

146. Über Periplocin, das genuine herzwirksame Glykosid der *Periploca graeca*

(15. Mitteilung über Herzglykoside¹⁾)

von Arthur Stoll und Jany Renz.

(28. VIII. 39.)

I. Historische Einleitung.

Die *Periploca graeca*, eine Schlingpflanze der Familie der Asclepiadaceae, kommt in einem verhältnismässig eng begrenzten Gebiet in Südeuropa und dem nahen Orient vor, d. h. in den Ländern, die vom Mittel- und Schwarzen Meer bespült werden. *E. Lehmann*²⁾, der die Pflanze botanisch genau beschrieben und eingehend pharmakognostisch und chemisch untersucht hat, fand sie im südwestlichen Kaukasus wild wachsend „in Menge und Fülle“ und bemerkt, dass die Untersuchung dieser Pflanze nicht nur theoretisches sondern für die Medizin auch praktisches Interesse biete. Offenbar ist in den Gebieten, wo die *Periploca graeca* wild wächst, schon seit längerer Zeit bekannt, dass der Milchsaft der Rinde herzwirksame Bitterstoffe enthält. *Lehmann* konnte daraus in ansehnlicher Menge (3,8 g aus 1 kg Rinde) einen krystallisierten Stoff isolieren und dessen Glykosidnatur und Herzwirkung feststellen. Er nannte ihn *Periplocin* und gab ihm auf Grund von Elementaranalysen und von Molekulargewichtsbestimmungen die Formel $C_{30}H_{48}O_{12}$. Aus der Spaltung mit verdünnter kochender Schwefelsäure bestimmte der Autor 63 % Aglykon und etwa 31 % Zucker, den er wegen Mangel an Material nicht identifizieren konnte. Auch die Isolierung des Aglykons, das *Lehmann* mit Periplogenin bezeichnete, ist ihm in krystallisierter Form gelungen; er schrieb ihm die Formel $C_{24}H_{34}O_5$ zu.

Im Zusammenhang mit Untersuchungen über die Verwandtschaft der Aglykone von Herzgiften und den Abbau der Glykoside durch spezifische Enzyme, fanden *W. A. Jacobs* und *A. Hoffmann*³⁾, dass die in der *Periploca graeca* ursprünglich vorhandenen Glykoside durch das Enzym Strophanthobiase aus Samen von *Strophanthus Courmontii* zu einem zuckerärmeren Glykosid, dem *Periplocymar*in, dem die Formel $C_{30}H_{46}O_8$ zukommt, abgebaut werden können. Die saure Hydrolyse des *Periplocymar*ins führte zu einem Aglykon, das mit dem *Lehmann*'schen Periplogenin übereinstimmte. Sie gaben ihm die richtige Formel $C_{23}H_{34}O_5$. Die amerikanischen Autoren konnten den abgespaltenen Zucker in einer späteren Untersuchung⁴⁾

¹⁾ 14. Mitteilung Helv. **20**, 1484 (1937).

³⁾ J. Biol. Chem. **79**, 519 (1928).

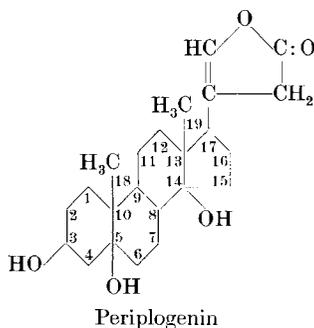
²⁾ Arch. Pharm. **235**, 157 (1897).

⁴⁾ J. Biol. Chem. **91**, 625 (1931).

krystallisieren und als Cymarose identifizieren. Sie vermuteten, dass das ursprünglich in der Droge vorhandene Glykosid zuckerreicher sei und wahrscheinlich noch 1 Mol Glucose enthalte.

*G. Herrmann*¹⁾ hat aus der Rinde von *Periploca graeca* rumänischer Herkunft nach der *Lehmann*'schen Vorschrift Periplocin in einer Ausbeute von 0,3% gewonnen, und in einer neueren Arbeit isolierten *Th. Solacolu* und *G. Herrmann*²⁾ aus derselben Droge neben Periplocin noch geringe Mengen von Periplocymarin. Dieselben Autoren³⁾ haben in *Periploca graeca* ein glykosidspaltendes Enzym, die Periplocibiase nachgewiesen und durch Adsorption an Aluminiumhydroxyd angereichert. Sie fanden, dass dieses Enzympräparat sowohl ihr nach *Lehmann* hergestelltes glucosehaltiges *Periploca*-glykosid, das sie Periplocosid nannten, als auch ein nicht näher definiertes k-Strophanthin spaltet, während es die glucosefreien Heteroside Ouabain und Digitoxin intakt lässt.

Während bei Beginn der vorliegenden Arbeit die Frage über die Zusammensetzung des Zuckerrestes und die Natur der Zuckerbindung (*Cymarose*-Glucose) noch nicht sicher gelöst war und Widersprüche bestanden zwischen den *Lehmann*'schen Analysenergebnissen des Periplocins (Verhältnis von Aglykon zu Zucker) und den sonstigen Eigenschaften des Glykosids, so stand die Konstitution des Aglykonanteils, des Periplogenins weitgehend fest. Es ist nach den Untersuchungen von *W. A. Jacobs* und seinen Mitarbeitern⁴⁾ sowie von *R. Tschesche*⁵⁾ und *G. A. R. Kon*⁶⁾ ein Desoxo-strophanthin folgender Konstitution:



Das Periplogenin enthält demnach anstelle der Aldehydgruppe (C_{18}) im Strophanthin eine Methylgruppe. Andererseits ist das Periplogenin als ein Oxy-digitoxigenin anzusprechen, denn es trägt

¹⁾ C. r. Soc. biol. **102**, 965 (1929).

²⁾ C. r. Soc. biol. **117**, 1138 (1934).

³⁾ loc. cit. und Bull. sci. pharmacol. **43**, 490 (1936).

⁴⁾ *W. A. Jacobs* und *R. C. Elderfield*, J. Biol. Chem. **108**, 497 (1935).

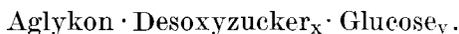
⁵⁾ *R. Tschesche*, Z. physiol. Ch. **229**, 219 (1934).

