

0021-9693/78/00169-09\$01.50/0

## ÜBER DEN EINFLUSS VON PHENYL- UND DIPHENYLBORSÄURE AUF DIE MOBILITÄT VON CARDENOLIDEN UND BUFADIENOLIDEN BEI DER PAPIERCHROMATOGRAPHIE\*

R. MEGGES, BARBARA STRECKENBACH und K. R. H. REPKE

*Bereich Biomembranen, Zentralinstitut für Molekularbiologie, Forschungszentrum für Molekularbiologie und Medizin der Akademie der Wissenschaften der D.D.R., Lindenberger Weg 70, DDR-1115 Berlin-Buch (D.D.R.)*

(Eingegangen am 10. Mai 1977; geänderte Fassung eingegangen am 15. Dezember 1977)

---

### SUMMARY

*On the influence of phenylboronic and diphenylborinic acid on the paper chromatographic mobilities of cardenolides and bufadienolides*

Phenylboronic acid and diphenylborinic acid were studied as to their influence on the paper chromatographic mobilities of cardenolides and bufadienolides with and without a *cis*-1,2- or *cis*-1,3-diol group. At low concentrations, phenylboronic acid and at higher concentrations, diphenylborinic acid increases the mobility of nearly all investigated *cis*-1,3-diols with a tertiary OH-group. At higher concentrations both acids enhance the mobilities of most of the *cis*-1,3- and *cis*-1,2-diols without a tertiary OH-group, too.

It is concluded that there are two basic prerequisites for the derivatization of *cis*-1,2- or *cis*-1,3-diols: (1) the capabilities of the diol to reach an O-O-distance like that in phenylboronic acid esters or in diphenylborinic acid complexes; (2) the absence of a considerable steric hindrance by a substituent near the reactive diol group. Among the four studied rhamnosides being 1,2-diols two do not react from hitherto unknown reasons.

---

### EINLEITUNG

In einer vorangegangenen Arbeit<sup>1</sup> haben wir den Einfluss von Phenyl- und Diphenylborsäure auf die papierchromatographische Mobilität je eines *cis*-1,2- und *cis*-1,3-Diols der Cardenolidreihe untersucht. Dabei wurde gefunden, dass Phenylborsäure in niedriger Konzentration nur die Mobilität des 1,3-Diols, in höherer aber auch die des 1,2-Diols steigert. Diphenylborsäure erhöht nur in hoher Konzentration die Mobilität des *cis*-1,3- und des *cis*-1,2-Diols. In Übereinstimmung mit Literaturangaben wurde aus den Ergebnissen geschlossen, dass die Beeinflussung der Mobilität

---

\* Auszugsweise vorgetragen am 24.9.1968 auf der Diskussionstagung des Fachverbandes Naturstoffchemie der Chemischen Gesellschaft der D.D.R. in Leipzig.

auf der Bildung cyclischer Derivate mit den Diolgruppierungen beruht. Davon ausgehend wurde in der vorliegenden Arbeit geprüft, wie weit sich diese Spezifität auch auf andere *cis*-1,2- und *cis*-1,3-Diole der Cardenolid- und Bufadienolidreihe übertragen lässt.

#### EXPERIMENTELLES

Die methodischen Einzelheiten sind in der vorangegangenen Mitteilung<sup>1</sup> beschrieben. Die Konzentrationsangaben der Diolreagenzien beziehen sich auf die Formamid-Aceton-Imprägnierungslösung (Phenylborsäure) bzw. auf das Fließmittel (Diphenylborsäure).

#### ERGEBNISSE UND DISKUSSION

Die Ergebnisse der Untersuchung des Einflusses von Phenyl- und Diphenylborsäure auf die Mobilität der *cis*-1,2- bzw. *cis*-1,3-Diole sowie der Vergleichsverbindungen ohne *cis*-Diolgruppierung sind in den Tabelle I bzw. II zusammengefasst.

