

Alkaloidy z *Buxus sempervirens* L. (I) Izolácia a charakterizácia

J. TOMKO, Z. VOTICKÝ, V. PAULÍK, A. VASSOVÁ, O. BAUEROVÁ

*Chemický ústav Slovenskej akadémie vied, Oddelenie alkaloidov,
Bratislava*

Zo suchých mletých listov buxusu vždyzeleného (*Buxus sempervirens* L.) sa izoloval už Schlittlerom a spolupracovníkmi dávnejšie opísaný alkaloid *A* a ďalšie nové alkaloidy, pre ktoré sa navrhli názvy: bebuxín, buxpiín, buxtauín, buxomegín, buxalfín, buxdeltín a buxetín. Tieto alkaloidy sa charakterizovali sumárnymi vzorcami a niektorými fyzikálnymi konštantami. Pri niektorých sa určili funkčné skupiny. Pre alkaloid *A* a niektoré jeho deriváty sa stanovili bežné fyzikálochemické konštanty, ktoré sa porovnali s údajmi uvádzanými v literatúre pre cyklobuxín [1]. Na základe zhody sa usúdilo, že obidva alkaloidy sú identické.

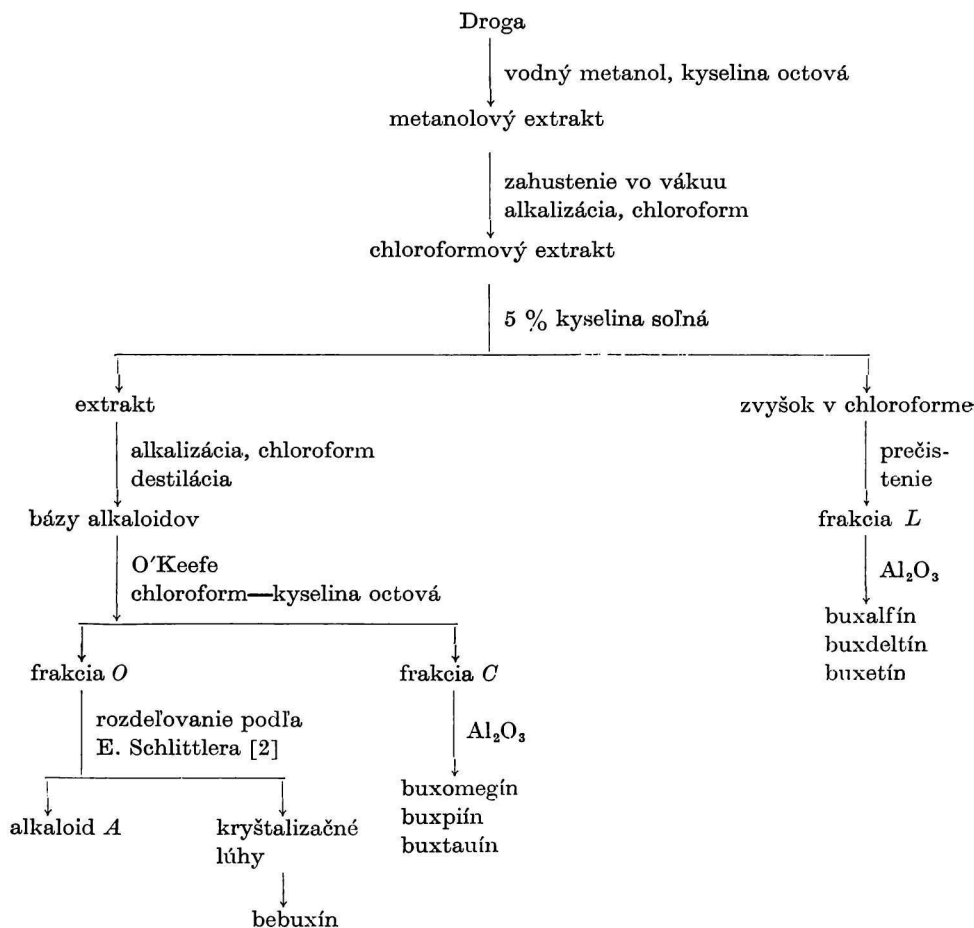
Prvé kryštalické alkaloidy z *Buxus sempervirens* získal E. Schlittler [2—5] za použitia klasických izolačných a rozdeľovacích metód. K. S. Brown a S. M. Kupchan [6] izolovali z tejto rastliny niekoľko alkaloidov pomocou rozdeľovacej chromatografie. Tí istí autori [7] stanovili aj štruktúru a konfiguráciu hlavného alkaloidu cyklobuxínu ako 3 β ,20 α -di(metylamino)-4 α ,14 α -dimetyl-9 β ,19-cyklo- $\Delta^{4,4a}$ -5 α -pregnen-16 α -ol.

