

## ALKALOIDY VO *VERATRUM ALBUM LOBELIANUM* (I) IZOLÁCIA A ODDEĽOVANIE

J. TOMKO, B. DVOŘÁKOVÁ, Š. BAUER, J. MOKRÝ

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

Hoci výskyt alkaloidov v kýchavici (*Veratrum*) je známy viac ako 100 rokov, venovala sa ich izolácii zvýšená pozornosť až v posledných rokoch. Popudom k tomu bolo pozorovanie ich hypotenzívneho účinku, čo malo za následok podrobnejšie štúdium ich izolácie, výskytu, objasnenia a riešenia chemickej štruktúry.

Prvé pokusy o izoláciu veratrových alkaloidov robili Pelletier a Caven-  
toux [1], ktorí pripravili zmes amorfných báz. V polovici minulého sto-  
ročia sa podarilo Simonovi [2] získať kryštalickú bázu, ktorú pomenoval  
jervín.

Prácami C. R. A. Wrighta a A. P. Luffa [3, 4] sa rozšíril počet kryšta-  
lických alkaloidov získaných z *Veratrum album*. Uvedení autori okrem jervínu  
izolovali aj pseudojervín a rubijervín. Koncom minulého storočia sa touto  
problematikou zaoberal aj Salzberger [5]. Po štvorročnej práci sa mu po-  
darilo okrem jervínu, pseudojervínu, rubijervínu a protoveratridínu pripraviť  
z *Veratrum album* aj protoveratrín ako najtoxickejší alkaloid. Analytickým  
stanovením alkaloidov vo *Veratrum album* sa zaoberal Bredeman [6].

Pred druhou svetovou vojnou sa podrobnému štúdiu veratrových alkaloidov  
v bavorskej kýchavici bielej venoval Poethke [7, 8]. Okrem dovtedy zná-  
mych alkamínov a niektorých esterov sa mu podarilo pripraviť i germerín  
a germín, čím rozšíril paletu alkaloidov dovtedy získaných z *Veratrum album*.  
Podobne japonskí autori K. Saito, H. Sugimoto a M. Takaoka [9, 10, 11]  
sa zaoberali izoláciou alkaloidov z *Veratrum* japonskej proveniencie. V kryšta-  
lickom stave však pripravili iba jervín a veratramín.

V literatúre sa vyskytujú početné práce W. A. Jacobsa, L. C. Craiga  
a Y. Satoa [12, 13, 14, 15], ktorí sa zaoberajú štúdiom izolácie a konštitúcie  
veratrových alkaloidov. V poslednom čase sa uvedenou problematikou zapo-  
dievajú Stoll a Seebeck [16, 17, 18], Kupchan [19], Klohs [20], Auter-  
hoff [21] a i.

Dosiaľ sa z *Veratrum album* rôzneho pôvodu pripravili:

1. esterové alkaloidy:

- a) odvodené od protoveratridínu, a to protoveratrín [5, 7, 12], ktorý sa ďalej  
rozdělil na protoveratrín A a protoveratrín B [16, 19, 22],
- b) estery odvodené od germínu, napr. protoveratridín [5, 7], germerín [7],  
germitetrín B [22] a neogermitrín [23],

c) veratrolyzgyadenín, ester zygadenínu a kyseliny veratrovej [17, 18], ktorá sa už predtým izolovala zo zmesi po hydrolyze esterových alkaloidov;

2. alkamíny, z ktorých sa pripravil jervín [8, 9], rubijervín [4, 13], izorubijervín [13], geralbín [23] a veratrobazín [17, 18];

3. glukoalkaloidy pseudojervín [4] a veratrozín [14].

V priebehu izolácie a oddeľovania alkaloidov sa staršie klasické metódy doplnili novšími šetrnejšími metódami, a to protiprúdovým roztrepávaním (craigovaním) [24, 25] a adsorpčnou chromatografiou [19]. Pri zisťovaní čistoty a identity látok sa uplatnila papierová chromatografia [22, 26].

