

Über das Vorkommen von Periplogeninglykosiden in den Blättern und Blüten von *Convallaria majalis* L.

7. Mitt. über *Convallaria*-Glykoside¹

Von

W. Kubelka*

Aus dem Pharmakognostischen Institut der Universität Wien

Mit 2 Abbildungen

(Eingegangen am 28. März 1967)

Das bereits früher vermutete Vorkommen von Periplogenin-derivaten in *Convallaria majalis* L. konnte durch die Isolierung von Periplorhamnosid (Periplogenin- α -L-rhamnosid = 3 β ,5,14 β -Trihydroxy-5 β -card-20(22)enolid-3- α -L-rhamnosid) bewiesen werden. Dieses herzwirksame Glykosid ist in den getrockneten Blättern in einer Menge von etwa 0,005% enthalten. Neben anderen, z. T. schon bekannten Glykosiden wurde als zweites Periplogenin-derivat Periplogenin-6-desoxy- β -D-gulosid nachgewiesen, das wir auch teilsynthetisch aus Desglucocheirotxin erhalten konnten. Für dieses Glykosid, das damit unseres Wissens erstmals in der Natur aufgefunden worden ist, schlagen wir den abgekürzten Namen Perigulosid vor.

The occurrence of periplogenin derivatives in *Convallaria majalis* L. is confirmed by the isolation of Periplorhamnoside (periplogenin- α -L-rhamnoside = 3 β ,5,14 β -trihydroxy-5 β -card-20(22)-enolide-3- α -L-rhamnoside). This cardiotoxic glycoside is present in the dried leaves in an amount of about 0,005%. Beside other, partly known glycosides, a second periplogenin-derivative, Periplogenin-6-deoxyguloside, was detected; this substance was obtained by partial synthesis from desglucocheirotxin, too. For this glycoside the abbreviated name periguloside is proposed.

* Herrn Prof. Dr. F. Wessely zum 70. Geburtstag in Verehrung gewidmet.

¹ 6. Mitt.: W. Bleier, S. Kaiser, W. Kubelka und M. Wichtl, Pharm. Acta Helv., (im Druck).

Mit der Isolierung und Identifizierung von Lokundjosid² dürfte die chemische Untersuchung der mengenmäßig bedeutendsten herzwirksamen Glykoside aus den Blättern und Blüten des Maiglöckchens (*Convallaria majalis* L.) ihren Abschluß gefunden haben. Eine erst kürzlich durchgeführte quantitative Analyse der Glykosidzusammensetzung von nahezu hundert Blattproben aus verschiedenen Gegenden Europas¹ hat gezeigt, daß der Anteil einzelner Hauptglykoside (v. a. Convallatoxin, Convallatoxol, Lokundjosid und Desglucocheirotxin) am Glykosidgehalt je nach der Herkunft des Pflanzenmaterials sehr verschieden hoch sein kann; es ergaben sich jedoch keine Anhaltspunkte dafür, daß außer den bisher nachgewiesenen noch weitere Glykoside, die mengenmäßig von Bedeutung wären, in *Convallaria* vorkommen.

Über die Nebenglykoside — wir konnten in Auszügen aus *Convallaria*-Blättern und -Blüten insgesamt über 20 *Kedde*-positive³ Stoffe nachweisen⁴ — ist noch wenig bekannt. Der Grund dafür liegt einerseits in der geringen Menge, in der diese Substanzen in der Pflanze vorkommen (in manchen Fällen unter 0,002% des Trockengewichtes); zur Gewinnung einer Rohglykosidfraktion müssen daher entsprechend große Drogenmengen aufgearbeitet werden. Andererseits bereitet die Isolierung der chemisch recht ähnlich gebauten Glykoside sowie die Abtrennung begleitender Farbstoffe erhebliche Schwierigkeiten. Eine genauere Kenntnis der Struktur der Nebenglykoside ist dennoch wünschenswert, weil die Herzwirkung der Droge oder von daraus hergestellten Zubereitungen vom Gehalt an Nebenglykosiden mitbestimmt wird; vergleichende chemische und biologische Untersuchungen mehrerer Reinglykoside und Drogenmuster⁵ lassen darauf schließen, daß sich unter den noch unbekanntem Glykosiden solche mit starker Herzwirksamkeit befinden.

In der vorliegenden Mitteilung soll über eine orientierende Untersuchung derjenigen Glykoside berichtet werden, die sich aus einer wäßrigen Lösung der Gesamtglykoside mit Chloroform oder einem Chloroform—Äthylalkohol-Gemisch⁶ (9 : 1) ausschütteln lassen. Wir konnten dabei außer Convallatoxin und Desglucocheirotxin eine weitere Substanz in kristalliner Form isolieren; es handelt sich um Peripiorhamnosid (Periplogenin- α -L-rhamnosid, 1), das zuerst 1963 teilsynthetisch aus Convallatoxin bereitet⁷ und wenig später aus *Antiaris toxicaria* Lesch. ge-

² W. Bleier, W. Kubelka, Ek. Weiss und M. Wichtl, Pharm. Acta Helv. **40**, 554 (1965).