⁶⁾ *G. A. R. Kon*, J. Soc. Chem. Ind. **53**, 593 und 956 (1934).

in 5-Stellung eine Hydroxylgruppe, die dem Digitoxigenin fehlt, ist aber im übrigen Teil der Molekel mit dem Digitalis-aglykon identisch. Es ist den amerikanischen Autoren in geistreichen Untersuchungen, auf die hier verwiesen sei¹⁾, demnach schon früh gelungen, die nahe Verwandtschaft des Periplogenins mit den Aglykonen der Herzglykoside aus Digitalis- und Strophanthusarten zu beweisen. Das Hydroxyl an C₃ trägt wie bei den verwandten Herzglykosiden den Zuckerrest.

II. Ergebnisse der vorliegenden Untersuchung.

In unseren früheren Mitteilungen über Herzglykoside wurde gezeigt, dass die genuinen Formen mit Ausnahme des Ouabains sich durchwegs aus einem Aglykon und einem Zuckerrest, der seinerseits aus mindestens einem Desoxyzucker und einem Glucoserest besteht, zusammensetzen. Mit dem Aglykon direkt verknüpft ist stets ein Desoxyzucker (Rhamnose, Digitoxose oder Cymarose). Es folgen dann, wie bei den Digitalis-glykosiden, weitere Desoxyzucker und aussen an der Kette mindestens ein Glucoserest. Die glucosehaltigen genuinen Herzglykoside entsprechen daher der allgemeinen Formel



Die enzymatische Spaltung unter der Wirkung von mit den Glykosiden in der Droge vergesellschafteten, spezifischen Enzymen beschränkt sich auf die Bindungen zwischen Glucose und Desoxyzuckern. Die Abspaltung der Desoxyzucker von den Aglykonen gelingt nur mit Säure.

Uns interessierte die Frage, ob auch das natürliche Glykosid von *Periploca graeca* der allgemeinen Formel entspreche und welcher Art die Bindung zwischen Glucose und Desoxyzucker sei, nachdem Spaltungen mit spezifischen Enzymen (Periplocibiase, Strophanthobiase), wie oben gezeigt wurde, bereits durchgeführt waren. Von Interesse war ferner der Vergleich der beiden Disaccharide, die sich aus Periplocin und aus k-Strophanthin- β mit Säure abspalten lassen, die beide aus Cymarose und Glucose bestehen und von denen das Disaccharid aus Periplocin noch nicht bekannt war.

Es war ein besonderer Zufall, dass der eine von uns (*J. R.*) auf einer botanischen Exkursion nahe bei Smyrna in einer Schlucht der *Periploca graeca* begegnete und in der Lage war, davon ein paar Kilo (Holz + Rinde) zu sammeln und in relativ frischem Zustand im Basler Laboratorium zu verarbeiten. Da wir, um möglichst alles Glykosid zu erfassen, auch holzige Teile verarbeiten mussten, so

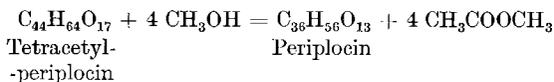
¹⁾ *W. A. Jacobs* und *R. C. Elderfield*, *J. Biol. Chem.* **91**, 628 (1931); *W. A. Jacobs*, *R. C. Elderfield*, *Th. B. Grave* und *E. W. Wignall*, *J. Biol. Chem.* **91**, 617 (1931); *W. A. Jacobs* und *R. C. Elderfield*, *J. Biol. Chem.* **92**, 313 (1931).

betrug die Ausbeute aus 1 kg lufttrockenem Material nur etwas mehr als 1 g von reinem Periplocin. Die ebenfalls untersuchten Blätter erwiesen sich als glykosidfrei.

Das extrahierte und noch stark mit Begleitstoffen verunreinigte Glykosid wurde in die Tetracetylverbindung übergeführt nach einer Methode, die sich bei der Isolierung des genuinen Glykosids aus den Samen von *Strophanthus kombé* bewährt hatte¹⁾. Durch sorgfältige Desacetylierung, die wir, wie die Extraktion und Vorreinigung des Glykosids, im experimentellen Teil beschreiben, gelangt man leicht zu einem in schönen Nadeln krystallisierenden Glykosid, das in vielen Eigenschaften (optische Drehung, Löslichkeit etc.) dem Periplocin von *Lehmann* ähnlich ist. Wir behalten daher die Bezeichnung „Periplocin“ für unser genuines Glykosid bei, obgleich *E. Lehmann* auf Grund der hydrolytischen Spaltung seines Glykosids zum Schluss kam, dass in ihm das Aglykon mit nur einem Monosaccharid verbunden sei. Wahrscheinlich hat im *Lehmann*'schen Periplocin in der Hauptsache doch die höhere Zuckerstufe vorgelegen und nicht das von *Jacobs* und seinen Mitarbeitern isolierte und beschriebene Periplocymarin, das nur einen Zucker, die Cymarose, enthält.

Unsere Reindarstellung des Periplocins über die Tetracetylverbindung nützt den Vorteil aus, dass letztere im Gegensatz zum acetylfreien Glykosid in Wasser sehr schwer, in Chloroform dagegen leicht löslich ist. In Form der Tetracetylverbindung lässt sich daher das Periplocin leicht von einer grossen Menge wasserlöslicher Begleitstoffe abtrennen. Tetracetyl-periplocin krystallisiert aus absolutem Alkohol in sechsseitigen Prismen (vgl. Figur 1 auf Tafel I, die bei 195⁰ ²⁾ unter Zersetzung schmelzen und in alkoholischer Lösung eine Drehung von $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = +20^{\circ}$ ($c = 0,45$) besitzen.

Die schonende alkalische Verseifung in absolut methylalkoholischer Lösung mit wenig Bariummethylat gemäss der Gleichung



gelingt ohne Aufspaltung des alkaliempfindlichen Lactonrings und liefert das ursprüngliche Glykosid in intakter Form.

Bei der Verseifung der Tetracetylverbindung in wässrigem Medium werden 5 Äquivalente Alkali verbraucht, weil unter diesen Bedingungen auch der Lactonring geöffnet wird. Das Äquivalentgewicht der Alkalititration entspricht daher einem Fünftel des Molekulargewichts der Tetracetylverbindung.

¹⁾ s. 14. Mitteilung.

