

6. Die Glykoside der Samen von *Vallaris solanacea* (ROTH) O. K. Isolierungen¹⁾

Glykoside und Aglykone, 263. Mitteilung [1]

von **Heinz Kaufmann, W. Wehrli** und **T. Reichstein**

(11. XI. 64)

1. Frühere Untersuchungen. – Die Gattung *Vallaris* ist in 3–4 Arten über das ganze tropische Asien verbreitet [2] [3]. *Vallaris solanacea* (ROTH) O.K. (= *Vallaris heynei* SPRENG) ist eine in Indien und Burma beheimatete Apocynacee. Die buschige, sehr kletterfähige Pflanze wird oft als Zierpflanze in Gärten gehalten, seit 1818 auch in Europa [4]. Die Blütezeit erstreckt sich in Indien über die Monate Dezember bis April, die Früchte reifen in der Zeit zwischen Januar und April (vgl. auch Fig. 1–3). Nach BOR & RAIZADA [4] wird *Vallaris solanacea* in Indien auch in der Volksmedizin verwendet. Die Rinde ist bitter und zeigt eine adstringierende Wirkung. Sie wird von den Kols gekaut, um lose Zähne wieder zu fixieren. Der Latex aus dem Stengel wird für die Wundpflege verwendet. Ein *Vallaris*-Zweig, an einem bestimmten Tag im Juni am Dach des Hauses aufgehängt, soll das Eindringen von Schnecken in den Garten während der Regenzeit verhindern.

Die Anwesenheit von bitteren, giftigen Stoffen in den Blättern und im Rindenbast wurde erstmals von GRESHOFF [5] bei einer nicht näher bezeichneten *Vallaris*-Spezies festgestellt. Nach BOORSMA [6] enthält eine nicht identifizierte *Vallaris*-Spezies toxische, digitalisartig wirksame Glykoside, von denen ein Konzentrat als mikrokristalline Masse isoliert wurde. Neben der Farbreaktion mit konz. H₂SO₄ werden einige Tierversuche beschrieben. BISSET [3] fand in den Samen sowie in der Rinde von *V. solanacea* Glykoside mit starker digitalisartiger Wirkung. Nach Papierchromatogrammen waren eine Reihe KEDDE-positiver²⁾ Stoffe anwesend. VISHWA *et al.* [9] untersuchten die Zusammensetzung des Öls aus den Samen von *V. solanacea*, das keine toxischen Bestandteile enthält. Zwei weitere Arbeiten [10] [11] befassen sich mit pharmakologischen Untersuchungen von Rohextrakten aus den Blättern von *V. solanacea*, wobei für die erhaltenen Stoffgemische neben der Herzwirkung vor allem der Einfluss auf die glatte Muskulatur untersucht wurde.

Über weitere chemische Untersuchungen ist uns nichts bekannt. Wir beschreiben im folgenden die Analyse der Samen, die auf Grund von orientierenden Vorversuchen [12] sehr reich an Cardenolid-Glykosiden sind.

¹⁾ Auszug aus Diss. HEINZ KAUFMANN, Basel 1964.

²⁾ Die KEDDE-Reaktion [7] ist bei fast allen Herzglykosiden positiv (blauviolette Färbung). Empfindlichkeit im Papierchromatogramm ca. 0,01 mg, im Dünnschichtchromatogramm ca. 0,005 mg. Für diese Arbeit wurde durchwegs das modifizierte KEDDE-Reagens nach LEWBART *et al.* [8] verwendet. Diese Ausführungsform hat den Vorteil, dass die Empfindlichkeit etwas grösser ist und dass die blauvioletten Flecke länger sichtbar bleiben.

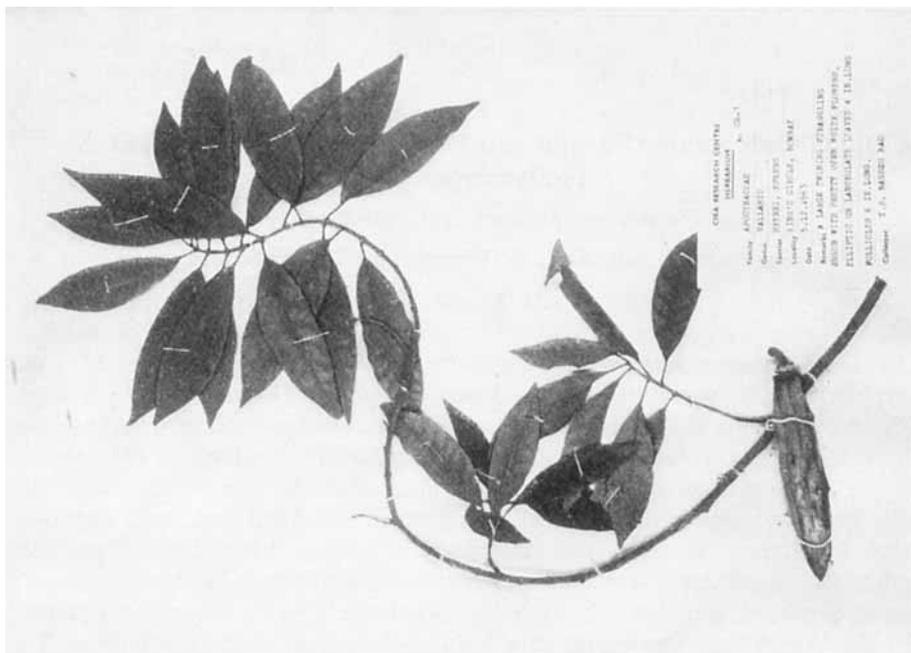


Fig. 2. *Vallaris solanacea* (ROTH) O. K. Zweig mit Blättern und Frucht
5. 12. 1963. Aufnahme T. S. NAGESH RAO



Fig. 1. *Vallaris solanacea* (ROTH) O. K. Zweig mit Blättern und Blüten
5. 12. 1963. Aufnahme T. S. NAGESH RAO

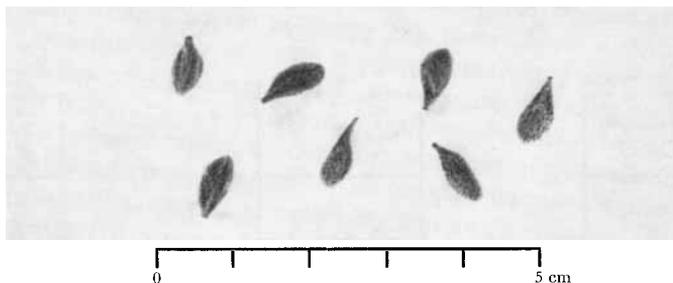


Fig. 3. *Vallaris solanacea* (ROTH) O. K. *Samen*. Aufnahme Dr. L. JENNY

2. Beschaffung des Ausgangsmaterials³⁾. – Zur Verfügung standen:

Probe a), 0,45 kg Samen von *Vallaris solanacea* (ROTH) O. K., gesammelt am 9. 3. 1961 in den Empress Gardens, Poona, Indien, durch Herrn T. S. NAGESH RAO. In Basel am 17. 4. 1961 in sehr gutem Zustand eingetroffen.

Probe b), 5,5 kg Rinde, gesammelt am 26. 11. 1960 am gleichen Ort, ebenfalls durch Herrn T. S. NAGESH RAO. In Basel am 16. 12. 1960 in sehr gutem Zustand eingetroffen.

Fig. 1 und 2 zeigen Aufnahmen der Pflanze mit Blüten und Früchten. Fig. 3 zeigt Samen. Bisher wurde nur Probe a) untersucht.

3. Extraktion und Vortrennung der Extrakte. – In Samen sind oft Fermente vorhanden, welche im Zuckerteil von Glykosiden endständig gebundene Glucose abzuspalten vermögen [13]. Dieser Abbau führt zu weniger polaren Glykosiden und Aglykonen, die der chemischen Untersuchung leichter zugänglich sind. Daher wurde zunächst in einem *Vorversuch* ermittelt, ob die Samen von *V. solanacea* solche Fermente enthalten. 20 g Samen wurden fein gemahlen und mit Petroläther entfettet. Die verbleibenden 15,8 g Samenpulver wurden in zwei gleich grosse Proben unterteilt und getrennt weiterverarbeitet.

3.1. *Extraktion ohne Fermentierung.* 7,9 g entfettetes Samenpulver wurden nach früheren Angaben [13] mit Alkohol-Wasser-Gemischen von steigendem Alkoholgehalt und schliesslich mit 96-proz. Alkohol solange extrahiert, bis die Extrakte nicht mehr KEDDE-positiv waren. Die vereinigten Extrakte wurden stark eingengt und mit Äther, Chloroform und Chloroform-Alkohol-(2:1)-Gemisch extrahiert. Über die Resultate orientiert Tab. 1.

3.2. *Extraktion mit Fermentierung.* Die zweite Probe von 7,9 g entfettetem Samenpulver wurde nach früheren Angaben [13] für eine Woche zur Fermentierung angesetzt. Nachher erfolgte die Extraktion in derselben Weise wie bei 3.1. Über die Resultate orientiert Tab. 1.

