

Chémia pyrethra

(Prednesené na doškolovacom kurze ROH pre vyššie kádre technické
v Banskej Štiavnici r. 1950.)

VOJTECH BÁTORA

Pyrethrum sa označuje ako podskupina rodu *Chrysanthemum*, ktorý patrí do čeľade *Compositae*, zahrnujúcej v sebe asi 12—13.000 druhov rastlín, rozdelených po najrozličnejších krajoch zeme.

Obchodné druhy pyrethra sú: *Ch. cinerariaefolium*, pestované v Dalmácii, *Ch. roseum*, pestované na Kaukaze, a perzský druh, *Ch. carneum*. Z týchto má najväčší význam prvé.

Pred prvou svetovou vojnou hlavným nákupným prameňom bola Dalmácia, ale v rokoch 1914—1918 zásoby z Dalmácie boli odrezané a monopol v exporte týchto kvetov si získalo Japonsko, ktoré si svoje miesto udržalo až do r. 1932, keď ho zo svetového trhu vytlačil najväčší producent pyrethrových kvetov, britská kolónia Kénya vo vých. Afrike. Svoje popredné miesto si Kénya udržala pre vynikajúcu akosť kvetov, pre ich rovnomernosť a vysoký obsah aktívnych složiek, ktorý činí až 1,3% na váhu suchých kvetov oproti 0,9% obsahu v kvetoch japonských.

Klimatické podmienky v Kényi umožňujú nepretržitý sber po celý rok. Sušenie kvetov sa prevádza vo zvlášť konštruovaných sušiarňach a za presne dodržiavaných podmienok, takže suché kvety neukazujú vo farbe, obsahu aktívnych složiek a vlhkosti nijaké kolísanie. Tak obsah vlhkosti kvetov z Kénye je 5—7%, kdežto pri japonských kvetoch, ktoré sa sušia na priamom slnečnom svetle ako seno, je tento obsah až 15%.

Roku 1934 pristupuje na svetový trh Brazília a roku 1939 Belgické Kongo. V dôsledku druhej svetovej vojny Japonsko svoje pozície úplne stratilo.

V Europe bolo orientálne pyrethrum známe už na začiatku 19. storočia pre svoju insekticídnu účinnosť a je veľmi pravdepodobné, že miestne používanie pyrethra pre tento účel bolo vo východných a s nimi susediacich krajinách známe ďaleko skôr, hoci sama rastlina bola presne identifikovaná až v roku 1856 franc. botanikom C. Willemontom.

Podľa štúdií Willemonta, Duchartra, Heckela a Baillona, prvé pokusné kultúry v Europe boli vo Švajčiarsku a Francúzsku a na Ďalekom východe v Japonsku.

Technika pestovania pyrethra je už dnes definovaná pre všetky kraje a prispôbená všetkým klimatickým podmienkam. Pyrethrum znáša ostré teplotné rozdiely, odoláva suchu, ale pritom je extrémne citlivé na dlhotrvajúcu vlhkosť. Kraje s bohatými dažďovými obdobiami sú mu neprospešné.

Čo sa kvetu týka, pyrethrum je podobné našej lúčnej margaréte. Rastie v podobe kričkov, chumáčov 60 cm vysokých, ktoré pri akostných druhoch 2—3 ročných majú až po 500—600 kvetov. Šírka kvetov obchodného druhu je 6—24 mm a váha 0,07—0,3 g. Najcennejšie sú uzavreté kvetné úbory guľovitého tvaru. Sber kvetov sa má prevádzať v čase najväčšieho rozkvetu, keď sú piestiky tesne pred dozretím, lebo vtedy je obsah aktívnych zložiek najvyšší. Pred rozkvetom a po odkvete je nižší o 18—61%.

Veľkú dôležitosť má spôsob a čas sušenia, keďže kvety sú veľmi citlivé na súčasný vplyv slnečného svetla, tepla a vzduchu, účinkom ktorých môže dôjsť pre oxydáciu a polymerizáciu k rozkladu aktívnych zložiek. Sušenie tenkej vrstvy kvetov má trvať 4—5 dní alebo menej, keď sa sušenie prevádza umele, pri maximálnych teplotách 60—80° C. Dobře vysušený kvet sa melní medzi prstami. Straty na aktívnych zložkách vplyvom rýchleho vysušenia činia až 30%. Pri všetkých výhodách a prednostiach, ktoré má pyrethrum a preparáty na báze pyrethra, o čom bude reč neskoršie, ostáva tu výčitka, že sa nedajú jeho insekticídne vlastnosti zachovať na dlhší čas po jeho vysušení, pretože aktívne zložky sú veľmi ľahko štiepateľné a citlivé na vplyv oxydázy a fermentázy, ktorých prítomnosť a aktivita bola dokázaná v najrôznejších častiach kvetu a v rôznych vegetačných obdobiach. Zistilo sa, že pre ich účinnosť optimum leží v medziach pH 4,33—4,93 a optimum teploty pri 35°C. Pri vyššej teplote, najmä nad 75° C, stáva sa enzymatický systém úplne neúčinný. Dá sa extrahovať s 30%-ným etylalkoholom. Aj pôsobením kyslíčnika siričitého o obj. koncentrácii 0,1%—1,0% môže sa pôsobenie oxydázy eliminovať a takto kvety potom vykazujú vyšší obsah najmä prvej aktívnej zložky.