²⁾ Sämtliche Schmelzpunkte der vorliegenden Untersuchung sind korrigiert.

figuration liegen. Wahrscheinlich beruht der Unterschied der beiden Disaccharide auf einer Stellungsisomerie der Glucose an der Cymarose, wofür gerade 2 Möglichkeiten gegeben sind:

1(β)-Glucosido-4-cymarose und 1(β)-Glucosido-5-cymarose.

Verschiedene Grösse des inneroxydischen Ringes des Glucoserestes erscheint weniger wahrscheinlich, weil sich solche Unterschiede im allgemeinen durch verschiedene Spaltungsgeschwindigkeiten bei der Hydrolyse äussern. Strophanthobiose und Periplobiose sind indessen beide schwer verseifbar.

Das Periplocin unterscheidet sich demnach von seinem Analogon in der Strophanthinreihe, dem *k*-Strophanthin- β , nicht nur dadurch, dass es an C₁₈ des Aglykons anstelle des Aldehydsauerstoffs 2 Wasserstoffatome trägt, sondern auch durch eine verschiedene Verknüpfung der Glucose mit Cymarose im Zuckerrest. Es sei noch bemerkt, dass in der frisch geernteten Pflanze, die zur Blütezeit (Juni) in Kleinasien gesammelt wurde, kein Periplocymarin nachgewiesen werden konnte. Auch ein glucosereicherer Glykosid, wie es im *k*-Strophanthosid der Samen von *Strophanthus kombé* und *Courmontii* vorliegt, scheint in der Rinde von *Periploca graeca* zu fehlen. Diese enthält demnach als herzwirksamen Stoff in der Hauptsache Periplocin.

Andererseits sind Glykoside, die sich vom Periplogenin ableiten, in den Samen von *Strophanthus Eminii* nachgewiesen worden¹⁾. Nach der sauren Hydrolyse eines rohen Glykosidgemisches konnte aus dem Aglykonanteil neben Strophanthidin auch Periplogenin isoliert werden.

In der folgenden Tabelle I sind die wichtigsten Daten über Periplocin und Periplogenin von *Lehmann* den neueren Ergebnissen gegenübergestellt.

Man ersieht aus dieser Zusammenstellung, dass, abgesehen von der Formel und der hydrolytischen Spaltung die *Lehmann*'schen Angaben durch die neueren Untersuchungen weitgehend bestätigt worden sind. Dies trifft namentlich für die Angaben *Lehmann*'s über das Aglykon zu.

In der folgenden Tabelle II vergleichen wir die in dieser Untersuchung bearbeiteten Substanzen mit den entsprechenden Verbindungen aus *Strophanthussamen* im Hinblick auf die Formeln, Schmelzpunkte und die optischen Drehungen.

Die physiologische Wirkung des Periplocins ist noch wenig untersucht. *J. Feigl*²⁾ hat das physiologische Verhalten dieses

¹⁾ *W. A. Jacobs* und *N. M. Bigelow*, *J. Biol. Chem.* **99**, 521 (1932) und *J. D. Lamb* und *S. Smith*, *Soc.* **1936**, 442.

²⁾ *Bioch. Z.* **2**, 404 (1907).

Glykosids, das nach der *Lehmann*'schen Vorschrift aus einem käuflichen Präparat gewonnen war, vorwiegend an Warmblütern untersucht und kam zu dem Ergebnis, dass es ein starkes Herzgift sei und eine ähnliche Wirkung entfalte wie die Strophanthus- und Digitalisglykoside.

Tabelle I.

	Periplocin		Periplogenin	
	nach <i>E. Lehmann</i>	auf Grund der neueren Arbeiten	nach <i>E. Lehmann</i>	auf Grund der neueren Arbeiten
Formel	$C_{30}H_{48}O_{12}$	$C_{36}H_{56}O_{13}$	$C_{24}H_{34}O_5$	$C_{23}H_{34}O_5$
% C	60,42	62,12 ¹⁾	71,61	70,48 ²⁾
% H	8,4	8,47 ¹⁾	8,5	9,11 ²⁾
Schmelzpunkt . .	205 ⁰	207—208 ^{0 3)} 209 ⁰	185 ⁰	235 ^{0 4)} 232 ^{0 5)}
Opt. Drehung . .	$[\alpha]_D = + 20^0$ c = 5 i. Alk.	$[\alpha]_D^{20} = + 22,9^0$ c = 0,7 i. Meth. $[\alpha]_D^{20} = + 23^0$ c = 0,65 i. Alk.	$[\alpha]_D = + 30^0$ i. Alk.	$[\alpha]_D^{27} = + 31,5^0 4)$ c = 1,04 i. Alk. $[\alpha]_D^{20} = + 29,8^0$ c = 1 i. Meth.
% Aglykon .	63%	54,1% ⁶⁾	—	—
Hydrolyse % Zucker . .	31%	44,2%	—	—
Wasser . . .	feine Nadeln	feine Nadeln	—	—
Kryst. aus: Wasser-Alk. .	—	—	monokline Prismen	Prismen
Wasser . . .	1:125	mässig löslich	1:2500	schwer
Löslichkeit in: Alkohol . . .	sehr leicht	sehr leicht	sehr leicht	sehr leicht

Orientierende Versuche über die Toxizität des von uns hergestellten kristallisierten Periplocins am Frosch ergaben eine Wirksamkeit, die an die Wirkung der Digitalisglykoside nicht voll herankommt⁷⁾. Die Wirkung war nicht sehr regelmässig. Die Froschdosenzahl per mg (mittlere letale Dosis) liegt zwischen 200 und 300. Der entsprechende Wert für Digitoxin beträgt etwa 400.

¹⁾ Mittelwerte, Ber. C 62,03 H 8,10%.

²⁾ Mittelwerte, Ber. C 70,71 H 8,79%.

³⁾ *G. Herrmann*, C. r. Soc. biol. **102**, 965 (1929).

⁴⁾ *W. A. Jacobs* und *A. Hoffmann*, J. Biol. Chem. **79**, 527 (1928).

⁵⁾ Aus wässrigem Methylalkohol nach Sintern bei 165—170°.

⁶⁾ Ber.: 56% Aglykon und 46,5% Zucker.

⁷⁾ Privat-Mitteilung von Prof. *E. Rothlin*.