Keďže obsah alkaloidov a ich zloženie vo *Veratrum album* rôznej proveniencie je odlišné podľa druhu pôdnych, klimatických a iných faktorov, venovali sme sa štúdiu obsahových látok vo *Veratrum album var. Lob.*, ktorá sa v značnej miere vyskytuje na východnom Slovensku v Čerhovskom pohorí. V práci opisujeme stanovenie obsahu alkaloidov v uvedenej droge, izoláciu jervínu a pseudojervínu.

## Experimentálna časť

### A. Analytické zhodnotenie

Analytické stanovenie obsahu alkaloidov sa urobilo podľa modifikovanej Bredemanovej metódy [6]. Rozomletá droga sa po napučaní 10 % amoniakom extrahovala zmesou chloroform — éter (1 : 1). Po extrakcii alkaloidov z organického rozpúšťadla 0,2 N-HCl sa tieto previedli 10 % amoniakom na bázy a opäť extrahovali zmesou chloroform — éter. Po oddestilovaní organického rozpúšťadla sa obsah alkaloidov stanovil vážkove.

V tab. 1 je porovnaný obsah alkaloidov v podzemnej časti rastliny (pakorene, korene a podzemné púčiky) čerhovskej kýchavice s bavorskou kýchavicou [7].

Tabuľka 1

časť rastliny	obsah alkaloidov vážkove v %	
	bavorská kýchavica biela	čerhovská kýchavica biela*
pakoreň	1,63	1,53
korene	1,38	1,51
podzemné púčiky	1,49	1,39

\* Priemer zo šiestich stanovení. Hodnoty sú prepočítané na bezvodú drogu.

### B. Izolačná časť

Všetky body topenia sú nekorigované. Vzorky pre analýzu sa 3 hodiny sušili nad  $P_2O_5$  pri teplote 112 °C a tlaku 2—3 mm Hg.

## Izolácia jervínu

Podzemná časť kýchavice, nazbieraná koncom augusta 1954, po usušení v tieni a rozomletí na kladivkovom mlyne sa extrahovala benzénom podľa Craiga a Jacobsa [12].

15 kg drogy sa pridalo do 50 l benzénu, 31,25 %  $\text{NH}_4\text{OH}$  a 3 l vody. Priebehom 8 hodín sa droga miešala s rozpúšťadlom v 100 l smaltovanom kotlíku a po 12 hodinách sa odfiltrovala. Odfiltrovaná droga sa tým istým spôsobom znovu extrahovala ďalšími 25 l benzénu. Extrakcia drogy benzénom sa za tých istých podmienok urobila ešte tretí raz. Odfiltrovaná droga sa odložila na extrakciu pseudojervínu etanolom. Spojený benzénový extrakt sa viackrát premyl vodou, až kým nebola neutrálna. Vypraný oddelený benzénový extrakt sa vákuove (pri tlaku 12—14 mm Hg) zahustil asi na 1/10 pôvodného objemu (ca 10 l). Zahustený benzénový extrakt sa vytrepal 2 × 2 l a 5 × 1 l 5 % kyseliny octovej. Emulzie, ktoré vznikajú v priebehu extrakcie, rozdelili sa na Sharplesovej centrifúge. Posledný extrakt už nereagoval pozitívne s Mayerovým činidlom. Spojené extrakty kyseliny octovej sa ochladili na 5 °C a zalkalizovali 25 %-ným  $\text{NH}_4\text{OH}$  na pH 8—9, pričom teplota neprestúpila 10 °C. Zalkalizovaný roztok sa viackrát extrahoval benzénom, kým alkaloidy neprešli do organického rozpúšťadla. Nato sa benzénový extrakt premyl destilovanou vodou do neutrálnej reakcie a vákuove sa zahustil na vodnom kúpeli pri teplote 50—60 °C do sucha. Látka sa vysušila vo vákuu vodnej pumpy pri teplote 90 °C. Získané alkaloidy (70—80 g) sú zmesou alkamínov a esterov prítomných vo *Veratrum album*. K týmto sa pridalo 500 ml suchého éteru, pričom sa časť alkaloidov rozpustila. Nerozpustná časť, ca 20 g (A), sa odfiltrovala. Alkaloidy rozpustné v éteri sa extrahovali 10 × 50 ml 0,2 N-HCl, pričom sa na rozhraní vylúčila nerozpustná časť 9 g (B), ktorá obsahovala prevažne jervínhydrochlorid.

