale Gruppierung. Es sei dazu auf die bereits in der III. Mitt.<sup>3</sup> gegebene Erklärung für diese Befunde verwiesen, die auch gilt, wenn die hier gezeigte energetisch günstigere Konformation für die Methoxy-Gruppierung der Diskussion zu Grunde gelegt wird.

\* Die durch eine Drehung von  $180^\circ$  um die C-O-Einfachbindung erhaltene energetisch weniger günstige andere Konformation einer äquatorialen Methoxy-Gruppierung ist nur möglich, wenn der Ring an den beiden benachbarten C-Atomen zwei axiale Wasserstoff-Atome besitzt (vgl. Fig. 4 der III. Mitt.<sup>3</sup>).

TABELLE V

POLARITÄTSREIHEN DER  $\beta$ , D-FORMEN GLYKOSIDISCH GEBUNDENER ZUCKER-RESTE<sup>a</sup>

	Konstitution	Konfiguration				
		Galactose	Mannose	Glucose	Allose	Gulose
Papierchromatographie (vgl. III. Mitt. <sup>a</sup> )	6-Desoxy-hexosen	Fcs	> Rhs	> Glms	> Alms	~ Gums
	3-O-Methyl-didesoxyhexosen	Dns	> Ols	>	Cys	~
Dünnschichtchromatographie (vgl. Tabelle IV)	6-Desoxy-hexosen	Fcs	> Rhs	> Glms	> Alms	~ Gums
	3-O-Methyl-6-desoxy-hexosen	Dls	~ Afs	> This	—	—
	2-Desoxy-hexosen	—	2-Des-Gls	>	2-Des-Als	~
	2,6-Didesoxy-hexosen	—	Cns	>	Dxs	Bvs
3-O-Methyl-didesoxy-hexosen	Dns	>	Ols	Cys	~ Sfs	

<sup>a</sup> Abkürzungen der Zucker vgl. Tabelle IV.

TABELLE VI

 VERGLEICH DER POLARITÄTSBEITRÄGE UNMETHYLIERTER UND 3-O-METHYLIERTER ZUCKER MIT  $\beta$ , D-KONFIGURATION<sup>a</sup>

Spalte	Unmethylierte Verbindung (Nummern der unmethylierten und methylierten Verbindung aus Tabelle I, V. Mitt. <sup>5</sup> )	Ergebnisse der Dünnschichtchromatographie AR <sub>M</sub> -Werte in den Systemen				Ergebnisse der Papierchromatographie AR <sub>M</sub> -Werte in den Systemen				
		I	II	III	IV	0	I	II	III	IV
<b>(C(3)-OH → C(3)-OCH<sub>3</sub>)</b>										
1a	Dg- $\beta$ , D-Glms (5/13) $\beta$ , D-Canarosid/ $\beta$ , D-Oleandrosid (vgl. Tabelle IV)	-0.35	-0.42	-0.43	-0.39	—	-0.98	-1.08	—	—
1b	Dg- $\beta$ , D-Fcs (9/17) $\beta$ , D-Rhamnosid/ $\beta$ , D-Acofriosid (vgl. Tabelle IV) Dg- $\beta$ , D-Dxs (20/28) Strdn- $\beta$ , D-Dxs (117/121) Strdl- $\beta$ , D-Dxs (127/128)	-0.14	-0.14	-0.27	-0.17	—	-0.60	-0.73	-0.45	-0.58
<b>(C(3)-OCOCH<sub>3</sub> → C(3)-OCH<sub>3</sub>)</b>										
2a	Dg- $\beta$ , D-Glms-peracetat (5a/13a) Dg- $\beta$ , D-Fcs-peracetat (9a/17a)	+0.18	+0.14	+0.01	+0.10	+0.26	—	—	—	—
2b	Dg- $\beta$ , D-Dxs-peracetat (20a/28a) Strdn- $\beta$ , D-Dxs-peracetat (117a/121a) Strdl- $\beta$ , D-Dxs-peracetat (127a/128a)	-0.07	-0.02	-0.03	+0.07	—	—	—	—	—
		+0.08	+0.05	+0.08	+0.05	-0.14	—	—	—	—
		-0.02	-0.02	+0.01	+0.06	—	—	—	—	—

<sup>a</sup> Abkürzungen der Zucker vgl. Tabelle IV, Dg = Digitoxigenin, Strdn = Strophanthidin, Strdl = Strophanthidol.



$\Delta R_M$ -WERTE FÜR ZUCKER IN ABHÄNGIGKEIT VON POLAREN SUBSTITUENTEN IN NACHBARSCHAFT ZUR GLYKOSYLOXY-GRUPPE. BESONDERHEITEN DER  $5\beta$ -HYDROXY-GLYKOSIDE

Intramolekulare Wasserstoff-Brücken sind bei den pc Systemen die Ursache dafür, dass das  $\Delta R_{M(\text{Glucose})}$  für die Bindung an verschiedene Zucker in Glykosiden stark variiert, je nach der Art des Zuckers mit dem die Glucose verknüpft ist (Vgl. hierzu Tabelle IV, III. Mitt.<sup>3</sup>). Im Gegensatz dazu ist das  $\Delta R_{M(\text{Glucose})}$  in den dc Systemen unabhängig von der Art des vorausgehenden Zuckers (vgl. Tabelle VII). Auch dieser Befund steht in Übereinstimmung mit der Tatsache, dass intramolekulare H-Brücken bei diesen dc Systemen ohne Einfluss auf das chromatographische Verhalten sind.