Tabelle II.

Vergleich entsprechender Herzglykoside und ihrer Derivate bzw. Spaltprodukte aus Samen von *Strophanthus kombé* und aus *Periploca graeca*.

Präparat	Formel	Schmelzpunkt	$[\alpha]_D^{20}$
Periplogenin	$C_{23}H_{34}O_5$	232°	+ 29,8° Methanol c = 1
Strophanthidin	$C_{23}H_{32}O_6$	235°	+ 44,3° Methanol c = 1
Periplocymarin	$C_{30}H_{46}O_8$	145°	+ 27,6° Methanol c = 0,2
Cymarin	$C_{30}H_{44}O_9$	148°	+ 39,2° Methanol c = 1
Periplocin.	$C_{36}H_{56}O_{13}$	209°	+ 22,9° Methanol c = 0,7
k-Strophanthin- β	$C_{36}H_{54}O_{14}$	195°	+ 31,8° Methanol c = 0,9
Tetracetyl-periplocin	$C_{44}H_{64}O_{17}$	195°	+ 20,0° Alkohol c = 0,5
Tetracetyl-k-strophanthin- β	$C_{44}H_{62}O_{18}$	168°	+ 12,0° Alkohol c = 1
Periplobiose	$C_{13}H_{24}O_9$	160—170° (Zersetz. ¹⁾)	+ 32° Wasser c = 0,5
Strophanthobiose	$C_{13}H_{24}O_9$	208°	+ 31,1° Wasser c = 2
Pentacetyl-periplobiose	$C_{23}H_{34}O_{14}$	184°	+ 19,5° Chlorof. c = 0,4
Pentacetyl-strophanthobiose	$C_{23}H_{34}O_{14}$	162°	+ 13,3° Chlorof. c = 0,6

Experimenteller Teil.

1. Extraktion des Rohglykosids aus *Periploca graeca* und Darstellung von Tetracetyl-periplocin.

Das selbst gesammelte Material wog in frischem Zustand etwa 20 kg, getrocknet 6 kg und wurde innerhalb 4 Wochen nach dem Sammeln in unserem Basler Laboratorium verarbeitet.

1 kg getrocknete und fein gemahlene Stengel und Rinde der dicken Äste werden unter Rühren dreimal mit je 10 Liter Alkohol 10 Stunden lang extrahiert. In dem alkoholischen Medium besteht keine Gefahr einer enzymatischen Zuckerabspaltung. Die Strophanthobiase z. B. ist schon in wässrigem Alkohol unwirksam. Essigester, der für die Extraktion mancher Herzglykoside gedient hat, löst das Periplocaglykosid nur sehr langsam aus der holzigen Droge heraus.

¹⁾ Vgl. S. 1197 und 1206.

Die grünlich gefärbten Extrakte werden vereinigt und im Vakuum bei niederer Temperatur zur Trockne verdampft. Der harzige Rückstand wird mit Äther durchgearbeitet, bis er körnig und filtrierbar wird; er wiegt trocken ca. 50 g und enthält das Glykosid noch in sehr verdünnter Form neben einer grossen Menge von Begleitstoffen.

Zur Entfernung der mit Bleiverbindungen fällbaren Substanzen wird das grünliche Pulver in 92-proz. Alkohol gelöst und mit frisch dargestelltem und neutral gewaschenem Bleihydroxyd behandelt. Die filtrierte und mit Schwefelwasserstoff vom Blei-ion befreite Lösung wird im Vakuum auf 1 Liter konzentriert und dadurch von Alkohol befreit. Durchschütteln mit Chloroform entfernt aus ihr schmierige gefärbte Substanzen, die keine Herzglykoside enthalten.

Um eventuell vorhandene zuckerreichere Glykoside zu fassen, wird die wässrige Lösung nun mit alkoholhaltigem Chloroform ausgeschüttelt unter Einhaltung des Verhältnisses Wasser: Chloroform: Alkohol = 2 : 2 : 3. Unter gleichen Entmischungsverhältnissen würde das rohe k-Strophanthosid, das aus Aglykon, Cymarose und 2 Glucosemolekeln besteht, in die Chloroformschicht übergehen. Es zeigte sich indessen, dass in der *Periploca* ein so zuckerreiches Glykosid nicht vorkommt, so dass die Entmischung unter weiterer Abtrennung von Begleitstoffen bei Gegenwart von weniger Alkohol wiederholt werden konnte. Die vereinigten alkoholhaltigen Chloroformlösungen werden zunächst im Vakuum eingedampft und hinterlassen 20—25 g Rückstand, der eine starke *Liebermann*'sche Farbreaktion liefert. Er wird in 400 cm³ Wasser gelöst, dreimal mit Chloroform-Alkohol unter Einhaltung des Verhältnisses Wasser: Chloroform: Alkohol = 2 : 2 : 1 entmischt. Nun beträgt der Rückstand der vereinigten und abgedampften Chloroformschichten nur noch 5 g und enthält praktisch das gesamte Rohglykosid.

Aus 5 g scharf getrocknetem Rohperiplocin werden durch 12-stündiges Stehenlassen mit Essigsäure-anhydrid in Pyridin, Ausfällen mit Wasser, Durchkneten der zunächst schmierigen Fällung mit frischem Wasser bis sie filtrierbar wird, und Filtration 7,3 g rohes Acetylprodukt gewonnen. Das mit wenig absolutem Alkohol angeriebene Präparat erstarrt schon nach kurzer Zeit zu einer dicken Krystallmasse. Nach 24-stündigem Aufbewahren im Eisschrank wird von der gelben Mutterlauge abgesaugt und mit wenig kaltem absolutem Alkohol nachgewaschen. Die so erhaltene krystallisierte Acetylverbindung ist schon fast farblos und wiegt trocken 1,8 g. Sie ist, da sie von Verunreinigungen fast gänzlich befreit ist, in absolutem Alkohol schwerer löslich geworden und kann aus der 20-fachen Menge umkrystallisiert werden. Die Ausbeute an reiner Tetracetylverbindung beträgt 1,6 g.