Takto dochádzame k dôležitej kapitole v pestovaní a spracovaní pyrethrových kvetov, k ich stabilizácii, ktorá sleduje účel upevniť a zaručiť trvanlivosť základných účinných látok v suchom kvete v tom stave, v akom boli v čerstvej, sviežej rastline a tak získať surovinu, resp. polotovar, trvalý na neurčitý čas a použiteľný v ktorejkoľvek požadovanej firme. Toto sa dosiahne účinnou a starostlivou koordináciou sružených a súčasných vplyvov svetla, jeho trvania a prostredia.

Stabilizačné prostriedky sa delia na dve hlavné skupiny: prostriedky, ktoré zabraňujú pohlcovaniu svetla, a antioxydačné látky.

Do prvej skupiny patria:

želatína, albumíny, agar-agar, metylcelulóza, rozpustné živice, farbivá žlté; zelené, červené, oranžové, organického a anorg. pôvodu.

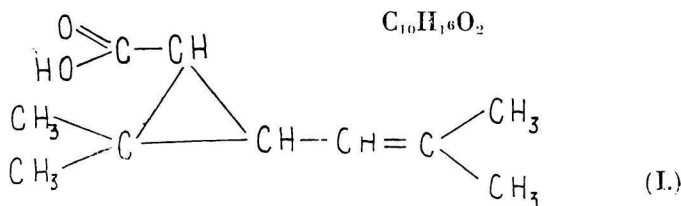
Do druhej skupiny patria:

guajakol, resorcinol, hydrochinon, izopropyl a di-izopropyl-fenol, iné mono- a poly-fenoly, benzidín a iné amíny, naftoly, aldehydy, organické kyseliny, siričitany, hydrosiričitany a iné.

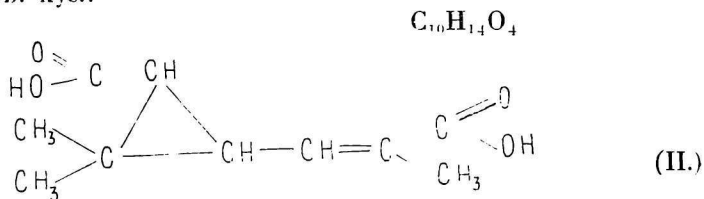
Oveľa neskôr po poznaní vlastností pyrethrových kvetov prikročilo sa k izolácii ich aktívnych zložiek a vôbec k zisteniu a určeniu ich štruk-

túry. Aj pri veľkom množstve vyčerpávajúceho dokumentačného materiálu dá sa konštatovať iba to, čo už r. 1924 oznámili Staudinger a Ruzicka o výsledkoch svojich prác z roku 1910—1916, keď sa im podarilo izolovať dve aktívne látky z Dalmatských kvetov, ktoré označili na základe ich chemickej podstaty ako „Pyretrin I” a „Pyretrin II”. Obe látky sú v rastline asociované a vykazujú rozdielnú insekticidnú účinnosť. Ukázalo sa, že obe izolované látky predstavujú estery metylketoalkoholu, pyretrolonu s chryzantémum-mono-karbonovou kyselinou a s mono-metylesterym-chryzantémum-di-karbonovej kyseliny.

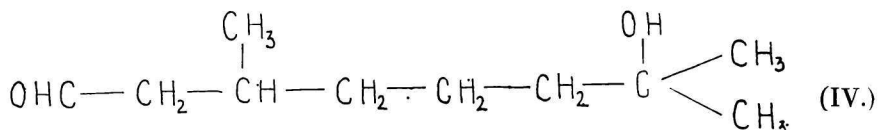
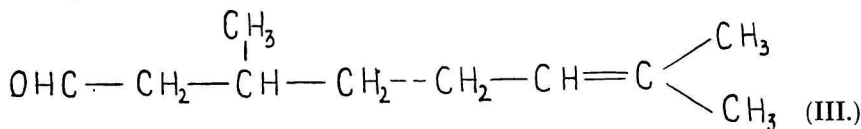
Ch. mono-karb kys.:



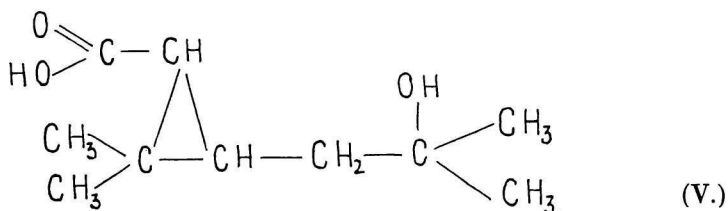
Ch. di-karb. kys.:



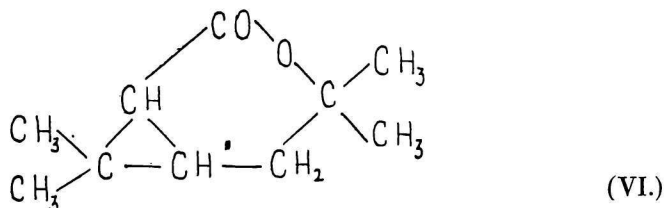
Od čias objavu týchto aktívnych komponent, v kyslej časti molekuly esterov neboli urobené nijaké štrukturálne premeny. Dokázalo sa, čo bolo veľkým úspechom, že pyrethrum obsahuje chryzant. mono-karbonovú kyselinu v trans-forme (Staudinger a Ruzicka). Zo vzorca trans-chryzant. kyselín je badateľné, že mono-karb. kyselina (I.) na rozdiel od di-karb. kyseliny (II) má bočný reťazec s geminárnou dimetyl-skupinou, ktorá je identická s konečnou časťou molekuly citronellalu (III):