TABELLE I

#### EINFLUSS VON PHENYL- UND DIPHENYLBORSÄURE AUF DIE MOBILITÄT VON *cis*-1,2-DIOLEN DER CARDENOLID- UND BUFADIENOLIDREIHE

Der Einfluss ist charakterisiert durch das Verhältnis der  $R_F$ -Werte in Gegenwart (G) und in Abwesenheit (A) des Diolreagens. o.E., ohne Einfluss auf die Mobilität; n.u., nicht untersucht. I = Acetyldigitoxin- $\alpha$ , II = Acetyldigitoxin- $\beta$ , III =  $\alpha$ ,16-Diacetylgitoxin, IV =  $\beta$ ,16-Diacetylgitoxin, V = 16-*epi*-Gitoxigenin, VI = Acetyldigoxin- $\alpha$ , VII = Acetyldigoxin- $\beta$ , VIII = Cymaridin, IX = Triacetylproscillaridin A.

Nr.	Cardenolid bzw. Bufadienolid	Reagierende <i>cis</i> -1,2-Diol- gruppierung	100 · $R_F$ (G/A)			Nichtreaktive Vergleichs- verbindung
			Phenylborsäure		Diphenyl- borsäure 5%	
			0.1%	5%		
1	Digitoxin	Digitoxosyl- 3,4-OH	o.E.*	77/24*	n.u.	I; II
2	16-Acetyl-gitoxin		o.E.*	75/19* <sup>***</sup>	45/12*	III; IV
3	16- <i>epi</i> -Gitoxigenin- mono-digitoxosid		n.u.	50/3*	n.u.	V
4	16- <i>epi</i> -Gitoxigenin- bis-digitoxosid		n.u.	43/3*	n.u.	V
5	16- <i>epi</i> -Gitoxin		n.u.	37/3*	n.u.	V
6	Digoxin		o.E.*	50/4*	n.u.	VI; VII
7	Convallatoxin	Rhamnosyl- 2,3-OH	o.E.**	62/14**	20/11**	VIII
8	Ouabain		o.E.**	70/1**	o.E.**	
9	Evomonosid		n.u.	o.E.*	o.E.*	
10	Proscillaridin A		o.E.*	o.E.*	o.E.*	IX

\* Mit formamidgesättigtem Propyläther-Tetrahydrofuran (2:1) als Fließmittel (modifiziert nach Lit. 14).

\*\* Mit formamidgesättigtem Chloroform-Tetrahydrofuran (4:1) als Fließmittel (modifiziert nach Lit. 15).

\*\*\* In Gegenwart von 1% Phenylborsäure.

Die im Zusammenhang mit der vorliegenden Untersuchung wesentlichen Strukturelemente der eingesetzten Verbindungen sind in der Fig. 1 und Tabelle III dargestellt. Weitere Einzelheiten zur Struktur siehe z.B. Lit. 2-4.

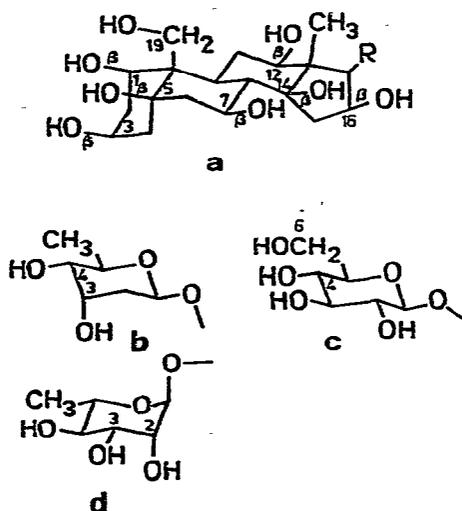


Fig. 1. a, Steroidgerüst mit den besprochenen OH-Gruppen; R = Butenolid bei Cardenoliden bzw. Pentadienolid bei Bufadienoliden. b,  $\beta$ -D-Digitoxosylrest. c,  $\beta$ -D-Glucosylrest. d,  $\alpha$ -L-Rhamnosylrest.