Zaoberali sme sa izoláciou a charakterizáciou alkaloidov z buxusu vždyzeleného rastúceho u nás. Zmes alkaloidov sme získali perkoláciou suchých mletých listov vodným metanolom okysleným kyselinou octovou. Po oddestilovaní metanolu vo vákuu a po alkalizácii a extrakcii do chloroformu sa získal roztok, z ktorého sa alkaloidy ďalej extrahovali do zriedenej kyseliny soľnej. Chloroformový roztok po oddestilovaní rozpúšťadla poskytol zvyšok (v ďalšom označený ako frakcia *L*), ktorý dával ešte pozitívnu reakciu Mayerovým činidlom. Alkaloidy, ktoré prešli do zriedenej kyseliny soľnej, alkalizáciou sa previedli na bázy; tieto sa ďalej rozdelili roztrepávaním podľa O'Keefeho [8] v systéme chloroform—5 % kyselina octová na frakciu *O* a frakciu *C*. Z frakcie *O* postupom podľa E. Schlittlera [2] sa izoloval alkaloid *A*, ktorý je identický s cyklobuxínom, izolovaným S. M. Kupchanom [1]. Z kryštalizačných lúhov po odfiltrovaní alkaloidu *A* vykryštalizoval bebuxín.

Chromatografickým rozdelením alkaloidov prítomných vo frakcii *C* na kyslíčniku hlinitom (Merck) sa oddelil buxpiín, buxtauín a buxomegín. Chromatografiou alkaloidov prítomných vo frakcii *L* sa získali kryštalické látky buxalfín, buxdeltín a buxetín.

Rozdeľovanie alkaloidov znázorňuje schéma 1.

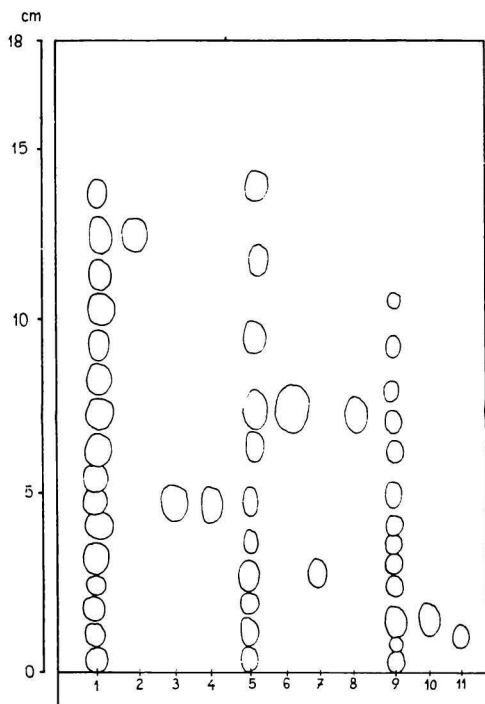
Schéma 1



Chromatografické porovnanie alkaloidov (chromatografiou v tenkých vrstvách), prítomných vo frakcii *O*, *C* a *L*, s jednotlivými izolovanými bázami je uvedené na obr. 1.

Bebuxín $\text{C}_{26}\text{H}_{46}\text{N}_2\text{O}$ neobsahuje hydrogenovateľnú dvojité väzbu v kyseline octovej za prítomnosti Adamsovho katalyzátora. Jeho infračervené spektrum má maximá pri 1458 cm^{-1} (cyklopropánový kruh), 1200 a 1378 cm^{-1} (geminálny dimetyl), 3310 cm^{-1} (NH), 3632 cm^{-1} a 1038 cm^{-1} (OH). Metyláciou podľa E. Eschweilera a H. T. Clarkeho [10] vzniká dimetylbebuxín. Acetyláciou vzniká *N,N',O*-triacetylbebuxín, čo podobne ako pri alkaloide *A* potvrdzuje prítomnosť dvoch skupín NH a jednej acetylovateľnej skupiny OH.

Buxtauín $\text{C}_{24}\text{H}_{37}\text{NO}_2$ vykazuje maximum v ultrafialovej oblasti spektra pri



Obr. 1.

1. frakcia L; 2. buxalfín; 3. buxdeltín;
4. buxetín; 5. frakcia C; 6. buxomegín;
7. buxtauín; 8. buxpiín; 9. frakcia O; 10.
alkaloid A; 11. bebuxín.

203 nm ($\log \varepsilon$ 3,69), čo svedčí o prítomnosti dvojitej väzby v polohe Δ^4 alebo Δ^5 . Obsahuje jednu dvojitú väzbu hydrogenovateľnú v kyseline octovej za prítomnosti Adamsovho katalyzátora. Prítomnosť jednej dvojitej väzby sa určila mikrohydrogenáciou [12]. Infračervené spektrum buxtauínu má absorpciu pri 1456 cm^{-1} (cyklopropánový kruh), 1699 cm^{-1} (karbonylová skupina), 837 a 1630 cm^{-1} (dvojitá väzba), 1037 a 3595 cm^{-1} (skupina OH).

Buxpiín $\text{C}_{25}\text{H}_{39}\text{NO}_2$ sa podľa súhrnneho vzorca líši od buxtauínu o metylovú skupinu pravdepodobne na dusíkovom atóme, čo potvrdzujú infračervené spektrá týchto látok. Buxpiín vykazuje charakteristické maximum pri 1710 cm^{-1} (CO). Na rozdiel od buxtauínu neobsahuje však maximum pri 3295 cm^{-1} (skupina NH).