Der auffallende Abfall im Gewicht zwischen rohem Acetylprodukt (7,3 g) und krystallisierter Tetracetylverbindung (1,8 g)

erforderte eine eingehende Untersuchung der Mutterlaugen. Sie enthalten neben kleineren Mengen des peracetylierten Glykosids meist braungefärbte harzige Produkte mit nur einem geringen Prozentsatz von Substanzen, welche die *Liebermann'sche* Farbreaktion zeigen. Insbesondere konnte durch eine weitere, verfeinerte Fraktionierung der entacetylierten Mutterlaugenprodukte mit Chloroform und Alkohol kein zuckerreicheres Glykosid, das dem k-Strophanthosid entsprechen würde, aufgefunden werden.

Der Schmelzpunkt des reinen Tetracetyl-periplocins liegt bei 195°. Die Verbindung ist schwer löslich in Wasser, indessen leicht in Alkohol und in Chloroform. Sie krystallisiert aus absolutem Alkohol in gerade abgeschnittenen sechseckigen, flachen Prismen (vgl. Fig. 1 auf Tafel I).

Elementaranalyse: Die Substanz wurde in 1½ Stunden im Hochvakuum bei 70° zur Konstanz getrocknet.

3,007; 3,420 mg Subst. gaben 6,738; 7,675 mg CO₂ und 1,963; 2,350 mg H₂O

$C_{44}H_{64}O_{17}$	Ber. C 61,08	H 7,46%
(Mol.-Gew. = 864,5)	Gef. „ 61,11; 61,12	„ 7,30; 7,69%

Polarisation: 0,1127 g Substanz in 25 cm³ absolutem Alkohol (c = 0,4508) drehten bei 20° im 2 dm-Rohr um 0,18° nach rechts.

$$[\alpha]_D^{20} = + 20,0^{\circ}.$$

Titration mit Lauge: 0,1167 g Subst. wurden in 50 cm³ absolutem Alkohol gelöst und mit 20,0 cm³ 0,1-n. Natronlauge versetzt. Durch Erhitzen der Lösung während 5 Stunden auf dem Dampfbad werden sowohl die 4 Acetylgruppen abgespalten wie der Lactonring im Aglykonanteil geöffnet, wodurch 5 Mol Lauge verbraucht werden. Die verbleibende Natronlauge wird mit 0,1-n. Schwefelsäure gegen Phenolphthalein zurücktitriert. Es wurden 6,73 cm³ Lauge verbraucht, was einem Äquivalentgewicht von 173,4 entspricht. Für Tetracetyl-periplocin (Mol.-Gew. = 864,5) berechnet sich 172,9.

Hydrolyse mit Säure: Die eben neutralisierte Lösung der alkalischen Titration, während welcher unter Alkalieinwirkung die Isoverbindung entstanden war, blieb nach dem Ansäuern mit verdünnter Schwefelsäure 2 Tage bei Zimmertemperatur stehen. Dann wurde von einer krystallinen Ausscheidung des frei gewordenen Aglykons abfiltriert und der in Lösung verbliebene Teil mit Chloroform ausgeschüttelt. Der auskrystallisierte Teil und der beim Eindampfen der Chloroformfraktion gewonnene Rückstand wogen zusammen 0,056 g. Das Aglykon wurde zweimal aus verdünntem Alkohol umkrystallisiert und bestand aus Nadeln, die bei 248° schmolzen und mit dem von *Jacobs* dargestellten und beschriebenen Iso-periplogenin identisch waren. Es wurden somit bei der sauren Hydrolyse 48% freies Aglykon gebildet. Für Iso-periplogenin (C₂₃H₃₄O₅; Mol.-Gew. = 390,3) aus Tetracetyl-periplocin berechnen sich 45,2%.

2. Periplocin aus Tetracetyl-periplocin.

Wie bei der Desacetylierung von Heptacetyl-k-strophanthosid¹⁾ muss bei der Zerlegung der Tetracetylverbindung auf die Alkaliempfindlichkeit des Lactonrings Rücksicht genommen werden. 0,476 g im Hochvakuum getrocknetes Tetracetyl-periplocin wurden in 20 cm³ absolutem Methanol gelöst und mit 0,80 cm³ einer Barium-

¹⁾ Helv. **20**, 1503 (1937).

methylatlösung, die mit 2,14 cm³ 0,1-n. Schwefelsäure äquivalent war, während 13 Stunden im Eisschrank gelassen. Dann wurde das Bariumion mit der äquivalenten Menge 0,1-n. Schwefelsäure gefällt. Da die Acetylreste in Form von Methylacetat vorliegen, kann die Lösung, die das freie Glykosid enthält, ohne Schädigung im Vakuum zur Trockne eingedampft werden. Der Rückstand wog 0,380 g (ber. 0,3834 g) und wurde in Alkohol aufgenommen, mit demselben Volumen Wasser versetzt und durch Abdampfen im Vakuum vom Alkohol befreit. Die rein wässrige Lösung wurde durch rasche Filtration geklärt, worauf bald eine reichliche Krystallisation von feinen Nadelchen einsetzte. Die konzentrierte wässrige Lösung erstarrte schliesslich zu einem dicken Krystallbrei des beinahe reinen Glykosids, das aus wässrigen Medien mit 2 Mol. Krystallwasser erhalten wird (vgl. Figur 2). Aus Aceton krystallisiert das Periplocin nach Zugabe von etwas Äther in dünnen Blättchen, die zu Rosetten gruppiert sind.

Das Periplocin ist leicht löslich in Alkohol, schwerer in Wasser, in dem es sich in der Siedehitze in der 20-fachen Menge löst, es ist fast unlöslich in Äther und Chloroform. Sein Schmelzpunkt schwankt mit der Art des Erhitzens. Im Hochvakuum getrocknet schmilzt es unter langsamem Erhitzen bei 209°; beim Einbringen der Substanz in ein schon vorher auf 200° erhitztes Bad schmilzt sie unter Zersetzung erst bei 224°. Das Periplocin sowohl wie seine Tetracetylverbindung zeigen bei der *Liebermann'schen* Farbreaktion mit Essigsäure-anhydrid-Schwefelsäure zunächst eine schön rote Farbe, die sofort nach Grün umschlägt. Die *Keller-Kiliani'sche* Farbreaktion (Unterschichten der Lösung in eisen(III)-chloridhaltigem Eisessig mit konz. Schwefelsäure) ist nicht charakteristisch; es entsteht an der Grenzfläche Schwefelsäure-Eisessig ein brauner Ring im Gegensatz zu Periplocymarin, bei dem sich die Eisessigschicht allmählich kornblumenblau anfärbt.

