

## IZOLÁCIA NOVÉHO SRDCOVÉ ÚČINNÉHO GLYKOZIDU Z LISTOV KONVALINKY VONNEJ (*CONVALLARIA MAJALIS L.*)

DOBROSLAV ŠIKL

Oddelenie farmaceutickej chémie a biochémie Chemického ústavu Slovenskej akadémie vied v Bratislave

Z nadzemných častí konvalinky vonnej (*Convallaria majalis L.*) sa doteraz izolovali tieto kryštalické srdcové glykozidy: z kvetov a listov konvalatoxín (3-[*l*-ramnozido]stronfantidín) [1, 2, 3, 4], zo semien konvalozid (3-[*d*-glukozido-*l*-ramnozido]stronfantidín) [5] a z listov okrem konvalatoxínu aj konvalatoxol (3-[*l*-ramnozido]stronfantidol) [6], konvalozid, valarotoxín a majalozid [7]. Valarotoxín a majalozid nemajú dosiaľ stanovenú konštitúciu aglykónu.

Uskutočnili sme izoláciu srdcových glykozidov z listov konvalinky vonnej, nazbieraných v okolí Bratislavy. Zber sa robil na tých istých lokalitách v dvoch po sebe nasledujúcich rokoch v čase medzi 1.—5. 6. 1956 a 15.—20. 6. 1957. Materiál sa ihneď po zbere usušil v tenkej vrstve v tieni a po usušení sa jemne rozdrvil v kladivkovom mlyne. Ako droga *I* sa označujú listy konvalinky nazbierané r. 1956, ako droga *II* listy konvalinky nazbierané r. 1957.

Z drogy *I* sa okrem konvalatoxínu a konvalatoxolu vyizoloval ešte ďalší kryštalický kardioaktívny glykozid, ktorého fyzikálno-chemické konštanty sa líšia od fyzikálno-chemických konštant dosiaľ v literatúre opísaných kryštalických srdcových glykozidov konvalinky vonnej. (V ďalšom sa tento nový kryštalický glykozid označuje ako glykozid B 3.) Z drogy *II* sa okrem konvalatoxínu opätovne vyizoloval glykozid B 3; avšak konvalatoxol nebol izolovaný.

Glykozid B 3 sa získal obvyklým izolačným postupom za použitia prietokovej chromatografie na aktívnom  $Al_2O_3$  podľa T. Reichsteina [8]. Zo zmesi etanol—éter 1 : 1, resp. metanol—éter 1 : 1 kryštaluje v pekných kryštáloch štvorcovitého tvaru.

Pri papierovej chromatografii sa glykozid B 3 jasne oddelil od konvalatoxínu a konvalatoxolu (chromatogram 1 a 2). Použil sa papier Whatman 1, systém *izoamylalkohol* + voda, mobilná vodná fáza, teplota 15 °C, nanášky glykozidov vždy 100  $\mu$ ; chromatogramy boli detegované po vysušení pri teplote 40 °C reakciou podľa Keddeho.

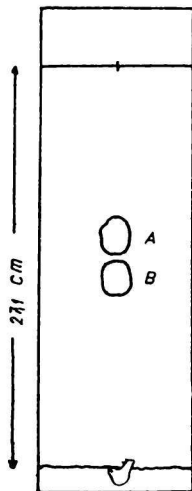
Glykozid B 3 je biologicky aktívny [9], a to rádovo 2 krát menej ako konvalatoxín. Stredná letálna dávka je  $0,514 \pm 0,022$  mg/kg morčafa. (Stredná letálna dávka konvalatoxínu [9] je  $0,251 \pm 0,0079$  mg/kg morčafa.)

### Experimentálna časť

Všetky body topenia sú stanovené na Koflerovom bloku a sú korigované.

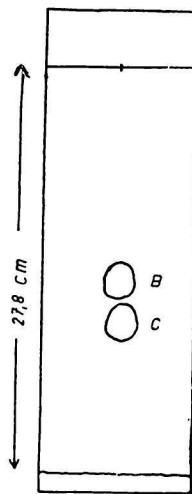
Látky pre určenie optickej otáčavosti sa vopred jemne rozotrelí a 4 hod. sušili pri

teplote 60 °C a vákuu 0,2 mm Hg; pred elementárnou analýzou sa jemne rozotreli a 5 hod. sušili pri teplote 100 °C a vákuu 0,2 mm Hg nad P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> do konštantnej váhy.