Buxomegín $\text{C}_{23}\text{H}_{39}\text{NO}$ má jednu dvojitú väzbu, dusík je terciárny, skupina OH je prítomná ako sekundárne alkoholická; pretože buxome-

gín dáva s digitonínom pozitívnu reakciu, možno predpokladať, že hydroxylová skupina je v 3β polohe. Jeho infračervené spektrum nevykazuje absorpciu cyklopropánového kruhu, maximum pri 1065 cm^{-1} svedčí takisto o prítomnosti hydroxylovej skupiny v 3β polohe za prítomnosti dvojitej väzby v Δ^5 polohe.

Buxalfín $\text{C}_{33}\text{H}_{48}\text{N}_2\text{O}_2$ vykazuje charakteristické maximum ultrafialového spektra pri 235 nm ($\log \varepsilon$ 3,95), čo svedčí o prítomnosti konjugovaného heteroanulárneho diénu. Infračervené spektrum okrem skupiny CO pri 1710 cm^{-1} vykazuje maximum pri 1658 cm^{-1} (pravdepodobne skupina NCO); neobsahuje maximá v oblasti hydroxylových skupín, acetyláciou neposkytuje O-acetyl-derivát.

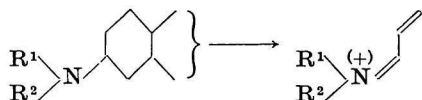
Buxalfín po redukcii s LiAlH_4 alebo NaBH_4 poskytuje buxalfol. Ultrafialové spektrum po tejto redukcii ostáva nezmenené, čo je dôkazom, že maximum pri 235 nm nebolo zapríčinené konjugovanou karbonylovou skupinou. Infračervené:

spektrum buxalfolu neobsahuje maximum pri 1710 cm^{-1} , obsahuje však maximum pri 3632 cm^{-1} a 1027 cm^{-1} (OH) a pri 1658 cm^{-1} (NCO).

Katalytickou hydrogenáciou buxalfínu (kyselina octová, PtO_2) za spotreby 4 mólov vodíka vzniká hexahydrobuxalfol (oktahydrobuxalfín).

Infračervené spektrum hexahydrobuxalfolu neobsahuje maximum karbonylovej skupiny pri 1710 cm^{-1} , obsahuje maximum skupiny OH pri 3632 cm^{-1} a 1028 cm^{-1} a maximum skupiny NCO pri 1658 cm^{-1} .

Alkaloid A sumárneho vzorca $\text{C}_{25}\text{H}_{42}\text{N}_2\text{O}$ vykazuje infračervené maximá pri 1652 a 897 cm^{-1} (koncová metylénová skupina), 1456 cm^{-1} (cyklopropán), 3630 a 1030 cm^{-1} (OH) a 3310 cm^{-1} (NH). Jeho hmotnostné spektrum má okrem molekulového iónu M^+ 386 štepy 58 m/e (metylaminoskupina). Prítomnosť exocyklickej metylénovej dvojitej väzby na uhlíku C_4 prakticky úplne bráni fragmentovať molekulu alkaloidu *A* podľa schémy [9]:



Po metylácii podľa E. Eschweilera a H. T. Clarkeho [10] vznikne dimetylaminooalkaloid *A*.

Tabuľka 1

Alkaloid <i>A</i> $\text{C}_{25}\text{H}_{42}\text{N}_2\text{O}$	Infračervené spektrum m/e b. t. [α] _D	897; 1030; 1456 1652; 3310; 3630 cm^{-1} 386, 58 245—247 °C +103 $\pm$ 3°	Cyklobuxín $\text{C}_{25}\text{H}_{42}\text{N}_2\text{O}$	Infračervené spektrum m/e b. t. [α] _D	893; 1642 cm^{-1} — 245—247 °C +98°
<i>N,N'</i> -dimetyl- alkaloid <i>A</i> $\text{C}_{27}\text{H}_{46}\text{N}_2\text{O}$	m/e b. t. [α] _D	414; 72 194—196 °C +95 $\pm$ 3°	<i>N,N'</i> -dime- tyl- cyklobuxín $\text{C}_{27}\text{H}_{46}\text{N}_2\text{O}$	m/e b. t. [α] _D	— 204—205 °C +99°
<i>N,N',O</i> -tri- acetyl- alkaloid <i>A</i> $\text{C}_{31}\text{H}_{48}\text{N}_2\text{O}_4$	Infračervené spektrum b. t. [α] _D	— 246—248 °C —14 $\pm$ 3°	<i>N,N',O</i> - triacetyl- cyklobuxín $\text{C}_{31}\text{H}_{48}\text{N}_2\text{O}_4$	Infračervené spektrum b. t. [α] _D	1629; 902 cm^{-1} 256—258 °C —12°
Dihydro- alkaloid <i>A</i> $\text{C}_{25}\text{H}_{44}\text{N}_2\text{O}$	Infračervené spektrum b. t. [α] _D	chýbajú maximá 897; 1652 cm^{-1} 203—204 °C +50 $\pm$ 3°	Dihydro- cyklobuxín $\text{C}_{25}\text{H}_{44}\text{N}_2\text{O}$	Infračervené spektrum b. t. [α] _D	chýbajú maximá 893; 1642 cm^{-1} 208—209 °C +46°

Acetyláciou alkaloidu *A* sa tvorí *N,N',O*-triacetylalkaloid *A*, ktorého infračervené spektrum vykazuje charakteristické maximum esterovej skupiny pri 1731 cm^{-1} a 1630 cm^{-1} (amidová skupina). Infračervené spektrum dihydroalkaloidu *A* získaného katalytickou hydrogenáciou nemá maximá charakteristické pre koncový metylén. Body topenia a špecifické otáčavosti alkaloidu *A* a jeho derivátov súhlasia s údajmi uvedenými v literatúre pre alkaloid cyklobuxín [1]. Hodnoty sú uvedené v tab. 1. Zo spomínaného vyplýva, že alkaloid *A* je identický s cyklobuxínom.