Der Vorversuch zeigt eindeutig, dass eine fast vollständige Fermentierung eingetreten ist. War beim Versuch ohne Fermentierung der grösste Teil des KEDDE-positiven Materials im Chf-Alk-(2:1)-Extrakt zu finden, so ist es nach der Fermentierung fast vollständig im Äther-Extrakt enthalten. Dasselbe ergibt sich auch aus Fig. 4

³⁾ Wir danken der CIBA OF INDIA, LIMITED, Bombay, sowie der CIBA-AKTIENGESELLSCHAFT, Basel, für ihre freundlichen Bemühungen zur Beschaffung dieses Materials.

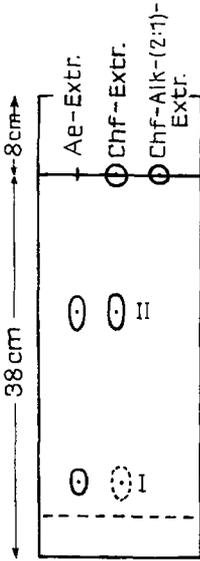


Fig. 4
Be-Chf-(7:5)/Fmd
2 Std.

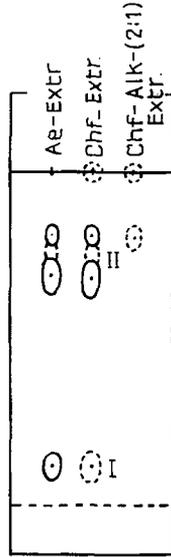


Fig. 5
Be-Chf-(7:5)/Fmd
2 Std.

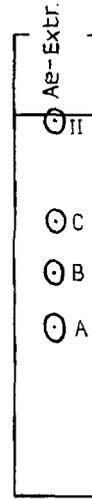


Fig. 6
Be-Cy-(1:1)/MFmd
60 Std.

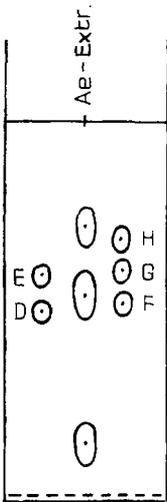


Fig. 7
Buac-Fmd-W-
(100:5:5)/Fmd [14]
3 Std.

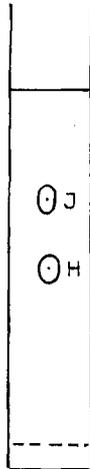


Fig. 8
To-Bu-(9:1)/W
2½ Std.

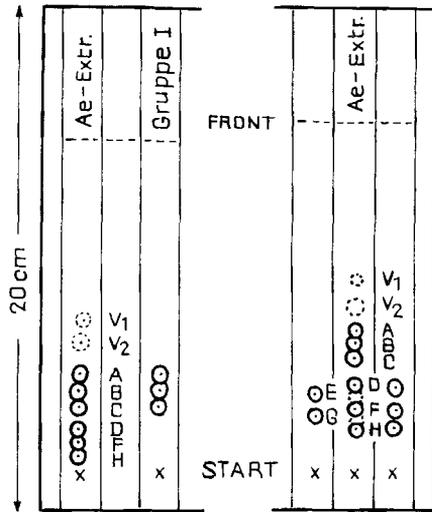


Fig. 9
Mek-Cy-(1:1)
40 Min.

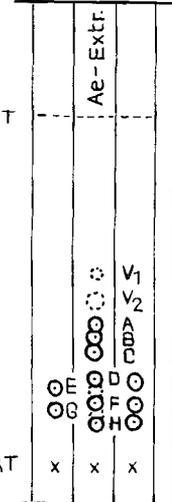


Fig. 10
Mek-Cy-(3:2)
40 Min.

Fig. 4-8 sind Beispiele für Papierchromatogramme, schematisiert, aber massgetreu. Ausführung absteigend nach früheren Angaben [15]. Die Papiere wurden zur Imprägnierung mit Fmd und MFmd kurz durch ein An-Fmd-(4:1)- bzw. An-MFmd-(4:1)-Gemisch gezogen. Zur Imprägnierung mit W zog man die Papiere kurz durch ein An-W-(2:1)-Gemisch. Diese Papiere wurden immer mit

einem kontrollierten Wassergehalt von 35% des Papiertrockengewichts in den Trog eingehängt. Wo keine Front eingezeichnet ist, wurde das Lösungsmittel abtropfen gelassen. Entwicklung mit KEDDE-Reagens²⁾. – I = Gruppe I, bestehend aus den Substanzen A, B und C. II = Gruppe II, bestehend aus den Substanzen D, E, F, G und H.

Fig. 9–10 sind *Beispiele für Dünnschichtchromatogramme an SiO₂ auf Linienglas* [16]. Ausführung aufsteigend. Entwickelt mit *p*-Toluolsulfonsäure.

(Vorversuch ohne Fermentierung) und Fig. 5 (Vorversuch mit Fermentierung). Hier ist zudem ersichtlich, dass der Chf-Extrakt in Fig. 5 weitgehend dieselben Komponenten enthält wie der Ae-Extrakt. Tatsächlich konnte im Hauptversuch der Anteil des Chf-Extraktes durch gründlicheres Ausschütteln mit Äther verkleinert werden (vgl. Tab. 1).

3.3. *Hauptversuch*. Auf Grund der Resultate der Vorversuche wurde die Hauptmenge, 400 g Samen von *V. solanacea*, nach dem Entfetten mit Petroläther mit 1 Liter Wasser und 0,2 l Chloroform unter CO₂ für eine Woche zum Fermentieren angesetzt. Anschliessend wurde mit Alkohol-Wasser-Gemischen und mit 96-proz. Alkohol erschöpfend extrahiert [13]. Auf eine Reinigung des konzentrierten Rohextraktes mit Pb(OH₂) wurde hier verzichtet. Vor dem Ausschütteln entzog man dem Rohextrakt die letzten Reste an petrolätherlöslichem Material durch Verteilen zwischen 70-proz. Alkohol und Petroläther. Die Ergebnisse der anschliessenden fraktionierten Extraktion mit Äther, Chloroform und Chloroform-Alkohol-(2:1)-Gemisch ist aus Tab. 1 ersichtlich.

Die papierchromatographische Untersuchung ergab zunächst nur eine Auftrennung des Äther-Extraktes in zwei Gruppen. Wie Fig. 5 zeigt, liess sich gleichzeitig eine weitgehende Übereinstimmung zwischen dem Äther- und dem Chloroform-Extrakt feststellen. Weitere Papier- und Dünnschichtchromatogramme (vgl. Fig. 6–10) erlaubten es, insgesamt acht KEDDE-positive Substanzen nachzuweisen, die in Reihenfolge zunehmender Polarität mit den Buchstaben A, B, C, D, E, F, G und H bezeichnet wurden. Im Chloroform-Extrakt fand man ausserdem noch eine Substanz J. Durch die weiter unten beschriebenen Trennoperationen liessen sich die acht Substanzen A bis H in Kristallen und J in chromatographisch reiner, aber amorpher Form isolieren.

Tabelle 1. *Ausbeute an Rohextrakten aus den Samen von Vallaris solanacea*

Extrakt ⁴⁾	Vorversuch ohne Fermentierung, 10 g Samen			Vorversuch mit Fermentierung, 10 g Samen			Hauptversuch mit Fermentierung, 400 g Samen		
	in mg	in % ⁵⁾	KEDDE ²⁾	in mg	in %	KEDDE	in g	in %	KEDDE
Pe	2100	21,0	–	2100	21,0	–	110,1	28,5	–
Ae	108	1,1	+	400	4,0	++	14,12	3,5	++
Chf	178	1,8	+	97	1,0	+	0,84	0,2	+
Chf-Alk-(2:1)	342	3,4	++	66	0,7	±	0,98	0,25	±

4. **Ausführung der präparativen Trennungen.** – 4.1. *Äther-Extrakt*. Da für eine direkte Auftrennung des Ae-Extraktes in die einzelnen Komponenten kein geeignetes Verfahren zur Verfügung stand, wurde zuerst eine Vortrennung durch Chromatographieren an SiO₂ durchgeführt. Dadurch konnte man das Material in die beiden in

⁴⁾ Abkürzung für Lösungsmittel usw. vgl. Einleitung zum exper. Teil.

⁵⁾ Bezogen auf das Trockengewicht der Samen.

Fig. 5 erkennbaren Gruppen aufteilen, die im folgenden als Gruppen I und II bezeichnet werden. Aus der Gruppe I liessen sich nach einer Chromatographie an Kieselgel nach DUNCAN [17] mit Mek-Cy-(1:1) als Lösungsmittel die Substanzen A, B und C in Kristallen isolieren. Wie aus Fig. 9 zu ersehen ist, wurden hier auch zwei KEDDE-negative, nur in geringen Mengen anwesende, schwach polare Stoffe (V_1 und V_2) in amorpher Form abgetrennt. Diese wurden nicht weiter untersucht. Auch Gruppe II wurde einer Chromatographie an Kieselgel nach DUNCAN [17] unterworfen, jedoch mit Mek-Cy-(3:2) als Lösungsmittel (vgl. Fig. 10). Hier konnten die Substanzen D, E, F, G und H in Kristallen gewonnen werden.