5 g alkaloidov nerozpustných v éteri (A) sa za tepla rozpustilo v 100 ml metanolu. Po filtrácii a ochladení roztoku vykryštalovala látka o b. t. 232—235 °C (1,5 g). Na zá-

Tab. 2.  
1 g látky, 30 g  $\text{Al}_2\text{O}_3$ , 80 ml organických rozpúšťadiel

rozpúšťadlo	charakteristika	poznámka
1. éter — chloroform 1 1	kryštály z metanolu 0,6 g, b. t. 247—248 °C (nekor.)	papierovou chromatografiou identifikované ako jednotná látka
2. éter — chloroform 1 1		
3. éter — chloroform 1 1		
4. éter — chloroform 1 1		
5. éter — chloroform 1 1		
6. chloroform	látka po naočkovaní jervínom nekryštaluje	papierovou chromatografiou identifikované ako zmes látok
7. chloroform		
8. chloroform		
9. chloroform		
10. chloroform	frakcie obsahujú len stopy látok	
11. chloroform — metanol 2 %		
12. chloroform — metanol 4 %		
13. chloroform — metanol 8 %		
14. chloroform — metanol 16 %		

klade výsledkov papierovej chromatografie (Whatman 1, formamid, chloroform — benzén 8 : 2) zmes obsahovala 5 látok. Tieto sa ďalej oddeľovali na stĺpci  $Al_2O_3$  prietokovou chromatografiou [27].

Z frakcie 1—8 sa kryštalizáciou z metanolu získal jervín (0,6 g) o b. t. 247—248 °C;  $[\alpha]_D^{22} = -150 \pm 3^\circ$  (2,0843 g látky/100 ml 95 % etanolu). Rozpúšťa sa v metanole, etachloroforme a v acetóne; málo rozpustný je v éteri a v benzéne.

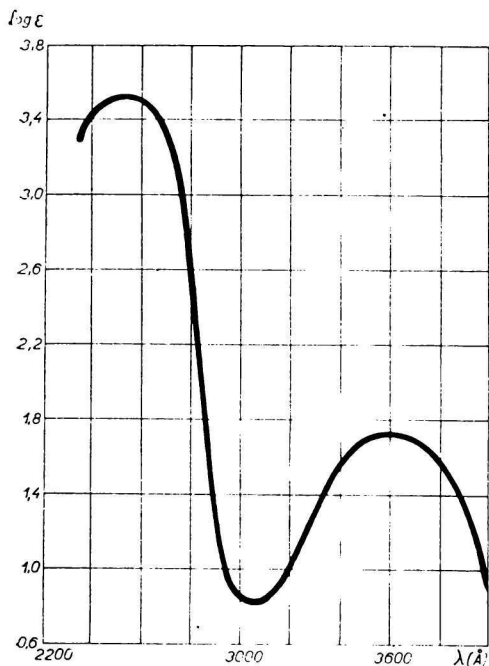
Vzorka pre analýzu sa znovu prekryštalovala z metanolu (bez zmeny bodu topenia) a vysušila sa.

### Analýza

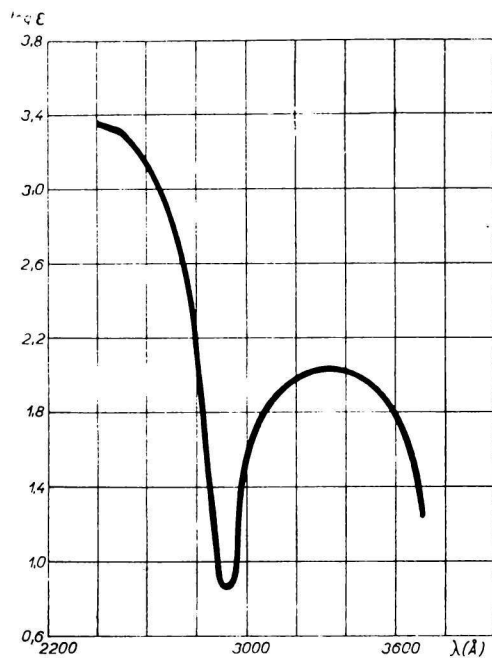
Pre  $C_{27}H_{39}O_3N$  (molekulová váha 425,59)

vypočítané	C = 76,21 %	H = 9,220 %
nájdené	C = 75,92 %	H = 9,098 %
	76,03 %	9,206 %