TABELLE VII

$\Delta R_M$ -WERTE FÜR DEN GLUCOSYL-REST IN BINDUNG AN VERSCHIEDENE ZUCKER BZW. GENINE

Voraus- gegangener Zucker	Unglucosylierte Verbindung (Nummern aus Tabelle I, V. Mitt. <sup>5</sup> )	$\Delta R_M$ -Werte in den Systemen			
		I	II	III	IV
$\alpha, L$ -Ths	Neriifolin (14/16)	+0.93	+0.79	+0.87	+0.97
	Desacetyltanghinin (150/151)	+0.88	+0.90	+1.01	+1.06
$\alpha, L$ -Rhs	Desglucoscillaren A (aus 144/146 mit $\Delta R_M$ 48/49)	+1.08	+0.96	+1.08	+1.18
$\beta, D$ -Dxs	Evatromonosid (20/22)	+0.99	+0.90	+1.15	+1.02
	Dg-bisdigitoxosid (23/24)	+0.99	+0.94	+0.96	+1.26
	Digitoxin (25/26)	+1.10	+0.98	+1.09	+1.10
	Gitorosid (68/69)	+1.20	+1.06	+1.27	+1.12
	Gitoxin (70/71)	+1.13	+0.98	+1.08	+1.15
	Lanadoxin (77/78)	+1.01	+1.03	+1.02	+1.05
	Gitaloxin (79/81)	+1.06	+0.95	+1.19	+1.12
	Canaridigitoxosid (142/143)	+1.04	+1.08	+1.10	+1.14
$\beta, D$ -Dls	Odorosid H (17/18)	+0.97	+0.95	+1.01	+1.05
	Mittelwert	+1.03	+0.96	+1.07	+1.10
—	Digitoxigenin (1/2)	+0.87	+0.86	+0.86	+0.99
	Scillarenin A (144/145)	+1.06	+0.92	+0.92	+1.09
	Uzariagenin (35/36)	+0.79	+0.93	+0.89	+1.00
	Mittelwert	+0.91	+0.90	+0.89	+1.03

Man muss daher fordern, dass auch die bei den pc Untersuchungen aufgetretenen Unterschiede zwischen den  $\Delta R_M$ -Werten eines Zuckers in Bindung an  $5\beta$ H- bzw.  $5\beta$ OH-Genine (vgl. Tabelle V, III. Mitt.) bei der Dc nicht nachweisbar sind, da diese ebenfalls in der Ausbildung intramolekularer H-Brücken begründet sind. Die in Tabelle VIII zusammengestellten diesbezüglichen Ergebnisse befinden sich jedoch im Widerspruch dazu. Diese Tatsache ist aber offenbar keine Folge dessen, dass die oben aufgestellte Forderung unberechtigt ist. Denn eine genaue Analyse der Ergebnisse in Tabelle VIII zeigt, dass im Gegensatz zu den Befunden der Pc die Differenz zwischen den  $\Delta R_M$ -Werten der Zucker in Bindung an  $5\beta$ H- bzw.  $5\beta$ OH-Genine abhängig von der Art des Zuckers ist. Besonders überrascht aber, dass bei einem Teil