³ Mit *Kedde*-Reagens (vgl. exper. Teil) geben alle Butenolide eine Violettfärbung; Empfindlichkeit am Papierchromatogramm etwa 0,01 mg.

⁴ W. Kubelka und M. Wichtl, Naturwiss. **50**, 498 (1963).

⁵ L. Fuchs, M. Wichtl und G. Peithner, Arzneimittel-Forsch. **13**, 220 (1963).

⁶ In der Folge abgekürzt: Chf bzw. Chf-Alk.

⁷ C. Juslén, W. Wehrli und T. Reichstein, Helv. chim. Acta **46**, 117 (1963).

wonnen wurde⁸. Daneben ließen sich im Chf—Alk-Extrakt noch weitere Glykoside nachweisen; eines davon ist nach papier- und dünn-schichtchromatographischem Vergleich identisch mit Periplogenin-6-desoxygulosid, das unseres Wissens als Naturstoff bisher noch nicht aufgefunden worden ist.

Bei unseren früheren Arbeiten haben wir den Chf- und Chf—Alk-(9 : 1)-Extrakt aus Blättern und Blüten nicht weiter untersucht, weil die darin enthaltene Glykosidmenge recht gering ist. Als Beispiel sei die Aufarbeitung von 13,5 kg frischen Blütenständen angeführt: wir erhielten aus dieser Menge etwa 700 g getrocknete Blüten, die sich wegen ihres

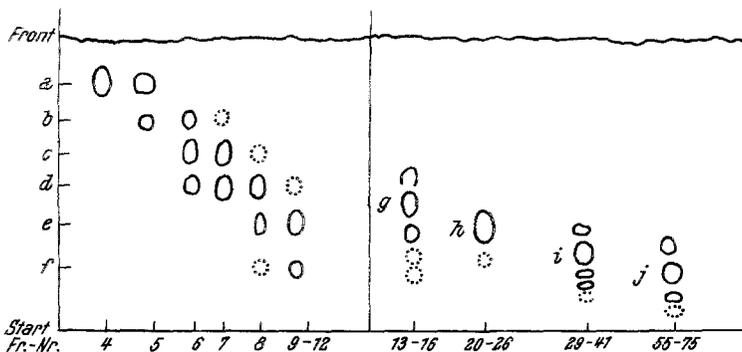


Abb. 1. Dünn-schichtchromatographische Kontrolle der Glykosidvortrennung an Silicagel. Laufmittel: Fr. 4—12: Toluol — n-Butanol (9:1)/Wasser (Zellulose MN 300G). Fr. 13 — 75: Methyl-äthylketon — Toluol — Wasser — Methanol — Eisessig (40:5:3:2.5:1) (Kieselgel G); Sichtbar-machung mit *Kedde*-Reagens^{23, 24}

hohen Glykosid- und gleichzeitig geringen Farbstoffgehaltes als Ausgangsmaterial am besten eignen. Nach üblicher Extraktion und Vorreinigung² resultierten 0,98 g eines dunkelbraun gefärbten Chf-Extraktes, der insgesamt nur 56 mg Glykoside enthielt. Verwendete man zum Ausschütteln der Glykoside aus der wäßrigen Lösung an Stelle von Chf ein Chf-Alk-(9 : 1)-Gemisch, so ließ sich zwar die Ausbeute etwas verbessern, es wurden aber schon kleine Mengen der stärker polaren Glykoside mit-extrahiert.

Vor einiger Zeit erhielten wir ein Glykosid-Konzentrat aus *Herba Convallariae*⁹, das einen Gesamtglykosidgehalt von etwa 20% aufwies; wie eine orientierende papierchromatographische Prüfung zeigte, waren darin hauptsächlich schwächer polare Glykoside enthalten. Durch Fällung mit Bleiessig ließ sich zunächst eine beträchtliche Menge von Begleitstoffen abtrennen, und nach Ausschütteln der wäßrigen Glykosidlösung

⁸ P. Mühlradt, *Ek. Weiss* und T. Reichstein, *Helv. chim. Acta* **47**, 2164 (1964).

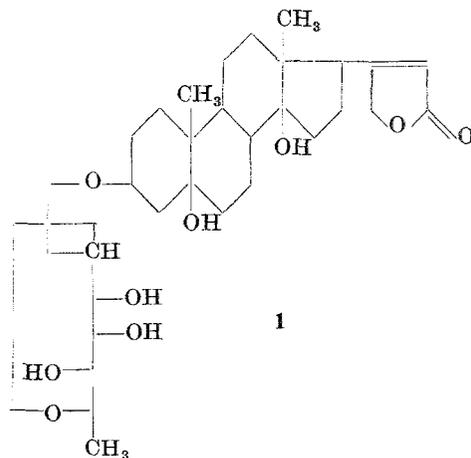
⁹ Die Überlassung dieses Extraktes verdanken wir der Fa. Madaus & Co., Köln.

mit Chf-Alk (9 : 1) stand uns ein Extrakt mit über 40% Gesamtglykosidgehalt zur Verfügung. Dieser wurde einer Vortrennung durch Säulenchromatographie an Silicagel unterworfen. In den einzelnen Fraktionen ließen sich dünnschichtchromatographisch im wesentlichen 10 *Kedde*-positive Substanzen nachweisen, die wir provisorisch mit den Buchstaben a bis j bezeichneten (Abb. 1).