UV-absorpčné spektrum (obr. 1) stanovené na Unicam-Cambridge SP-600 UV-spektrofotometri (koncentrácia 25 mg% v 95 % etanole) je v dobrej zhode s údajmi v literatúre [28].



Obr. 1.



Obr. 2.

13 g nerozpustných hydrochloridov (B) sa rozpustilo v 200 ml metanolu za pridania 10 ml 2 N-NaOH a krátko sa povarilo vo vodnom kúpeli. Roztok sa prefiltraval a filtrát sa vo vákuu oddestiloval na 30 ml. Tento zvyšok sa extrahoval  $5 \times 100$  ml chloroformu. Spojené chloroformové extrakty sa premyli  $3 \times 50$  ml destilovanej vody, vysušili

bezvodým  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  a oddestilovali vo vákuu vodnej vývevy do sucha. Zvyšok sa rozpustil v metanole, z ktorého sa vylúčili kryštály. Tieto sa odfiltrovali, premyli metanolom a vysušili pri  $105^\circ\text{C}$ ; b. t.  $238\text{--}241^\circ\text{C}$ , výťažok 6 g.

Vylúčené kryštály sa prečistili prietokovou chromatografiou na  $\text{Al}_2\text{O}_3$  a identifikovali sa ako jervín rovnakým spôsobom ako v predchádzajúcom prípade.

### Izolácia pseudojervínu

Odfiltrovaná droga sa extrahovala po benzénovej extrakcii etanolom [14]. Extrahovalo sa v smaltovanom kotle 50 l etanolu. Zmes sa miešala 8 hodín a po 12 hodinách sa etanol odfiltroval. Na drogu sa znovu pridalo 25 l etanolu, 1 l 25 %  $\text{NH}_4\text{OH}$  a opäť sa 8 hodín extrahovala uvedeným spôsobom. Extrakcia drogy 25 l etanolu sa urobila aj tretíkrát. Po filtrácii sa spojený alkoholický extrakt vákuove (pri tlaku 12—14 mm Hg) zahustil na ca 7 l. K zvyšku sa pridalo 1 l 20 % roztoku  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  a zmes sa extrahovala  $8 \times 1$  l chloroformu. Spojený chloroformový extrakt sa vytrepával 2,5 % kyselinou vínou ( $10 \times 1$  l). Kyslý roztok sa zalkalizoval 25 %-ným  $\text{NH}_4\text{OH}$  na pH 9 a vylúčené bázy sa znovu extrahovali do chloroformu ( $10 \times 1$  l). Chloroform sa vákuove (pri tlaku 12—14 mm Hg) zahustil a zvyšok sa rozpúšťal v etanole. Nerozpustná časť sa odfiltrovala a viackrát prekryštalovala zo zmesi chloroform — metanol 2 : 1 (ca 6 g). Stopy ostatných alkaloidov sa odstránili na stĺpci  $\text{Al}_2\text{O}_3$  prietokovou chromatografiou [27].

Z frakcie 20—41 sa získal kryštalický pseudojervín o b. t.  $293\text{--}304^\circ\text{C}$  (rozkl.);  $[\alpha]_D^{20} = -132 \pm 3^\circ$  (0,997 g látky/100 ml chloroform — etanolu 1 : 1). Je málo rozpustný v etanole, nerozpustný v éteri a v benzéne.