Gewichtsabnahme beim Trocknen im Hochvakuum: 0,0853 g verloren in einer Stunde bei 105° 0,0046 g = 5,4% H₂O.

Ber. für C₃₆H₅₆O₁₃ · 2 H₂O = 4,9%.

Elementaranalyse: Die Substanz erreichte nach dem Trocknen im Hochvakuum bei 90—100° in 1½ Stunden Gewichtskonstanz.

2,885; 3,142; 2,845 mg Subst. gaben 6,586; 7,150; 6,472 mg CO₂ und 2,225; 2,388; 2,109 mg H₂O.

C ₃₆ H ₅₆ O ₁₃	Ber. C 62,03	H 8,10%
(Mol.-Gew. = 696,45)	Gef. „ 62,26; 62,05; 62,04	„ 8,63; 8,50; 8,29%

Polarisation: Die Drehwerte wurden in Methanol und Alkohol bestimmt:

0,1747 g im Hochvakuum bei 110° zur Konstanz getrocknetes Periplocin, in 25 cm³ Methanol gelöst (c = 0,6988), drehten im 2 dm-Rohr bei 20° um 0,32° nach rechts:

$$[\alpha]_D^{20} = + 22,9^{\circ}.$$

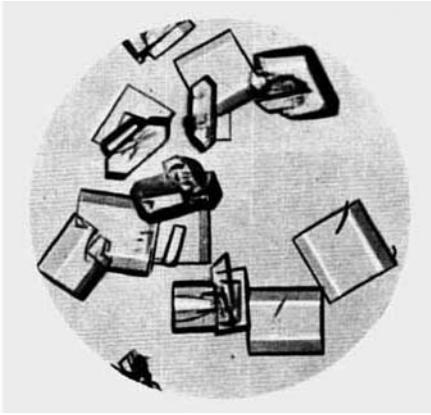


Fig. 1.
Tetracetyl-periplocin
(aus abs. Alkohol).

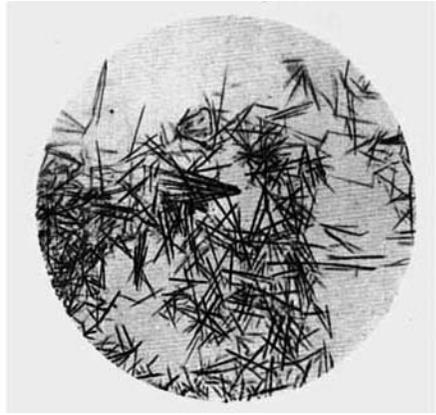
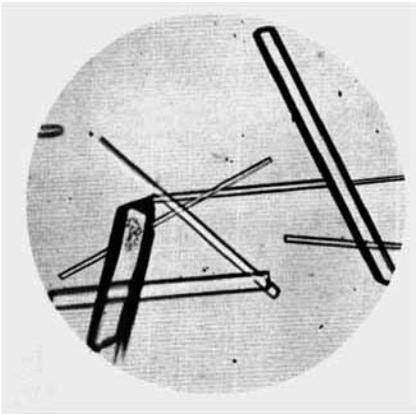
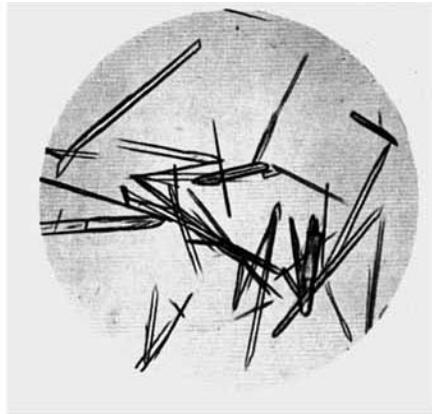


Fig. 2.
Periplocin
(aus Wasser).



Periplocymarin
(aus Methanol-Wasser).



Periplogenin
(aus Methanol-Wasser).

0,1539 g hochvakuumtrockenes Periplocin, in 25 cm³ absolutem Alkohol gelöst (c = 0,6156), drehten im 2 dm-Rohr bei 20° um 0,29° nach rechts:

$$[\alpha]_D^{20} = + 23^{\circ}.$$

Lehmann (l. c.) fand für sein Periplocin in Alkohol:

$$[\alpha]_D^{16} = + 20^{\circ} \text{ (c = 5)}.$$

Lactonitration: 0,1892 g hochvakuumtrockenes Periplocin wurden in 10 cm³ absolutem Alkohol gelöst und mit 10,00 cm³ 0,1-n. Natronlauge versetzt. Die Lösung blieb eine Stunde im Dampfbad stehen und wurde hierauf mit 0,1-n. Schwefelsäure gegen Phenolphthalein zurücktitriert. Es wurden 2,73 cm³ 0,1-n. Lauge verbraucht. Daraus errechnet sich ein Äquivalentgewicht von 693,0; berechnet für C₃₆H₅₆O₁₃ = 695,45.

3. Saure Hydrolyse des Periplocins.

Beim Bestreben, das Disaccharid zu isolieren, sind milde Verseifungsbedingungen angezeigt. 0,3665 g Periplocin wurden in 10 cm³ absolutem Alkohol gelöst und nach Zusatz von 10 cm³ 0,1-n. Schwefelsäure 12 Stunden bei 25° und dann noch 2 Stunden bei 40—50° gehalten. Dann wurde mit Wasser verdünnt, das Aglykon erschöpfend mit Chloroform ausgeschüttelt und im Vakuum bei niedrigerer Temperatur zur Trockne eingedampft. Der Rückstand wog 0,1948 g = 54,1% (ber. für Periplogenin 0,2054 g = 56,0%). Ein anderer Hydrolyseversuch ergab aus 0,63 g Periplocin 0,36 g Periplogenin = 57,0%. Das Periplogenin wurde aus Methanol-Wasser umkrystallisiert, wobei es in langen Spiessen, die vielfach zu Ähren gruppiert sind, erschien (vgl. Figur 4). Es zeigte im Hochvakuum getrocknet nach Sintern bei 165 bis 170° den Smp. von 232°.

Elementaranalyse: Die Substanz wurde 1¼ Stunden bei 60° getrocknet.