Durch chromatographischen Vergleich konnten wir die Stoffe **g**, **h**, **i** und **j** mit Desglucocheirotxin, Convallatoxin, Desglucocheirotxol und Convallatoxol identifizieren.

Substanz **e** zeigte sich bei der Chromatographie identisch mit dem schon früher nachgewiesenen Glykosid A, das wir ursprünglich auf Grund der Laufstrecke bei der Papierchromatographie und der Färbung mit Antimontrichlorid für Vallarotoxin¹⁰ gehalten hatten¹¹. Ein direkter papierchromatographischer Vergleich ergab dann aber, daß Glykosid A sehr wahrscheinlich mit Periplorhamnosid identisch ist². Diese Annahme wurde gestützt durch den Nachweis der Spaltprodukte Periplogenin und Rhamnose nach saurer Hydrolyse eines noch nicht einheitlichen Präparates von Glykosid A¹². Aus den Fraktionen 9—12 der Vortrennung ließ sich Substanz **e** (= Glykosid A) mittels Verteilungschromatographie an Silicagel (Benzol—*n*-Butanol-Gemische als mobile Phase) von den Begleitglykosiden abtrennen und durch mehrmaliges Umkristallisieren aus Chloroform—Methanol und Methanol—Wasser in reiner Form gewinnen.

Die Struktur **1** des isolierten Glykosides ergab sich aus dem Nachweis der Hydrolysenprodukte Periplogenin und Rhamnose durch Papier- und



¹⁰ R. Tschesche und F. Seehofer, Chem. Ber. **87**, 1108 (1954).

¹¹ M. Wichtl, G. Peithner und L. Fuchs, Planta med. [Stuttgart] **10**, 304 (1963).

¹² W. Bleier, Dissertation Wien 1966.

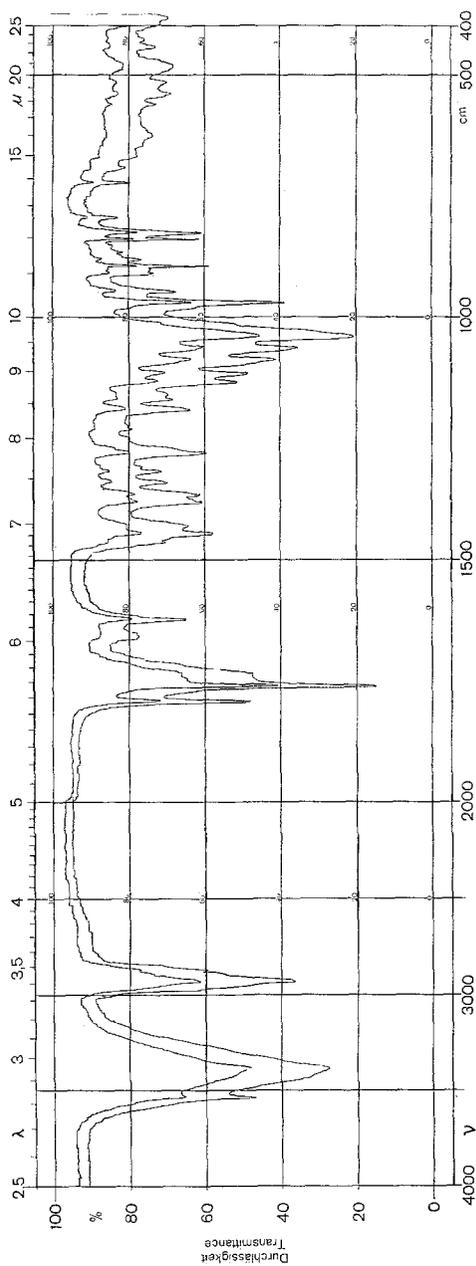


Abb. 2. IR-Spektren von Periplohammosid (obere Kurve) und Substanz e aus Convallaria (0,46 bzw. 0,73 mg in KBr)

Dünnschichtchromatographie in mehreren Systemen. Einen zusätzlichen Beweis für das Vorliegen einer Methylgruppe an C-10 brachte die Aufnahme des Protonenresonanzspektrums; das UV-Spektrum zeigte nur das für Butenolide typische Maximum bei 217 nm.

Schließlich zeigte unser Glykosid beim direkten Vergleich völlige Übereinstimmung mit Periplorhamnosid aus *Antiaris toxicaria*⁸ bzw. mit einem aus Convallatoxin hergestellten Präparat⁷ (Papier-, Dünnschichtchromatographie, IR-Spektrum: vgl. Abb. 2, Drehung, Färbung mit H₂SO₄ conc. bzw. SbCl₃, Schmelzpunkt und Mischschmelzpunkt, Chromatographie der Acetate).

