

Färbung mit 84-proz. H_2SO_4 , Pchr. (Fig. 8) und IR.-Spektrum (Fig. 10) identisch mit dem synthetischen Präparat.

Die Fr. 28–30 gaben aus Me-Ae 35 mg krist. Subst. U (vgl. BERNASCONI³⁾).

Die Mikroanalysen wurden unter der Leitung von Herrn E. THOMMEN im Mikrolabor des Instituts ausgeführt.

Zusammenfassung

Die Teilsynthese von Hellebrigenin- β -D-glucosid- $\langle 1,5 \rangle$ (III) und Hellebrigenol- β -D-glucosid- $\langle 1,5 \rangle$ (VI) wird beschrieben. Beide Stoffe wurden in Kristallen erhalten. Das erstgenannte Glucosid III liess sich mit 4 Glucosidasen hydrolytisch spalten; es ist anzunehmen, dass dies auch für VI zutrifft, wie von BERNASCONI *et al.*³⁾ vermutet. III lieferte bei der Acetylierung ein krist. Tetra-O-acetyl-Derivat IV. Dieses liess sich in einem acetylierten Extrakt aus den Zwiebeln von *Urginea depressa* BAKER durch Papierchromatographie lokalisieren und hierauf in krist. Form daraus isolieren. Penta-O-acetyl-hellebrigenol- β -D-glucosid- $\langle 1,5 \rangle$ (VII) wurde bisher nur in amorpher, aber papierchromatographisch reiner Form erhalten. Ein Stoff, der im Papierchromatogramm dieselbe Laufstrecke und dieselbe Farbreaktion gab, war in dem genannten acetylierten Extrakt aus *Urginea depressa* ebenfalls nachweisbar. Damit ist entsprechend der Vermutung von BERNASCONI *et al.* die Anwesenheit von III in den genannten Zwiebeln bewiesen und diejenige von VI sehr wahrscheinlich gemacht.

Organisch-chemische Anstalt der Universität Basel

108. Identifizierung der Periplobiose mit Strophanthobiose

von M. Barbler und O. Schindler

(14. III. 59)

Durch saure Hydrolyse von Periplocin wurde neben Periplogenin eine Biose erhalten, die aus je einem Mol D-Cymarose und D-Glucose bestand und die als Periplobiose bezeichnet wurde¹⁾²⁾³⁾. Sie liess sich mit einer β -Glucosidase (Strophanthobiase⁴⁾ spalten. Dass die Glucose β -glucosidisch verknüpft ist, folgt eindeutig aus dem Vergleich der molekularen Drehungen, insbesondere von Periplocin und Periplocymarin. Periplobiose ist durch eine gut kristallisierte Acetylverbindung charakterisiert²⁾ (vgl. Tab. 1). Eine ebenfalls aus D-Cymarose und D-Glucose aufgebaute Biose (Strophanthobiose⁵⁾⁶⁾ wurde bei der Hydrolyse von k-Strophanthin- β ⁶⁾⁷⁾, einem Glykosid des Strophanthidins aus *Strophanthus kombé* erhalten. Auch in

¹⁾ W. A. JACOBS & A. HOFFMANN, J. biol. Chemistry **79**, 519 (1928).

²⁾ A. STOLL & J. RENZ, Helv. **22**, 1193 (1939).

³⁾ J. RENZ, Rev. intern. Botan. appl. et agr. trop. **33**, 52 (1953); Chem. Abstr. **48**, 2738 (1954).

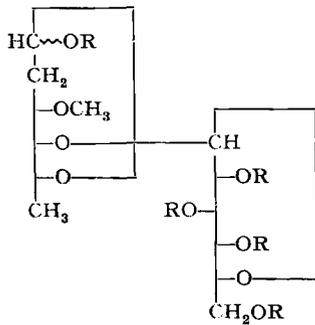
⁴⁾ A. STOLL & J. RENZ, Enzymologia **7**, 362 (1939).

⁵⁾ W. A. JACOBS & A. HOFFMANN, J. biol. Chemistry **67**, 609 (1926).

⁶⁾ A. STOLL, J. RENZ & W. KREIS, Helv. **20**, 1484 (1937).