Chromatogram 1.

A — konvalatoxín  $R_F = 0,46$   
 B — glykozid B 3  $R_F = 0,54$



Chromatogram 2.

B — glykozid B 3  $R_F = 0,54$   
 C — konvalatoxol  $R_F = 0,62$

### Droga I

40 kg jemne rozomletých sušených listov konvalinky vonnej sa 3 krát extrahovalo vždy 200 l metanolu. Metanol sa vákuove oddestiloval pri teplote do 40 °C. Odparok (6 kg) sa rozpustil v 10 l destilovanej vody a vylúčený chlorofyl sa odfiltraval. Vodný roztok po filtrácii sa vytrepal priamo 5 krát vždy 8 l éteru, 4 krát 8 l chloroformu a 8 krát 8 l zmesi chloroform—etanol 9 : 1. Éterový odparok (206 g) dal negatívnu, chloroformový (236 g) slabú pozitívnu Raymondovu i Keddeho reakciu. Odparky sa ďalej nespracovávali.

Odparok výtrepku chloroform — etanolového 9 : 1 (110 g) dal pozitívnu Raymondovu i Keddeho reakciu. 88 g odparku tohto výtrepku sa rozdelilo na 4 časti po 22 g; tieto sa osobitne chromatografovali.

22 g odparku výtrepku chloroform—etanolového 9 : 1 sa chromatografovalo metódou prietokovej chromatografie podľa T. Reichsteina [8] na 350 g aktívneho Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>. (Aktivita Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> pri všetkých chromatografiách, stanovená podľa H. Brockmanna [10], bola II.) Na elúciu jednotlivých frakcií sa použilo vždy po 400 ml z uvedených rozpúšťadiel (tab. 1).

Spojením odparokov frakcií obsahujúcich rovnaké percento metanolu sa zo všetkých 4 chromatografií celkovo získalo 3,7 g odparku frakcie 16 % metanol, 7 g odparku frakcie 32 % metanol a 1,6 g odparku frakcie 64 % metanol. Z frakcie 32 % metanol kryštalizáciou v 75 ml zmesi etanol—éter 1 : 1 sa získalo 1690 mg nečistého konvalatoxínu a po rekryštalizácii z metanol—éteru 1 : 1 1511 mg kryštalického konvalatoxínu.

Odparky frakcií 16 % metanol a 64 % metanol priamo nekryštalovali a rechromatografovali sa.

Tabuľka 1

Číslo frakcie	Rozpúšťadlo	Raymondova reakcia odparku	Vzhľad odparku
1	CHCl <sub>3</sub>	0	ZO
2	"	0	"
3	"	0	"
4	"	0	HO
5	"	0	"
6	CHCl <sub>3</sub> : CH <sub>3</sub> OH	1 %	"
7	"	0	"
8	"	0	"
9	"	0	THO
10	"	0	"
11	CHCl <sub>3</sub> : CH <sub>3</sub> OH	2 %	"
12	"	0	"
13	"	0	"
14	"	0	"
15	"	0	"
16	CHCl <sub>3</sub> : CH <sub>3</sub> OH	4 %	"
17	"	0	"
18	"	0	THS
19	"	0	"
20	"	0	"
21	CHCl <sub>3</sub> : CH <sub>3</sub> OH	8 %	"
22	"	+	"
23	"	+	"
24	"	++	THP
25	"	++	"
26	CHCl <sub>3</sub> : CH <sub>3</sub> OH	16 %	SHP
27	"	+++	"
28	"	+++	"
29	"	++	"
30	"	++	"
31	CHCl <sub>3</sub> : CH <sub>3</sub> OH	32 %	SZP
32	"	+++	"
33	"	+++	"
34	"	+++	"
35	"	++	HP
36	CHCl <sub>3</sub> : CH <sub>3</sub> OH	64 %	"
37	"	+++	SHP
38	"	+++	HP
39	"	++	HS
40	"	++	"
41	CH <sub>3</sub> OH	++	"
42	"	++	"
43	"	++	"
44	"	++	"
45	"	++	"

*Legenda:* Raymondova reakcia odparku: 0 = negatívna, + = slabo pozitívna, ++ = stredne pozitívna, +++ = silne pozitívna. Vzhľad odparku: ZO = zelený olej, HO = hnedý olej, THO = tmavohnedý olej, THS = tmavohnedý sirup, THP = tmavohnedá pena, SHP = jasnohnedá pena, SZP = jasnožltá pena.