Auf Grund unserer Erfahrung bei der Aufarbeitung von Pflanzenmaterial aus der Umgebung von Wien läßt sich der Anteil des Periplorhamnosids am Gesamtglykosidgehalt von Blatt- und Blütendrogen mit etwa 1—4% angeben; das entspricht einem Gehalt der lufttrockenen Droge von durchschnittlich 0,005% (Blätter) bzw. 0,01% (Blüten). Ob bei Pflanzen verschiedener Herkunft und verschiedenen Entwicklungsstadiums größere Unterschiede im Gehalt an Periplorhamnosid (und anderen Nebenglykosiden) bestehen, ist zur Zeit noch nicht bekannt. Wenn — wie *Tschesche* schon 1954 annahm¹⁰ — reduzierte Formen aus sauerstoffreicheren Vorstufen entstehen (also z. B. Periplorhamnosid aus Convallatoxin bzw. Convallatoxol), dann sind derartige Unterschiede zumindest sehr wahrscheinlich.

Die biologische Prüfung von Periplorhamnosid nach *Knaffl-Lenz* in der Modifikation von *Lindner*¹³ ergab eine Dosis letalis von 0,178 mg/kg Meeresschweinchen. Die Toxizität der Substanz liegt damit nahe bei der des Lokundjosids (DL 0,131—0,145 mg/kg M.²) und übertrifft die Wirkung von Convallatoxin (DL 0,309 mg/kg M.²) beträchtlich.

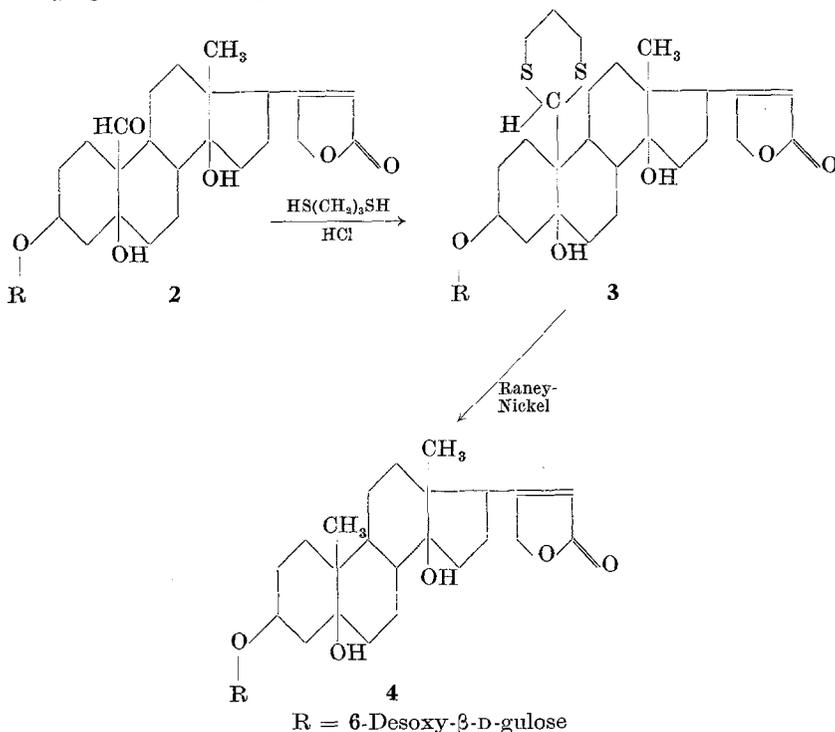
Nach der Isolierung von Periplogeninrhamnosid aus *Convallaria* war die Frage naheliegend, ob auch der zweite in *Convallaria*-Glykosiden nachgewiesene Desoxyzucker — 6-Desoxygulose — mit Periplogenin verknüpft vorkommt. Das entsprechende Strophanthidinderivat (Desglucocheirototoxin, 2) wurde schon 1954 von *Tschesche* u. Mitarb.¹⁰ aus *Convallaria*-Blättern isoliert; seine Struktur wurde 1959 erkannt¹⁴; durch Reduktion der Aldehydgruppe an C-10 mit NaBH₄¹⁵ gelangt man zum Desglucocheirototoxol, das nach schon mitgeteilten eigenen Untersuchungen⁴ ebenfalls in *Convallaria* vorkommt und in reiner, aber noch nicht kristalliner Form auch aus den Fraktionen 29—41 der Vortrennung (Abb. 1) erhalten wurde.

¹³ A. Lindner, Sci. pharm. [Wien] **18**, 149 (1950).

¹⁴ R. Tschesche, H. J. Wulff, U. Dölberg und G. Snatzke, Naturwiss. **46**, 109 (1959).

¹⁵ W. Wehrli, O. Schindler und T. Reichstein, Helv. chim. Acta **45**, 1183 (1962).