⁷⁾ W. A. JACOBS & A. HOFFMANN, J. biol. Chemistry **69**, 153 (1926).

diesem Disaccharid sind die beiden Zucker β -glucosidisch verknüpft⁸⁾; die in der Literatur angegebenen Schmelzpunkte und Drehungen der zwei Zuckerpräparate und ihrer Acetylverbindungen sind aus der Tab. 1 ersichtlich.



I R = H Smp. 160–170°²⁾; 208°⁶⁾ [+ 32 W]²⁾ 6)
 II R = Ac Smp. 184°²⁾; 162°⁶⁾ [+ 13,3 Chf]²⁾ 6) [+ 9,8 Chf]⁹⁾

Die beiden Zucker könnten sich demnach nur dadurch unterscheiden, dass in einem Fall die Glucose an C-Atom 4, im andern an C-Atom 5 der Cymarose haftet. Die letztere Annahme ist aber nur möglich, wenn die Cymarose in der furanosiden Form vorliegt, was eine um den Faktor 10^3 vergrößerte Hydrolysegeschwindigkeit der Glykoside bedingen würde. Obwohl eine genaue Messung der Geschwindigkeit dieser Reaktion fehlt, sprechen die Reaktionsbedingungen, welche für die Spaltung von Periplocin und *k*-Strophanthin- β nötig sind, gegen eine solche Annahme.

Tabelle 1. Veröffentlichte Smp. und spez. Drehungen der Biosen und deren O-Acetyl-Verbindungen²⁾ 10) aus Periplocin und *k*-Strophanthin- β

	Freier Zucker		O-Acetyl-Verbindung	
	Smp.	$[\alpha]$ D	Smp.	$[\alpha]$ D
Aus Periplocin	160–170°	+ 32 W	184°	+ 19,5 Chf
Aus <i>k</i> -Strophanthin- β	208°	+ 31,1 W	162°	+ 13,3 Chf

Bei der Aufarbeitung von frischen Zweigen von *Periploca graeca* L.¹¹⁾ erhielten wir Präparate von Periplocin, die zwar nicht kristallisiert waren, im Papierchromatogramm jedoch nur den Fleck mit der Laufstrecke von Periplocin zeigten, und die bei der Acetylierung in guter Ausbeute krist. Tetra-O-acetyl-periplocin lieferten. Durch saure Hydrolyse¹²⁾ solcher Fraktionen wurde die Biose erhalten, die im Papierchromatogramm nur *einen* Fleck lieferte. Wir verzichteten auf Versuche zur Kristallisation des Zuckers und führten diesen durch Acetylierung mit Acetanhydrid in Pyridin in die gut krist. Penta-O-acetyl-Verbindung über. Diese zeigte die erwartete molekulare Zusammensetzung $C_{23}H_{34}O_{14}$.

⁸⁾ In der Strophanthotriose ist auch das zweite Mol D-Glucose β -glucosidisch verbunden, J. C. HESS, A. HUNGER & T. REICHSTEIN, Helv. **35**, 2202 (1952).

⁹⁾ Vgl. exper. Teil dieser Arbeit.

¹⁰⁾ Abkürzungen für Lösungsmittel siehe Einleitung zum exper. Teil.

¹¹⁾ Vgl. Diss. T. M. KRAUSS, Basel 1959.

¹²⁾ Ausführungsform nach S. RANGASWAMI & T. Reichstein, Helv. **32**, 939 (1949).

Dieses Kristallisat verglichen wir mit Penta-O-acetyl-strophanthobiose aus *k*-Strophanthin- β . Dabei erwiesen sich die beiden nach Smp., Misch-Smp., spez. Drehung (vgl. Tab. 2), vergleichendem Papierchromatogramm (siehe Fig. 2) und im IR.-Spektrum als identisch. Dementsprechend zeigten auch die freien Zucker im Papierchromatogramm (vgl. Fig. 1) die gleiche Laufgeschwindigkeit.