Citronellalová molekula v prítomnosti kyselín môže byť hydratovaná, dávajúc tak hydroxy-citronellal (IV). Na základe predchádzajúcej podobnosti by sa mohlo predpokladať, že aj chryz. mono-karb. kyselina môže zúiesť podobnú hydrataciu a dať tak hydroxy-kyselinu (V):



Prelbežné výsledky ukázaly, že nepatrné množstvo vyskytujúceho sa laktónu umožňuje tvrdenie, že predsa v malej miere nastáva istá hydratácia ch. mono-karb. kyseliny a jej laktonizácia, hoci bolo Ruzickom a Staudingerom dokázané, že pyrethrum obsahuje kyselinu mono-karb. v trans-forme. S hľadiska stereochemických úvah je nepravdepodobné a nemožné, aby zodpovedajúca trans-hydroxykyselina (V) mohla tvoriť laktón, hoci cis-hydroxy kyselina by bola schopná ľahkej laktonizácie (VI):



Vznik k týmto pochybnostiam daly anomálne sa opakujúce výsledky pri stanovení mono-karbonovej kyseliny. Vysvetlenie je v tom, že hydroxyderivát je tiež veľmi rozpustný v étere, menej ľahko v petrolétere a menej aj prchá pri destilácii vodnou parou ako kys. monokarbonová. Teda vlastnosti skoro totožné.

Obe kyseliny, mono- aj di-karbonová, boli izolované štandardným postupom z produktov hydrolýzy ich esterov, teda pyretrinov, a po prečistení boli podrobené stanovovaniu jednotlivých konštant. Chryzantémum mono-karb. kys.: bezfarebné pevné kryštalky, b. t. $18,5^\circ \text{C}$, b. v ($0,5 \text{ mm}$) $97^\circ \text{C} - 98^\circ \text{C}$, $n_D^{20} = 1,4760$, ekvivalent $167,8$ ($168,0$).

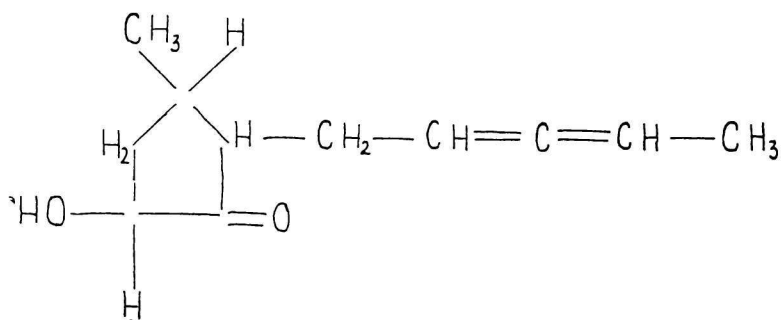
najdené: C = $71,8\%$ vypočítané: z $\text{C}_{10}\text{H}_{16}\text{O}_2$ C = $71,4\%$
H = $9,7\%$ H = $9,5\%$

Chryz. dikarbonová kys.: bezfarebné kosoštvorcové platničky, b. t. 168°C ,

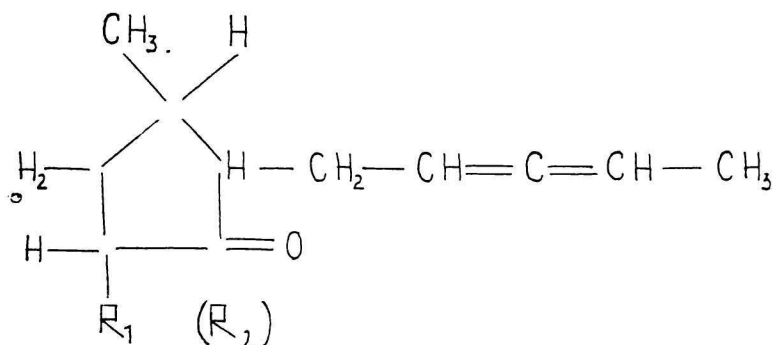
najdené. C = $60,9\%$ vypočítané z $\text{C}_{10}\text{H}_{14}\text{O}_4$: C = $60,6\%$
H = $6,8\%$ ekvival. = $197,9$ ($198,0$) H = $7,1\%$

Dôležité bolo zistenie, že dikarbonová kyselina vodnou parou nedestiluje, ale monokarbonová veľmi ľahko a dá sa takto oddeliť. Mono-karb. kyselina sa veľmi ľahko rozpúšťa v petrolétere, redukuje Denigésovo činidlo ($\text{HgSO}_4 + \text{H}_2\text{SO}_4$) a alkalické roztoky medi. Toto sú rozdiely medzi oboma kyselinami, ktoré sa staly základom pre ich kvantitatívne stanovovanie či v surovom materiáli, alebo v hotových produktoch.