4.2. *Chloroform-Extrakt*. 0,8 g Chf-Extrakt wurde in gleicher Weise wie der Äther-Extrakt an SiO_2 chromatographiert. Dabei erhielt man weitere geringe Mengen der Gruppen I und II. Aus den stärker polaren Anteilen entstanden durch Fermentierung mit Schneckenferment [18] nochmals kleine Mengen der schon isolierten Glykoside, vor allem solche der Gruppe I. Aus dem bei dieser Fermentierung unverändert gebliebenen Material konnte in kleiner Menge ein weiterer Stoff isoliert werden, der hier mit J bezeichnet wird.

4.3. *Chloroform-Alkohol-(2:1)-Extrakt*. Da die geringe Menge (0,98 g) Chf-Alk-(2:1)-Extrakt ausser Spuren von Substanz J keine weiteren KEDDE-positiven Substanzen mehr enthielt, wurde auf die weitere Untersuchung dieses Materials verzichtet.

In Tab. 2 sind die Ausbeuten der in Kristallen erhaltenen Substanzen zusammengestellt. Ferner zeigt die Tabelle eine Schätzung der Substanzmengen, die in den Samen ursprünglich vorhanden waren. Diese Schätzungen sind sehr roh, da nur etwa ein Drittel des vorhandenen Ae-Extraktes vollständig aufgetrennt wurde und aus diesem Grund die genaue Zusammensetzung nur für einen Teil der Fraktionen aus der ersten Chromatographie an SiO_2 (vgl. Tab. 7) bekannt ist. Für die anderen Fraktionen basiert die Schätzung auf dem Vergleich der Fleckengrösse im Dünnschichtchromatogramm.

Tabelle 2. Ausbeute der aus den Samen von *Vallisneria spiralis* in Kristallen oder in amorpher, papierchromatographisch reiner Form isolierten Glykoside

Substanz- Bezeichnung	identifi- ziert mit	Isolierte Menge in mg		Geschätzte Totalmenge in 400 g Samen		Struktur ⁶⁾ ?)
		Kristalle	amorph	in mg	in % ⁵⁾	
A	neu	140	—	350	0,09	Digen-Val (ac)
B	neu	597	426	3500	0,88	Digen-Aco (ac)
C	neu	347	95	1800	0,45	Olgen-Aco (ac)
D	neu	155	69	1300	0,33	Digen-Val
E	neu	16	9	110	0,03	Olgen-Val
F	neu	322	170	2700	0,68	Digen-Aco
G	Acoschimpero- sid P [19]	28	26	200	0,05	Olgen-Aco
H	neu ⁸⁾	126	14	1000	0,25	Angen-Aco

⁶⁾ Digen = Digitoxigenin, Olgen = Oleandrigenin, Angen = 16-Anhydrodigitoxigenin, Aco = L-Acofriose, Val = L-Vallarose, Aco(ac) = Mono-O-acetyl-L-Acofriose.

⁷⁾ Vgl. folgende Mitteilung.

⁸⁾ THUDIUM *et al.* [19] haben diese Verbindung schon früher aus Acoschimperosid P bereitet und das UV.-Spektrum des Rohprodukts beschrieben. Die Verbindung wurde jedoch weder in reiner, kristalliner Form isoliert noch charakterisiert.

5. Identifizierung der isolierten Stoffe. – Die wichtigsten Eigenschaften der acht in Kristallen isolierten Stoffe sind in Tab. 3 zusammengestellt. Die Farbreaktionen mit 96-proz. und 84-proz. H_2SO_4 sind in den Tab. 4 und 5 zusammengestellt. Fig. 11–18 zeigen die IR.-Absorptionsspektren.

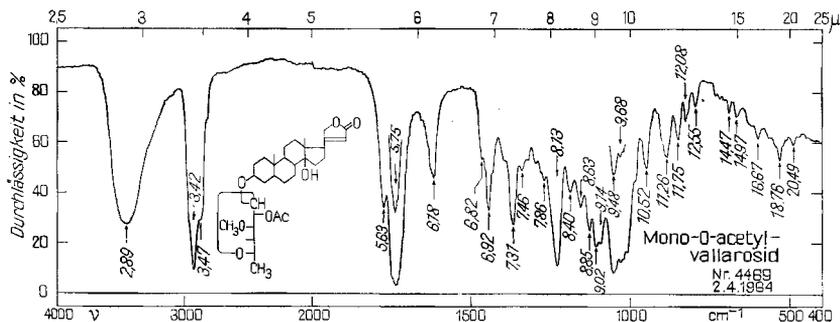


Fig. 11. IR.-Absorptionsspektrum⁹⁾ von Mono-O-acetyl-vallarosid (= Substanz A), 1,5|0,4 mg fest in KBr

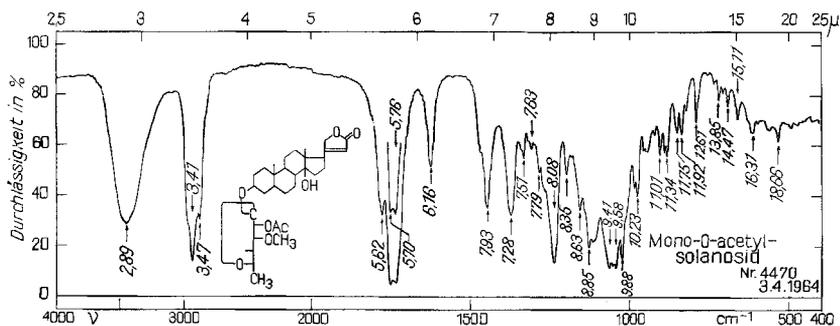


Fig. 12. IR.-Absorptionsspektrum⁹⁾ von Mono-O-acetyl-solanosid (= Substanz B), 1,9|0,6 mg fest in KBr

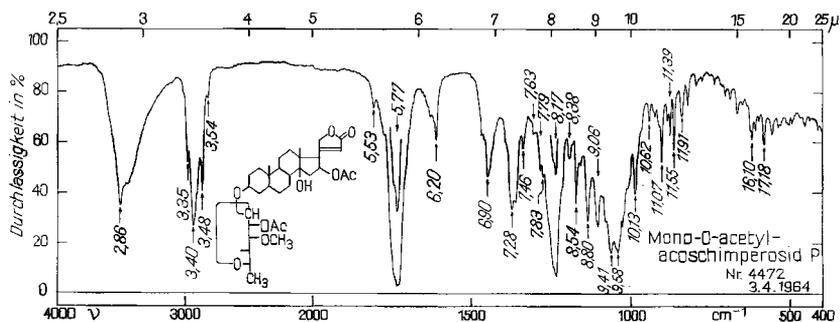


Fig. 13. IR.-Absorptionsspektrum⁹⁾ von Mono-O-acetyl-acoschimperosid P (= Substanz C), 1,2|0,3 mg fest in KBr

⁹⁾ Aufgenommen von Herrn CH. SENN auf einem PERKIN-ELMER-IR.-Gitter-Spektrophotometer, Modell 125.

Von den acht kristallinen Stoffen liess sich nur einer mit einem bekannten Glykosid identifizieren: G war nach Schmelzpunkt, Mischprobe, Drehung, Farbreaktionen und Laufstrecken in Papier- und Dünnschichtchromatogrammen identisch mit Aco-schimperosid P [19] (vgl. dazu auch Fig. 17). Bei den anderen sieben Substanzen handelt es sich um neue Glykoside. Über die Strukturaufklärung dieser Verbindungen wird in der folgenden Mitteilung berichtet. Die Resultate sind bereits in Tab. 2 angedeutet.

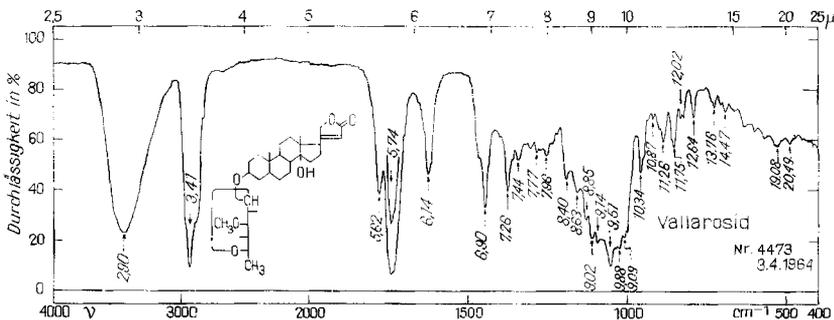


Fig. 14. IR.-Absorptionsspektrum⁹⁾ von Vallarosid (= Substanz D), 1,5|0,5 mg fest in KBr

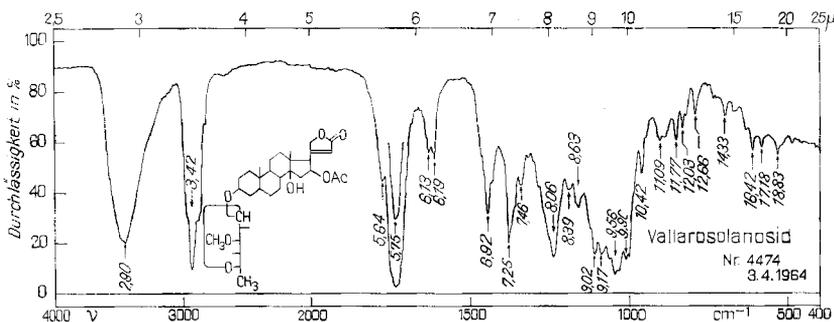


Fig. 15. IR.-Absorptionsspektrum⁹⁾ von Vallarosolanosid (= Substanz E), 1,5|0,4 mg fest in KBr