3,7 g odparku frakcie 16 % metanol sa rechromatografovalo na 90 g  $\text{Al}_2\text{O}_3$  (aktivita II). Na elúciu jednotlivých frakcií sa použilo vždy po 100 ml z uvedených rozpúšťadiel (tab. 2).

Tabuľka 2

Číslo frakcie	Rozpúšťadlo	Raymondova reakcia odparku	Vzhľad odparku
1	$\text{CHCl}_3$	—	—
2	„	0	HO
3	„	0	„
4	„	0	„
5	$\text{CHCl}_3 : \text{CH}_3\text{OH}$ 1 %	0	„
6	„	0	„
7	„	0	„
8	„	0	HŠ
9	$\text{CHCl}_3 : \text{CH}_3\text{OH}$ 2 %	0	„
10	„	0	„
11	„	0	„
12	„	0	„
13	$\text{CHCl}_3 : \text{CH}_3\text{OH}$ 4 %	0	„
14	„	+	SHS
15	„	+	„
16	„	+	„
17	$\text{CHCl}_3 : \text{CH}_3\text{OH}$ 8 %	++	„
18	„	++	„
19	„	++	„
20	„	+++	SŽP
21	$\text{CHCl}_3 : \text{CH}_3\text{OH}$ 16 %	+++	„
22	„	+++	„
23	„	+++	„
24	„	+++	„
25	„	++	ŽP
26	$\text{CHCl}_3 : \text{CH}_3\text{OH}$ 32 %	++	HP
27	„	++	„
28	„	++	„
29	„	++	SHP
30	$\text{CHCl}_3 : \text{CH}_3\text{OH}$ 64 %	++	„
31	„	++	„
32	„	++	„
33	„	++	„
34	$\text{CH}_3\text{OH}$	+	„
35	„	+	„

Spojené odparky frakcií č. 20, 21, 22, 23 a 24 (856 mg) poskytli kryštalizáciu z 10 ml etanol—éteru 1 : 1 290 mg kryštalického glykozidu B 3. Prekryštalovaním z metanol—éteru 1 : 1 sa získalo 210 mg čistého glykozidu.

1,6 g odparku frakcie 64 % metanol sa rechromatografovalo na 60 g  $\text{Al}_2\text{O}_3$  (aktivita II). Na elúciu jednotlivých frakcií sa použilo vždy po 60 ml z uvedených rozpúšťadiel (tab. 3).

Zo spojených odparkov frakcií č. 21, 22 a 23 (72 mg) sa kryštalizáciou z 0,5 ml etanol—éteru 1 : 1 získala kryštalická usadenina, ktorá po trojnásobnom prekryštalovaní z metanol—éteru 1 : 1 poskytla 14 mg kryštalického konvalatoxolu.

Tabuľka 3

Číslo frakcie	Rozpúšťadlo	Raymondova reakcia odparku	Vzhľad odparku
1	CHCl <sub>3</sub>	—	—
2	"	—	—
3	"	—	—
4	CHCl <sub>3</sub> : CH <sub>3</sub> OH 1 %	0	THO
5	"	0	"
6	"	0	"
7	CHCl <sub>3</sub> : CH <sub>3</sub> OH 2 %	0	"
8	"	0	"
9	"	0	"
10	CHCl <sub>3</sub> : CH <sub>3</sub> OH 4 %	0	"
11	"	0	"
12	"	0	"
13	CHCl <sub>3</sub> : CH <sub>3</sub> OH 8 %	0	HS
14	"	+	"
15	"	+	"
16	CHCl <sub>3</sub> : CH <sub>3</sub> OH 16 %	+	"
17	"	+	"
18	"	+	"
19	CHCl <sub>3</sub> : CH <sub>3</sub> OH 32 %	++	SHS
20	"	++	"
21	"	+++	"
22	CHCl <sub>3</sub> : CH <sub>3</sub> OH 64 %	+++	ŽP
23	"	+++	"
24	"	++	ŽHP
25	"	+	"
26	CH <sub>3</sub> OH	+	"
27	"	+	"
28	"	+	"