Beispiele für die Vergleiche im Papierchromatogramm¹³⁾

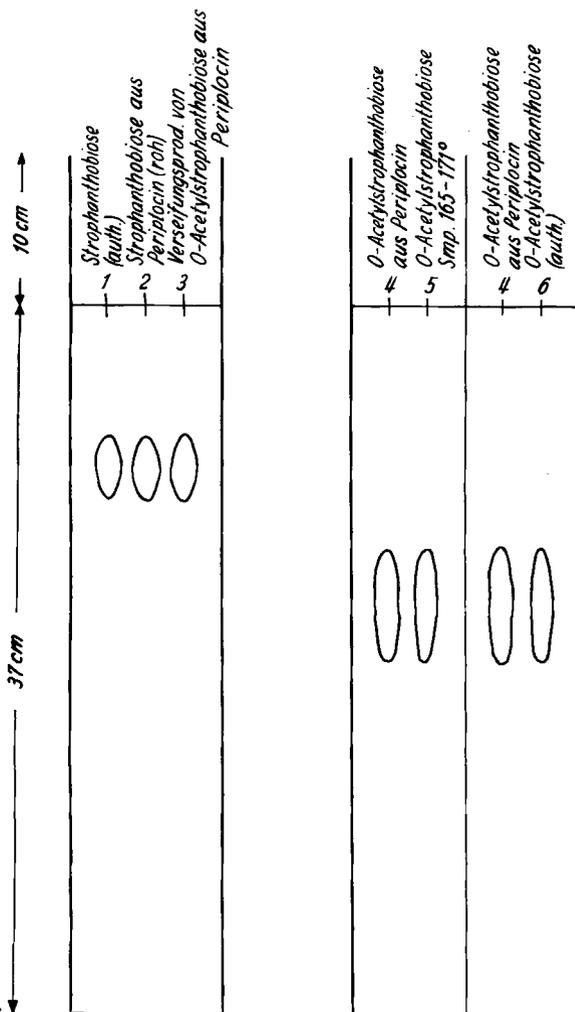


Fig. 1

Bu/W, 17 Std.

Fig. 2

Cyclohexan-Benzol-
(92:8)/Fmd, 18 Std.

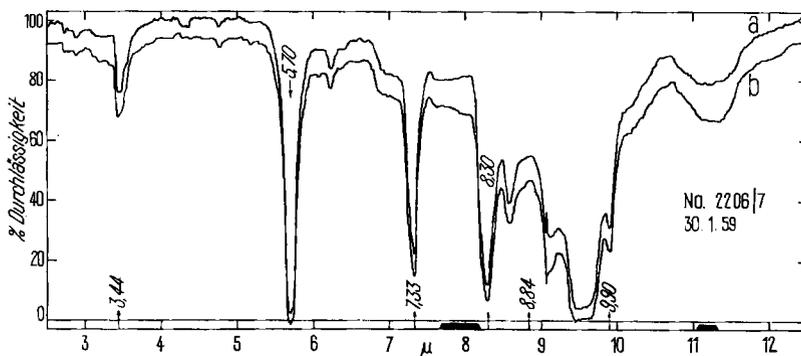
- 1 = 0,1 mg Strophanthobiose (auth.)⁶⁾.
- 2 = 0,1 mg Strophanthobiose aus Periplocin (roh).
- 3 = 0,1 mg Verseifungsprodukt von Penta-O-acetyl-biose aus Periplocin.
- 4 = 0,3 mg Penta-O-acetyl-biose aus Periplocin.
- 5 = 0,3 mg Penta-O-acetyl-strophanthobiose aus *k*-Strophanthin- β .
- 6 = 0,3 mg Penta-O-acetyl-strophanthobiose (auth.)⁶⁾.

¹³⁾ Bereitung der Chromatogramme siehe Einleitung zum exper. Teil.

Tabelle 2. Vergleich der O-Acetyl-Verbindungen der Biosen aus Periplocin und k-Strophanthin- β ⁹⁾

Biose aus:	Smp.	$[\alpha]_D$ Chf ¹⁰⁾	Laufstrecke im Papierchromatogramm; Cyclohexan-Benzol-(92:8)/Formamid
Periplocin (Periplobiose)	165–173°	+ 9,8 \pm 1°	} 11,7 cm/13 1/2 Std.
k-Strophanthin- β (Strophanthobiose)	168–172°	+10,1 \pm 1,5°	

Da Strophanthobiose der zuerst eingeführte Name ist, wäre somit der Name Periplobiose aus der Literatur zu streichen.

Fig. 3. IR.-Spektren der Penta-O-acetyl-strophanthobiose in CH_2Cl_2 ¹⁴⁾

Kurve a: aus Periplocin.

Kurve b: (um 5% T nach unten verschoben) aus k-Strophanthin- β .