TABELLE VIII

 $\Delta R_M$ -WERTE DER ZUCKER-RESTE FÜR DIE BINDUNG AN 5-UNSUBSTITUIERTE UND 5-HYDROXYLIERTE  $5\beta$ -GENINE

Zucker-Rest	Genin (Genin/Glykosid)	$\Delta R_M$ -Werte in den Systemen			
		I	II	III	IV
$\beta$ ,D-Rhamnosyl-	Digitoxigenin (1/7)	+0.68	+0.62	+0.72	+0.73
	Strophanthidin (107/110)	+1.17	+1.00	+1.14	+1.28
$\alpha$ ,D-Rhamnosyl-	Digitoxigenin (1/8)	+0.40	+0.40	+0.47	+0.47
	Strophanthidin (107/111)	+0.59	+0.48	+0.63	+0.61
$\alpha$ ,L-Rhamnosyl-	Sarmentogenin (48/49)	+0.33	+0.33	+0.40	+0.44
	Gitoxigenin (64/65)	+0.34	+0.35	+0.50	+0.51
	Oleandrigenin (82/83)	+0.48	—	—	+0.47
	Strophanthidin (107/112)	+0.65	+0.61	+0.78	+0.73
	Periplogenin (41/42)	+0.64	+0.67	+0.75	+0.79
	Hellebrigenin (123/124)	+0.71	—	+0.69	+0.65
	Strophanthidol (125/126)	+0.66	+0.70	+0.85	+0.89
$\beta$ ,D-Thevetosyl-	Digitoxigenin (1/13)	+0.19	+0.04	+0.11	+0.21
	Strophanthidin (107/115)	+0.46	+0.37	+0.51	+0.52
$\beta$ ,D-Digitoxosyl-	Digitoxigenin (1/20)	+0.15	+0.09	+0.15	+0.13
	Gitoxigenin (64/68)	-0.02	-0.05	+0.03	+0.09
	Digoxigenin (53/54)	+0.02	+0.01	+0.16	+0.04
	Uzargenin (35/37)	+0.18	+0.14	+0.17	+0.15
	Gitalexigenin (74/77)	+0.06	+0.07	+0.11	+0.14
	Strophanthidin (107/117) Strophanthidol (125/127)	+0.34 +0.24	+0.36 +0.32	+0.36 +0.37	+0.32 +0.38
$\beta$ ,D-Cymarosyl-	Digitoxigenin (1/28)	-0.09	-0.07	-0.05	-0.06
	Cannogenin (98/99)	-0.17	-0.21	-0.03	-0.15
	Strophanthidin (107/121) Strophanthidol (125/128)	-0.11 +0.15	+0.04 +0.15	+0.12 +0.11	+0.10 +0.23
$\beta$ ,D-Gulomethyl- osyl-	Cannogenol (101/102)	+0.37	+0.42	+0.44	+0.51
	Strophanthidin (107/113)	+0.64	+0.59	+0.37	+0.66
Tetrahydro- pyranyl-	Digitoxigenin (1/31)	-0.35	-0.45	-0.30	-0.33
	Strophanthidin (107/122)	-0.33	-0.32	-0.23	-0.37
Peracetyl- $\beta$ ,D- rhamnosyl-	Digitoxigenin (1/7a)	-0.36	-0.39	-0.29	-0.27
	Strophanthidin (107/110a)	-0.27	-0.27	-0.20	-0.32
Peracetyl- $\alpha$ ,L- rhamnosyl-	Sarmentogenin (48/aus 49a)	-0.33	-0.41	-0.36	-0.27
	Oleandrigenin (82/83a)	-0.29	-0.47	-0.18	-0.32
	Periplogenin (41/42a)	-0.40	-0.38	-0.32	-0.43
	Strophanthidin (107/112a)	-0.36	-0.33	-0.27	-0.40
	Hellebrigenin (123/124a)	-0.34	-0.36	-0.24	-0.23
Peracetyl- $\beta$ ,D- digitoxosyl-	Digitoxigenin (1/20a)	-0.25	-0.38	-0.16	-0.31
	Uzargenin (35/37a)	-0.38	-0.25	-0.38	-0.34
	Gitalexigenin (74/77a)	-0.34	-0.34	-0.12	-0.31
	Strophanthidin (107/117a)	-0.31	-0.30	-0.23	-0.33
Peracetyl- $\beta$ ,D- glucosyl-	Digitoxigenin (1/2a)	-0.23	-0.43	-0.24	-0.27
	Uzargenin (35/36a)	-0.36	-0.34	-0.34	-0.31
	Scillaren A (144/145a)	-0.26	-0.43	-0.24	-0.22
	Strophanthidin (107/108a)	-0.21	-0.21	-0.20	-0.27

der Zucker, nämlich bei den peracetylierten sowie der 2,3,4-Tridesoxy-pentose (= 2-Hydroxy-tetrahydropyran) die Ergebnisse in Übereinstimmung mit den theoretischen Erwartungen sind (vgl. unteres Drittel von Tabelle VIII), d.h., dass die gleichen  $\Delta R_M$ -Werte unabhängig vom Substituenten in 5 $\beta$ -Stellung des Genins erhalten werden.

Es ist bedauerlich, dass gerade für diese Gruppe von  $\Delta R_M$ -Werten ein direkter Vergleich mit den in Tabelle V der III. Mitt. zusammengestellten pc Befunden nicht möglich ist, da der Polaritätsumfang der pc Systeme nicht ausreicht, um die notwendigen Genine und ihre peracetylierten Glykoside bzw. Tetrahydropyranyläther in einem System zu chromatographieren. Um dennoch zu diesen sehr wichtigen Angaben zu gelangen, haben wir den  $R_M$ -Wert des Strophanthidins für das System o aus dem  $R_M$ -Wert im System I berechnet. Eine solche Übertragung von  $R_M$ -Werten zwischen zwei Systemen ist im allgemeinen sehr bedenklich (vgl. unsere Ausführungen in der II. Mitt.<sup>2</sup>). In diesem speziellen Fall sind die beiden Systeme in ihrer Zusammensetzung und ihren elektronischen Eigenschaften jedoch so nahe verwandt (System o: Heptan-Methyläthylketon (3:2)/Formamid; System I: Xylo-Methyläthylketon (1:1)/Formamid, vgl. I. Mitt.<sup>1</sup>), dass wir diese rechnerische Übertragung für gerechtfertigt halten. Dazu wurden die  $R_M$ -Werte aller in beiden Systemen chromatographierten Verbindungen (insgesamt 27, vgl. Tabelle I, I. Mitt.) miteinander verglichen und ein mittlerer Übertragungs- $R_M$ (System 1 $\rightarrow$ 0) von +1.10 mit einer Standardabweichung von  $\pm 0.06$  erhalten. Man errechnet daraus für Strophanthidin ( $R_M$  in System I +0.75) einen  $R_M$  im System o von +1.85, mit dem die fehlenden Angaben im System o berechnet werden können (vgl. Tabelle IX).