Durch Umsetzung der —CHO-Gruppe an C-10 mit Äthan- oder Propan-dithiol^{16, 17} und nachfolgende Entschwefelung des entstandenen cyclischen Mercaptals mit Raney-Nickel¹⁸ ist eine Reduktion zur Methylgruppe möglich. Diese Reaktion wurde zuerst von *Speiser*¹⁹ zur Überführung von Strophanthidin in Periplogenin benützt; in der Folge ließen sich damit auch strukturelle Zusammenhänge bei Cardenolidglykosiden nachweisen²⁰. Aus den Fraktionen 13—16 der Vortrennung (Abb. 1) konnten wir Desglucocheirototoxin (2) durch Säulenchromatographie an Silicagel frei von Begleitglykosiden in kristalliner Form gewinnen und zur Herstellung von Periplogenin-6-desoxygulosid (4) einsetzen.



Bei der Papier- und Dünnschichtchromatographie in je vier verschiedenen Systemen zeigte das erhaltene Produkt gleiche Laufstrecken und

¹⁶ H. Hauptmann, J. Amer. chem. Soc. **69**, 562 (1947).

¹⁷ J. C. Sheehan, R. A. Coderre und P. A. Cruickshank, J. Amer. chem. Soc. **75**, 6231 (1953).

¹⁸ R. Mazingo, D. E. Wolf, S. A. Harris und K. Volkers, J. Amer. chem. Soc. **65**, 1013 (1943).

¹⁹ P. Speiser, Helv. chim. Acta **32**, 1368 (1949).

²⁰ R. Tschesche und R. Petersen, Chem. Ber. **86**, 574 (1953); R. Fechtig, O. Schindler und T. Reichstein, Helv. chim. Acta **42**, 1448 (1959) u. a.

gleiche Färbung mit Antimonchlorid bzw. Vanillin-Schwefelsäure²¹ (violettblau) wie Substanz **d** aus den Fraktionen 7 und 8 der Vortrennung. Auf Grund dieses Ergebnisses kann mit dem Vorkommen von Periplogenin-6-desoxygulosid in *Convallaria majalis* sicher gerechnet werden. In Analogie zu der von *Reichstein* u. Mitarb.⁸ für Periplogenin-6-desoxyallosid verwendeten Bezeichnung Peripallosid schlagen wir für das neue Glykosid den abgekürzten Namen Perigulosid vor. Eine nähere Charakterisierung soll nach der Reindarstellung einer entsprechenden Menge der Substanz erfolgen.

Von den anderen im Lauf der Vortrennung nachgewiesenen Substanzen **a**, **b**, **c** und **f** konnten wir bisher nur **f** mit dem schon früher beschriebenen Glykosid A₁²² identifizieren, dessen Konstitution noch unbekannt ist. Nach der Laufstrecke bei der Papierchromatographie dürfte das von *Tschesche* u. Mitarb.¹⁰ isolierte Vallarotoxin mit unserem Glykosid **a** oder **b** identisch sein.

Die Überlassung einer Vergleichsprobe von Periplorhamnosid verdanken wir Herrn Prof. Dr. *T. Reichstein*, Basel; Herrn Doz. Dr. *M. Wichtl*, Wien, danken wir für die Ausführung der Toxizitätsprüfung am Meer-schweinchen und Herrn Dr. *Ek. Weiss*, Basel, für den papierchromatographischen Vergleich von Glykosid A mit Vallarotoxin.

Experimenteller Teil

Es werden folgende Abkürzungen benützt: AcOH = Eisessig, Alk = Äthylalkohol, An = Aceton, Be = Benzol, Bu = n-Butanol, Chf = Chloroform, Cy = Cyclohexan, DC = Dünnschichtchromatographie, -chromatogramm, Eg = Äthylacetat, Fmd = Formamid, Fr. = Fraktion(en), iPr = Isopropylalkohol, Me = Methanol, Mek = Methyläthylketon, Pe = Amylalkohol, To = Toluol, PC = Papierchromatographie, -chromatogramm, W = Wasser, Xy = Xylol.

Mengenangaben bei Lösungsmitteln beziehen sich immer auf Volumteile. Als Sorptionsmittel für die DC wurde — wenn nichts anderes angegeben — Kieselgel G Merck verwendet, für die PC benützten wir Papier SS 2043 b Mgl oder Whatman Nr. 1. Zum Sichtbarmachen der Glykosidflecke ist die Reaktion nach *Kedde*²³ in der Ausführungsform von *Reichstein* u. Mitarb.²⁴ gut geeignet.

Vorreinigung des Glykosid-Konzentrates

20 g *Convallaria*-Konzentrat (Fa. Madaus & Co.; Gesamtglykosidgehalt, ber. als Convallatoxin: 19,6%) wurden in 320 ml 50proz. Alk gelöst und mit

²¹ *J. S. Matthews*, *Biochim. biophysica Acta* **69**, 163 (1963); ref. *Angew. Chem.* **75**, 581 (1963).

²² *W. Kubelka*, Dissertation Wien 1963.

²³ *D. L. Kedde*, *Pharmac. Weekbl.* **82**, 741 (1947).