Die Arbeit wurde unter der Leitung von Herrn Prof. T. REICHSTEIN ausgeführt. Wir danken ihm für das Interesse, das er dem Problem entgegengebracht hat. Herrn Dr. J. RENZ, SANDOZ AG., Basel, danken wir auch an dieser Stelle für die Überlassung von Strophanthobiose. Die Arbeit wurde ermöglicht durch die Unterstützung durch das *Centre National de la Recherche Scientifique*, Paris.

Experimenteller Teil

Die Smp. sind auf dem KOFLER-Block bestimmt und korrigiert; Fehlergrenze ca. $\pm 2^\circ$. Substanzproben zur Bestimmung der Drehung und zur Aufnahme der IR.-Spektren wurden 1 Std. bei 50°/0,01 Torr getrocknet. Ausführung der Adsorptionschromatographie¹⁵⁾ an alkali-freiem Al_2O_3 ¹⁶⁾ oder Silicagel¹⁷⁾, nach früheren Angaben. Die Papierchromatographie wurde absteigend auf WHATMAN-Nr.-1-Papier ausgeführt. Für die freien Zucker diente das System n-Butanol-Wasser, Laufzeit 17 Std; Entwicklung mit Anilinphthalat nach PARTRIDGE¹⁸⁾. Die O-Acetyl-Derivate der Zucker wurden in Chloroform gelöst aufgetragen, anschliessend wurde der

¹⁴⁾ Aufgenommen in einem PERKIN-ELMER IR.-Spektrophotometer, Modell 21, mit NaCl-Prismen, unter der Leitung von Herrn K. STICH.

¹⁵⁾ T. REICHSTEIN & C. W. SHOPPEE, Disc. Transact. Faraday Soc. 1949, Nr. 7, 305.

¹⁶⁾ Bereitet nach J. v. EUW, A. LARDON & T. REICHSTEIN, Helv. 27, 1292, Fussnote 2 (1944).

¹⁷⁾ Silicagel, engporig 0,15–0,3 mm gekörnt «für Chromatographie», bezogen von Dr. BENDER & Dr. HOBEIN A. G., Zürich 42.

¹⁸⁾ S. M. PARTRIDGE, Nature 164, 443 (1949).

Startfleck mit einem Tropfen Formamid versetzt; System Benzol-Cyclohexan-(8:92)/Formamid; für die Entwicklung wurde das Papier 45 Min. bei 90° getrocknet, nach dem Abkühlen mit SbCl_3 in Chloroform¹⁰⁾ besprüht und schwach erwärmt; im UV. werden dann gelb fluoreszierende Flecke erhalten. – Es werden die folgenden Abkürzungen benützt: Ac = Äther, Alk = Äthanol, An = Aceton, Be = Benzol, Bu = Butanol-(1), Chf = Chloroform, $(\text{Ac})_2\text{O}$ = Acetanhydrid, Me = Methanol, W = Wasser, Ac = $\text{CH}_3\text{CO}-$; ML = eingedampfte Mutterlauge, Pchr = Papierchromatogramm.

Bereitung der Biase aus Periplocin. 4,98 g Periplocin roh (es handelte sich dabei um den Chf-Alk-(2:1)-Extrakt aus Zweigen von *Periploca graeca* L.) wurden in 200 ml Me gelöst, mit 200 ml 0,1-n. H_2SO_4 versetzt und 25 Min. unter Rückfluss gekocht. Nach dem Abkühlen wurde das Me im Vakuum abdestilliert (Badtemperatur 50°), dabei wurden in Portionen zu je 50 ml 200 ml W zugesetzt. Nach dem Abkühlen wurde fünfmal mit je 150 ml Chf ausgeschüttelt. Die Chf-Lösungen wurden einmal mit 50 ml W, zweimal mit je 20 ml 2-n. Na_2CO_3 -Lösung und noch zweimal mit je 20 ml W gewaschen. Nach dem Trocknen über Na_2SO_4 wurden die Chf-Lösungen im Vakuum eingedampft. Aus dem Rückstand (2,282 g) konnten durch Chromatographie an Al_2O_3 und Kristallisation aus Me-Ae 1,006 g krist. Periplogenin, Smp. 132–138/219–229° (Prismen), erhalten werden.