### Nachweis der Reaktion mit den Diolgruppierungen

Um die Spezifität des Angriffs der Diolareagenzien zu charakterisieren, werden parallel zu den Diolen —soweit verfügbar— Vergleichsverbindungen chromatographiert (s. Tabellen I und II). Bei den Vergleichsverbindungen ist mindestens eine der beiden OH-Gruppen der jeweiligen Diolgruppierung für die Derivatbildung nicht mehr verfügbar. Der Vergleich zeigt, dass sich nur von Verbindungen mit freier *cis*-1,2- oder *cis*-1,3-Diolgruppierung rascher wandernde Derivate bilden. Die Notwendigkeit des Vorhandenseins von zwei freien OH-Gruppen der Diolgruppierung beweist die Bildung cyclischer Derivate. Die in der Literatur diskutierte Möglichkeit der Ausbildung einer zusätzlichen koordinativen Bindung bei der Derivatbildung mit Phenylborsäure<sup>5,6</sup> ist in der Mehrzahl der vorliegenden Fälle ausgeschlossen infolge Fehlens einer zur Diolgruppierung benachbarten Sauerstofffunktion.

### Einfluss der Diolareagenzkonzentration

Bei den in den Tabellen I und II angegebenen Diolareagenzkonzentrationen sind die Diole vollständig in die mobileren Derivate umgewandelt. Die Erhöhung der chromatographischen Mobilität ist von der Reagenzkonzentration unabhängig. Bei Unterschreitung der Grenzkonzentration wird nur ein Teil des Diols in das mobilere Derivat umgewandelt, oder es tritt überhaupt keine Beeinflussung der Mobilität ein.

### Phenylborsäure

Phenylborsäure wird in zwei Konzentrationen geprüft. Die Verbindungen, die

TABELLE II

EINFLUSS VON PHENYL- UND DIPHENYLBORSÄURE AUF DIE MOBILITÄT VON *cis*-1,3-DIOLEN DER CARDENOLIDREIHE

Erläuterungen: vgl. Legende zu Tabelle I. X = 3-Acetyl-strophanthidin, XI = Digitoxigenin, XII = 16-Acetyl-gitoxin, XIII = 16-epi-Gitoxin, XIV = Lanatosid A, XV = Desacetyl-lanatosid A, XVI = Digoxin.

Nr.	Cardenolid	Reagierende <i>cis</i> -1,3-Diolgruppierung	100 · R <sub>F</sub> (G/A)		Diphenylborsäure		Nichtreaktive Vergleichs- verbindungen
			Phenylborsäure		Diphenylborsäure		
			0.1%	5%	1%	5%	
1	Strophanthidin	Steroid-3β,5β-OH	79/7*	n.u.	56/5*	66/7*	X; XI
2	Strophanthidol	Steroid-5β,19-OH und -3β,5β-OH	71/3*	n.u.	53/3*	n.u.	X
3	Cynarol	Steroid-5β,19-OH	64/4*	n.u.	57/4*	n.u.	VIII
4	Convallatoxol	Steroid-5β,19-OH	47/10***,***	n.u.	68/6**	62/8**	
5	7β-Hydroxydigitoxigenin	Steroid-7β,14β-OH	89/14*	n.u.	n.u.	80/37*	XI
6	Digoxigenin	Steroid-12β,14β-OH	o.E.	o.E.	o.E.	n.u.	XI
7	Gitoxigenin	Steroid-14β,16β-OH	83/9*	n.u.	43/12*	n.u.	V
8	Gitoxin	"	80/5*	n.u.	35/5*	n.u.	XII; XIII
9	Acetyl-gitoxin-α	"	83/16*	n.u.	o.E.	80/12*	III
10	Acetyl-gitoxin-β	"	82/15*	n.u.	o.E.	> 19/10*,***,†	IV
11	Lanatosid B	"	88/52**	n.u.	67/45**	n.u.	XIV
12	Desacetyl-lanatosid B	"	78/8**	n.u.	n.u.	57/5**	XV
13	Dignatin	"	92/55**	n.u.	72/55**	n.u.	XVI
14	Lanatosid A	Glucosyl-4,6-OH	o.E.	80/66**	o.E.	n.u.	I
15	Lanatosid C	"	o.E.	78/28**	o.E.	46/22**	VI
16	Desacetyl-lanatosid A	"	o.E.	80/21**	n.u.	48/31**	
17	Desacetyl-lanatosid C	"	o.E.	74/7**	n.u.	22/3**	

\* Vgl. Fussnote \* in Tabelle I.