Es zeigt sich, dass, wie zu erwarten, sowohl das 2-Hydroxy-tetrahydropyran als auch die peracetylierten Zucker in gleicher Weise wie die unacetylierten Zucker unterschiedliche  $\Delta R_M$ -Werte für die Bindung an 5 $\beta$ H- bzw. 5 $\beta$ OH-Genine ergeben.

TABELLE IX

$\Delta R_M$ -WERTE FÜR PERACETYLIERTE ZUCKER-RESTE UND DEN TETRAHYDROPYRANYL-REST IM SYSTEM O DER PAPIERCHROMATOGRAPHISCHEN UNTERSUCHUNGEN  
(BER. AUS TABELLE I, I. MITT.<sup>1</sup>)

Zucker-Rest	Genin	$\Delta R_M$ -Werte im System 0
Tetrahydropyranyl-	Digitoxigenin	-1.54
	Strophanthidin	-1.04
Peracetyl- $\beta$ ,D-rhamnosyl-	Digitoxigenin	-0.55
	Strophanthidin	-0.29
Peracetyl- $\alpha$ ,D-rhamnosyl-	Digitoxigenin	-0.94
	Strophanthidin	-0.61
Peracetyl- $\beta$ ,D-digitoxosyl-	Digitoxigenin	-1.04
	Gitaloxigenin	-1.09
	Canarigenin	-1.01
	Strophanthidin	-0.70

TABELLE X

 VERGLEICH DER POLARITÄTSBEITRÄGE DER 19-OXO- $\beta$ -HO-GRUPPIERUNG IN DER PAPIER- UND DÜNNSCICHTCHROMATOGRAPHIE

Spalte	Ausgangsverbindung und substituierte Verbindung (Nummer aus Tabelle I, V. Mitt. 5) <sup>a</sup>	Dünnschichtchromatographie				Papierchromatographie					
		$\Delta R_M$ -Werte in den Systemen	I	II	III	IV	0	I	II	III	IV
1	Dg- $\beta$ -D-Rhs (7/110)	+0.90	+0.70	+0.57	+1.03	—	—	—	+1.75	+1.19	+1.71
	Dg- $\beta$ -D-Ths (13/115)	+0.68	+0.65	+0.55	+0.70	—	—	—	—	—	—
	Dg- $\beta$ -D-Dxs (20/117)	+0.60	+0.59	+0.36	+0.67	—	—	+1.16	+1.59	—	—
	Dg- $\alpha$ -D-Rhs (8/111)	+0.60	+0.40	+0.31	+0.61	—	—	—	—	+1.16	+1.77
	Dg- $\beta$ -D-Cys (28/121)	+0.61	+0.39	+0.32	+0.64	—	—	—	—	—	—
	Dg- $\beta$ -D-Gls	—	—	—	—	—	—	—	—	+1.11	+1.55
	Dg- $\beta$ -D-Dxs- $\beta$ -D-Gls	—	—	—	—	—	—	—	—	+1.29	+1.62
	Dg-tetrahydropyranyläther (31/122)	+0.43	+0.49	+0.22	+0.44	+1.62	—	—	—	—	—
	Dg- $\beta$ -D-Rhs-peracetat (7a/110a)	+0.50	+0.44	+0.24	+0.43	+1.38	—	—	—	—	—
2	Dg- $\beta$ -D-Ths-peracetat (13a/115a)	+0.35	+0.37	+0.24	+0.47	—	—	—	—	—	—
	Dg- $\beta$ -D-Dxs-peracetat (20a/117a)	+0.35	+0.40	+0.08	+0.46	+1.46	—	—	—	—	—
	Dg- $\alpha$ -D-Rhs-peracetat	—	—	—	—	+1.45	—	—	—	—	—
	Dg- $\beta$ -D-Cys-peracetat (28a/121a)	+0.50	+0.47	+0.19	+0.44	—	—	—	—	—	—
	Dg- $\beta$ -D-Gls-peracetat (2a/108a)	+0.43	+0.54	+0.19	+0.48	—	—	—	—	—	—
	Dg- $\beta$ -D-Dxs- $\beta$ -D-Gls-peracetat (22a/118a)	+0.37	+0.45	+0.20	+0.28	—	—	—	—	—	—
	Dg (1/107)	+0.41	+0.32	+0.15	+0.48	+1.12 <sup>b</sup>	+0.94	+1.29	+0.78	+1.16	—
	Bufalin (34/123)	+0.49	+0.42	+0.20	+0.46	+1.15 <sup>b</sup>	+0.99	+1.30	—	—	—
	Digoxigenin (53/137)	+0.46	+0.44	+0.27	+0.45	—	—	—	+0.70	+1.16	—
3	Gitoxigenin (64/139)	+0.44	+0.45	+0.24	+0.57	—	—	—	+1.34	+0.78	+1.25
	Dg-peracetat (1a/107a)	+0.54	+0.44	+0.24	+0.45	+1.81	—	—	—	—	—
	Bufalin-peracetat (34a/123a)	+0.41	+0.44	+0.15	+0.39	+1.90	—	—	—	—	—
	Mittelwert	+0.44	+0.44	+0.20	+0.45	—	—	—	—	—	—
	Sarmentogenin (48/133)	+0.21	+0.27	+0.14	+0.31	—	—	—	+0.95	+0.57	+0.82
	Sarmentogenin-peracetat (48a/133a)	+0.32	+0.27	+0.13	+0.40	—	—	—	—	—	—

<sup>a</sup> Abkürzungen für die Zucker vgl. Tabelle IV, Dg = Digitoxigenin.