*Droga II*

100 kg jemne rozomletých sušených listov konvalinky vonnej sa extrahovalo 3 krát vždy 400 l etanolu. Etanol sa vákuove oddestiloval pri teplote do 40 °C. Odparok (12,4 kg) sa rozpustil v 26 l destilovanej vody a vylúčený chlorofyl sa odfiltroval. Vodný roztok po filtrácii sa priamo vytrepal 3 krát vždy 25 l éteru, 3 krát 25 l chloroformu a 5 krát 25 l zmesi chloroform—etanol 9 : 1. Éterový odparok (325 g) a chloroformový odparok (80 g) sa ďalej nespracovávali.

Odparok výtrepku chloroform—etanolového 9:1 (270 g) sa spracoval postupne rovnakým spôsobom ako výtrepok chloroform—etanolový 9 : 1 pri droge *I*. Zo spojených odparokov 16 % metanoličských frakcií po rechromatografii na aktívnom Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> sa znovu získalo 195 mg kryštalického glykozidu B 3 a z odparku frakcií 32 % metanol 1106 mg kryštalického konvalatoxínu. Konvalatoxol sa nevyizoloval.

*Identifikácia izolovaných kryštalických glykozidov*

## Konvalatoxín

B. t. 233—236 °C (z metanol—éteru 1 : 1),  $[\alpha]_D^{23} = -0,8 \pm 2^\circ$  ( $c = 1,250$  v metanole), 12,50 mg do 1 ml;  $l = 1$  dm;  $\alpha_D^{23} = -0,01 \pm 0,03^\circ$ .

Pre  $C_{29}H_{42}O_{10}$  ( $M = 550,6$ )

vypočítané	C = 63,24 %	H = 7,69 %
zistené	C = 62,72 %	H = 7,78 %

Glykozid B 3

B. t. 187—190 °C (z metanol—éteru 1 : 1),  $[\alpha]_D^{23} = -13,3 \pm 2^\circ$  ( $c = 0,976$  v metanole), 9,76 mg do 1 ml;  $l = 1$  dm;  $\alpha_D^{23} = -0,13 \pm 0,02^\circ$ .

zistené	C = 62,64 %	H = 8,15 %
---------	-------------	------------

Konvalatoxol

Zmesný b. t. s konvalatoxolom pripraveným z konvalatoxínu redukciou s  $NaBH_4$  nevykázal nijakú depresiu. B. t. 169—172 °C (z metanol—éteru 1 : 1).

Ďakujem prof. T. Reichsteinovi za zaslanie vzorky konvalatoxolu. Za vykonané analýzy ďakujem inž. J. Beichtovi a za stanovenie biologickej účinnosti MUDr. F. Seleckému a E. Buranovi.

## Súhrn

Zo sušených listov konvalinky vonnej (*Convallaria majalis* L.) sa okrem konvalatoxínu a konvalatoxolu vyzisoloval nový srdcove účinný kryštalický glykozid, označený zatiaľ ako glykozid B 3.

Fyzikálno-chemické konštanty uvedeného glykozidu sa líšia od fyzikálno-chemických konštant dosiaľ v literatúre opísaných kryštalických srdcových glykozidov konvalinky vonnej. Prítomnosť tohto glykozidu v listoch konvalinky sa dokázala v dvoch vegetačných rokoch jeho izoláciou v kryštalickom stave.

Stanovili sa tieto fyzikálno-chemické konštanty: b. t. = 187—190 °C (z metanol—éteru 1 : 1),  $[\alpha]_D^{23} = -13,3 \pm 2^\circ$  ( $c = 0,976$  v metanole).  $R_F = 0,54$  (v systéme izoamylalkohol + voda, mobilná vodná fáza, papier Whatman 1).