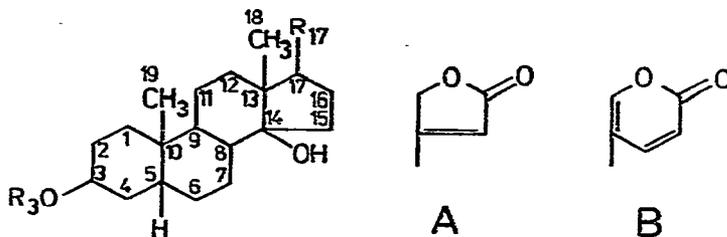
\*\* Vgl. Fussnote \*\* in Tabelle I.

\*\*\* Laufstrecke (cm) nach 15 Stunden Laufzeit im Durchlaufverfahren.

† Durch 5% Diphenylborsäure in der Imprägnierungslösung wird die Chromatographie gestört, so dass kein genauere Wert angegeben werden kann.

TABELLE III

ÜBERSICHT ÜBER DIE STRUKTUR DER CHROMATOGRAPHIERTEN CARDENOLIDE UND BUFADIENOLIDE



Verbindung	R <sub>17</sub>	R <sub>3</sub>	Sonstige Strukturmerkmale
Digitoxin	A	-(Digitoxose) <sub>3</sub>	—
16-Acetylgitoxin	A	-(Digitoxose) <sub>3</sub>	16β-OCOCH <sub>3</sub>
16-epi-Gitoxigenin-mono-digitoxosid	A	-Digitoxose	16α-OH
16-epi-Gitoxigenin-bis-digitoxosid	A	-(Digitoxose) <sub>2</sub>	16α-OH
16-epi-Gitoxin	A	-(Digitoxose) <sub>3</sub>	16α-OH
Digoxin	A	-(Digitoxose) <sub>3</sub>	12β-OH
Convallatoxin	A	-Rhamnose	5β-OH, 19=O
Ouabain	A	-Rhamnose	1β,5β,11α,19-OH
Evomonosid	A	-Rhamnose	—
Proscillaridin A	B	-Rhamnose	Δ <sup>4</sup>
Strophanthidin	A	-H	5β-OH, 19=O
Strophanthidol	A	-H	5β,19-OH
Cymarol	A	-Cymarose	5β,19-OH
Convallatoxol	A	-Rhamnose	5β,19-OH
7β-Hydroxydigitoxigenin	A	-H	7β-OH
Digoxigenin	A	-H	12β-OH
Gitoxigenin	A	-H	16β-OH
Gitoxin	A	-(Digitoxose) <sub>3</sub>	16β-OH
Acetyl-gitoxin-α	A	-(Digitoxose) <sub>2</sub> -3'''-acetyl-digitoxose	16β-OH
Acetyl-gitoxin-β	A	-(Digitoxose) <sub>2</sub> -4'''-acetyl-digitoxose	16β-OH
Lanatosid B	A	-(Digitoxose) <sub>2</sub> -3'''-acetyl-digitoxose-glucose	16β-OH
Desacetyl-lanatosid B	A	-(Digitoxose) <sub>3</sub> -glucose	16β-OH
Diginatin	A	-(Digitoxose) <sub>3</sub>	12β,16β-OH
Lanatosid A	A	-(Digitoxose) <sub>2</sub> -3'''-acetyl-digitoxose-glucose	—
Lanatosid C	A	-(Digitoxose) <sub>2</sub> -3'''-acetyl-digitoxose-glucose	12β-OH
Desacetyl-lanatosid A	A	-(Digitoxose) <sub>3</sub> -glucose	—
Desacetyl-lanatosid C	A	-(Digitoxose) <sub>3</sub> -glucose	12β-OH
Acetyl-digitoxin-α	A	-(Digitoxose) <sub>2</sub> -3'''-acetyl-digitoxose	—
Acetyl-digitoxin-β	A	-(Digitoxose) <sub>2</sub> -4'''-acetyl-digitoxose	—
α,16-Diacetyl-gitoxin	A	-(Digitoxose) <sub>2</sub> -3'''-acetyl-digitoxose	16β-OCOCH <sub>3</sub>

(Fortsetzung S. 174)

TABELLE III (Fortsetzung)