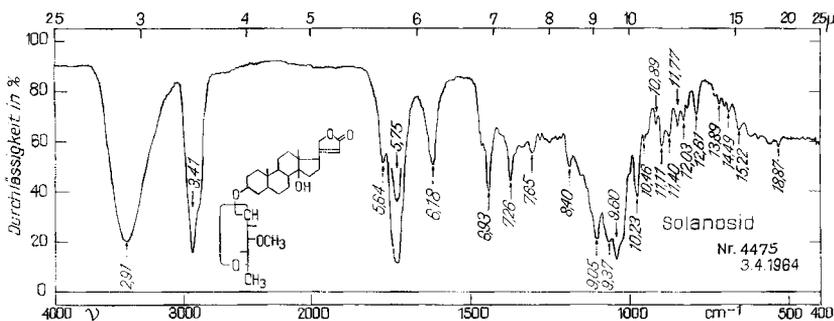


Fig. 16. IR.-Absorptionsspektrum⁹⁾ von Solanosid (= Substanz F), 1,5|0,6 mg fest in KBr

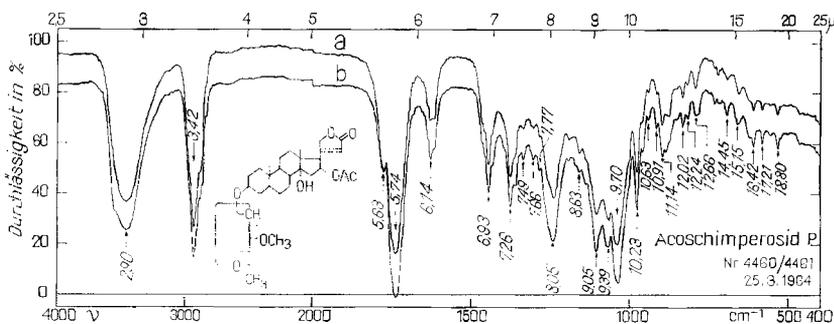


Fig. 17. IR.-Absorptionsspektrum⁹⁾ von Acoschimperosid P (= Substanz G): a) 1,25 mg aus *Vallis solanacea*, fest in KBr; b) 1,3 mg authentisches Material, fest in KBr

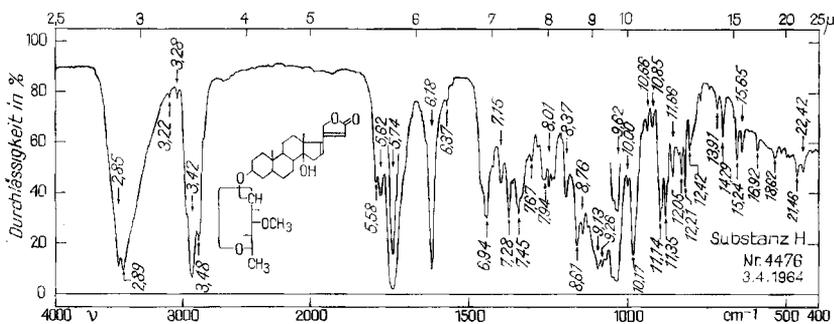


Fig. 18. IR.-Absorptionsspektrum⁹⁾ von 16-Desacetyl-16-anhydroacoschimperosid P (= Substanz H), 1,5|0,35 mg fest in KBr

6. Biologische Wirksamkeit. – Herr Dr. CHEN¹⁰⁾ hatte die Freundlichkeit, die sieben neuen Verbindungen an der Katze biologisch zu prüfen. Die Ergebnisse zeigt Tab. 6. Es fällt hier auf, dass die Glykoside mit einem acetylierten Zucker immer eine deutlich kleinere Toxizität aufweisen als die entsprechenden acetylfreien Glykoside (vgl. dazu die Stoffpaare A und D, B und F, C und G). Hingegen scheint die Art des Zuckers bei gleichem Genin in den hier beschriebenen Fällen die Wirksamkeit nur wenig zu beeinflussen (vgl. dazu die Stoffpaare A und B, D und F, E und G). Die Substanz H mit der 16,17-Doppelbindung war wie erwartet inaktiv.

7. Diskussion der Resultate. – Die Samen von *Vallis solanacea* sind sehr reich an Glykosiden. Der Gehalt an KEDDE-positiven Verbindungen beträgt vor der Fermentierung ca. 6%, nachher ca. 3,5–4%. Bei den nach der Fermentierung isolierten Verbindungen handelt es sich auf Grund der Xanthhydrolyseprobe und des PARTRIDGE-Tests (vgl. Tab. 3) durchwegs um Glykoside mit in 2-Stellung hydroxylierten Zuckern. Die intakten Samen enthalten vorwiegend stärker polares Material. Nach dem Verhalten bei der Fermentierung dürfte es sich um Derivate der hier isolierten Glykoside handeln, die zusätzlich noch mindestens ein Mol D-Glucose enthalten.

¹⁰⁾ Wir danken Herrn Dr. K. K. CHEN, Indianapolis, Ind., USA, auch hier bestens für die Überlassung seiner Resultate.

Tabelle 3. *Eigenschaften der aus den Samen von Vallaris solanacea isolierten Glykoside*

Bezeichnung	Name	Smp. in °C [α] _D in Methanol	Xanthylprobe [20]	PARTRIDGE-Test [21] nach KILIANI-Spaltung [22]	Fluoreszenzprobe mit 84-proz. H ₃ PO ₄ [24]	Fluoreszenz mit Trichloressigsäure- Chloramin T [25]	Bruttoformel	Maxima im UV, ¹³⁾ λ in nm ¹¹⁾ (log ϵ) ¹²⁾ [Spektr.-Nr.]
A	Mono-O-acetyl- vallarosid	196–199 [– 38,2 ± 2]	–	+	–	gelb	C ₃₂ H ₄₈ O ₉	217 (4,19) [3647]
B	Mono-O-acetyl- solanosid	135–141 [– 15,1 ± 2]	–	+	–	gelb	C ₃₂ H ₄₈ O ₉	217 (4,16) [3611]
C	Mono-O-acetyl- acoschimperosid	239–241 [– 26,7 ± 2]	–	+	+	bläulich	C ₃₄ H ₅₀ O ₁₁	215 (4,21) [3612]
D	Vallarosid	122–124 [– 46,5 ± 2]	–	+	–	gelb	C ₃₀ H ₄₆ O ₈	217 (4,16) [3712]
E	Vallarosolanosid	230–236 [– 51,8 ± 2]	–	+	+	bläulich	C ₃₂ H ₄₈ O ₁₀	215 (4,20) [3711]
F	Solanosid	219–221 [– 20,7 ± 2]	–	+	–	gelb	C ₃₀ H ₄₆ O ₈	216 (4,15) [3710]
G	Acoschimperosid P [19]	275–279 [– 35,6 ± 2]	–	+	+	bläulich	C ₃₂ H ₄₈ O ₁₀	216 (4,10) [3728]
H	16-Desacetyl- 16-anhydro- acoschimperosid P	251–254 [+ 35,0 ± 2]	–	+	++	+stark blau	C ₃₀ H ₄₄ O ₈	226 (3,68) Sch 269 (4,30) [3709]

Die Glykoside sind in ihrem Bau sehr ähnlich (vgl. Tab. 2, letzte Spalte). Das bedingte gewisse Schwierigkeiten bei der Trennung, da sich die Laufstrecken der acht Substanzen bei der Papier- und Dünnschichtchromatographie in den meisten der verwendeten Systeme nicht oder nicht genügend scharf voneinander unterschieden. Die positive Fluoreszenzprobe des Ae-Extraktes mit 84-proz. H₃PO₄ liess auf die Anwesenheit von in 16-Stellung substituierten Cardenoliden schliessen. Eine Reinigung des rohen Extraktes unter gleichzeitiger Vortrennung durch Chromatographie an Al₂O₃ war daher nicht möglich, da dabei die 16-OH- und 16-OAc-Substituenten leicht abgespalten werden [19] [27]. Obschon nachträglich auch Systeme gefunden werden konnten, die eine Trennung der acht Substanzen durch Verteilungschromatographie an Hyflo sehr wahrscheinlich erlaubt hätten (vgl. Fig. 7 und 8), ist die Methode nach DUNCAN [17] vorzuziehen. Man erhält, besonders beim Vorliegen von wenig polaren Verbindungen, in kurzer Zeit (2–5 Tage) reine Substanzen, ohne dass nennenswerte Mischfraktionen auftreten. Zudem fällt das bei Verteilungschromatographien mit Formamid als stationärer Phase notwendige mühsame Aufarbeiten der Fraktionen dahin.