2,923; 3,198 mg Subst. gaben 7,567; 8,25 mg CO₂ und 2,385; 2,600 mg H₂O

C ₂₃ H ₃₄ O ₅	Ber. C 70,71	H 8,79%
(Mol.-Gew. = 390,3)	Gef. „ 70,60; 70,36	„ 9,13; 9,10%

Polarisation: 0,2306 g in 25 cm³ Methanol gelöst (c = 0,9224), drehten im 2 dm-Rohr bei 20° um 0,55° nach rechts.

$$[\alpha]_D^{20} = + 29.8^{\circ}.$$

W. A. Jacobs und *A. Hoffmann*¹⁾ gaben für Periplogenin, das aus Methanol krystallisiert war, einen Schmelzpunkt von 235° und einen Drehwert von $[\alpha]_D^{27} = + 31,5^{\circ}$ (c = 1,04 in Alkohol) an.

*Lehmann*²⁾ fand für $[\alpha]_D = + 30^{\circ}$ in Alkohol.

Gewinnung der Periplobiose: Die mit Chloroform ausgeschüttelte, schwefelsaure wässrige Lösung wurde mit Bariumcarbonat neutralisiert, von den Bariumsalzen abfiltriert und im Vakuum zur Trockne eingedampft. Der farblose Rückstand wurde nun in Methanol aufgenommen, klar filtriert und wiederum zur Trockne verdampft. Der Rückstand wog 0,1621 g = 44,2% des angewandten Periplocins (ber. für das Disaccharid 0,1706 g = 46,55%).

¹⁾ J. Biol. Chem. **79**, 527 (1928).

²⁾ *E. Lehmann*, Arch. Pharm. **235**, 157 (1897).

Nach dem Aufnehmen mit Methanol und Versetzen mit Äther bildeten sich nach dem Abfiltrieren einer amorphen Vorfraktion undeutlich ausgebildete Krystalldrusen, besonders an den Stellen, die mit dem Glasstab gerieben wurden.

Der Zersetzungspunkt des im Hochvakuum getrockneten Disaccharids liegt, nach Sintern von ca. 120° an, bei 160—170°, abhängig von der Art des Erhitzens und vom Feuchtigkeitsgehalt. Die Periplobiose ist hygroskopisch und spielend löslich in Wasser und den niederen Alkoholen. Sie reduziert *Fehling'sche* Lösung und gibt bei der *Keller-Kiliani'schen* Farbreaktion an der Grenzzone zwischen Schwefelsäure und Eisessig einen orange-braunen Ring. Wäre freie Cymarose vorhanden, so müsste sich die Eisessigschicht kornblumenblau färben. Die Periplobiose ist, wie die Strophanthobiose, mit Säuren schwer verseifbar.

Elementaranalyse: Die Substanz erreichte im Hochvakuum bei 70° in 1½ Stunden Gewichtskonstanz.

3,139; 2,965 mg gaben 5,552; 5,253 mg CO₂ und 2,120; 2,055 mg H₂O

C₁₃H₂₄O₉ Ber. C 48,12 H 7,46%

(Mol.-Gew. = 324,19) Gef. „ 48,24; 48,32 „ 7,55; 7,75%

Polarisation: 0,0690; 0,0485 g im Hochvakuum getrocknete Periplobiose wurden in 25 bzw. 10 cm³ Wasser gelöst (c = 0,276; 0,485) und drehten im 2 dm-Rohr bei 20° um 0,17; 0,31° nach rechts.

$$[\alpha]_D^{20} = +30,8; +32,0^{\circ}.$$

4. Enzymatische Hydrolyse des Periplocins mit Strophanthobiase.

Das Enzympräparat wurde nach den Angaben von *W. A. Jacobs* und *A. Hoffmann*¹⁾ aus Samen von *Strophantus Courmontii* dargestellt. Die Wirksamkeit des Präparates ist im Parallelversuch durch Spaltung von *k-Strophanthin-β* festgestellt worden.

300 mg Periplocin wurden in der Wärme in 60 cm³ Wasser gelöst und nach dem Erkalten mit 300 mg Enzympräparat in 10 cm³ Wasser und mit einigen Tropfen Toluol versetzt. Nach 50-stündigem Aufbewahren im Thermostaten bei 37° ist die Lösung nochmals mit 100 mg Enzympräparat in 5 cm³ Wasser versetzt worden, worauf der Versuchsansatz weitere 50 Stunden im Thermostaten verblieb. Hierauf erfolgte durch Eingießen in 350 cm³ absoluten Alkohol Ausflockung und durch Filtration Abtrennung des Enzyms. Der durch Eindampfen im Vakuum zur Trockne gewonnene Rückstand wurde in wenig Methanol aufgenommen, die Lösung durch Filtration geklärt und wiederum im Vakuum zur Trockne verdampft.

Durch die Abspaltung der Glucose ist das Glykosid, das nun in Form von Periplocymarin vorliegt, in reinem Chloroform löslich geworden und kann damit ausgeschüttelt werden. Der Eindampfungsrückstand wurde daher nach dem Aufnehmen in 50 cm³ Wasser

¹⁾ J. Biol. Chem. **69**, 157 (1926).

5mal mit je 30 cm³ Chloroform ausgeschüttelt, worin alles Periplocymarin in Lösung ging. Es wog nach dem Eindampfen der Chloroformlösung zur Trockne 0,21 g, d. h. es waren 90,5% des ursprünglich vorhandenen Periplocins gespalten worden. Der Parallelversuch mit k-Strophanthin-β als Substrat lieferte unter gleichen Verhältnissen 0,175 g Cymarin, was einer enzymatischen Spaltung von nur 75% entspricht. Periplocin scheint mit Strophanthobiase etwas leichter gespalten zu werden als k-Strophanthin-β. Das gebildete Periplocymarin wurde aus Methanol-Wasser umkristallisiert. Man erhielt es dabei in langen teils schief abgeschnittenen, teils pyramidenförmig zugespitzten Prismen (vgl. Figur 3), die, frei von Krystalllösungsmitteln, bei 135° zu sintern begannen und bei 143—145° schmolzen.