Verbindung	R <sub>17</sub>	R <sub>3</sub>	Sonstige Strukturmerkmale
$\beta$ ,16-Diacetyl-gitoxin	A	-(Digitoxose) <sub>2</sub> -4'''-acetyl-digitoxose	16 $\beta$ -OCOCH <sub>3</sub>
16-epi-Gitoxigenin	A	-H	16 $\alpha$ -OH
Acetyl-digoxin- $\alpha$	A	-(Digitoxose) <sub>2</sub> -3'''-acetyl-digitoxose	12 $\beta$ -OH
Acetyl-digoxin- $\beta$	A	-(Digitoxose) <sub>2</sub> -4'''-acetyl-digitoxose	12 $\beta$ -OH
Cymarin	A	-Cymarose	5 $\beta$ -OH, 19=O
Triacetyl-proscillaridin A	B	-2',3',4'-Triacetyl-rhamnose	$\Delta^4$
3-Acetyl-strophanthidin	A	CH <sub>3</sub> CO-	5 $\beta$ -OH, 19=O
Digitoxigenin	A	-H	—

bei 0.1 % Phenylborsäure schneller als die Ausgangssubstanzen wandern, weisen alle eine *cis*-1,3-Diolgruppierung mit einer tertiären OH-Gruppe auf (Tabelle II): 3 $\beta$ ,5 $\beta$ -OH (Nr. 1), 5 $\beta$ ,19-OH (Nr. 2-4), 7 $\beta$ ,14 $\beta$ -OH (Nr. 5) und 14 $\beta$ ,16 $\beta$ -OH (Nr. 7-13). Bei 5 % Phenylborsäure werden auch die Mobilitäten der Dirole ohne tertiäre OH-Gruppen erhöht, nämlich der *cis*-1,2-Diole (Digitoxoside: Tabelle I, Nr. 1-6; Rhamnoside: Tabelle I, Nr. 7, 8) und der *cis*-1,3-Diole (Glucoside: Tabelle II, Nr. 14-17). Beurteilt nach der zur Mobilitätssteigerung benötigten Phenylborsäurekonzentration reagiert bei Ouabain (Tabelle I, Nr. 8) die Diolgruppierung im Rhamnosylrest (vgl. Tabelle I, Nr. 7) und nicht z.B. die 5 $\beta$ ,19-Diolgruppierung (vgl. Tabelle II, Nr. 2-4). Nach Literaturangaben<sup>7</sup> reagiert bei Glucosiden die 4,6-OH-Gruppierung (*cis*-1,3-Diol) bevorzugt vor der 2,3-OH-Gruppierung (*trans*-1,2-Diol). Die *cis*-1,3-Diole (12 $\beta$ , 14 $\beta$ -OH) Digoxigenin (Tabelle II, Nr. 6) sowie Acetyl-digoxin- $\alpha$  und - $\beta$  (nicht in der Tabelle enthalten) wandern selbst bei der hohen Phenylborsäurekonzentration nicht schneller. Im Gegensatz zu den beiden schon erwähnten Rhamnosiden (Tabelle I, Nr. 7, 8) reagieren zwei andere Rhamnoside (Tabelle I, Nr. 9, 10) überraschenderweise nicht.

### Diphenylborsäure

Bei den meisten *cis*-1,3-Diolen mit tertiärer OH-Gruppe tritt schon bei 1 % Diphenylborsäure eine Erhöhung der Mobilität ein (Tabelle II, Nr. 1: 3 $\beta$ ,5 $\beta$ -OH; Nr. 2-4: 5 $\beta$ ,19-OH; Nr. 7, 8, 11: 14 $\beta$ ,16 $\beta$ -OH). Warum nicht alle 14 $\beta$ ,16 $\beta$ -OH-Diole reagieren (Tabelle II, Nr. 9, 10), ist bisher nicht erklärbar. Dagegen wird die Mobilität von *cis*-1,2- und *cis*-1,3-Diolen ohne tertiäre OH-Gruppe (Tabelle I, Nr. 2: Digitoxosyl-3,4-OH; Nr. 7: Rhamnosyl-2,3-OH; Tabelle II, Nr. 15-17: Glucosyl-4,6-OH) erst durch 5 % Diphenylborsäure erhöht. Das mit Phenylborsäure reagierende Ouabain (Tabelle I, Nr. 8) reagiert nicht mit 5 % Diphenylborsäure. Die mit Phenylborsäure nicht reagierenden Rhamnoside (Tabelle I, Nr. 9, 10) sowie das 12 $\beta$ ,14 $\beta$ -Diol Digoxigenin reagieren auch nicht mit 5 % Diphenylborsäure. Die Mobilitätssteigerung durch Diphenylborsäurekomplexbildung ist nicht so gross wie die durch Phenylborsäureesterbildung. Offenbar wird die bei der Komplexbildung mit Diphenylborsäure zu erwartende Steigerung der Mobilität durch den apolaren zweiten Phenylrest durch die negative Ladung des Komplexes überkompensiert.