<sup>b</sup> Diese beiden Werte wurden unter Verwendung des Übertrags-R<sub>M</sub>(system 1→0) (vgl. S. 468) berechnet.

Das steht in Übereinstimmung mit der für die Pc diskutierten Begründung für diesen Befund und zugleich im Gegensatz zu den dc Ergebnissen (vgl. Tabelle VIII).

Die in Tabelle VIII dargestellten  $\Delta R_M$ -Wert-Unterschiede sind also nur rein äusserlich den bei den pc Untersuchungen erhaltenen ähnlich. Sie haben offenbar nichts mit den intra-molekularen Wasserstoff-Brücken im Ring A der  $5\beta\text{OH}$ -Genine zu tun. Es handelt sich wahrscheinlich um eine durch die Struktur des Silicagels besonders bevorzugte Anordnung polarer Gruppen innerhalb des jeweiligen Moleküls (vgl. die Ausführungen S. 454). Diese Vermutung wird durch die Angaben für das  $\Delta R_M(19\text{-oxo}, 5\beta\text{OH})$  in Tabelle X gestützt. Auch dort haben wir den hier vorgelegten dc Ergebnissen Berechnungen aus den früheren pc Untersuchungen gegenübergestellt. Auf eine genaue Interpretation der Ergebnisse in Tabelle X wird im folgenden verzichtet, weil diese sinngemäss aus den Erörterungen über die  $5\beta\text{OH}$ -Gruppe abgeleitet werden kann (vgl. II. Mitt.<sup>3</sup> und diese Mitt. S. 455). Den beträchtlichen Unterschieden bei den  $\Delta R_M(19\text{-oxo}, 5\beta\text{OH})$  in den pc Systemen (vgl. vor allem System o, Spalte 2), die auf die Wirkung intramolekularer Wasserstoff-Brücken zurückgehen, steht auch hier die Uniformität der Werte in den dc Systemen (Spalte 2) gegenüber. Es soll hier nur noch auf einen wesentlichen Punkt hingewiesen werden:

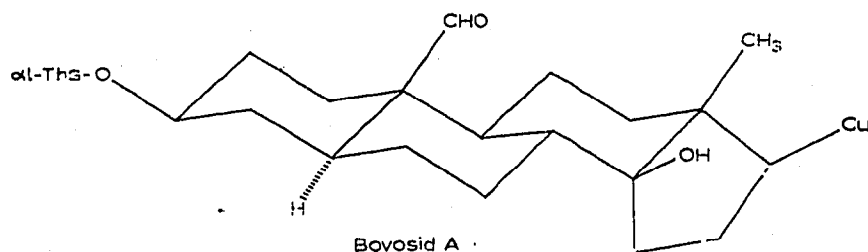
In der Dc ist das  $\Delta R_M(19\text{-oxo}, 5\beta\text{OH})$  abhängig von der Art des Zuckers, in der Pc dagegen nicht (Spalte 1). Diese Abhängigkeit ist ein starker Hinweis darauf, dass die spezifische Anordnung der polaren Gruppen zueinander durch ihre Wechselwirkung mit den Si-OH-Gruppen an der Silicagel-Oberfläche der Grund für diesen Polaritätsgewinn ist. Dieses Zusammenwirken geht verloren, wenn die Hydroxy-Gruppen des Zuckermoleküls acetyliert werden (vgl. die Angaben in Spalte 1 mit denen in Spalte 2).

#### DIE VORAUSBERECHNUNG VON $R_M$ -WERTEN IN DER DÜNNSCICHTCHROMATOGRAPHIE

Die bisherigen Ausführungen haben deutlich gemacht, dass auch bei Verwendung von Dc-Systemen mit Silicagel als Adsorbens prinzipiell eine Analyse von Chromatographie-Struktur-Beziehungen möglich ist. Allerdings führt die Struktur des Silicagels zu Abweichungen von der  $R_M$ -Wert-Theorie, wie sie in den Verteilungssystemen der Pc nicht auftreten. Auf der anderen Seite sind offenbar die hier verwendeten dc Systeme dadurch ausgezeichnet, dass intramolekulare Wasserstoff-Brücken keinen Polaritäts-vermindernden Einfluss haben. Damit wird der wichtigste Faktor eliminiert, der die Anwendbarkeit der  $R_M$ -Wert-Theorie in der Pc kompliziert. Die Übereinstimmung zwischen den  $\Delta R_M$ -Werten für bestimmte Gruppierungen ist in der Dc daher zum Teil besser als in der Pc. Die praktische Bedeutung einer dc Struktur-analyse wird jedoch durch das Auftreten spezifischer Wechselwirkungen zwischen Molekülen mit einer bestimmten Anordnung polarer Gruppierungen und dem Adsorbens eingeschränkt, da diese Störungen zur Zeit kaum vorhersagbar sind.