Experimentálna časť

Body topenia sa stanovili na Koflerovom bloku. Optická otáčavosť sa merala v 2 dm mikrotrubicích na polarimetri Zeiss-Winkel, delenie $0,02^\circ$. Infračervené spektrá sa premerali na spektrofotometri UR 10 Zeiss v tablete z KBr. Látky pre elementárnu analýzu sa sušili pri 110°C vo vákuu nad P_2O_5 a parafínom. Jednotnosť látok sa dokázala chromatografiou v tenkých vrstvách. Platne pre chromatografiu sa pripravili z kyslíčnika hlinitého G. (Merck) spôsobom podľa E. Stahla [11]. Po 24 hodinovom sušení platní pri laboratórnej teplote sa vzorky alkaloidov nanášali v chloroformovom roztoku. Chromatogramy sa vyvíjali vzostupnou technikou bežným spôsobom. Zmes rozpúšťadiel benzén—etanol 24 : 1 sa pre každý chromatogram použila vždy čerstvá. Po vyvíjaní sa platne usušili na vzduchu a vyvolali Dragendorffovým činidlom. Sumárne vzorce sa stanovili na základe elementárnej analýzy a hmotnostnej spektrometrie.

Extrakcia drogy

20 kg suchých mletých lístkov buxusu vždyzeleného, zbieraného začiatkom októbra 1960 na okolí Bratislavy, macerovalo sa za miešania zmesou 47,5 kg vody, 47,5 kg metanolu a 5 kg ľadovej kyseliny octovej (5 % kyselina octová v 50 % metanole) pri laboratórnej teplote 24 hodín. Extrakt sa oddelil od drogy, pridala sa zmes 49,75 kg vody, 49,75 kg metanolu a 0,5 kg ľadovej kyseliny octovej (0,5 % kyselina octová v 50 % metanole) a macerovalo sa ďalších 24 hodín za rovnakých podmienok. Macerácia 0,5 % kyselinou octovou v metanole sa opakovala dvakrát. Po poslednej macerácii sa droga odsala a premyla sa 0,5 % kyselinou octovou v 50 % metanole. Odtekajúci filtrát nedával s Mayerovým činidlom pozitívnu reakciu na prítomnosť alkaloidov.

Spojené hnedé extrakty sa vákuove zahustili na objem asi 20 l, zalkalizovali sa amoniakom a vytrepali sa do chloroformu. Chloroformový roztok zmesi báz sa za zníženého tlaku zahustil asi na 10 l, odkiaľ sa bázy extrahovali v podobe hydrochloridov do 5 % kyseliny soľnej, a v prípade, že tento roztok bol zafarbený do zelena, odstránil sa chlorofyl vytrepaním do éteru. Extrakt v 5 % kyseline soľnej sa zalkalizoval čpavkom, znova sa vytrepal do chloroformu, roztok sa vysušil uhlíčitom draselným a vákuove sa do sucha odparil. Výťažok žltohnedých pien bol 280 g, t. j. 1,4 %.

Získaná zmes báz sa rozdelila roztrepaním podľa O'Keefeho v $12 + 0 + 12$ posunoch v systéme kyselina octová—chloroform. Objem fáz bol 25 ml. Fázy pre roztrepávanie sa pripravili tak, že 75 g chloridu sodného sa rozpustilo vo vode, pridalo sa 37,5 ml ľadovej kyseliny octovej a doplnilo sa vodou na objem 750 ml. Po priliatí 750 ml chloroformu sa fázy vzájomne nasýtili. Toto množstvo stačilo na rozdelenie 15 g zmesi alkaloidov. Po

roztrepání sa z chloroformového roztoku obvyklým spracovaním získali „C“ bázy a z kyseliny octovej „O“ bázy v pomere „C“ „O“ 1 : 4. „O“ bázy sa ďalej spracovali postupom, ktorý opísali E. Schlittler a spolupracovníci [2], pričom sa získal alkaloid *A*, ktorý sa viackrát prekryštalizoval zo zmesi benzén—etanol 9 : 1.

Alkaloid A má b. t. 245—247 °C; $[\alpha]_D^{23} = +103 \pm 3^\circ$ ($c = 0,812$ chloroform).

Pre $C_{25}H_{42}N_2O$ ($M = 386,56$)

vypočítané:	77,66 % C,	10,95 % H,	7,25 % N;
zistené:	77,50 % C,	10,80 % H,	7,13 % N.

N,N'-Dimetylalikaloid A, *N,N',O-triacetylalikaloid A* a *dihydroalkaloid A* sme pripravili podľa E. Schlittlera [2]. Zistené hodnoty elementárnych analýz všetkých derivátov súhlasili s vypočítanými hodnotami. Namerané spektrálne a fyzikálnochemické konštanty týchto látok sú zostavené v tab. 1. Z kryštalizačných lúhov po alkaloide *A* vykryštalizoval bebuxín.