²⁴ *M. L. Lewbart*, *W. Wehrli* und *T. Reichstein*, *Helv. chim. Acta* **46**, 505 (1963).

160 ml Bleiessig (DAB 6) versetzt. Nach dem Absaugen vom entstandenen Niederschlag verdünnten wir mit 600 ml Alk, fällten den Bleiüberschuß mit 180 ml 10proz. Dinatriumhydrogenphosphatlösung und filtrierten. Unter vermindertem Druck wurde hierauf der Alk abdestilliert und die mit W auf 500 ml aufgefüllte Lösung 10mal mit 300 ml Chf-Alk (9 : 1) ausgeschüttelt. Nach dem Eindampfen der organischen Phase verblieb 5,56 g vorgereinigtes Extrakt mit einem Gesamtglykosidgehalt von 42,1% ber. als Convallatoxin.

Chromatographische Vortrennung

1,66 g vorgereinigter Extrakt (= etwa 700 mg Ges.glyk.) wurden an Silicagel (hergestellt nach der Vorschrift von *Stoll* u. Mitarb.²⁵) chromatographiert (Chromatographie Nr. 1). Dazu füllten wir ein Chromatographierrohr von 8 cm Durchmesser mit einer Suspension von wasserhaltigem Silicagel (780 g + 1170 ml W) in wassergesättigtem Eg bis zu einer Höhe von 60 cm. Das Extrakt wurde mit der zehnfachen Menge trockenem Kieselgel verrieben und auf die Säule aufgebracht. Als mobile Phase diente wassergesättigter Eg; es wurden 75 Fr. zu 500 ml aufgefangen, Zeitbedarf für eine Fr. durchschnittlich 2 Stdn. Tab. 1 unterrichtet über die Zusammensetzung und Menge der einzelnen Fr.

Tabelle 1. Chromatographie Nr. 1

Vortrennung von 1,66 g vorgereinigtem Extrakt an 1950 g wassergesättigtem Silicagel; mobile Phase: Eg wassergesättigt

Fr.-Nr. (je 500 ml)	Eindampfrückstand		Weitere Verarbeitung
	Menge in mg	Hauptflecke bei der DC	
1—3	—	—	—
4	39	a	noch nicht weiter untersucht
5	151	a, b	noch nicht weiter untersucht
6	114	b, c (d)	noch nicht weiter untersucht
7	103	(b) (c) d	Vergleich mit Perigulosid
8	130	(c) d (e) (f)	Vergleich mit Perigulosid
9—12	326	(d) e (f)	Chromatographie Nr. 2
13—16	205	(e) (f) g (h)	Chromatographie Nr. 3
17—19	65	(g) (h)	nicht getrennt
20—26	356	(g) h	Kristalle aus Chf-Me
27—28	42	(h) (i)	nicht getrennt
29—41	146	(h) i (j)	Vergleich mit Desglucocheirotolox
42—54	72	(i) (j)	nicht getrennt
55—75	260	(i) j	Vergleich mit Convallatoxol

Die Kontrolle der Fraktionierung erfolgte durch DC in den Systemen To-Bu (4 : 1)/W (Zellulose MN 300 G, imprägniert mit An-W 4 : 1) für die Fr. 1—12 und Mek-To-W-Me-AcOH (40 : 5 : 3 : 2, 5 : 1)²⁶ für die Fr. 12—75 (Abb. 1).

²⁵ *A. Stoll, E. Angliker, F. Barfuss, W. Kussmaul und J. Renz*, Helv. chim. Acta **34**, 1460 (1951).

²⁶ *B. Görlich*, Arzneimittel-Forsch. **15**, 493 (1965).

In gleicher Weise wurden noch 3,32 g vorgereinigter Extrakt chromatographiert, so daß für die weitere Verarbeitung jeweils das Dreifache der oben angeführten Mengen zur Verfügung stand.

Reindarstellung von Glykosid e (Periplorhamnosid)

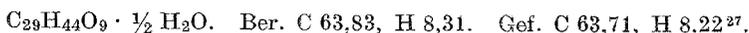
Die Fr. 9—12 der Vortrennung (zusammen 980 mg) wurden an einer Säule aus Silicagel (50 g Silicagel + 75 ml benzolgesättigtes W; Durchmesser 3 cm, Füllhöhe 24 cm) chromatographiert (Chromatographie Nr. 2, Tab. 2).