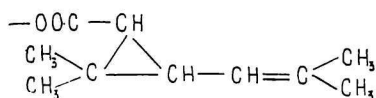
Pre pyretrolon bola Staudingerom a Ruzickom stanovená nasledujúca štruktúrálna formulácia:



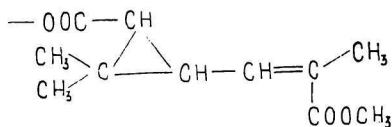
Z tohto pre pyretriny vyplývajú formulácie, vyjadrené podľa La Forgea a Barthela:



Pyretr. I.:
R₁:



Pyretr. II.:
R₂:

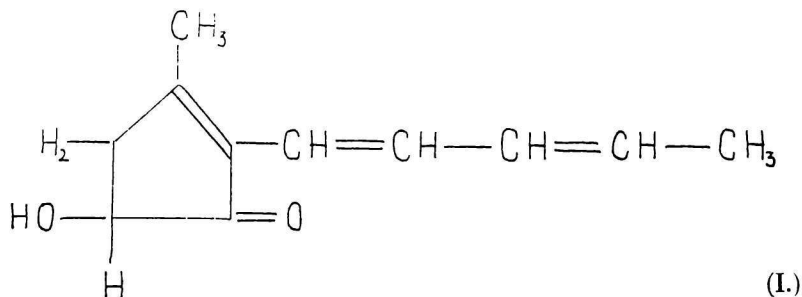


La Forge a Barthel (1944), ktorí sa vo svojich rozsiahlych prácach zaoberali otázkou štruktúry pyretrínov, s rozhodnosťou zdôrazňujú, že ostáva neznáme, v akom pomere sú pyretrolony viazané s chryzantémovými kyselinami a preto výrazy „pyretrin I” a „pyretrin II” v budúcnosti nech nedefinujú slúčeninu, ale skupiny, ktoré sa rozoznávajú iba podľa svojej kyslej složky a táto je v každom prípade esterifikovaná s viac ako jedným pyretrolonom.

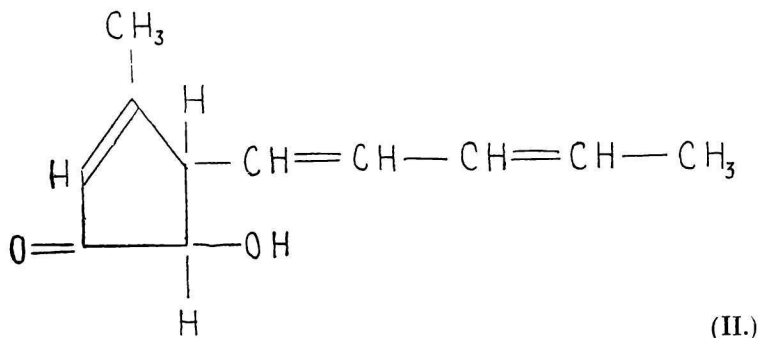
Je hodné ešte spomenúť ďalšie poznatky, podané r. 1944 La Forgeom a Barthelom, neskôr Westom (1946), ktorí dokázali, že pyretrolon nie

je homogenná látka, ale pozostáva zo smesi stereo-izomerov pyretrolonu, $C_{11}H_{14}O_2$ a cinerolonu, $C_{10}H_{14}O_2$.

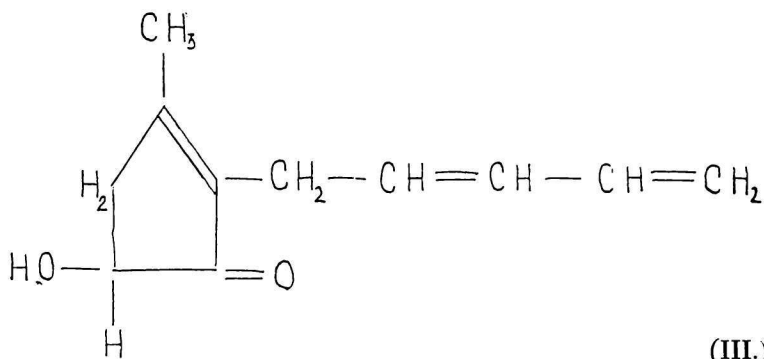
Haller a La Forge (1936) študovali prvý raz Staudingerom a Harde-rom (1927) izolované smesi pyretrínov ako semikarbazonov, potom semi-karbazony pyretrolonu a keto-alkoholov vôbec. Na základe analytických dát (obsah N) a hydrogenačných výskumov Staudingerov a Ruzickov vzorec pyretrolonu opravili a v otázke bočného reťazca prijali návrh Ruzicku a Pfeiffera (z 1933) (I):



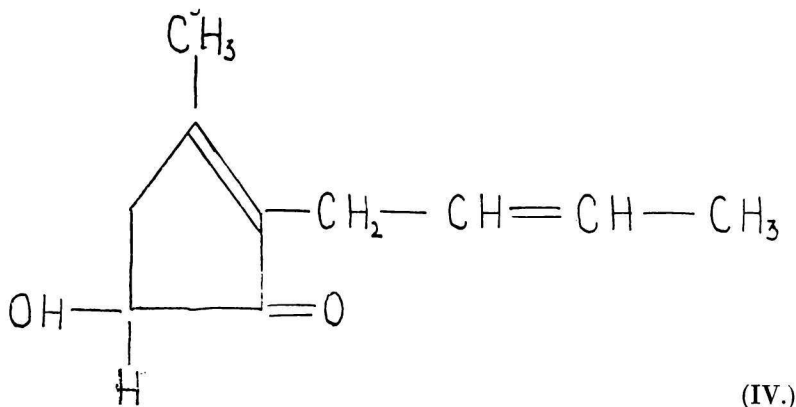
R. 1942 Gillam a West, keď porovnali hodnoty absorpčných spek- tier od pyretrolonu odvodených slúčenín s hodnotami slúčenín so zná- mymi štruktúrami, zamietli všetky doterajšie štruktúrne systémy. Vyhlá- sili, že v pyretrolone nemôže byť kumulovaný nenasýtený systém (Stau- dinger, Ruzicka) ani La Forgeom a Hallerom navrhnutý tri-enon sys- tém, ale že pyretrolon obsahuje dva oddelené konjugované systémy: α - β - nenasýtený ketón a konjugovaný dién v bočnom reťazci (II):