## ИЗОЛЯЦИЯ НОВОГО ГЛЮКОЗИДА, ДЕЙСТВУЮЩЕГО НА СЕРДЦЕ ИЗ ЛИСТЬЕВ ЛАНДЫША (*CONVALLARIA MAJALIS* L.)

ДОБРОСЛАВ ШИКЛ

Отделение фармацевтической химии и биохимии Химического института Словацкой Академии Наук в Братиславе

### Выводы

Из сухих листьев ландыша (*Convallaria majalis* L.) был изолирован совместно с конвалатоксином и конвалатоксолом новый, действующий на сердце, кристаллический гликозид, обозначенный пока как гликозид B 3.

Физическо-химические константы этого гликозида отличаются от физическо-химических констант, известных до сих пор в литературе кристаллических гликозидов ландыша, действующих на сердце. Присутствие этого гликозида в листьях ландыша была

доказана в течении двух вегетационных лет, его изоляцией в кристаллическом состоянии.

Установлены физическо-химические константы: т. пл. = 187—190 °C (из метанол—эфира 1 : 1),  $[\alpha]_D^{23} = -13,3 \pm 2^\circ$  ( $c = 0,976$  в метаноле).  $R_F = 0,54$  (в системе изоамиловый спирт + вода, мобильная фаза водная, бумага Whatman 1).

Поступило в редакцию 12. 3. 1958 г.

## ISOLIERUNG EINES NEUEN HERZGLYKOSIDS AUS DEN BLÄTTERN DES GEMEINEN MAIGLÖCKCHENS (*CONVALLARIA MAJALIS L.*)

DOBROSLAV ŠIKL

Abteilung für pharmazeutische Chemie und Biochemie des Chemischen Instituts an der  
Slowakischen Akademie der Wissenschaften in Bratislava

### Zusammenfassung

Aus getrockneten Blättern des Gemeinen Maiglöckchens (*Convallaria majalis L.*) isolierte der Autor neben Convallatoxin und Convallatoxol ein neues kristallisches Herzglykosid, welches vorläufig die Bezeichnung B 3 erhalten hat.

Die physikalisch-chemischen Konstanten dieses Glykosids unterscheiden sich von den physikalisch-chemischen Konstanten der bisher in der Literatur beschriebenen kristallischen Herzglykoside des Gemeinen Maiglöckchens. Die Anwesenheit dieses Glykosids in den Blättern des Maiglöckchens konnte innerhalb zweier Vegetationsjahre durch dessen Isolierung in kristallisiertem Zustand nachgewiesen werden.

Die physikalisch-chemischen Konstanter dieses Glykosids: Schmp. = 187—190 °C (aus Methanol—Äther 1 : 1),  $[\alpha]_D^{23} = -13,3 \pm 2^\circ$  ( $c = 0,976$  in Methanol).  $R_F = 0,54$  (im System Isoamylalkohol + Wasser, mobile wässrige Phase, Papier Whatman 1).

In die Redaktion eingelangt den 12. 3. 1958

### LITERATÚRA

1. Karrer W., Helv. Chim. Acta 12, 506 (1929). — 2. Mohr K., Reichstein T., Pharm. Acta Helv. 23, 369 (1948). — 3. Fieser L. F., Jacobsen R. P., J. Am. Chem. Soc. 59, 2335 (1937). — 4. Reichstein T., Katz A., Pharm. Acta Helv. 18, 521 (1943). — 5. Schmutz J., Reichstein T., Pharm. Acta Helv. 22, 359 (1947). — 6. Hunger A., Reichstein T., Chem. Ber. 85, 635 (1952). — 7. Tschesche R., Seehofer F., Chem. Ber. 87, 1108 (1954). — 8. Reichstein T., Shoppee C. W., Discussion Faraday Soc. 7, 305 (1949). — 9. Buran L., Selecký F., Šikl D., Českoslov. farm. (v tlači). — 10. Brockmann H., Schodder H., Chem. Ber. 74, 73 (1941).

Došlo do redakcie 12. 3. 1958