Die mit Chf ausgeschüttelte wässrige Lösung und das erste Waschwasser wurden vereinigt, im Vakuum von Chf-Resten befreit und mit frisch vorbereitetem, mit W sorgfältig gewaschenem BaCO_3 bei ca. 40° neutralisiert. Von den Ba-Salzen wurde durch eine mit BaCO_3 gedichtete Filternutsche abfiltriert. Die klaren, neutralen Filtrate wurden im Vakuum bei 40° Badtemperatur unter Kontrolle des pH zur Trockene eingedampft. Der Rückstand wurde in wenig W aufgenommen und durch ein mit Kohle und Kieselgur (Hyflo-Super-Cel) gedichtetes Filter abgenutscht. Die klar filtrierte Lösung wurde im Vakuum eingedampft, Rückstand 1,8 g. Xanthidol-Test positiv. Der Sirup wurde in wenig Me gelöst und so lange tropfenweise mit An versetzt, bis durch weitem Zusatz von An ein sirupöser Niederschlag gebildet wurde. Das flockige amorphe Produkt wurde durch eine mit Kohle gedichtete Nutsche abfiltriert und das Filtrat im Vakuum eingedampft; Rückstand 1,763 g Biase.

Acetylierung der Biase. 1,762 g wurden in 10 ml Pyridin und 9 ml $(\text{Ac})_2\text{O}$ gelöst und 16 Std. auf 37° erwärmt. Dann wurde im Vakuum eingedampft, in Chf-Ae aufgenommen und gewaschen mit je 10 ml 2-n. HCl (zweimal), 2-n. Na_2CO_3 und W (zweimal), über Na_2SO_4 getrocknet und im Vakuum eingedampft; Rückstand 2,038 g. Aus abs. Alk wurden 830 mg farblose Nadeln erhalten; nach zweimaligem Umkristallisieren aus abs. Alk wurden 358 mg Nadeln vom Smp. 166–170° erhalten. 171 mg davon wurden zur weiteren Reinigung an 10 g Silicagel chromatographiert; zum Nachwaschen jeder Fraktion dienten je 10 ml der in Tabelle 3 angegebenen Lösungsmittel.

Tabelle 3. Chromatographie von 171 mg Penta-O-acetyl-biase aus Periplocin an 10 g Silicagel

Fraktions-Nr.	Lösungsmittel	Eindampfrückstand		
		Menge roh in mg	Kristalle	
			Menge in mg	Smp. aus abs. Alk
1–5	Be	2		amorph.
6–8	Be-Ae-(8:2)	0,5		amorph
9–12	Be-Ae-(8:2)	76,9	51,5	166–171°
13–17	Be-Ae-(8:2)	47,8	} 51,5	166–172°
18–20	Be-Ae-(6:4)	12,2		(Pchr. Fig. 2)
21–23	Be-Ae-(4:6)	6,4	3,9	162–170°
24–26	Be-Ae-(2:8)	1,7		amorph
27–30	Ae	1		amorph
31–35	Chf	0,5		

¹⁰⁾ D. LAWDAY, Nature **170**, 415 (1952).

Die Kristalle aus den Fraktionen 13–20 wurden aus abs. Alk umkristallisiert und lieferten dabei Nadeln vom Smp. 166–170°; $[\alpha]_D^{25} = +9,82^\circ \pm 1^\circ$ ($c = 2,24$ in Chf). IR.-Spektrum s. Fig. 3.
 $C_{23}H_{34}O_{14}$ (534,50) Ber. C 51,68 H 6,41% Gef. C 51,64 H 6,42% (OAB)

Verseifung der Penta-O-acetyl-biose aus Periplocin zu Strophanthobiose. 117 mg Penta-O-acetyl-Verbindung vom Smp. 166–171° wurden in 2 ml Me gelöst, mit 0,054 ml Na-Methylat-Lösung (11,7 mg NaOCH₃ entspr. $\frac{1}{15}$ Äq.) versetzt und 45 Std. bei 20° stehengelassen. Dann wurde im Vakuum auf die Hälfte des Volumens konzentriert, mit 1 ml W versetzt und durch eine Säule von Amberlite IR 120 (50 × 8 mm) filtriert. Die Säule wurde mit 10 ml W nachgewaschen. Die vereinigten Eluate wurden im Vakuum eingedampft; Rückstand 69 mg; $[\alpha]_D^{25} = +32,7^\circ \pm 1^\circ$ ($c = 1,223$ in W) nach 1 Std.; Pchr. vgl. Nr. 2 in Fig. 1.