*Einfluss der Diolstruktur auf die Diolderivatbildung mit Phenyl- und Diphenylborsäure*

In Tabelle IV sind die Angaben über die Konstitution und Konformation der geprüften Diolgruppierungen sowie die zur Mobilitätserhöhung erforderlichen Diolreagenskonzentrationen zusammengefasst. Danach ist die erste wichtige Voraussetzung für die Derivatbildung die Erreichung eines O—O-Abstandes im Diol, der etwa dem O—O-Abstand in der Phenylborsäure (2.38 Å, Lit. 7) bzw. in den Phenylborsäureestern (2.42 Å berechnet nach Lit. 8) bzw. Diphenylborsäurekomplexen (2.37; 2.48 Å berechnet nach Lit. 9, 10) entspricht. Der O—O-Abstand der Diolgruppierungen (Tabelle IV) weicht von dem der untersuchten Borsäuren vor allem bei der 12 $\beta$ ,14 $\beta$ -OH- und der 14 $\beta$ ,16 $\beta$ -OH-Gruppierung (Tabelle IV Nr. 7, 8) stark ab. Im ersteren Fall (di-äquatoriales *cis*-1,3-Diol, in dem beide OH-Gruppen Substituenten des gleichen Sechsrings sind) ist eine hinreichende Annäherung der O-Atome infolge der Starrheit des Steroidgerüsts nicht möglich. 14 $\beta$ -OH und 16 $\beta$ -OH sind Substituenten des gleichen Fünfringes, der offenbar genügend flexibel ist, um die erforderliche Annäherung der O-Atome zu ermöglichen.

TABELLE IV

## BEZIEHUNGEN ZWISCHEN KONSTITUTION DER DIOLGRUPPIERUNGEN UND IHRER REAKTIVITÄT MIT DIOLREAGENZEN

Die Reaktivität spiegelt sich wider in den Reagenskonzentrationen, die für die Mobilitätserhöhung erforderlich sind. prim = primär; sec = sekundär; tert = tertiär. a = axial; e = äquatorial. k.M. = 5% Diolreagens bewirken keine Mobilitätserhöhung. n.u. = Nicht untersucht.

Nr.	Diolgruppierung	Konstitution	Konformation der OH-Gruppen	Phenylborsäure (%)	Diphenylborsäure (%)	O—O-Abstand im Diol* (Å)
1	Digitoxosyl-3,4-	1,2-Diol sec, sec	a, e	5	5	2.8
2	Rhamnosyl-2,3-	1,2-Diol sec, sec	a, e	5**	5**	2.8
3	Glucosyl-4,6-	1,3-Diol sec, prim	e, —	5	5	2.4***
4	Steroid-3 $\beta$ ,5 $\beta$ -	1,3-Diol sec, tert	a, a	0.1	1	2.6
5	Steroid-5 $\beta$ ,19-	1,3-Diol tert, prim	a, —	0.1**	1**	2.3***
6	Steroid-7 $\beta$ ,14 $\beta$ -	1,3-Diol sec, tert	e, e	0.1	5	2.7
7	Steroid-12 $\beta$ ,14 $\beta$ -	1,3-Diol sec, tert	e, e	k.M.	k.M.	4.8
8	Steroid-14 $\beta$ ,16 $\beta$ -	1,3-Diol sec, tert	—, —	0.1	1*; 5	3.2

\* Messungen am Dreiding-Stereomodell.