Tabelle 4. *Farbreaktion mit 96-proz. H₂SO₄* [26]

Zeit	Substanz A	Substanz B	Substanz C	Substanz D
1 Sek.	blassgelb	blassgelb	zitronengelb	farblos
1 Min.	zitronengelb	hellgelb	dunkelgelb	hellgelb
5 Min.	zitronengelb	hellgelb	gelborange	zitronengelb
10 Min.	zitronengelb	hellgelb	orange	zitronengelb
15 Min.	braungelb	hellgelb	orange	gelb, Rand violett
30 Min.	braungelb	gelbbraun	orange	gelb, Rand violett
1 Std.	braungelb	braun	orange	braunviolett
3 Std.	braungelb	violett	braun	violett
5 Std.	braunviolett	braunviolett	braun	violett
24 Std.	violett	braunviolett	braun	violettbraun

Zeit	Substanz E	Substanz F	Substanz H
1 Sek.	rotorange	blassgelb	dunkelgelb
1 Min.	orange	gelbbraun	dunkelgelb
5 Min.	orange	gelbbraun	dunkelgelb
10 Min.	orange	braun, Rand violett	braungelb
15 Min.	orange	braun, Rand violett	gelborange
30 Min.	orange	braun, Rand violett	gelborange
1 Std.	orange	violett	orange
3 Std.	braunorange	violett	orange
5 Std.	violettbraun	violett	braun
24 Std.	violettbraun	braunviolett	graubraun

Tabelle 5. *Farbreaktionen mit 84-proz. H₂SO₄* [26]

Zeit	Substanz A	Substanz B	Substanz C	Substanz D
1 Sek.	farblos	farblos	hellgelb	farblos
1 Min.	blassgelb	farblos	gelb	blasshellgelb
5 Min.	schwach braungelb	blassgelb	dunkelgelb	hellgelb
10 Min.	braungelb	blassgelb	dunkelgelb	braungelb
15 Min.	braungelb	blassgelb	hellorange	braungelb
30 Min.	blassbraun	blassbraun	hellorange	blassviolett
1 Std.	braunviolett	graugrün	hellorange	blassviolett
3 Std.	braunviolett	graugrün	beige	violett
5 Std.	braunviolett	grau	hellbraun	violett
24 Std.	violett	graubraun	braun	blassbraun

Zeit	Substanz E	Substanz F	Substanz H
1 Sek.	dunkelgelb	farblos	blassgelb
1 Min.	gelborange	blassgelb	dunkelgelb
5 Min.	orange	blassgelb	dunkelgelb
10 Min.	orange	blassgelb	gelborange
15 Min.	orange	blassgelb	orange
30 Min.	orange	gelb, Rand violett	orange
1 Std.	orange	blassviolett	braun
3 Std.	graubraun	grauviolett	graubraun
5 Std.	graubraun	grauviolett	braun
24 Std.	braun	blassbraun	violettbraun

¹¹⁾ Ab 1965 wird in den Helvetica Chimica Acta statt der bisher gebräuchlichen Bezeichnung $m\mu$ die von der IUPAC empfohlene Bezeichnung nm (= Nanometer) verwendet.

¹²⁾ $\log \epsilon$ berechnet auf die angegebenen Bruttoformeln.

¹³⁾ Sch = Schulter.

Tabelle 6. *Ergebnisse der biologischen Prüfung*¹⁰⁾

Substanz	besteht aus ⁶⁾		Zahl der verwendeten Tiere	Geometrisches Mittel der letalen Dosis in mg/kg Katze
	Genin	Zucker		
A = Mono-O-acetyl-vallarosid	Digen	Val(ac)	10	0,3138 ± 0,0230
B = Mono-O-acetyl-solanosid	Digen	Aco(ac)	10	0,3169 ± 0,0122
C = Mono-O-acetyl- acoschimperosid P	Olgen	Aco(ac)	10	0,3017 ± 0,0231
D = Vallarosid	Digen	Val	10	0,1707 ± 0,0068
E = Vallarosolanosid	Olgen	Val	2	0,3295 ± 0,0033
F = Solanosid	Digen	Aco	10	0,1754 ± 0,0089
G = Acoschimperosid P	Olgen	Aco	10	0,2695 ± 0,0098 [19]
H = 16-Desacetyl-16- anhydroacoschimperosid P	Angen	Aco	2	> 2,88; > 3,56 ¹⁴⁾

Wir danken dem SCHWEIZERISCHEN NATIONALFONDS ZUR FÖRDERUNG DER WISSENSCHAFTLICHEN FORSCHUNG für einen Beitrag an die Kosten dieser Arbeit.

Experimenteller Teil

Alle Smp. wurden auf dem KOFLER-Block bestimmt und sind korrigiert. Fehlergrenze in benutzter Ausführungsform bis 200°C ca. ± 2°, darüber ± 3°. Zur Drehung und für die Spektren wurden die Substanzen bis zur Gewichtskonstanz (ca. 48 Std.) bei ca. 750 Torr und 20° über CaCl₂ getrocknet. Der bei der Analyse durch scharfe Trocknung über P₂O₅ bei 100° und 0,01 Torr hierauf bestimmte Gewichtsverlust wurde als Wasser gerechnet. Zur Adsorptionschromatographie wurde Kieselgel «MERCK», Korngrösse 0,05–0,2 mm, zur Dünnschichtchromatographie Kieselgel G «MERCK» verwendet. Übliche Aufarbeitung bedeutet: Aufnehmen in Ae-Chf-(3:1), Waschen mit 2N HCl, 2N Sodalösung und W, Trocknen über Na₂SO₄ und Eindampfen.

Es werden folgende *Abkürzungen* verwendet: AcOH = Eisessig, Ac₂O = Acetanhydrid, Ae = Diäthyläther, Alk = Äthanol, An = Aceton, Be = Benzol, Bu = *n*-Butanol, Buac = *n*-Butylacetat, Chf = Chloroform, Cy = Cyclohexan, Eg = Essigester, Fmd = Formamid, Me = Methanol, Mek = Methyläthylketon, MFmd = *n*-Methylformamid, Pe = Petroläther, Pn = Pentan, iPr = Isopropanol, Py = Pyridin, To = Toluol, W = Wasser; ferner: Dchr = Dünnschichtchromatogramm, Dünnschichtchromatographie, Pchr = Papierchromatogramm, Papierchromatographie, ML = eingedampfte Mutterlauge, Fr = Fraktion(en), F., Smp. = Schmelzpunkt.

8. Extraktion und Vortrennung der Extrakte. – 8.1. *Vorversuche mit und ohne Fermentierung.* 20 g Samen wurden in einer Kaffeemühle fein gemahlen. Zehnmaliges Extrahieren mit je 50 ml Pe bei 30° lieferte 4,2 g eines klaren, honigfarbenen Öls. Das restliche Samenpulver, 15,8 g, war ausserordentlich stark bitter und wurde zur weiteren Verarbeitung in zwei gleich grosse Proben aufgeteilt.

Die erste Portion (7,9 g) wurde sofort erschöpfend mit wässrigem Alk extrahiert, und zwar je zweimal mit je 50 ml 50-proz., 60-proz., 80-proz. und 96-proz. Alk. Der letzte Extrakt war KEDDENEGATIV. Die vereinigten Extrakte wurden im Vakuum bei 40–50° auf ca. 30 ml eingengt und wie folgt extrahiert: zweimal mit je 40 ml Ae und je 6mal mit je 40 ml Chf und Chf-Alk-(2:1). Über die Ergebnisse orientiert Tab. 1.

Die zweite Portion (7,9 g) wurde mit 25 ml W und 5 ml Chf bei Zimmertemperatur unter CO₂ für eine Woche zum Fermentieren angesetzt. Nach der Fermentierung wurde dieses Material genau wie oben beschrieben weiter behandelt. Über die Ergebnisse orientiert ebenfalls Tab. 1.

8.2. Hauptversuch. Für den Hauptversuch standen 400 g Samen zur Verfügung. Diese wurden in einer Kaffeemühle sehr fein gemahlen und zur Entfernung allen petrolätherlöslichen Materials 8mal mit je 500 ml Pe bei Zimmertemperatur während 30 Min. extrahiert. So konnten 104,7 g

¹⁴⁾ Diese zwei Tiere, die 2,88 bzw. 3,56 mg/kg erhalten hatten, überlebten. Auch die Prüfung von Substanz H an Fröschen zeigte negative Resultate.

Pe-Extrakt abgetrennt werden, der KEDDE-negativ war und nicht weiter untersucht wurde. Das entfettete Samenpulver befreite man im Vakuum weitgehend vom Pe. Zum Fermentieren wurden 1 l W und 0,2 l Chf zugesetzt und das Gemisch unter CO_2 bei Zimmertemperatur und gelegentlichem Schütteln während einer Woche im Dunkeln stehengelassen. Die anschliessende Extraktion mit wässrigem Alkohol wurde wie folgt ausgeführt: Einmal mit 2 l 50-proz. Alk (durch Hinzufügen von 1 l Alk zum Fermentationsansatz), dann je 2mal mit je 1 l 50-proz., 60-proz., 80-proz. und 96-proz. Alk. Der letzte Extrakt enthielt praktisch keine KEDDE-positiven Substanzen mehr. Alle Extrakte wurden vereinigt und bis zur weiteren Verarbeitung unter CO_2 bei 0° im Kühlraum aufbewahrt. Nach sorgfältigem Einengen im Durchlauferhitzer betrug das Volumen des wässrigen Rohextraktes noch ca. 400 ml. Zur Entfernung der letzten Reste von petrolätherlöslichen Bestandteilen wurde der Rohextrakt mit 600 ml Alk verdünnt und noch dreimal mit je 500 ml Pe extrahiert. Die dreimal mit 70-proz. Alk gewaschenen Pe-Extrakte lieferten nach Trocknen über Na_2SO_4 und Eindampfen nochmals 5,4 g Pe-Extrakt, der mit der ersten Portion vereinigt wurde (ergibt total 110,1 g Pe-Extrakt).