Tabelle 2. Chromatographie Nr. 2

Trennung von 980 mg Gemisch der Glykoside **d**, **e** und **f** (Fr. 9—12 von Chromatographie Nr. 1) an 125 g wassergesättigtem Silicagel

Fr.-Nr. (je 330 ml)	Mobile Phase	mg	Eindampfrückstand	
			Hauptflecke bei der DC	Aussehen
1	Be	25	(Kedde-Reaktion negativ)	dunkelbraun
2,3	Be-Bu (95 : 5)	30	(Kedde-Reaktion negativ)	braun
4—6	Be-Bu (95 : 5)	130	(d) (e)	schwach braun
7, 8	Be-Bu (90 : 10)	180	e	schwach braun
9—12	Be-Bu (90 : 10)	65	(e) (f)	schwach braun
13	Chf-Me (1 : 1)	102	(Kedde-Reaktion negativ)	braun

Aus den Fr. 7 und 8 erhielten wir beim Stehenlassen in Chf-Me (1 : 1) 75 mg Kristalle, nach mehrmaligem Umkristallisieren aus Chf-Me und Me-W 35 mg Substanz **e** in Form farbloser Blättchen. Durch präparative DC der Mutterlaugen (Kieselgel GF₂₅₄, 1 mm Schichtdicke, Laufmittel: Mek-To-W-Me 40 : 5 : 3 : 2,5) ließen sich weitere 30 mg Glykosid in reiner Form gewinnen. Doppel-Schmp. 166—170/226—236° C, $[\alpha]_D^{24} = -11,2^\circ$ ($c = 0,38$ in Me). Bei 2stdg. Trocknen der Substanz über P₂O₅ (0,01 Torr, 100°) ergab sich ein Gewichtsverlust von 7,26%; C₂₉H₄₄O₉ + 2 H₂O (572,68) ber. 2 H₂O 6,29%. Die wasserfreie Form nimmt beim Liegen an der Luft sehr rasch Wasser auf (etwa 3% innerhalb der ersten 3 Min.).



Die Identifizierung mit authent. Periplorhamnosid erfolgte durch Bestimmung des Mischschmelzpunktes (keine Depression), Vergleich der IR-Spektren (vgl. Abb. 2), der Farbreaktion mit konz. Schwefelsäure⁸ und des chromatographischen Verhaltens. Substanz **e** aus *Convallaria*, Periplorhamnosid aus *Antiaris toxicaria*⁸ und teilsynthetisch aus Convallatoxin hergestelltes Material⁷ zeigten gleiche Laufstrecken bei der PC mit den Systemen Pe-Be (1 : 1)/W ($R_f = 0,88$), To-Bu (9 : 1)/W ($R_f = 0,20$), To-Mek (1 : 4)/W ($R_f = 0,55$), Chf/Fmd ($R_f = 0,08$) und bei der DC mit den Laufmitteln To-Bu (4 : 1)/W (Cellulose MN 300 G) und Chf-iPr (2 : 1), Mek, Mek-To-W-Me-AcOH (40 : 5 : 3 : 2,5 : 1). Nach Besprühen mit SbCl₃ (20% in Chf) und Erhitzen (3 Min. bei 103°) gibt Periplorhamnosid eine blauviolette Färbung.

²⁷ Mikroanalyse ausgeführt von Dr. J. Zak, Mikroanalyt. Labor am Inst. f. Physikal. Chemie, Univ. Wien.

*Hydrolyse nach Mannich und Siewert*²⁸

2 mg Glykosid **e** wurden in 0,2 ml einer Mischung von An und konz. HCl (99 : 1) gelöst und verschlossen bei etwa 20° im Dunkeln stehengelassen. Nach 20 Tagen verwendeten wir je 10 (5) μ l der Lösung zur *PC* (*DC*). Neben anderen Substanzen war bei der *PC* in den Systemen Xy-Mek (1 : 1)/Fmd, Chf/Fmd, To-Bu (9 : 1)/W und To-Mek (1 : 4)/W und bei der *DC* mit Eg und Chf-Me (95 : 5) als Laufmittel Periplogenin nachzuweisen.

*Hydrolyse mit Kiliiani-Mischung*²⁹ zum Nachweis des Zuckers

3 mg Glykosid wurden in 0,3 ml *Kiliiani*-Mischung (3,5 ml AcOH, 5,5 ml W und 1 ml konz. HCl) 1 Stde. auf 100° erhitzt. Die Lösung wurde dann unter vermindertem Druck über KOH zur Trockene gebracht, der Rückstand in 1 ml W aufgenommen und 3mal mit 1 ml Chf ausgeschüttelt. In der wäßrigen Phase ließ sich Rhamnose nachweisen. Durch dünnschichtchromatographischen Vergleich im System Eg-iPr-W (60 : 30 : 15) auf Natriumacetat-hältigen Kieselgel-G-Schichten³⁰ konnte auch die u. U. in Frage kommende 6-Desoxygulose mit Sicherheit ausgeschlossen werden.

Acetylierung von Substanz e

5 mg Glykosid wurden mit 0,13 ml Pyridin und 0,10 ml Essigsäureanhydrid 3 Tage bei etwa 20° stehengelassen; nach dem Eindampfen verglichen wir das Rohprodukt mit Periplorhamnosidacetat durch *DC* (Eg-Cy 8 : 2, Chf-Me 95 : 5) und *PC* (Xy-Mek/Fmd).

Isolierung von Desglucocheirototoxin

Die Fr. 13—16 der Vortrennung (Chromatographie Nr. 1) enthielten nach *PC* und *DC* hauptsächlich Desglucocheirototoxin. Zusammen mit entsprechenden Fr. einer früheren Aufarbeitung (insgesamt 2,03 g Rohglykosidgemisch) wurde an wassergesättigtem Silicagel mit Be-Bu-Gemischen chromatographiert (Chromatographie Nr. 3, Tab. 3).