Bebuxín má b. t. 212—214 °C (benzén—etanol); $[\alpha]_D^{27} = +47 \pm 3^\circ$ ($c = 0,5520$ chloroform); $[\alpha]_D^{27} = +35 \pm 2^\circ$ ($c = 0,504$ etanol).

Pre $C_{26}H_{46}N_2O$ ($M = 402,64$)

vypočítané:	77,55 % C,	11,51 % H,	6,96 % N;
zistené:	77,53 % C,	11,38 % H,	6,81 % N.

Dimetylbebuxín

15 mg bebuxínu sa rozpustilo v zmesi 0,3 ml 85 % kyseliny mravečej a 0,2 ml 35 % formaldehydu. Roztok sa 6 hodín zahrieval na vodnom kúpeli, potom sa zriedil 2 ml destilovanej vody, pridali sa 2 ml 2 N-HCl a extrahovalo sa do éteru. Vodný podiel sa zalkalizoval amoniakom a extrahoval sa éterom. Výťažok je 13 mg o b. t. 220—222 °C; $[\alpha]_D^{21} = +45 \pm 3^\circ$ ($c = 0,4120$ chloroform).

Pre $C_{28}H_{50}N_2O$ ($M = 430,70$)

vypočítané:	78,08 % C,	11,70 % H,	6,50 % N;
zistené:	77,62 % C,	11,54 % H,	6,46 % N.

N,N',O-Triacetylbebuxín

20 mg bebuxínu sa rozpustilo v 1 ml pyridínu a pridal sa 1 ml acetanhydridu. Roztok sa nechal 24 hodín stáť pri laboratórnej teplote, potom sa zriedil destilovanou vodou, zneutralizoval sa amoniakom a extrahoval sa do chloroformu. Kryštalizáciou z éteru sa získal *N,N',O-triacetylbebuxín* o b. t. 230—235 °C (éter); $[\alpha]_D^{27} = -57 \pm 3^\circ$ ($c = 0,8818$ chloroform).

Pre $C_{32}H_{52}N_2O_4$ ($M = 528,85$)

vypočítané:	72,69 % C,	9,91 % H;
zistené:	72,48 % C,	9,95 % H.

Chromatografické oddelovanie alkaloidov vo frakcii C

20 g alkaloidov frakcie *C* sa rozdeľovalo na 600 g Al_2O_3 Merck o aktivite II. Najprv sa eluovalo benzénom, potom éterom a nakoniec zmesou chloroform—1 % etanol, pričom sa zachytávali 300 ml frakcie. Z eluátu 18—28 po oddestilovaní éteru vykryštalizovalo

91,4 mg buxomegínu, z eluátu 46—47 buxpiín a z eluátov v zmesi chloroform—1 % etanol (frakcia 54—60) sa získal buxtauín.

Buxomegín má b. t. 172—173 °C (etanol—acetón 1 : 1); $[\alpha]_D^{25} = -40 \pm 3^\circ$ ($c = 0,726$ chloroform).

Pre $C_{23}H_{39}NO$ ($M = 345,34$)

vypočítané:	79,94 % C,	11,38 % H;
zistené:	79,42 % C,	11,26 % H.

Dihydrobuxomegín

19 mg buxomegínu sa hydrogenovalo v 5 ml ľadovej kyseliny octovej za prítomnosti 4 mg Adamsovho katalyzátora. Hydrogenačný produkt sa chromatografoval na kyslíčniku hliníto o aktivite III; eluáciou éterom sa získalo 12 mg látky o b. t. 170 °C (éter); $[\alpha]_D^{25} = +31 \pm 3^\circ$ ($c = 0,564$ chloroform).

Pre $C_{23}H_{41}NO$ ($M = 347,36$)

vypočítané:	79,47 % C,	11,89 % H,	4,04 % N;
zistené:	79,42 % C,	11,52 % H,	4,00 % N.

O-Acetylbuxomegín

20 mg buxomegínu sa acetylovalo zmesou 1 ml acetanhydridu a 1 ml pyridínu 24 hodín pri laboratórnej teplote. Nato sa 30 minút povarilo na vodnom kúpeli. Po rozriedení reakčnej zmesi vodou sa extrahovalo do chloroformu a po odparení tohto sa prečistilo na kyslíčniku hliníto o aktivite III. Bod topenia je 182 °C (acetón); $[\alpha]_D^{25} = -45 \pm 3^\circ$ ($c = 0,3756$ chloroform).

Pre $C_{25}H_{41}NO_2$ ($M = 387,61$)

vypočítané:	77,47 % C,	10,66 % H,	3,61 % N;
zistené:	77,22 % C,	10,52 % H,	3,65 % N.

Buxpiín má b. t. 173 °C (éter); $[\alpha]_D^{21} = +158 \pm 3^\circ$ ($c = 0,173$ chloroform).

Pre $C_{25}H_{39}NO_2$ ($M = 385,57$)

vypočítané:	77,87 % C,	10,19 % H,	3,63 % N;
zistené:	78,01 % C,	10,52 % H,	3,51 % N.