Der im Vakuum wieder vom Alk befreite Rohextrakt wurde nun nacheinander 7mal mit je 500 ml Ae, 4mal mit je 500 ml Chf und 5mal mit je 500 ml Chf-Alk-(2:1) extrahiert. Alle Extrakte wurden hintereinander mit je 50 ml W, 2N Sodalösung und zweimal W gewaschen. Das pH der beiden letzten Waschwasser wurde immer kontrolliert und bei Bedarf mit 2N H_2SO_4 wieder auf pH 6-7 eingestellt. Die Extrakte wurden über Na_2SO_4 getrocknet und eingedampft. Das Resultat ist aus Tab. 1 ersichtlich. Der übriggebliebene wässrige Rohextrakt enthielt keine weiteren KEDDE-positiven Substanzen mehr, so dass auf eine Extraktion mit Chf-Alk-(3:2) verzichtet werden konnte.

9. Präparative Trennungen. – 9.1. *Gruppentrennung des Ae-Extraktes.* Nach einem befriedigend verlaufenen Vorversuch mit 1 g Ae-Extrakt wurden 13,0 g Ae-Extrakt an 500 g Kieselgel chromatographiert. Es wurden Fraktionen von je 1 l genommen. Über den Verlauf dieser Chromatographie orientiert Tab. 7.

9.2. *Trennung von 1 g Fr 8-11 durch Chromatographie an Kieselgel nach DUNCAN [17].* Das verwendete Chromatographierohr hatte einen inneren Durchmesser von 4,5 cm. Als Lösungsmittel wurde Mek-Cy-(1:1) verwendet (vgl. Fig. 9). 800 g Kieselgel wurden in kleinen Portionen mit dem Lösungsmittel angeteigt und in die mit Lösungsmittel gefüllte Säule gegeben. Eine gleichmässige Füllung erreichte man durch leichtes Anpressen des Säulenmaterials mit einem MARTIN-Packer von 4 cm Durchmesser. Die Nutzhöhe der Säule betrug 78 cm. Bei einer Tropfgeschwindigkeit von 36 Tropfen pro Minute ergaben sich Fraktionen von ca. 25 ml pro 30 Min. Über den Verlauf dieser Trennung orientiert Tabelle 8.

Tabelle 7. *Chromatographie von 13,0 g Ae-Extrakt an 500 g Kieselgel*

Fr- Nummer	Lösungsmittel	Eindampfrückstand		Weitere Verarbeitung
		Menge in mg	Flecke im Dchr	
1-3	Be-Chf-(1:4)	646	V_1	–
4-5	Chf	607	V_1, V_2	–
6	Chf	486	$(V_1), (V_2), A, B$	} Trennung durch Chromatographie an Kieselgel nach DUNCAN [17] vgl. Tabelle 8 und 9
7	Chf-Me-(99:1)	70	$(V_2), A, B, C$	
8-10	Chf-Me-(99:1)	4056	$(A), B, C$	
11	Chf-Me-(98:2)	458	B, C	} Trennung durch Chromatographie an Kieselgel nach DUNCAN [17] vgl. Tabelle 10
12	Chf-Me-(98:2)	265	B, C, (D), (E), (F)	
13-14	Chf-Me-(98:2)	581	D, E, F	
15	Chf-Me-(95:5)	1460	D, E, F	
16	Chf-Me-(95:5)	4191	D, E, F, G, H	
17-18	Chf-Me-(95:5)	687	F, G, H	
19	Chf-Me-(9:1)	52	F, G, H	–
20-21	Chf-Me-(1:1)	237	(F), (G), (H)	–
22	Chf-Me-(1:3)	34	–	–
Total eluiert		13830		

9.3. *Trennung von 0,52 g Fr 6-7 und 1,85 g Fr 8-11 von Tabelle 7 durch Chromatographie an Kieselgel nach DUNCAN.* Die Säule von 9.2 wurde unverändert nochmals verwendet. Das gute Ergebnis der ersten Trennung erlaubte es, das Verhältnis zwischen zu trennendem Material und Adsorbens von 1:800 auf ca. 1:350 herabzusetzen. Da das für die erste Trennung verwendete Material Fr 8-11 fast kein A enthält, wurden diesmal die Fr 6-7, die den grössten Teil der Substanz A enthalten, mitchromatographiert. Das Resultat dieser Trennung ist aus Tabelle 9 ersichtlich. Durch die Verwendung der stark A-haltigen Fr 6-7 von Tabelle 7 für diese Trennung wurde auch ziemlich viel von der KEDDE-negativen Substanz V_2 auf die Säule gebracht. Da sich dieser Stoff hier ganz anders verhielt als im Dchr, erschien er in praktisch allen Fraktionen als geringfügige Verunreinigung. Diese liess sich beim Kristallisieren jeweils leicht entfernen, da sich V_2 , im Gegensatz zu den Glykosiden A, B und C, in An schlecht löst.

Tabelle 8. *Trennung von 1 g Fr 8-11 von Tabelle 7 an 800 g Kieselgel nach DUNCAN*
Lösungsmittel: Mek-Cy-(1:1), Fraktionen von 25 ml pro 30 Min

Fr-Nummer	Menge in mg	Flocke im Dchr	mg Kristalle	Smp. in °C
1-40	16	—	—	—
41-52	19	V_2	—	—
53-80	15	—	—	—
81-91	24	A	7,5	185-190
92-98	14	—	—	—
99-107	388	B	310	132-136
108-116	59	B	30	130-135
117-123	222	C	104	236-240
124-126	62	C	47	235-240
127-133	70	C	49	232-238
134-139	19	C	—	—
140-180	62	(C)	—	—
Total eluiert	970			

9.4. *Trennung von 0,3 g Fr 14 und 1,65 g Fr 16 von Tabelle 7 durch Chromatographie an Kieselgel nach DUNCAN.* Für die Trennung der Substanzen D, E, F, G und H mit Mek-Cy-(3:2) als Lösungsmittel (vgl. Fig. 10) wurde, wie unter 9.2 beschrieben, eine neue Säule mit 820 g Kieselgel präpariert. Die Nutzhöhe betrug hier 82 cm. Bei einer Tropfgeschwindigkeit von 20 Tropfen pro Minute wurden Fraktionen von ca. 35 ml in 75 Min. erhalten. Ab Fraktion 224 wurde zur Beschleunigung reines Mek als Lösungsmittel verwendet. Dabei erhöhte sich die Tropfgeschwindigkeit etwas, so dass nun Fraktionen von 35 ml in 60 Min. erhalten wurden. Über den Verlauf dieser Trennung orientiert Tabelle 10.

9.5. *Trennung des Chloroformextraktes.* 805 mg Chf-Extrakt wurden an 50 g Kieselgel in der gleichen Weise chromatographiert wie der Ae-Extrakt in Tab. 7. Es wurden Fraktionen von 100 ml genommen. Über das Resultat dieser Vortrennung orientiert Tabelle 11. Auf eine weitere Aufarbeitung der Gemische, die aus weiter oben schon isolierten Glykosiden bestehen, wurde verzichtet. Die Substanz J konnte bis jetzt noch nicht in kristalliner Form erhalten werden.

9.6. *Fermentierungsversuch.* 50 mg Material aus den Fr 21-25 von Tabelle 11 wurden mit 50 mg Schneckenferment und 5 ml einer aus 6 Teilen 0,1N Natriumacetatlösung und 1 Teil 0,1N AcOH bestehenden Pufferlösung bei 35° zur Fermentierung angesetzt. Die Kontrolle im Pchr nach 2 Tagen (System Be-Chf-(7:5)/Fmd) ergab, dass der grösste Teil des Materials unverändert geblieben war, dass daneben aber eine kleine Menge der Substanzgruppe A-C entstanden war.

Zur Aufarbeitung wurde mit abs. EtOH versetzt, aufgekocht und über ein mit Celite 535 belegtes Filter abgenutscht. Das stark eingeeengte Filtrat wurde mit Chf extrahiert. Die mit 2N Sodalösung und W gewaschenen, über Na_2SO_4 getrockneten und eingedampften Extrakte lieferten 32 mg Material, das nicht weiter untersucht wurde.

9.7. *Isolierung von Substanz J.* 87 mg Material aus den Fr 21-25 von Tabelle 11 wurden an 4 g Kieselgel chromatographiert. Mit Chf-Me-(95:5) liessen sich dabei 42 mg J isolieren, das nach Pchr (Systeme Bu/W, To-Bu-(1:1)/W und To-Bu-(9:1)/W, vgl. Fig. 8) und Dchr (in Eg und Eg-

Tabelle 9. *Trennung von 0,52 g Fr 6–7 und 1,85 g Fr 8–11 von Tabelle 7 an 800 g Kieselgel nach DUNCAN*
Lösungsmittel: Mek-Cy-(1:1), Fraktionen von 25 ml pro 30 Min.