Elementaranalyse: Die Substanz wurde im Hochvakuum bei 90° getrocknet. 3,205; 3,132 mg Subst. gaben 7,960; 7,745 mg CO₂ und 2,562; 2,498 mg H₂O

C ₃₀ H ₄₆ O ₈	Ber. C 67,36	H 8,68%
(Mol.-Gew. = 534,4)	Gef. „ 67,73; 67,44	„ 8,94; 8,92%

Polarisation: 0,1409 g der im Hochvakuum bei 105° getrockneten Subst. wurden in 25 cm³ 95-proz. Alkohol (c = 0,5636) gelöst und drehten im 2 dm-Rohr bei 20° um 0,34° nach rechts.

$$[\alpha]_D^{20} = + 30,2^{\circ}.$$

0,0407 g im Hochvakuum getrocknete Subst., in 25 cm³ Methanol (c = 0,1628) gelöst, drehten im 2 dm-Rohr bei 20° um 0,09° nach rechts.

$$[\alpha]_D^{20} = + 27,6^{\circ}.$$

W. A. Jacobs und A. Hoffmann¹⁾ fanden für Periplocymarin nach Sintern bei 135° den Smp. bei 145—148° und für $[\alpha]_D^{22} = + 29^{\circ}$ (c = 0,943 in 95-proz. Alkohol). Unser Präparat ist demnach identisch mit dem von Jacobs beschriebenen Periplocymarin.

Für den Nachweis der enzymatisch abgespaltenen Glucose wurde die von Periplocymarin befreite wässrige Lösung im Vakuum zur Trockne verdampft. Den Rückstand lösten wir in 5 cm³ Wasser und erwärmten mit salzsaurem Phenylhydrazin und Natriumacetat im Überschuss auf dem Dampfbad. Es wurde bald von etwas brauner schmieriger Substanz abgossen und die Lösung weiter erwärmt, wobei sich die für Phenylglucosazon charakteristischen Nadeln in reichlicher Menge bildeten. Sie schmolzen bei 207° und gaben im Mischschmelzpunkt mit einem aus reiner Glucose hergestellten Präparat keine Erniedrigung.

5. Pentacetyl-Disaccharide.

Zum Vergleich der beiden Disaccharide aus Periplocin und aus k-Strophanthin-β, die sich beide aus Glucose und Cymarose zusammensetzen, jedoch nicht identisch sind, stellten wir ihre schön krystallisierenden Pentacetylverbindungen her.

¹⁾ J. Biol. Chem. **79**, 525 (1928).

a) Pentacetyl-periplobiose.

Ein durch saure Hydrolyse aus Periplocin gewonnenes rohes und daher noch amorphes Präparat von Periplobiose wurde in vollkommen trockenem Zustand in Pyridin gelöst und mit Essigsäureanhydrid acetyliert. Beim Eingiessen der Lösung in Wasser fiel das Acetylprodukt aus und konnte nach dem Abfiltrieren und Anreiben mit absolutem Alkohol sofort schön krystallisiert erhalten werden. Nach dem Umkrystallisieren aus Alkohol-Wasser erhielten wir das Pentacetylprodukt in schönen Nadeln, die in Wasser sehr schwer, in den meisten organischen Lösungsmitteln dagegen leicht löslich sind. Aus konz. absoluter alkoholischer Lösung erhält man die Pentacetylverbindung in kubischen Formen, die bei 184° schmelzen.

Elementaranalyse: Die Subst. wurde im Hochvakuum bei 70° getrocknet.
 1,885; 3,117 mg Subst. gaben 3,603; 5,935 mg CO₂ und 1,131; 1,815 mg H₂O
 $C_{23}H_{34}O_{14}$ Ber. C 51,66 H 6,42%
 (Mol.-Gew. = 534,3) Gef. „ 52,13; 51,93 „ 6,71; 6,52%

Polarisation: 0,0353; 0,0223 g Pentacetyl-periplobiose, in 10 bzw. 5 cm³ Chloroform (c = 0,353; 0,446) gelöst, drehten im 2 dm-Rohr bei 20° um 0,14; 0,17° nach rechts.
 $[\alpha]_D^{20} = +19,5; +19,1^{\circ}$.

Titration mit Lauge: 0,0213 g in 10 cm³ absolutem Alkohol wurden mit 10,00 cm³ 0,1-n. Natronlauge auf dem Dampfbad kurz erwärmt, was zur vollständigen Abspaltung der Acetylgruppen genügte. Die nicht verbrauchte Lauge wurde gegen Phenolphthalein mit 0,1-n. Schwefelsäure zurücktitriert. Es waren 2,00 cm³ 0,1-n. Natronlauge verbraucht worden. Daraus errechnet sich ein Äquivalentgewicht von 106,4; ber. für Pentacetylglucosido-cymarose: 106,9.

b) Pentacetyl-strophanthobiose.

Dieses Acetylierungsprodukt wird in gleicher Weise wie die Pentacetyl-periplobiose dargestellt. Es krystallisiert aus Alkohol-Wasser in Nadeln, die scharf bei 162° schmelzen.

Elementaranalyse: Die Subst. wurde im Hochvakuum bei 70° getrocknet.
 2,985; 3,285; 2,990 mg Subst. gaben 5,688; 6,243; 5,690 mg CO₂ und 1,775; 1,946; 1,805 mg H₂O

$C_{23}H_{34}O_{14}$ Ber. C 51,66 H 6,42%
 (Mol.-Gew. = 534,3) Gef. „ 51,97; 51,83; 51,90 „ 6,65; 6,63; 6,75%

Polarisation: 0,1209; 0,0562 g in 10 cm³ Chloroform (c = 1,209; 0,562) gelöst, drehten im 2 dm-Rohr bei 20° um 0,32; 0,15° nach rechts.
 $[\alpha]_D^{20} = +13,2; 13,3^{\circ}$.

Titration mit Lauge: 0,0555 g wurden in 10 cm³ absolutem Alkohol gelöst und mit 10,00 cm³ 0,1-n. Natronlauge kurz im Dampfbad erwärmt. Die unverbrauchte Lauge wurde gegen Phenolphthalein mit 0,1-n. Schwefelsäure zurücktitriert. Differenz 5,22 cm³. Daraus errechnet sich ein Äquivalentgewicht von 106,3; ber. für Pentacetyl-strophanthobiose 106,9.

Wissenschaftliches Laboratorium *Sandoz*, Basel.