Buxtauín má b. t. 172—178 °C (acetón); $[\alpha]_D^{23,5} = +154 \pm 3^\circ$ ($c = 0,768$ chloroform); $[\alpha]_D^{23} = +157 \pm 2^\circ$ ($c = 0,237$ etanol).

Pre $C_{23}H_{37}NO_2$ ($M = 371,54$)

vypočítané:	77,58 % C,	10,04 % H,	3,77 % N;
zistené:	77,4 % C,	9,82 % H,	3,72 % N.

Dihydrobuxtauín

37,1 mg buxtauínu sa hydrogenovalo za prítomnosti 8 mg Adamsovho katalyzátora v 5 ml ľadovej kyseliny octovej. Roztok sa po hydrogenácii spracoval bežným spôsobom. Prečistil sa na kolóne s kyslíčnikom hliníto o aktivite VI; zachytávala sa frakcia chloroform—4 % etanol. Bod topenia je 169—172 °C (acetón); $[\alpha]_D^{23,5} = +91 \pm 3^\circ$ ($c = 0,71$ chloroform).

Chromatografické rozdeľovanie frakcie L

10 g alkaloidov frakcie *L* sa rozdeľovalo na 300 g kysličníka hlinitého (Merck) o aktivite II. Eluovalo sa benzénom, pričom sa zachytávali 200 ml frakcie. Z frakcie 5 a 6 sa získalo 1,05 g látky, ktorá po rechromatografii poskytla kryštalizáciou z éteru buxalfín. Z frakcie 35—39 po ďalšej rechromatografii sa získal buxdeltín. Z ďalších frakcií elúciou éterom sa získal buxetín, ktorý kryštalizoval zo zmesi éter—acetón (3 : 1). V etanole je málo rozpustný.

Buxalfín má b. t. 202—205 °C (éter); $[\alpha]_D^{24} = +56 \pm 3^\circ$ ($c = 0,872$ chloroform); $[\alpha]_D^{26} = +61 \pm 2^\circ$ ($c = 0,90$ etanol).

Pre $C_{33}H_{48}N_2O_2$ ($M = 504,73$)

vypočítané:	78,52 % C,	9,59 % H,	5,55 % N;
zistené:	78,36 % C,	9,20 % H,	5,38 % N.

Dihydrobuxalfín (buxalfol)

30,1 mg buxalfínu sa rozpustilo v 2 ml metanolu, prilialo sa 8 mg hydridoboritanu sodného, rozpusteného v 0,5 ml metanolu, a 2 hodiny sa varilo pod spätným chladičom. Po ochladení sa pridalo 5 ml vody, vákuove sa odparilo na 3 ml a okyslilo sa 2 N kyselinou sírovou na kongočerveň. Nato sa roztok zalkalizoval amoniakom a extrahoval sa do chloroformu. Prečistil sa na kolóne s 3 g kysličníka hlinitého o aktivite II. Bod topenia je 244—249 °C; $[\alpha]_D^{21} = +81 \pm 3^\circ$ ($c = 0,26$ chloroform); $[\alpha]_D^{23} = +86 \pm 2^\circ$ ($c = 0,259$ etanol).

Pre $C_{33}H_{50}N_2O_2$ ($M = 506,74$)

vypočítané:	78,21 % C,	9,95 % H,	5,53 % N;
zistené:	78,12 % C,	9,80 % H,	5,42 % N.

Oktahydrobuxalfín (hexahydrobuxalfol)

34,4 mg buxalfínu sa rozpustilo v 5 ml ľadovej kyseliny octovej, pridalo sa 7 mg Adamsovho katalyzátora a hydrogenovalo sa pri laboratórnej teplote. Spracovalo sa obvyklým spôsobom. Bod topenia je 152—155 °C (éter); $[\alpha]_D^{21} = +49 \pm 3^\circ$ ($c = 0,72$ chloroform); $[\alpha]_D^{22} = +57 \pm 2^\circ$ ($c = 0,704$ etanol).

Pre $C_{33}H_{56}N_2O_2$ ($M = 512,50$)

vypočítané:	77,33 % C,	11,01 % H,	5,47 % N;
zistené:	77,07 % C,	10,90 % H,	5,38 % N.

Buxdeltín má b. t. 275 °C (éter—acetón); $[\alpha]_D^{23} = +79 \pm 3^\circ$ ($c = 0,4861$ etanol).

Pre $C_{32}H_{44}N_2O_3$ ($M = 504,84$)

vypočítané:	76,13 % C,	8,78 % H,	5,54 % N;
zistené:	76,00 % C,	8,98 % H,	5,41 % N.

Buxetín má b. t. 263—265 °C; $[\alpha]_D^{27} = -30 \pm 3^\circ$ ($c = 0,816$ chloroform).

Pre $C_{32}H_{50}N_2O_3$ ($M = 510,70$)

vypočítané:	75,25 % C,	9,86 % H,	5,48 % N;
zistené:	75,33 % C,	9,83 % H,	5,22 % N.

Молекуловé váhy buxdeltínu a buxetínu neboli overené hmotnostnou spektrometriou pre ich vysoké body topenia.

Elementárne analýzy vykonali A. Pufflerová a O. Rauová, infračervené spektrá premerala R. Justhová, pracovníčky analytického laboratória nášho ústavu.