Fr-Nummer	Menge in mg	Flecke im Dchr	mg Kristalle	Smp. in °C
1–21	–	–	–	–
22–36	129	–	–	–
37–41	31	V ₁	–	–
42–46	57	V ₂	–	–
47–53	450	(V ₂), A	132	196–199
54–69	1095	(V ₂), B	435	131–135
70	27	(V ₂), B, C	–	–
71–90	525	(V ₂), C	256	235–239
91–104	26	(V ₂), (C)	–	–
Total eluiert	2340			

Tabelle 10. *Trennung von 0,3 g Fr 14 und 1,65 g Fr 16 von Tabelle 7 an 820 g Kieselgel nach DUNCAN*

Fr-Nummer	Lösungsmittel	Menge in mg	Flecke im Dchr	mg Kristalle	Smp. in °C
1–90		–	–	–	–
91–109		247	D	187	118–122
110–120		51	E	26	226–231
121–130	Mek-Cy-(3:2)	19	(E), (F)	–	–
131–151		570	F	380	213–216
152–188		316	F, (H) Spur	–	–
189–197		49	F, (H)	–	–
198–223		123	(F), G, (H)	–	–
224–258	Mek	164	G, (H)	28	243–246
259–278		236	H	145	247–251
279–295		56	(H)	–	–
296–300		7	–	–	–
Total eluiert		1838			

Tabelle 11. *Chromatographie von 805 mg Chloroformextrakt an 50 g Kieselgel*

Fr-Nummer	Lösungsmittel	Eindampfrückstand Menge in mg	Flecke im Dchr
1–3	Be-Chf-(1:4)	64	–
4	Be-Chf-(1:4)	61	V ₁ , V ₂
5–6	Chf	58	
7–8	Chf	26	(V ₁), V ₂ , A, B, C
9–13	Chf-Me-(99:1)	87	
14–16	Chf-Me-(98:2)	36	
17–18	Chf-Me-(95:5)	44	
19–20	Chf-Me-(95:5)	46	D, (E), F, (G), H
21–25	Chf-Me-(9:1)	152	F, (G), H
26–28	Chf-Me-(3:1)	53	J
29–32	Chf-Me-(1:1)	46	(J)
Total eluiert		673	–

iPr-Me-(70:15:15)) einheitlich war und bis jetzt nicht kristallisierte. Das restliche hier eluierte Material zeigte weder im Pchr noch im Dchr Flecke und wurde nicht weiter untersucht.

10. Beschreibung der in Kristallen isolierten Stoffe. – Farbreaktionen mit H_2SO_4 vgl. Tabelle 4 und 5. Angaben über UV.-Spektr. vgl. Tabelle 3. IR.-Spektr. vgl. Fig. 11–18.

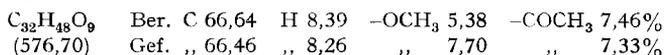
Substanz A (= *Mono-O-acetyl-vallarosid*). Aus den Fr 81–91 von Tabelle 8 und 47–53 von Tabelle 9 erhielt man total 139,5 mg Kristalle. Wiederholtes Umkristallisieren aus An-Pn lieferte 122 mg kurze, prismatische Nadeln vom Smp. 196–199°, $[\alpha]_D^{27} = -38,2^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 1,0$ in Me). Trocknung zur Analyse (5 Std. bei 0,01 Torr und 100° über P_2O_5) gab 3,4% Gewichtsverlust. $\text{C}_{32}\text{H}_{48}\text{O}_9 + \text{H}_2\text{O}$ (594,72) Ber. H_2O 3,04%.



A enthält auf Grund des IR.-Absorptionsspektrums Acetylgruppen (Bande bei 8,12 μ in Fig. 11).

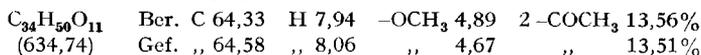
O-Acetyl-A. 10 mg A vom Smp. 196–199° wurden mit 0,25 ml Ac_2O und 0,4 ml abs. Py bei 20° zur Acetylierung angesetzt. Übliche Aufarbeitung nach 24 Std. lieferte 10 mg O-Acetyl-A, das nicht kristallisierte. O-Acetyl-A zeigte im Pchr (Be-Cy-(1:1)/MFmd) und Dchr (Mek-Cy-(1:1)) dieselben Laufstrecken wie O-Acetyl-D.

Substanz B (= *Mono-O-acetyl-solanosid*). Aus den Fr 99–116 von Tabelle 8 und Fr 54–69 von Tabelle 9 erhielt man total 775 mg Kristalle. Umkristallisieren aus An-Ae lieferte 597 mg Kristalle, kleine kurze Prismen vom Smp. 135–141°, $[\alpha]_D^{24} = -15,1^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 1,03$ in Me). Trocknung zur Analyse (17 Std. bei 0,01 Torr und 100° über P_2O_5) gab 6,1% Gewichtsverlust. $\text{C}_{32}\text{H}_{48}\text{O}_9 + 2 \text{H}_2\text{O}$ (612,73) Ber. $2 \text{H}_2\text{O}$ 5,9%.



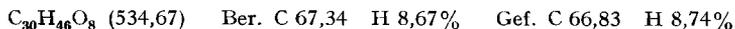
O-Acetyl-B. 3 mg B vom Smp. 135–141° wurden mit 0,1 ml Ac_2O und 0,1 ml abs. Py bei 38° zur Acetylierung angesetzt. Übliche Aufarbeitung nach 48 Std. lieferte 3 mg O-Acetyl-B, das nicht kristallisierte. O-Acetyl-B zeigte im Pchr (Be-Cy-(1:1)/MFmd) und Dchr (Mek-Cy-(1:1)) dieselben Laufstrecken wie O-Acetyl-F.

Substanz C (= *Mono-O-acetyl-acoschimperosid P*). Aus den Fr 117–133 von Tabelle 8 und Fr 71–90 von Tabelle 9 wurden total 456 mg Kristalle gewonnen. Umkristallisieren aus An-Pn lieferte 347 mg sehr feine farblose Körner vom Smp. 239–241°, $[\alpha]_D^{23} = -26,7^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 1,16$ in Me). Trocknung zur Analyse (12 Std. bei 0,01 Torr und 100° über P_2O_5) gab 1,3% Gewichtsverlust. $\text{C}_{34}\text{H}_{50}\text{O}_{11} + \frac{1}{2} \text{H}_2\text{O}$ (643,75) Ber. $\frac{1}{2} \text{H}_2\text{O}$ 1,4%.



O-Acetyl-C. 20 mg C vom Smp. 239–241° wurden mit 0,5 ml Ac_2O und 0,7 ml abs. Py bei 20° zur Acetylierung angesetzt. Übliche Aufarbeitung nach 24 Std. lieferte 19 mg O-Acetyl-C, das nicht kristallisierte. O-Acetyl-C zeigt im Pchr (Be-Cy-(1:1)/MFmd) und Dchr (Mek-Cy-(1:1)) dieselben Laufstrecken wie O-Acetyl-G und authentisches O-Acetyl-Asoschimperosid P.

Substanz D (= *Vallarosid*). Aus den Fr 91–109 von Tabelle 10 wurden 187 mg Kristalle erhalten. Nach dem Umkristallisieren aus Me-Ae zeigten die erhaltenen 155 mg Kristalle, feine Nadeln, einen Smp. 122–124°, $[\alpha]_D^{24} = -46,5^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 0,91$ in Me). Trocknung zur Analyse (27 Std. bei 0,01 Torr und 100° über P_2O_5) gab 7,1% Gewichtsverlust. $\text{C}_{30}\text{H}_{46}\text{O}_8 + 2 \text{H}_2\text{O}$ (570,70) Ber. $2 \text{H}_2\text{O}$ 6,3%.



O-Acetyl-D. 3 mg D vom Smp. 122–124° wurden mit 0,1 ml Ac_2O und 0,1 ml abs. Py zur Acetylierung angesetzt. Übliche Aufarbeitung nach 24 Std. lieferte 3 mg O-Acetyl-D, das nicht kristallisierte. O-Acetyl-D zeigt im Pchr und Dchr dieselben Laufstrecken wie O-Acetyl-A (vgl. oben).

Substanz E (= *Vallarosolanosid*). Aus den Fr 110–120 von Tabelle 10 wurden 51 mg Kristalle erhalten. Umkristallisieren aus An-Ae lieferte 16 mg Kristalle, kleine farblose Körner vom Smp. 230–236°, $[\alpha]_D^{24} = -51,8^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 0,99$ in Me). Wegen der geringen zur Verfügung stehenden Substanzmenge wurde in diesem Fall auf die Durchführung von Mikroanalysen verzichtet. Die

Bande bei 8,08 μ im IR.-Absorptionsspektrum von Substanz E (vgl. Fig. 15) lässt auf die Anwesenheit einer Acetylgruppe schliessen.

Substanz F (= Solanosid). Aus den Fr 131–151 von Tabelle 10 konnten 380 mg Kristalle erhalten werden. Dieses Material lieferte nach dem Umkristallisieren aus An-Ae 322 mg Kristalle, sehr feine Nadeln vom Smp. 219–221°, $[\alpha]_D^{24} = -20,7^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 0,96$ in Me). Trocknung zur Analyse (5 Std. bei 0,01 Torr und 100° über P_2O_5) gab 3,2% Gewichtsverlust. $C_{30}H_{46}O_8 + H_2O$ (552,69) Ber. H_2O 3,25%.

$C_{30}H_{46}O_8$ (534,67) Ber. C 67,34 H 8,67% Gef. C 66,76 H 8,70%

F ist acetylfrei, im IR.-Absorptionsspektrum (vgl. Fig. 16) fehlt die Bande bei ca. 8,1 μ .