Neistoty a pochybnosti, vyplývajúce z doterajších prác, ďalej sku- točnosť, že pyretrolon je nehomogenná, komplexná smes keto-alkoholov s bočnými reťazcami rôznej povahy, a ďalej negatívne výsledky v porov- návani absorpčných hodnôt známych reakcií pyretrolonu, viedly k ďal- šej korekcii štruktúry, ktorá zodpovedá štruktúre prevládajúcej slúče- niny v smesi keto-alkoholov. Konjugovaný diénový systém sa dostáva takto na koniec bočného reťazca (III):



Výsledkom ďalších prác La Forgea a Barthela (1945) bola izolácia slúčenín, nachádzajúcich sa v nehomogennom komplexe alkoholov, ktoré majú to isté jadro ako posledný vzorec pyretrolonu, ale sú rozdielne v bočnom reťazci, kde je o jeden uhlíkový atom a dvojitá väzba menej. Slúčeninu nazvali cinerolon (IV):



Cinerolon vytvára v rastline s chryz. kyselinami estery cinerin I. a cinerinu II.

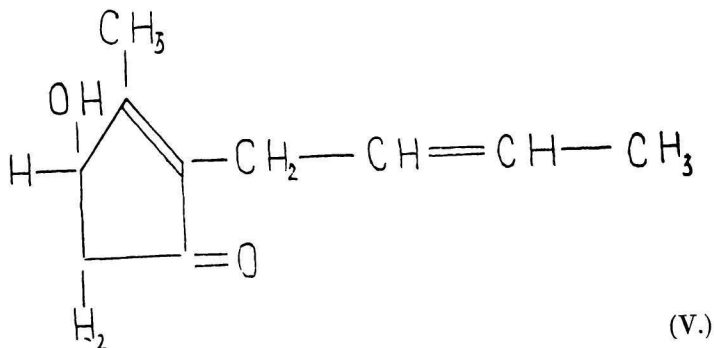
Podľa štúdií La Forgea a Barthela z r. 1947 podstatou insekticídneho charakteru pyrethra sú 4 estery, ktoré účinkujú každý samostatne:

1. ester pyretrolonu s chryz. mono-karb. kys., Py-I.
2. ester pyretrolonu s monometylesterom chryzant. dikarb. kys., Py-II.
3. ester cinerolonu s chryz. mono-karb. kys., Ci-I
4. ester cinerolonu s monometylesterom chryzant. dikarb. kys., Ci-II.

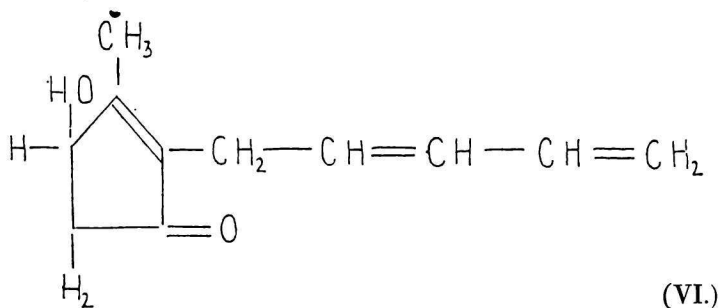
Hydrogenáciou pyretrolonu a cinerolonu získajú sa príslušné dihydro- a tetrahydro-deriváty, ktorých bočné reťazce sú už nasýtené. Tak bol pripravený roku 1947 La Forgeom a Solovaym z prírodného cinerolonu dihydrocinerolon, ktorý bol potom porovnávaný so syntetickým

2-butyl-5-hydroxy-tri-metyl-2-cyklopentén-1-on-om. Totožnosť v štruktúre sa nezistila. Navrhli preto vzor V.

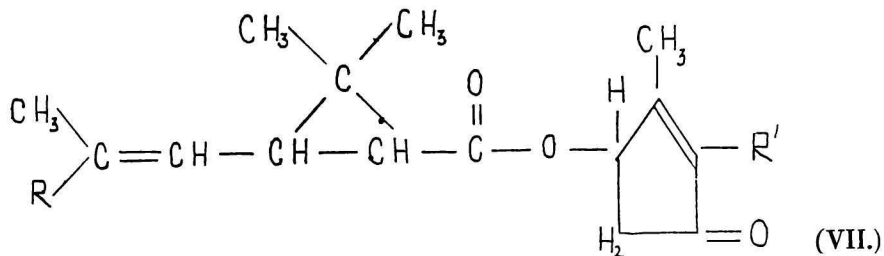
Nasledujúce porovnanie synteticky pripraveného 2-butyl-4-hydroxy-3-metyl-2-cyklopentén-1-on-u viedlo už k pozitívne zistenej totožnosti s dihydroderivátom prirodzeného cinerolonu. Podľa toho nový korigovaný vzorec cinerolonu z r. 1947 je (V):