Ďakujeme dr. L. Dolejšovi z Ústavu organickej chémie a biochémie ČSAV a dr. V. Hanušovi z Ústavu fyzikálnej chémie ČSAV v Prahe za stanovenie molekulových váh hmotnostnou spektrometriou alkaloidu A, bebuxínu, buxpiínu, buxtauínu, buxomegínu, buxalfínu, ako aj derivátov pripravených z týchto alkaloidov.

АЛКАЛОИДЫ ИЗ *BUXUS SEMPERVIRENS* L. (I) ИЗОЛИРОВАНИЕ И ХАРАКТЕРИЗАЦИЯ

Й. Томко, З. Вотицки, В. Паулик, А. Вашова, О. Бауэрова
Химический институт Словацкой академии наук, Отдел алкалоидов,
Братислава

Смесь алкалоидов, полученных из *Buxus sempervirens* L. была разделена на три фракции (О, С и L).

Алкалоид А был изолирован из фракции О по методу, описанному Е. Шлитгером.

Бебуксин кристаллизовался из маточных растворов после отделения алкалоида А.

Букспинин, букстаун и буксомегин были разделены методом хроматографии на окиси алюминия из фракции С. Буксальфин, буксдельтин и буксетин были выделены тем же методом из фракции L. Тонкослойная хроматография фракций О, С и L и индивидуальные алкалоиды показаны в фиг. 1.

Бебуксин $C_{28}H_{46}N_2O$ не содержит двойной связи, способной гидрироваться в уксусной кислоте с применением катализатора Адамса. Его ИК спектр показывает максимумы характерные для циклопропанового кольца, геме-диметильных групп и свободных водородов амино- и гидроксильной групп. Метилирование в условиях реакции Ешвейлер—Кларкого ведет к диметилбебуксину. Как и в случае алкалоида А, ацетилирование бебуксина дает N,N',O-триацетильное производное, что подтверждает наличие в молекуле двух водородов аминогруппы и одного гидроксила.

Букстаун $C_{24}H_{37}NO_2$ показывает максимум в УФ области при 203 мμ, характерный для двойной связи в положении Δ⁴ или Δ⁵ с одновременным наличием экзоциклической двойной связи. Его ИК спектр показывает абсорбцию циклопропанового кольца, карбонильной группы, двойной связи и гидроксила. Букстаун содержит одно положение, ненасыщающееся в условиях исчерпывающего гидрирования.

Букспинин $C_{25}H_{39}NO_2$ отличается от букстауна на одну метильную группу, принадлежащую, по-видимому, азоту. ИК спектры обоих алкалоидов очень родственны; отличается спектр букспинина тем, что не содержит максимума свободного водорода аминогруппы.

Буксомегин $C_{23}H_{39}NO$ обладает двойной связью, третичным атомом азота и вторичной гидроксильной группой. Так как буксомегин осаждается дигитонином, можно предположить, что гидроксильная группа находится в 3β положении. ИК спектр буксомегина не показывает абсорбцию циклопропанового кольца; связь при 1065 см⁻¹ свидетельствует о Δ⁵—3β-гидроксильной группе.

Буксальфин $C_{33}H_{48}N_2O_2$ показывает УФ максимум характерный для конъюгированной экзоциклической двойной связи. Его ИК спектр обладает максимумами карбониль-

ной группы и, вероятно, амидогруппы. В нем не имеется максимум в области гидроксильной группы и ацетильные производные не образуются. Так как УФ максимум не изменяется после восстановления алюмогидридом лития, карбонильная группа не связана с конъюгированной системой. В ИК спектре дигидробуксальфина (буксальфоль) отсутствует максимум карбонильной группы и появляется новый максимум, характерный для гидроксила; связи обуславливающие вероятную амидогруппу не изменили своего положения.

Алкалоид *A* $C_{25}H_{42}N_2O$ показывает ИК максимумы концевой метиленовой группы, циклопропанового кольца, гидроксила и водорода аминогруппы. Его масс-спектр имеет, наряду с молекулярным ионом, пик фрагмента при 58 м/е (метиламиногруппа). Фрагментация кольца *A* невозможна из-за экзоциклической метиленовой группы. Точки плавления, ИК максимумы, данные оптического вращения алкалоида *A*, также как его производных, вполне согласуются с данными, сообщенными С. М. Купханом для циклобуксина (значения даются в таб. 1). Из этих данных следует, что оба алкалоида идентичны.

Preložila I. V. Terentjeva

ALKALOIDS FROM *BUXUS SEMPERVIRENS* L. (I) ISOLATION AND CHARACTERISATION

J. Tomko, Z. Votický, V. Paulík, A. Vassová, O. Bauerová

Institute of Chemistry, Department of Alkaloids, Slovak Academy of Sciences,
Bratislava

The mixture of total alkaloids obtained from *Buxus sempervirens* L. was separated into three fractions (*O*, *C* and *L*):

Alkaloid *A* was isolated by the procedure described by E. Schlittler from the fraction *O*.

Bebuxine a new alkaloid was crystallized from the mother liquors after alkaloid *A*.