Tab. 3.  
1 g látky, 30 g  $\text{Al}_2\text{O}_3$ , 80 ml organických rozpúšťadiel

frakcia	rozpúšťadlo	charakteristika	poznámka
1—3	éter — chloroform 1 : 1	olej	
4—8	chloroform		
9—10	chloroform — metanol 1 %		
11—14	chloroform — metanol 2 %		
15—16	chloroform — metanol 4 %		papierovou chromatografiou identifikované ako zmes látok
17—19	chloroform — metanol 8 %		
20—21	chloroform — metanol 16 %		
22—32	chloroform — metanol 30 %	kryštály z chloroform — metanolu 2 : 1, b. t. $293\text{--}304^\circ\text{C}$ (nekor. rozkl.)	papierovou chromatografiou identifikované ako jednotná látka
33—41	chloroform — metanol 60 %		

Pre analýzu sa vzorka prekryštalovala zo zmesi chloroform — metanol (2 : 1) a vysušila sa.

#### Analýza

Pre  $\text{C}_{33}\text{H}_{40}\text{O}_8\text{N}$  (molekulová váha 587,73)

vypočítané	C = 67,43 %	H = 8,404 %,
nájdené	C = 67,61 %	H = 8,32 %,
	67,54 %	8,37 %.

## Hydrolyza pseudojervínu [14]

3 g pseudojervínu sa rozpustilo v 50 ml metanolu nasýteného pri 0 °C chlorovodíkom. Po jednodňovom odstáti sa roztok vákuove zahustil na 1/3 objemu, rozriedil dvojnásobným množstvom vody, zalkalizoval  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  a extrahoval chloroformom. Chloroformový extrakt sa premyl vodou, vysušil bezvodým  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , prefiltroval a vo vákuu (pri tlaku 12—14 mm Hg) sa zahustil na niekoľko ml. Z chloroformu vylúčené kryštály sa odfiltrovali a prekryštalovali dvakrát z acetónu. Vylúčené kryštály (ca 1,6 g) sa identifikovali ako izojervín; b. t. 113—118 °C. Je rozpustný v acetóne, etanole, metanole, málo v chloroforme.

## Analýza

Pre  $\text{C}_{27}\text{H}_{39}\text{O}_3\text{N}$  (molekulová váha 425,59)

vypočítané	C = 76,21 %	H = 9,220 %,
nájdene	C = 75,84 %	H = 9,194 %,
	75,97 %	9,211 %.

UV-absorpčné spektrum (obr. 2) sa stanovilo na Unicam-Cambridge SP-600 UV-spektrofotometri (C = 25 mg % v 95% etanole).

Vodná vrstva po vytrepaní chloroformom sa vákuove zahustila a zvyšok sa extrahoval 95 % etanolom. Z etanolu po zahutnení sa vylúčila *d*-glukóza, z ktorej sa pripravil glukosazón [29] o b. t. 208 °C.

Autori ďakujú pracovníkom Chemického ústavu Slovenskej akadémie vied J. Beichtovi za vykonanie analýz, L. Molnárovi za meranie UV-spektier a O. Markovičovi za sledovanie homogenity produktov papierovou chromatografiou.

## Súhrn

Stanovil sa obsah alkaloidov vo *Veratrum album var. Lobelianum* vyskytujúcej sa v Čerhovskom pohorí na východnom Slovensku. Celkový obsah alkaloidov v podzemnej časti, stanovený vážkovou metódou, bol 1,39—1,53 %. Z alkamínov sa benzénovou extrakciou izoloval jervín, z gluukoalkaloidov sa etanolovou extrakciou drogy po benzénovej extrakcii získal pseudojervín.

АЛКАЛОИДЫ *VERATRUM ALBUM LOBELIANUM* (I)

## ИЗОЛЯЦИЯ И ДЕЛЕНИЕ

И. ТОМКО, Б. ДВОРЖАКОВА, Ш. БАУЭР, И. МОКРЫ

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

## Выводы

В работе приводятся результаты определения алкалоидов в *Veratrum album var. Lobelianum*, которая встречается в Черговской гористой области в восточной Словакии. Общее содержание алкалоидов в подземной части, определенное весовым способом было 1,39—1,53 %. Из алкалоидов бензольной экстракцией был изолирован ервин, из глюкоалкалоидов этаноловой экстракцией растений после бензольной экстракции был получен псевдоервин.

Поступило в редакцию 27. VI. 1956 г.