Tabelle 3. Chromatographie Nr. 3

Trennung von 2,03 g Glykosidgemisch (Fr. 13—16 aus Chromatographie Nr. 1 u. a.) an 62,5 g wassergesätt. Silicagel

Fr.-Nr. (je 300 ml)	Mobile Phase	Menge in mg	Eindampfrückstand	
			Hauptflecke bei der <i>DC</i>	Aussehen
1	Be-Bu (9 : 1)	310	(<i>Kedde</i> -Reaktion negativ)	braun
2	Be-Bu (9 : 1)	250	e, f (g)	gelb
3	Be-Bu (8 : 2)	833	(f) g	schwach gelb
4	Be-Bu (8 : 2)	210	g, h	schwach gelb
5	Be-Bu (8 : 2)	354	h	schwach gelb

Aus Fr. 3 erhielten wir nach mehrmaligem Umkristallisieren (Chf-Me und Me-W) 315 mg reines Desglucocheirototoxin (Schmp. 179—181° C).

²⁸ C. Mannich und G. Siewert, Ber. dtsch. chem. Ges. **75**, 737 (1942).

²⁹ H. Kiliiani, Ber. dtsch. chem. Ges. **63**, 2866 (1930).

³⁰ E. Stahl und U. Kaltenbach, J. Chromatogr. **5**, 351 (1961).

*Desglucocheirotoxol aus Desglucocheirotoxin*¹⁵

100 mg Desglucocheirotoxin wurden in 8 ml 80proz. Alk gelöst, bei — 18° mit einer Lösung von 120 mg NaBH₄ in 4 ml 80proz. Alk versetzt und anschließend 5 Stdn. bei 0° stehengelassen. Durch Zusatz von wenig *n*-H₂SO₄ brachten wir auf ein pH von etwa 3 und engten die Lösung unter Zugabe von 2mal 15 ml W zur Entfernung des Alk ein. Nach Ausschütteln mit Chf-Alk (9 : 1) erhielten wir 115 mg farblosen Rückstand, der auch nach Chromatographie an Silicagel nicht kristallisierte.

Substanz i

Die Fr. 29—41 (Chromatographie Nr. 1) wurden durch wiederholte Säulenchromatographie an Silicagel (Be-Bu- und Eg-Me-Gemische) und Aluminiumoxid (II, Me-W-Gemisch) sowie präparative DC chromatographisch einheitlich, aber nicht kristallin erhalten. Bei der PC und DC zeigte **i** gleiche Laufstrecken und gleiche Färbung mit SbCl₃ (grau) wie Desglucocheirotoxol.

Periplogenin-6-desoxygulosid (Perigulosid) aus Desglucocheirotoxin

60 mg Desglucocheirotoxin (**2**) wurden in 1,1 ml Propandithiol gelöst, mit 27,5 ml Me, das 0,5% trockenes HCl-Gas enthielt, versetzt und 48 Stdn. bei etwa 20° stehengelassen. Dann entfernten wir unter W-Zusatz das Me im Vak. und brachten die Lösung (15 ml) mit 2*n*-Na₂CO₃-Lösung auf pH 7. Nach dem Ausschütteln mit Chf (6mal 15 ml) und Eindampfen der organischen Phase blieben 66 mg farbloser Rückstand. Kontrolle durch DC im System To-Bu (4 : 1)/W (Cellulose MN 300 G) zeigte außer dem Fleck des Mercaptals (**3**) noch eine rascher laufende Substanz.

60 mg des Rückstandes lösten wir in 3 ml Dioxan und schüttelten bei Zimmertemp. mit 3 ml einer Suspension von Raney-Ni (etwa 3 g Ni) in Dioxan. Nach 3 Stdn. wurde vom Katalysator abfiltriert, mit Chf nachgewaschen und die Lösung unter vermindertem Druck zur Trockene eingedampft. Aufnehmen in 10 ml W, Ausschütteln mit Chf (6mal 15 ml) und Eindampfen ergab 28 mg farblosen Rückstand. Neben Periplogenin-6-desoxygulosid (**4**) waren bei der DC auch noch unverändertes Ausgangsmaterial und andere, schneller laufende Verbindungen nachzuweisen.

Substanz d

Bei der PC und DC zeigte Glykosid **d** (Fr. 7 und 8 von Chromatographie Nr. 1) gleiche Laufstrecken und gleiche Färbung mit SbCl₃ bzw. Vanillin-H₂SO₄ (violettblau) wie Periplogenin-6-desoxygulosid. Verwendete Systeme: PC: Chf/Fmd, Xy-Mek (1 : 1)/Fmd, To-Bu (9 : 1)/W, To-Mek (1 : 4)/W; DC: To-Bu (4 : 1)/W (Cellulose MN 300 G) und Chf-*i*Pr (2 : 1), Mek, Mek-To-W-Me-AcOH (40 : 5 : 3 : 2,5 : 1).