Buxpiine, *buxtaurine* and *buxomegine* were separated by means of chromatography on alumina from fraction *C*. *Buxalphine*, *buxdelatine* and *buxetine* were obtained by the same method from fraction *L*. Thin-layer chromatography of fraction *O*, *C* and *L* and of individual alkaloids is shown in Fig. 1.

Bebuxine $C_{26}H_{46}N_2O$ does not contain a double bond hydrogenable in acetic acid using Adams's catalyst. Its infra-red spectrum shows maxima for a cyclopropane ring, a geminal dimethyl group a hydrogen free amino group and a hydroxyl group. Methylation under Eschweiler—Clarke reaction conditions gives rise to the dimethylbebuxine. Like in the case of alkaloid *A* acetylation of bebuxine leads to a *N,N',O*-triacetyl derivative, what gives evidence for two hydrogen free amino groups and one hydroxyl group present in the molecule.

Buxtaurine $C_{24}H_{37}NO_2$ shows a maximum in UV region at 203 nm, characteristic for a double bond situated in position Δ^4 or Δ^5 with an exocyclic double bond simultaneously present. Its infra-red spectrum exhibits absorption for a cyclopropane ring, a carbonyl group a double bond and a hydroxyl group. *Buxtaurine* contains one site of unsaturation under exhaustive hydrogenation conditions.

Buxpiine $C_{25}H_{39}NO_2$ differs from *buxtaurine* by one more methyl group attached probably to nitrogen. The infra-red spectra of both alkaloids are very closely related; *buxpiine* does not contain maximum for a hydrogen free amino group.

Buxomegine $C_{23}H_{39}NO$ possesses a double bond, tertiary bonded nitrogen atom and a secondary hydroxyl group. As *buxomegine* is precipitated by *digitonine* it is suggested that the hydroxyl group is in 3β position. The infra-red spectrum of *buxomegine* does not exhibit the absorption for the cyclopropane ring; the band at 1065 cm^{-1} gives evidence for $\Delta^5-3\beta$ -hydroxy grouping.

Buxalphine $C_{33}H_{48}N_2O_2$ exhibits a characteristic UV maximum for conjugated exocyclic double bond. Its infra-red spectrum shows maxima for a carbonyl group and probably for an amido group. On the other hand no maximum in the hydroxyl group region is present and no acetyl derivatives can be prepared. As the UV maximum does not change after the lithium aluminium hydride reduction, the carbonyl group does not take part of the conjugated system. In *dihydrobuxalphine* (*buxalphol*) a maximum due to a carbonyl group was absent in the infra-red spectrum and a new maximum characteristic for hydroxyl group appeared; bands due to the presumed amido group did not change their position.

Alkaloid A $C_{25}H_{42}N_2O$ shows infra-red maxima for terminal methylene group, a cyclopropane ring, a hydroxyl and hydrogen free amino group. Its mass spectrum exhibits besides the molecular ion peak a fragment at 58 m/e (methylamino group). The ring *A* fragmentation is fully prevented by the exocyclic methylene group. The melting points, infra-red maxima, optical rotatory data of *alkaloid A* as well as of its derivatives are in satisfactory agreement with the data reported by S. M. Kupchan for *cyclobuxine*. (The values are given in Table 1.) From these facts it is concluded both *alkaloids* to be identical.

Preložil Z. Votický

LITERATÚRA

1. Brown Jr., K. S., Kupchan S. M., *J. Am. Chem. Soc.* **84**, 4590 (1962).
2. Schlittler E., Heusler K., Friedrich W., *Helv. Chim. Acta* **32**, 2209 (1949).
3. Heusler K., Schlittler E., *Helv. Chim. Acta* **32**, 2226 (1949).
4. Friedrich W., Schlittler E., *Helv. Chim. Acta* **33**, 873 (1950).
5. Schlittler E., Friedrich W., *Helv. Chim. Acta* **33**, 878 (1950).
6. Brown Jr., K. S., Kupchan S. M., *J. Chromatography* **9**, 71 (1962).
7. Brown Jr., K. S., Kupchan S. M., *J. Am. Chem. Soc.* **84**, 4592 (1962).
8. O'Keefe A. E., Dalliver M. A., Stiller E. T., *J. Am. Chem. Soc.* **71**, 2452 (1949); Mokry J., Tomko J., Bauer Š., Kompiš I., *Chem. zvesti* **12**, 382 (1958).
9. Dolejš L., Hanuš V., Černý V., Šorm F., *Collection Czech. Chem. Commun.* **28**, 1584 (1963).
10. Eschweiler E., *Chem. Ber.* **38**, 880 (1905); Clarke H. T., Gillespie H. B., Weisshaus S. Z., *J. Am. Chem. Soc.* **55**, 4571 (1933).
11. Stahl E., *Chemiker Ztg* **82**, 323 (1958).
12. Pechanec V., Horáček J., *Collection Czech. Chem. Commun.* **26**, 1805 (1961).

Do redakcie došlo 20. 4. 1964

Adresa autorov:

Dr. inž. Jozef Tomko, C. Sc., dr. inž. Zdeno Votický, C. Sc., inž. Vladimír Paulík, PhMr. Anna Vassová, PhMr. Oldřiška Bauerová, Chemický ústav SAV, Oddelenie alkaloidov, Bratislava, Dúbravská cesta.