Touto istou cestou sa previedla korekcia vzorca pyretrolonu. Dauben a Wenkert r. 1947 synteticky pripravili 2-amyl-4-hydroxy-3-metyl-2-cyklopentén-1-on. Aj jeho spoločné vlastnosti s tetra-hydro-derivátom prirodzeného pyretrolonu sa pozitívne dokázaly. Pyretrolon (VI):

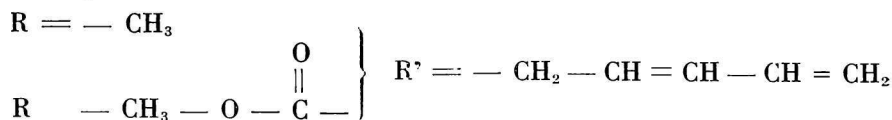


Teda v oboch prípadoch ide o presunutie OH-skup. zo 4 do 5. Štruktúry 4 esterov (VII):



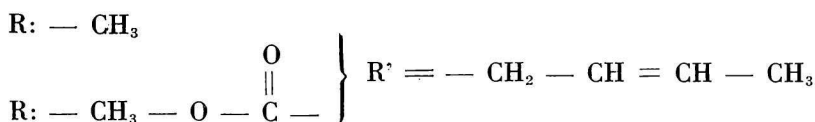
Pyretr. I.

Pyretr. II.



Cinerin I.

Cinerin II.



Pyretrin I: olej, ľavotočivý.

Pyretrin II: olej, pravotočivý.

Nerozpúšťajú sa vo vode, rozpustné sú v org. rozpúšťadlách a olejoch.

Pyretrolon: viskózný olej bez zvláštneho zápachu, málo rozpustný v petrolétere, nerozpustný vo vode, dobre rozpustný v org. rozpúšťadlách a olejoch. Dá sa acetylovať, esterifikovať, tvorí semikarbazony.

Tieto štyri spomenuté estery, každý v dvoch opticky aktívnych formách, boli aj synteticky pripravené z chloridov príslušných kyselín a keto-alkoholov. V prírode sa vyskytujú opticky aktívne a racemické formy pyretrolonu a cinerolonu. Takto sa dosiahla možnosť, pomocou syntetických esterov skúšať rozdielnosť v insekticídnom charaktere jednotlivých a závislosť toxicity na ich povahe a konfigurácii.

Analytika pyretrínov.

Podľa prác Staudingera a Ruzicku z r. 1924 toxicita je funkciou konštitúcie esterov a mizne, stráca sa ich hydrolýzou. Alkoholické a kyslé podiely hydrolýzy nemajú už vlastnej toxicity. Analytické metódy sa preto zakladajú na existencii tejto hydrolýzy a ich povaha závisí od toho, či ide o stanovenie alcoholickej alebo kyslej složky esteru, čiže spôsoby sa delia na tie, ktoré využívajú charakteristické vlastnosti keto-alkoholov alebo vlastnosti kyselín.

Pretože toxicita jednotlivých esterov je navzájom rozdielna, za účelom získania správneho obrazu o účinku jednotlivých insekticídnych složiek je potrebné, aby ich stanovovanie smerovalo k oddelenému stanoveniu každej zvlášť. Vyžaduje to aj ich chemický charakter a vzájomné usporiadanie v rastline. Preto všetky metódy, založené na stanovení

celkového obsahu aktívnych zložiek, sú ako so stránky farmakodynamické. tak aj so stránky konštitučne-chemickej menej cenné a nepresné.

Ako najdôležitejšie z anal. metód spomenieme z vývojových dôvodov prvé metódy podľa Staudingera a Hardera, neskôr modifikované Tattersfieldom, Hopsonom a Gimminhamom, ktorí využili známe vlastnosti keto-alkoholov, stanovili obsah pyretrínov pomocou semikarbazonu alebo p-nitrofenylhydrazínu, s ktorými tieto dávajú dobre kryštalizujúce slúčeniny s konštantným b. t. Z nich sa potom po stanovení obsahu dusíka vypočítava obsah pyretrínov, pričom za základ sa brala priemerná m. v. pyretrínov (352). Pre svoju zdĺhavosť a pochybnú presnosť metóda nemala širšie a dlhšie použitie

Haller a Acrée jun. navrhli metódu, ktorá spočívala v poznatku, že väčšina metylesterov dáva varením s konšt. vrúcou kys. jodovodíkovou metyljodid. Pyretrin II ako metylester chr. dikarb. kyseliny dáva teda isté, jeho obsahu zodpovedajúce množstvo metyljodidu, ktorý sa v konečnej fáze stanovuje podľa Vieböcka a Schwappacha, že sa vylúčený jód titruje s 0,05 N tiosulfátom, pričom 1 ccm sa rovná 3,11 mg Py II. Presnosť postupu je veľmi ovplyvňovaná sprievodnými, rušivo pôsobiacimi slúčeninami, masťnými kyselinami, esterami, glyceridmi a potom rozpustnosťou metylpyretrolonu.