O-Acetyl-F. 20 mg F vom Smp. 219–221° wurden mit 0,5 ml Ac_2O und 0,7 ml abs. Py bei 38° zur Acetylierung angesetzt. Übliche Aufarbeitung nach 48 Std. lieferte 24 mg O-Acetyl-F, das nicht kristallisierte. O-Acetyl-F zeigt im Pchr und Dchr dieselben Laufstrecken wie O-Acetyl-B (vgl. oben).

Substanz G (= Acoschimperosid P). Aus den Fr 198–223 von Tabelle 10 konnten 123 mg mit F und H verunreinigte Rohkristalle gewonnen werden. Nochmaliges Umkristallisieren aus An-Ae lieferte schliesslich reines G. Da diese Substanz aber ziemlich schlecht kristallisiert, betrug die Ausbeute nur 28 mg, farblose kleine Körner vom Smp. 265–269°, $[\alpha]_D^{24} = -34,1^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 1,02$ in Me). – Die Identität von G mit Acoschimperosid P wurde durch Smp., Mischprobe, Drehung, Farbreaktionen mit H_2SO_4 , Vergleich der IR.-Spektren (vgl. Fig. 17) und der Laufstrecken von freiem G und O-Acetyl-G im Pchr und Dchr bewiesen.

O-Acetyl-G. 20 mg G-Mutterlauge wurden mit 0,5 ml Ac_2O und 0,7 ml abs. Py bei 20° zur Acetylierung angesetzt. Übliche Aufarbeitung nach 24 Std. lieferte 18 mg O-Acetyl-G, das nicht kristallisierte. O-Acetyl-G zeigt im Pchr und Dchr dieselben Laufstrecken wie O-Acetyl-C (vgl. oben) und authentisches O-Acetyl-acoschimperosid P.

Substanz H (= 16-Desacetyl-16-anhydroacoschimperosid P). Aus den Fr 259–278 von Tabelle 10 wurden 236 mg Kristalle erhalten. Umkristallisieren aus Me-Ae lieferte 126 mg Kristalle, sehr feine Nadeln vom Smp. 251–254°, $[\alpha]_D^{24} = +35,0^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 1,02$ in Me). Trocknung zur Analyse (5 Std. bei 0,01 Torr und 100° über P_2O_5) gab keinen Gewichtsverlust.

$C_{30}H_{44}O_8$ (532,65) Ber. C 67,64 H 8,33% Gef. C 67,68 H 8,24%

Substanz J. Die aus den Fr 21–25 von Tabelle 11 durch eine weitere Chromatographie (vgl. Abschnitt 9.7) erhaltene Substanz J kristallisierte bis jetzt nicht. Mit KEDDE-Reagens gibt J eine Färbung, die viel stärker rotstichig und intensiver ist als der normale Farbton. Die Fluoreszenzprobe mit H_3PO_4 [24] ist positiv, im JENSEN-Test [25] liess sich eine starke blaue Fluoreszenz beobachten. Da der Xanthhydroltest [20] negativ, der Zuckertest nach FEIGL [28] jedoch eindeutig positiv war, dürfte es sich bei J um ein Glykosid mit einem in 2-Stellung hydroxylierten Zucker handeln.

Im UV.-Spektrum sind drei Maxima zu beobachten. Aus demjenigen bei 217 nm ergibt sich bei $\log \epsilon = 4,21$ ein Molekulargewicht von ca. 575 für Substanz J. Auf Grund dieses Werts ergeben sich für die beiden anderen Maxima folgende Werte: $\lambda_{max} = 204$ nm ($\log \epsilon = 4,51$) und $\lambda_{max} = 277$ nm ($\log \epsilon = 3,52$). Das IR.-Spektrum lieferte ausser den für Butenolide charakteristischen Banden bei 5,63, 5,74 und 6,17 μ keine weiteren Informationen.

Da nur eine sehr kleine Menge amorphes J zur Verfügung steht, wurde die Struktur dieser Verbindung bisher nicht aufgeklärt.

Die Analysen wurden von Herrn E. THOMMEN im Mikrolabor des Instituts ausgeführt.

SUMMARY

The seeds of *Vallisneria spiralis* (L.) O.K. are very rich in cardiac glycosides. Eight KEDDE-positive substances have been detected through paper- and thinlayer-chromatography. All of them could be isolated in crystalline form. The yields varied between 0,03% and 0,9% with respect to the dry weight of the seeds.

One of the isolated compounds, substance G, was identified as acoschimperoside P. The other compounds, substances A (= mono-O-acetyl-vallaroside), B (= mono-O-

acetyl-solanoside), C (= mono-O-acetyl-acoschimperoside P), D (= vellaroside), E (= vellarosolanoside), F (= solanoside), and H (= 16-deacetyl-16-anhydro-acoschimperoside P) are new glycosides, the structures of which have been elucidated and will be reported in the following communication.

Institut für Organische Chemie der Universität Basel

LITERATURVERZEICHNIS

- [1] 262. Mitt.: U. MEYER *et al.*, *Helv.* **47**, 2330 (1964).
 - [2] M. PICHON, *Mém. Muséum national Hist. nat. Paris [B]* **7** (1), 59 (1950).
 - [3] N. G. BISSSET, *Ann. Bogorienses Vol. II/3*, 193 (1957).
 - [4] N. L. BOR & M. B. RAIZADA, *Some beautiful Indian Climbers and Shrubs*, p. 208, The Bombay Natural History Society, Bombay 1954.
 - [5] M. GRESHOFF, *Mededeelingen uit s'Lands plantentuin, Onderzoek naar de plantenstoffen van Nederlandsch Indie, XXV*, 122 (1898).
 - [6] W. G. BOORSMA, *Mededeelingen uit s'Lands plantentuin, Onderzoek naar de plantenstoffen van Nederlandsch Indie, LII*, 104 (1902).
 - [7] D. L. KEDDE, *Diss. Leiden* 1946; *Pharmac. Weekbl.* **82**, 741 (1947); Ausführung nach I. E. BUSH & D. A. H. TAYLOR, *Biochem. J.* **52**, 643 (1952).
 - [8] M. L. LEWBART, W. WEHRLI & T. REICHSTEIN, *Helv.* **46**, 505 (1963).
 - [9] P. VISHWA, H. RAJ & K. L. HANDA, *J. Sci. Ind. Res. (India)* **79c**, 155 (1960).
 - [10] K. S. JAMWAL, K. K. ANAND & I. C. CHOPRA, *J. Sci. Ind. Res. (India)* **20c**, 21 (1961).
 - [11] M. M. VOHRA & N. N. DE, *J. Sci. Ind. Res. (India)* **20c**, 161 (1961).
 - [12] E. ABISCH & T. REICHSTEIN, *Helv.* **45**, 1375 (1962).
 - [13] J. v. EUW, H. HESS, P. SPEISER & T. REICHSTEIN, *Helv.* **34**, 1821 (1951).
 - [14] V. R. MATTOX & M. L. LEWBART, *Arch. Biochem. Biophysics* **76**, 362 (1958).
 - [15] O. SCHINDLER & T. REICHSTEIN, *Helv.* **34**, 108 (1951); H. HEGEDÜS, CH. TAMM & T. REICHSTEIN, *Helv.* **36**, 357 (1953); E. SCHENKER, A. HUNGER & T. REICHSTEIN, *Helv.* **37**, 680 (1954); F. KAISER, *Chem. Ber.* **88**, 556 (1955).
 - [16] A. GAMP, P. STUDER, H. LINDE & K. MEYER, *Experientia* **78**, 292 (1962).
 - [17] G. R. DUNCAN, *J. Chromatography* **8**, 37 (1962).
 - [18] H. HUBER, F. BLINDENBACHER, K. MOHR, P. SPEISER & T. REICHSTEIN, *Helv.* **34**, 46 (1951).
 - [19] F. THUDIUM, O. SCHINDLER & T. REICHSTEIN, *Helv.* **42**, 1 (1959).
 - [20] V. ARREGUINE & P. E. PASQUALIS, *Rev. Univ. nac. Cordoba* **32**, 439 (1945); M. PESEZ, *Ann. pharmac. franç.* **70**, 104 (1952).
 - [21] S. M. PARTRIDGE, *Nature* **164**, 443 (1949).
 - [22] H. KILIANI, *Ber. deutsch. chem. Ges.* **63**, 2866 (1930); Ausführung nach [23].
 - [23] P. R. O. BALLY, K. MOHR & T. REICHSTEIN, *Helv.* **34**, 1740 (1951).
 - [24] A. PETIT, M. PESEZ, P. BELLET & G. AMIARD, *Bull. Soc. chim. France* [5] **77**, 288 (1950); P. BELLET, *Ann. pharmac. franç.* **8**, 471 (1950).
 - [25] K. B. JENSEN, *Acta pharmacol. toxicol.* **9**, 99 (1953); *Chem. Abstr.* **48**, 2322b (1954).
 - [26] J. v. EUW & T. REICHSTEIN, *Helv.* **37**, 883 (1948).
 - [27] K. MEYER, *Helv.* **29**, 718 (1946); A. HUNGER & T. REICHSTEIN, *Helv.* **33**, 76 (1950).
 - [28] F. FEIGL, *Spot tests, Vol. II, Organic applications*, p. 289, 4. Aufl., Elsevier Publishing Co., Amsterdam 1954.
-