\*\* Bei dieser Konzentration tritt nur bei einem Teil der geprüften Diole dieser Gruppe eine Mobilitätserhöhung ein.

\*\*\* Bei der Rotation erreichbarer Minimalabstand.

Die zweite wichtige Voraussetzung für die Derivatbildung ist das Fehlen einer starken sterischen Hinderung. Ein Beispiel dafür ist die fehlende Reaktivität der 5 $\beta$ ,19-OH-Gruppierung des Ouabains (s. unter *Phenylborsäure*). Der wesentliche Unterschied zwischen Ouabain und den reaktiven 5 $\beta$ ,19-Diolen (Tabelle II, Nr. 2–4) besteht darin, dass Ouabain am Ring A statt 2 (3 $\beta$ ,5 $\beta$ ) drei axiale Sauerstoffsubstituenten (1 $\beta$ ,3 $\beta$ ,5 $\beta$ ) besitzt. Im Falle des 3,16-Diacetyl-17 $\beta$ -hydroxy-17 $\alpha$ -gitoxigenins wurde ebenfalls eine sterische Hinderung der Derivatbildung durch den 16 $\beta$ -O-Acetylrest beobachtet<sup>11</sup>. Beide o.g. Bedingungen scheinen auch bei den Rhamnosiden Evomonosid<sup>12</sup> und Proscillaridin A<sup>13</sup> (Tabelle I, Nr. 9, 10) erfüllt zu sein, doch reagieren sie überraschenderweise weder mit Phenylborsäure noch mit Diphenylborsäure.

Da die Rhamnoside Convallatoxin und Ouabain (Tabelle I, Nr. 7, 8) mit Phenylborsäure glatt reagieren, ist die Annahme nicht von der Hand zu weisen, dass sich die Rhamnosylreste in beiden Vergleichspaaren unterscheiden, z.B. in unterschiedlicher Konformation (1 C, C 1) vorliegen.

Der wesentlichste Faktor für die Leichtigkeit der Derivatbildung ist nach den Ergebnissen dieser Untersuchung die Beteiligung einer tertiären OH-Gruppe (Tabelle IV, Nr. 1-3 bzw. 4-6 und 8). Alle übrigen Faktoren zeigen demgegenüber unter den angewandten Bedingungen keinen erkennbaren Einfluss. So ist z.B. kein Unterschied zwischen 1,2- und 1,3-Diolen (Tabelle IV, Nr. 1, 2 und 3) ohne tertiäre OH-Gruppe in bezug auf die zur Derivatbildung erforderliche Reagenskonzentration erkennbar. Die Konformation der OH-Gruppen bei *cis*-1,3-Diolen (Tabelle IV, Nr. 4-6, 8) kann ohne erkennbaren Einfluss erheblich variieren.

#### *Anwendungsmöglichkeiten*

Die Vielzahl der 1,2- und 1,3-Diole in der Cardenolid- und Bufadienolidreihe eröffnet breite Anwendungsmöglichkeiten für den Einsatz von Diolreagenzien zur besseren chromatographischen Trennung von Cardenolidgemischen. Z.B. werden 16-Acetylgitoxin und Acetylgitoxin- $\alpha$ , die sich in den üblichen chromatographischen Systemen nur schwer trennen lassen, mühelos in Gegenwart von 0.1 % Phenylborsäure getrennt.

Der in dieser Arbeit geführte Nachweis, dass nur *cis*-1,2- und *cis*-1,3-Diole mit Phenyl- bzw. Diphenylborsäure reagieren, und dass beide Dioltypen z.T. durch Wahl der Reagenskonzentration unterschieden werden können, eröffnet vorteilhafte Analysemöglichkeiten. Z.B. lässt sich bei der Acetylierung des Gitoxins, das je eine derivatbildende 1,2- und 1,3-Diolgruppierung neben zwei weiteren, acetylierbaren OH-Gruppen enthält, feststellen, bei welchen Acetylderivaten eine Diolgruppierung noch bzw. nicht mehr frei vorliegt. Zur Differenzierung zwischen 1,2- und 1,3-Diolen kann die Anwendung weiterer Diolreagenzien<sup>1</sup> zweckmässig sein. Einschränkend muss jedoch festgestellt werden, dass eine eindeutige Interpretation der Ergebnisse, wie gezeigt, nur bei nachgewiesener Reaktion mit dem Diolreagens möglich ist, da in einzelnen Fällen sowohl bei *cis*-1,2- als auch bei *cis*-1,3-Diolen keine Reaktion eintritt. Entsprechend der leichteren Zugänglichkeit und grösseren Stabilität ist die Phenylborsäure der Diphenylborsäure vorzuziehen.