## ALKALOIDE DES *VERATRUM ALBUM LOBELIANUM* (I) ISOLIERUNG UND TRENNUNG

J. TOMKO, B. DVOŘÁKOVÁ, Š. BAUER, J. MOKRÝ

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

### Zusammenfassung

In der vorliegenden Arbeit wird die Bestimmung der Alkaloide in *Veratrum album* var. *Lobelianum* (Weisser Germer) durchgeführt. Diese Pflanze tritt im Čerhovsker Gebirge in der Ostslowakei auf. Der Gesamtgehalt an Alkaloiden im unterirdischen Teil der Pflanze, gewichtsanalytisch bestimmt, betrug 1,39 bis 1,53 %. Aus den Alkalaminen wurde durch Benzolextraktion das Alkaloid Jervin isoliert, aus den Glukoalkaloiden durch Äthanolextraktion der Droge nach der Benzolextraktion wurde Pseudojervin gewonnen.

In die Redaktion eingelangt den 27. VI. 1956

### LITERATÚRA

1. Pelletier, Caventou, Ann. Chim. phys. 2, 69 (1815). 2. Simon E., Poggen-  
dorfs Annal. 41, 569 (1842). 3. Wright C. R. A., Luff A. P., J. chem. Soc. 33, 338—359  
(1878). 4. Wright C. R. A., Luff A. P., J. chem. Soc. 35, 405 (1879). 5. Salzberger G.,  
Arch. Pharm. 228, 462—483 (1890). 6. Bredeman G., Apotheke-Ztg. 21, 41—45.  
53—56 (1906). 7. Poethke E., Arch. Pharm. 275, 357, 571 (1937). 8. Poethke E.,  
Arch. Pharm. 276, 170 (1938). 9. Saito K., Sugimoto H., Takaoka M., Bull. chem.  
Soc. Japan 9, 15—23 (1934); ref. C I 2771 (1934). 10. Saito K., Sugimoto H., Bull.  
chem. Soc. Japan 11, 168—171 (1936); ref. C II, 1733 (1936).
11. Saito K., Bull. chem. Soc. Japan 15, 22—27 (1940); ref. C II, 1794 (1940). 12. Craig  
L. C., Jacobs W. A., J. biol. Chem. 143, 427—433 (1942). 13. Jacobs W. A., Craig L. C.,  
J. biol. Chem. 148, 41, 51, 57 (1943). 14. Jacobs W. A., Craig L. C., J. biol. Chem.  
155, 565 (1944). 15. Jacobs W. A., Sato Y., J. biol. Chem. 181, 55 (1949). 16. Stoll A.,  
Seebeck E., Helv. chim. Acta 36, 718 (1953). 17. Stoll A., Seebeck E., Helv. chim.  
Acta 36, 1570 (1953). 18. Stoll A., Seebeck E., J. am. chem. Soc. 74, 4728 (1952).  
19. Kupchan S. M., Deliwala C. V., J. am. chem. Soc. 75, 4671 (1953). 20. Klohs  
M. W., Drapper M. D., Keller F., Mallesh W., Petracek F. J., J. am. chem. Soc.  
75, 2133 (1953).
21. Auerhoff H., Günther F., Arch. Pharm. 288, 455 (1955). 22. Nasch H. A.,  
Brooker R. M., J. am. chem. Soc. 75, 1942 (1953). 23. Barton O. H. R., Brooks  
C. Y. W., Fawcett J. S., J. chem. Soc. 1951, 2137. 24. Glen W., Myers G. S., Barber  
R., Morozovitch P., Grant G. A., Nature 170, 932 (1952). 25. Fried J., White H. L.,  
Wintersteiner O., J. am. chem. Soc. 72, 4626 (1950). 26. Macek K., Vaneček S., Vej-  
delek J. Z., Chem. Listy 49, 539 (1955). 27. Reichstein T., Shoppe C. W., Diss.  
Farad. Soc. 7, 305 (1949). 28. Jacobs W., Huebner Ch., J. biol. Chem. 170, 635—652  
(1947). 29. Fischer E., Ber. 41, 75 (1908).

Došlo do redakcie 27. VI. 1956