In der IV. Mitt.<sup>4</sup> dieser Reihe haben wir anhand einer grossen Zahl von Acetyl-Derivaten des Gitoxins und Digitoxins trotz der hier diskutierten Bedenken erfolgreich Gebrauch von einer dc Strukturanalyse gemacht. Dort handelt es sich allerdings im Vergleich zu den hier untersuchten Verbindungen um ein recht homogenes Untersuchungsmaterial. Zum Abschluss dieser Arbeit sollen gleichfalls noch einige  $R_M$ -Wert-Berechnungen angeführt werden, die zeigen, dass bei sorgfältiger Beachtung der besonderen Problematik auf der Basis eines umfangreichen Vergleichsmaterials

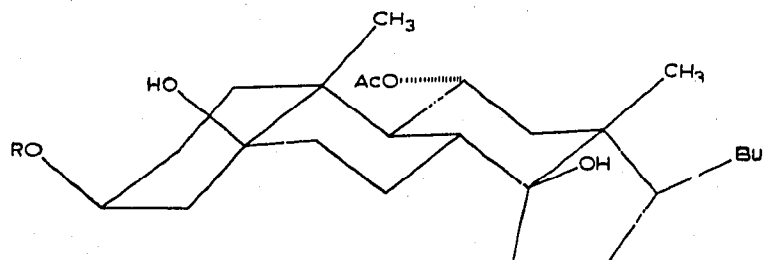
TABELLE XI

 BERECHNUNG DER  $R_M$ -WERTE FÜR BOVOSID A (104)

 $R_M$ - und  $\Delta R_M$ -Werte in den Systemen

		I	II	III	IV
Digitoxigenin (I)		-0.20	-0.34	-0.46	-0.33
+ $\Delta R_M$ 19-oxo (35/103)		+0.20	+0.24	+0.12	+0.20
+ $\Delta R_M$ 17 $\beta$ -Butenolid- $\rightarrow$ 17 $\beta$ -Cumalin-Rest (107/123)		-0.05	-0.04	+0.01	-0.10
+ $\Delta R_M$ 5 $\beta$ H $\rightarrow$ 5 $\alpha$ H (101/105)		-0.07	-0.03	-0.02	-0.01
+ $\Delta R_M$ $\alpha$ ,L-Ths (153/154)		+0.20	+0.12	+0.24	+0.28
$R_M$ Bovosid A	ber.	+0.08	-0.05	-0.11	+0.04
	gef.	+0.06	- <sup>a</sup>	-0.17	-0.05

<sup>a</sup> Bovosid A wurde in diesem System versehentlich nicht chromatographiert.

TABELLE XII

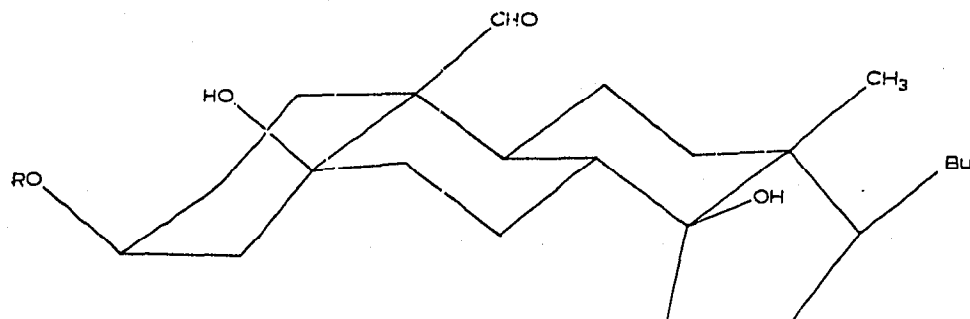
 BERECHNUNG DER  $R_M$ -WERTE FÜR PERACETYL-LOKUNDJOSID (93a)

 Peracetyl-lokundjosid (R = Peracetyl- $\alpha$ ,L-rhamnosyl-Rest)

 $R_M$ - und  $\Delta R_M$ -Werte in den Systemen

		I	II	III	IV
Digitoxigenin (I)		-0.20	-0.34	-0.46	-0.33
+ $\Delta R_M$ 11 $\alpha$ OCOCH <sub>3</sub> (1a/48a)		+0.12	+0.16	+0.06	+0.07
+ $\Delta R_M$ 5 $\beta$ OH (8a/42a) <sup>a</sup>		+0.30	+0.25	+0.17	+0.24
+ $\Delta R_M$ $\alpha$ ,L-Rhs (41/42)		+0.64	+0.67	+0.75	+0.79
+ $\Delta R_M$ $\alpha$ ,L-Rhs $\rightarrow$ $\alpha$ ,L-Rhs-peracetat (112/112a) <sup>a</sup>		-1.01	-0.94	-1.05	-1.13
$R_M$ Peracetyl-lokundjosid	ber.	-0.15	-0.20	-0.53	-0.26
	gef.	-0.15	-0.41	-0.56	-0.28

<sup>a</sup> Bei der Berechnung müssen die besonderen Probleme bei den 5 $\beta$ OH-Glykosiden berücksichtigt werden (vgl. hierzu die Diskussion zu Tabelle VIII, S. 466-468 und Tabelle X, S. 470).