Bereitung von Penta-O-acetyl-strophanthobiose aus k-Strophanthin-β. Für die Hydrolyse wurde das Kristallisat verwendet, das aus k-Strophanthosid durch Fermentierung mit Hefe erhältlich ist⁶⁾. Aus 1 g k-Strophanthosid wurden 530 mg Blöcke vom Smp. 222–239° erhalten; $[\alpha]_D^{25} = +33,1^\circ \pm 3^\circ$ ($c = 0,89$ in Me). Im Pchr. (System Bu/W; Dauer 15 Std.) zeigt das Material neben Spuren von k-Strophanthosid und sehr wenig einer rascher wandernden Komponente als Hauptprodukt ein Gemisch von zwei sehr nahe beieinander laufenden Substanzen.

190 mg dieses kristallisierten Gemisches wurden in 8 ml Me und 8 ml 0,1-n. H₂SO₄ in der gleichen Art, wie für Periplocin beschrieben, hydrolysiert. Der chloroformlösliche Genanteil, 81,5 mg, gab aus Me-Ae 62,5 mg Strophanthidin, Smp. 151–164°. Der wasserlösliche Teil gab nach Neutralisation mit BaCO₃ und Eindampfen der wässrigen Lösung im Vakuum 95 mg rohen Zuckersirup. Dieses Material wurde in 1 ml Pyridin und 0,95 ml (Ac)₂O gelöst und 18 Std. auf 37° erwärmt. Dann wurde im Vakuum zur Trockene eingedampft, in Chf-Ae aufgenommen, gewaschen mit je 2 ml 2-n. HCl (viermal), 2-n. Na₂CO₃ (dreimal) und W (dreimal), über Na₂SO₄ getrocknet und eingedampft; Rückstand 74 mg. Dieser gab durch Kristallisation aus Ae und abs. Alk insgesamt 10 mg²⁰⁾ Kristalle, Smp. 162–170°; Mischprobe mit Penta-O-acetyl-strophanthobiose (hergestellt aus krist. Strophanthobiose) sowie mit Penta-O-acetyl-Verbindung der Biöse aus Periplocin ohne Smp.-Depression; Vergleich im Pchr. siehe Nr. 4 in Fig. 2 im theoretischen Teil; auch das IR.-Spektrum war mit dem von authentischer Penta-O-acetyl-strophanthobiose identisch.

Acetylierung von krist. Strophanthobiose. 25,5 mg Strophanthobiose, Smp. 128–136° (Pchr. Nr. 1 in Fig. 1) wurden in 1 ml Pyridin gelöst, mit 0,9 ml (Ac)₂O versetzt und 18 Std. auf 37° erwärmt. Dann wurde im Vakuum eingedampft, in 5 ml Chf-Ae aufgenommen, gewaschen mit je 2 ml 2-n. HCl (dreimal), 2-n. Na₂CO₃ (zweimal), W (einmal), über Na₂SO₄ getrocknet und eingedampft; 42 mg neutrales Rohprodukt. Dieses gab aus Ae 22 mg Nadeln, Smp. 135–154°; nach dem Umkristallisieren aus Ae und noch zweimal aus abs. Alk wurden 14,5 mg Nadeln, Smp. 168–172°, erhalten; $[\alpha]_D^{25} = +10,1^\circ \pm 1,5^\circ$ ($c = 1,37$ in Chf).

Vergleich der Penta-O-acetyl-Verbindungen der Biosen aus k-Strophanthin-β und Periplocin. Misch-Smp. des Acetylderivates aus Periplocin (Smp. 165–173°) mit dem Acetylderivat der authentischen Strophanthobiose aus k-Strophanthin-β (Smp. 168–172°): 165–171°; Vergleich im Pchr. siehe Fig. 2; Vergleich im IR.-Spektrum siehe Fig. 3.

Die Mikroanalysen wurden im Mikrolabor der Org.-chem. Anstalt (Leitung E. THOMMEN) ausgeführt.

Zusammenfassung

Durch Vergleich der O-Acetyl-Verbindungen der Periplobiose und Strophanthobiose wurde an Hand von Smp., spez. Drehung, vergleichender Papierchromatographie und IR.-Spektrum bewiesen, dass diese beiden Biosen identisch sind.

Organisch-chemische Anstalt der Universität Basel

²⁰⁾ Es soll später abgeklärt werden, ob die schlechte Ausbeute an krist. Produkt davon herührt, dass das Ausgangsglykosid papierchromatographisch nicht einheitlich war.