#### DANK

Für geschickte experimentelle Mitarbeit danken wir Frau H. Timm und Frau I. Sümnick. Den Herren Dr. G. Baumgarten (Wernigerode), Dr. K. K. Chen (Indianapolis), Dr. E. Haack (Mannheim), Prof. Dr. Ch. Tamm (Basel) und Dr. H.-W. Voigtländer (Darmstadt) sind wir für die freundliche Überlassung einiger der benutzten herzwirksamen Steroide sehr verbunden.

#### ZUSAMMENFASSUNG

Die papierchromatographische Mobilität von Cardenoliden und Bufadienoliden mit und ohne *cis*-1,2- bzw. *cis*-1,3-Diolgruppen wird durch Phenylborsäure bzw. Diphenylborsäure unterschiedlich beeinflusst. Phenylborsäure erhöht in niedriger

Konzentration (0.1%) nur die Mobilität der meisten *cis*-1,3-Diole mit tertiärer OH-Gruppe, aber in höherer Konzentration (5%) auch die der meisten *cis*-1,2- und *cis*-1,3-Diole ohne tertiäre OH-Gruppe. Diphenylborsäure erhöht die Mobilität der *cis*-1,3-Diole mit tertiärer OH-Gruppe erst in einer Konzentration von 1% und die der *cis*-1,2- und *cis*-1,3-Diole ohne tertiäre OH-Gruppe mit Ausnahme des Ouabains ebenfalls in einer Konzentration von 5%. Die strukturellen Voraussetzungen für die Mobilitätserhöhung werden diskutiert.

## LITERATUR

- 1 R. Megges, B. Streckenbach und K. R. H. Repke, *J. Chromatogr.*, 154 (1978) 197.
- 2 Ch. Tamm, *Fortschr. Chem. Org. Naturst.*, 13 (1956) 137; 14 (1957) 71.
- 3 L. F. Fieser und M. Fieser, *Steroide*, Verlag Chemie, Weinheim, 1961, S. 801ff.
- 4 G. Baumgarten, *Die herzwirksamen Glykoside*, VEB Georg Thieme, Leipzig, 1963.
- 5 R. J. Ferrier, W. G. Overend, G. A. Rafferty, H. M. Wall und N. R. Williams, *Proc. Chem. Soc.*, (1963) 133.
- 6 E. J. Bourne, E. M. Lees und H. Weigel, *J. Chem. Soc.*, (1965) 3798.
- 7 R. J. Ferrier, A. J. Hannaford, W. G. Overend und B. C. Smith, *Carbohydr. Res.*, 1 (1965) 38.
- 8 H. Shimanouchi, N. Saito und Y. Sasada, *Bull. Chem. Soc. Jap.*, 42 (1969) 1239.
- 9 S. J. Rettig, J. Trotter und W. Kliegel, *Can. J. Chem.*, 52 (1974) 2531.
- 10 S. J. Rettig und J. Trotter, *Can. J. Chem.*, 54 (1976) 1168.
- 11 C. Lindig, P. Franke und K. R. H. Repke, *J. Prakt. Chem.*, 317 (1975) 17.
- 12 Ch. Tamm und J. P. Rosselet, *Helv. Chim. Acta*, 36 (1953) 1309.
- 13 A. Stoll, W. Kreis und A. v. Wartburg, *Helv. Chim. Acta*, 35 (1952) 2495.
- 14 F. Kaiser, E. Haack und H. Spingler, *Justus Liebigs Ann. Chem.*, 603 (1957) 75.
- 15 F. Kaiser, *Chem. Ber.*, 88 (1955) 556.