TABELLE XIII

BERECHNUNG DER  $R_M$ -WERTE VON ERYCANOSID (119)Erycanosid (R =  $\alpha$ ,D-Glucosyl-3'-acetyl- $\beta$ ,D-digitoxosyl-Rest)

	$R_M$ - und $\Delta R_M$ -Werte in den Systemen			
	I	II	III	IV
Digitoxigenin (I)	-0.20	-0.34	-0.46	-0.33
+ $\Delta R_M$ $\beta$ ,D-Dxs (74/77)	+0.06	+0.07	+0.11	+0.14
+ $\Delta R_M$ 19-oxo-5 $\beta$ OH (28a/121a) <sup>a</sup>	+0.50	+0.47	+0.19	+0.44
+ $\Delta R_M$ 3'-Acetyl an Dxs (26/27)	-0.35	-0.36	-0.37	-0.33
+ $\Delta R_M$ $\beta$ ,D-Gls (vgl. Tabelle VII)	+1.03	+0.96	+1.07	+1.10
+ $\Delta R_M$ $\beta$ ,D- $\rightarrow$ $\alpha$ ,L-Konfig. der Gls (13/14)	$\pm$ 0.00	+0.15	+0.07	+0.06
$R_M$ Erycanosid	ber. +1.04 gef. +1.03	+0.95 +0.78	+0.61 +0.59	+1.08 +1.07

<sup>a</sup> Die Verwendung dieses Wertes aus Tabelle X erfolgte wegen der Ähnlichkeit des Substitutionsmusters in 4'-Acetyl-cymarose und der hier vorliegenden 3'-Acetyl-4'-glucosyl-digitoxose (vgl. die Diskussion zu Tabelle X). Lediglich prinzipielle Erwägungen haben uns veranlasst, an dieser Stelle nicht den Mittelwert aus Tabelle X zu verwenden, der praktisch zu dem gleichen Ergebnis geführt hätte.

TABELLE XIV

BERECHNUNG DER  $R_M$ -WERTE FÜR ERYCANOSID-PERACETAT (119a)

	$R_M$ - und $\Delta R_M$ -Werte in den Systemen			
	I	II	III	IV
Digitoxigenin (I)	-0.20	-0.34	-0.46	-0.33
+ $\Delta R_M$ $\beta$ ,D-Dxs- $\beta$ ,D-Gls (64/69)	+1.18	+1.01	+1.30	+1.21
+ $\Delta R_M$ Peracetylierung von $\beta$ ,D-Dxs- $\beta$ ,D-Gls (143/143a)	-1.53	-1.63	-1.48	-1.66
+ $\Delta R_M$ 19-oxo-5 $\beta$ OH (vgl. Tabelle X)	+0.44	+0.44	+0.20	+0.45
+ $\Delta R_M$ $\beta$ ,D- $\rightarrow$ $\alpha$ ,L-Konfig. der Gls (13a/14a)	-0.10	-0.08	+0.08	-0.03
$R_M$ Erycanosid peracetat	ber. -0.21 gef. -0.07	-0.60 -0.42	-0.36 -0.54	-0.36 -0.29

die Vorausberechnung bzw. rechnerische Kontrolle von  $R_M$ -Werten auch in der De möglich ist (vgl. Tabellen XI-XIV).

Während die ersten beiden Beispiele (Bovosid A und Peracetyl-lokundjosid; Tabellen XI und XII) nur zur Illustration der Methode dienen, haben wir in Tabellen XIII und XIV noch einmal die Berechnung der  $R_M$ -Werte für Erycanosid und dessen

Peracetat angeführt. Erycanosid wurde von BAUER *et al.*<sup>34</sup> isoliert und seine Struktur als Strophanthidin-2-desoxy- $\beta$ ,D-cellobiosid angegeben. Bei unseren pc Untersuchungen hatten wir auf Grund des chromatographischen Verhaltens dieser Substanz die angegebene Struktur bezweifelt<sup>3</sup> und eine neue vorgeschlagen, die dann durch einige mikrochemische Reaktionen gesichert werden konnte<sup>35</sup>. Danach handelt es sich bei Erycanosid um das Strophanthidin- $\alpha$ ,D-glucosyl-3'-acetyl- $\beta$ ,D-digitoxosid, was auch durch das chromatographische Verhalten in den dc Systemen bestätigt wird (vgl. Tabellen XIII und XIV).