Pozornosť si zasluhuje postup podľa Gnadingera a Corla, založený na skutočnosti, že pyretriny a pyretrolon redukujú alkalické roztoky medi, ktoré sa potom kolorimetricky porovnávajú so štandardnými roztokmi dextrózy. Výsledok dáva hodnotu celkového obsahu pyretrínu. Postup platí iba pre analýzy prachov, nie pre tekuté alebo olejové preparáty. Postup bol kritizovaný La Forgeom a Acréem. Ukázal sa nesprávnym, lebo pri stanovovaní spolupôsobia a do hodnoty celkového pyretrínu sa započítavajú aj estery linolovej a palmitovej kyseliny.

Ďalším kolorimetrickým postupom, založeným na redukcii Denigès-ovho činidla, je postup podľa Fischera. Reakciu túto pôvodne objavil Seil a pracovný postup pre odmerné stanovenie vypracovali Wilcoxon a Holaday. Kyselina chryz. mono-karb. redukuje Denigèsovo činidlo. Túto redukciu sprevádzajú farebné zmeny, ružovočervené zafarbenie prechádza cez fialové, modré a zelené na žlté, ktoré sa využíva pre kolorimetrické stanovenie. Postup je zdĺhavý a podmienky ním kladené sú tak ťažko zachovateľné, najmä čo sa týka koncentrácie voľnej minerálnej kyseliny, dodržiavania teploty, svetelných podmienok a mnohých iných za účelom získania stáleho a reprodukovateľného zafarbenia, že sa táto metóda neujala.

Metódy stanovenia pyretrínov dnes najčastejšie používané, z ktorých sa neskoršou modifikáciou vyvinula oficiálna metóda podľa A. O. A. C., sú: Seilova a Wilcoxon-Holadayho. Obe sa zakladajú na alkalickéj hydrolýze petroléterových extraktov zo suchých kvetov a na nasledovnom oddelenom stanovení uvoľnených chryz. kyselín. Výhodou oboch postupov je, že stanovujú oddelene kyseliny a nie celkový obsah ako predchádzajúce metódy. Nevýhodou ostáva skutočnosť, že ktorákoľvek iná kyselina, či už prítomná v extrakte alebo pri hydrolýze vznikajúca

á nedostatočne odstránená počas čistiaceho procesu, môže zapríčiniť chybu, t. j. vedie k vysokým hodnotám pyretrinu.

Rozdiel oboch je ten, že Seil na oddelenie mono-karb. kys. od di-karb. kyseliny využíva schopnosť mono-karb. kys. destilovať vodnou parou. Wilcoxon-Holaday zase využíva rozpustnosť mono-karb. kys. v petrolétere a schopnosť redukovat Denigèsovo činidlo. Oddelené kyseliny Seil stanovuje z 0,02 NaOH, pričom jeden cem NaOH = 0,00336 g mono-karb. kys. a 0,00198 g di-karb. kyseliny.

Wilcoxon-Holaday stanoví mono-karb. kys. z množstva jodometricky stanovenej Hg a di-karb. kys. odmerne, lúhom.

Podľa celého radu porovnávacích analýz najdôležitejších autorov a kritických štúdií, určených na adresu oboch spôsobov, možno konštatovať: 1. Seilova metóda dáva nízke výsledky pre mono-karb. kys., teda aj pyretrin I, lebo pri jej destilácii vodnou parou vznikajú straty. 2. Táto chyba môže sa zakryť a strata kompenzovať prítomnosťou iných, vodnou parou tiež prchavých látok, ktoré sú potom pri titrácii zahrnuté v obsahu mono-karb. kyseliny. 3. Wilcoxon-Holadayho metóda, neskôršie modifikovaná La Forgeom a Grahamom a prijatá za oficiálnu metódu, dáva stále, pritom nemeniace sa vyššie hodnoty pre pyretrin I, než Seilova metóda. Na druhej strane zase nižšie hodnoty pre pyretrin II, hoci spôsob stanovenia tohto je v oboch prípadoch rovnaký.

Nedostatok v uvedených analýz a nesrovnalosti vo výsledkoch sú založené na vážnej problematike. Pretože obe metódy stanovujú kyseliny, venovala sa im s hľadiska presnosti veľká pozornosť.

Pretože sa dokázalo, že pyretrolon je komplexná smes stereoizomerov keto-alkoholov, pyretrolonu a cinerolonu, ktorého obsah je premenlivý od 20 do 30%, zdá sa byť nesprávnym vyjadrovať obsah pyretrinov pomocou nájdeného množstva kyselín, získaných hydrolyzou tejto komplexnej smesi esterov. Preto veľmi správne by bolo vyjadrovať výsledky ako % chryz. kyselín, ktoré sú skutočne stanovené a nie vzťahované na premenlivé smesi esterov.

Vo veci prameňov chýb pri jednotlivých spôsoboch stanovovania zistili sa na základe kritických pokusov a štúdií tieto poznatky:

Chyby v Seilovej metóde sú vyvolané prítomnosťou minerálnej kyseliny, ktorá sa pridáva počas analytického postupu. Ešte skôr sú zavinené tepelnými vplyvmi a najviac hydratáciou mono-karbonovej kys., analogickou s hydratáciou citronellalu, lebo rezultujúca hydroxykyselina a pravdepodobne aj odvodený laktón zvyšujú hodnoty dikarbonovej kyseliny. Vylúčením destilácie mono-karbonovej kyseliny vodnou parou dosiahnu sa pre celkový pyretrin výsledky súhlasné s metódou Wilcoxon-Holadayho, u ktorej prameňom chýb je neúplné oddelenie chryz. kyselín. Modifikáciou postupu sa táto chyba dá odstrániť. Prítomnosť cudzích org. kyselín bola dokázaná, ale zistilo sa, že do presnosti výsledkov oboch metód nezasaňujú.