#### ZUSAMMENFASSUNG

Auf der Grundlage von chromatographischen Daten für mehr als 160 Herzglykoside und -genine sowie deren Peracetate (vgl. V. Mitt.<sup>5</sup>) wird über die Möglichkeit einer dünnschichtchromatographischen Strukturanalyse diskutiert. Das Verfahren stösst auf spezifische Schwierigkeiten, die in der Struktur des Schichtmaterials begründet sind. Der mittlere Porendurchmesser und die begrenzte Anzahl von Si-OH-Gruppen an der Oberfläche des Silicagels geben Anlass zu Komplikationen bei der Anwendung der  $R_M$ -Wert-Theorie, wenn Verbindungen mit sehr unterschiedlicher Molekülgrösse verglichen werden (Molekülsieb-Effekt) bzw. bei Häufung von polaren Gruppen auf engem Raum (Nachbargruppen-Effekt). Darüber hinaus konnten Fälle spezifischer Adsorption beobachtet werden. Im Gegensatz zu den papierchromatographischen Befunden haben bei der Dünnschichtchromatographie, zumindest in unseren Systemen, intramolekulare Wasserstoff-Brücken keinen Einfluss auf das chromatographische Verhalten der Verbindungen. Die Vorausberechnung von  $R_M$ -Werten ist jedoch auch in der Dünnschichtchromatographie möglich und wird an vier Beispielen belegt.

#### 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 L. NOVER, G. BAUMGARTEN UND M. LUCKNER, *J. Chromatog.*, 32 (1968) 141.
- 4 L. NOVER, *Arch. Pharm.*, im Druck.
- 5 L. NOVER, G. JÜTTNER, S. NOACK, G. BAUMGARTEN UND M. LUCKNER, *J. Chromatog.*, 39 (1969) 419.
- 6 M. BRENNER, A. NIEDERWIESER, Gy. PATAKI UND R. WEBER, in E. STAHL (Herausgeber), *Dünnschichtchromatographie*, Springer-Verlag, Berlin, 1962, S. 79.
- 7 A. J. P. MARTIN, *Biochem. Soc. Symp. (Cambridge, Engl.)*, 3 (1949) 4.
- 8 H. K. SCHAUER UND R. BULIRSCH, *Z. Naturforsch.*, 10b (1955) 683.
- 9 M. BRENNER UND Gy. PATAKI, *Helv. Chim. Acta*, 44 (1961) 1420.
- 10 G. SCHOMBURG, *J. Chromatog.*, 23 (1966) 1, 18.
- 11 A. KUKSIS, *Methods Biochem. Anal.*, 14 (1966) 325.
- 12 T. L. KWA, O. KORVER UND C. BOELHOUWER, *J. Chromatog.*, 30 (1967) 17.
- 13 R. J. T. GRAHAM, L. S. BARK UND J. DALY, *J. Chromatog.*, 33 (1968) 107.
- 14 R. J. T. GRAHAM, *J. Chromatog.*, 33 (1968) 118, 125.
- 15 S. AGURELL, *Acta Pharm. Suec.*, 2 (1965) 357.
- 16 J. D. PHILLIPSON, *J. Chromatog.*, 24 (1966) 84.
- 17 J. D. PHILLIPSON UND E. J. SHELLARD, *J. Chromatog.*, 32 (1968) 692.
- 18 E. J. SHELLARD, J. D. PHILLIPSON UND D. GUPTA, *J. Chromatog.*, 32 (1968) 704.
- 19 B. P. LISBOA, *J. Chromatog.*, 13 (1964) 391.
- 20 B. P. LISBOA, *J. Chromatog.*, 19 (1965) 81, 333.
- 21 B. P. LISBOA, *Steroids*, 6 (1965) 605; 7 (1966) 41.
- 22 Persönliche Mitteilung der Abteilung "Reagenzien" der E. Merck AG; Brief vom 21.12.1967.
- 23 H. W. KOHLSCHÜTTER UND K. UNGER, in E. STAHL (Herausgeber), *Dünnschichtchromatographie*, 2. Aufl., Springer-Verlag, Berlin, 1967, S. 7.



- 24 K. H. EBERT, *Monatsh. Chem.*, 88 (1957) 275.
- 25 V. YA. DAVYDOV, A. V. KISILEV UND B. V. KUZNETSOV, *Zh. Fiz. Khim.*, 39 (1965) 2058.
- 26 V. YA. DAVYDOV, L. T. ZHURAVLEV UND A. V. KISILEV, *Zh. Fiz. Khim.*, 38 (1964) 2047.
- 27 V. YA. DAVYDOV, A. V. KISILEV UND L. T. ZHURAVLEV, *Trans. Faraday Soc.*, 60 (1964) 2254.
- 28 R. H. MARCHESSAULT UND A. SARCO, *Advan. Carbohydrate Chem.*, 22 (1967) 421.
- 29 B. CASU, M. REGGIANI, G. G. GALLO UND A. VIGEVANI, *Tetrahedron*, 22 (1966) 3061.
- 30 E. L. ELIEL, N. L. ALLINGER, S. J. ANGYAL UND G. A. MORRISON, *Conformational Analysis*, Interscience, New York, 1965, S. 373.
- 31 H. AMATO, *J. Chromatog.*, 33 (1968) 500.
- 32 H. KAUFMANN, P. MÜHLRADT UND T. REICHSTEIN, *Helv. Chim. Acta*, 50 (1967) 2287.
- 33 R. G. SNYDER UND G. ZERBI, *Spectrochim. Acta*, 23A (1967) 391.
- 34 S. BAUER, O. BAUEROVA, L. MASLER UND D. SIKL, *Experientia*, 18 (1962) 441.
- 35 L. NOVER, *Arch. Pharm.*, 300 (1967) 1022.

*J. Chromatog.*, 39 (1969) 450-474