J. Rippert za ďalšiu pravdepodobnú príčinu chýb pokladá nesprávnou voľbu rozpúšťadla pri extrakcii. Dokázal, že medzi petroléterovým

extraktom a chloroformovým je diferencia, spočívajúca v pyretrine II. Keď sa extrakcia previedie petroléterom, a zvyšok sa hneď potom po petroléterovej extrakcii extrahuje chloroformom, získa sa hodnota extraktu, súhlasná s hodnotou, získanou iba chloroformovou extrakciou. Takto sa dokázalo, že petroléter neextrahuje všetok pyretrin. Príčinu tejto skutočnosti našli v istom druhu kaučuku, ktorý izolovali z trichlór-etylénového extraktu srážaním acetónom a alkoholom a prečistili benzínom. V petroleji bobtná a vplyvom vzduchu polymerizuje, vysráža sa. pričom okluduje pyretrin a tak zvyšuje jeho nerozpustnosť v petrolétere:

Štúdium kyselín, ktoré sú v kvetoch pyrethra, viedlo k identifikácii celého radu kyselín, ktoré sú buď viazané, alebo voľné. Tak Rippert a Japonci Takei, Ono, Nakasimo a Wakazan našli v petroléterovom extrakte, ktorý obsahoval 97,74% chryz. kyselín, cudzie kyseliny v množstve 2,26%. Identifikovali kyseliny: octovú, izomaselnú, kapronovú, kaprilovú, ktoré tvoria rozpustné Ba⁺⁺-soli, ako i kyseliny: palmítovú, olejovú, linolovú, linolenovú, behenovú, karnaubovú, azelaimovú, laurovú, myristovú a nedefinované živočíšne kyseliny a fenolkarbonové kyseliny, ktoré tvoria nerozpustné Ba⁺⁺-soli.

Porovnanie toxikologickej účinnosti jednotlivých složiek pyrethrových kvetov:

Dôležitým predmetom výskumu pyrethra ostáva otvorená otázka toxicity a jej vzťahu k prítomným esterom.

Hodnotenie toxického účinku na hmyze prevádzali rôzni autori a vo výsledkoch ich prác badať veľké nesrovnalosti a odchýlky.

Práce staršieho dáta (1943, Dr. Martin) ukazujú, že olejové roztoky pyretrinu I a II majú skoro rovnaký účinok, ale vo vodnej suspenzii má pyretrin I účinnosť značne vyššiu. V petrolejových roztokoch má pyretrin II zdanlivo rýchlejší omračujúci efekt (Knock down, Niederschlag Effekt) než pyretrin I. Testovanie prevádzali na muche domácej.

Skúšky:

Ryby: Py II 2 × účinnejší než Py I.

Žaby: Py II 30% účinnejší než Py I.

Myši: Py II 50% účinnejší než Py I.

Muchy: Py II: 2½ × účinnejší než Py I.

Šváby: okamžitá smrť nastáva pri použití vodou zriedeného alkoholického roztoku pyretrinov — Py I spôsobí smrť v zriedení 1:80000.

— Py II spôsobí smrť v zriedení 1:75000.

(Údaje z roku 1936).

Posledné štúdiá (1947, La Forge, Barthel a Gersdorf) o toxikológii esterov, synteticky pripravených v aktívnych a racemických formách La Forgeom a Barthelom, ukázaly tieto výsledky:

Py I 1½ × tox. než cinerin I.
 Py II 1,3 × tox. než cinerin II.
 Py I 4 × tox. než Py II.
 Cinerin I 2 × tox. než izodihdropyrettrin I.
 Izodihdropyrettrin I 1,75 × tox. než izodihdrociner. I.
 Testované na muchách.

Dokázalo sa, že toxicita je vo všetkých prípadoch závislá na prítomnosti optickej aktivity pyretrolonu alebo cinerolonu, z ktorých bol skúšaný materiál pripravený. Teda poloha esterovej skupiny na cyklopentónone je preto viac dôležitá s hľadiska insekticídneho účinku, ako poloha vo dvojnej väzbe na vedľajšom reťazci (Brit. Abstr. B. III., 147, 1947; J. Org. Chem. 1947, 12, 199—202).

Porovnanie s DDT.

Pri porovnaní sa ukázalo, že DDT preparátu chýba omračujúci účinok, ktorý sa pri pyrethru prejavuje vo veľkej miere. Vzájomnou kombináciou oboch produktov získal sa preparát s veľmi uspokojivými, až výbornými vlastnosťami.

Príklad: Testovanie preparátu na samičkách *Anopheles punctulatus*

0,07% pyrethra v kerosene:	99,5% knock down ef.
	99,0% zabitých
0,05% DDT	nijaký knock down ef.
	97,0% zabitých v tom istom čase.

Pre *anopheles punct.* dostatočnou sa ukázala kombinácia 0,25% DDT + 0,05 — 0,03% pyrethra.

Fyziologia pyrethra.

S hľadiska farmako-dynamického pyretriny sú slúčeniny toxické pre všetky chladnokrvné živočíchy od žiab, rýb, hadov až po jednobuněčné. Sú jedom dotykovým a zdá sa byť správnym názor, že pre hmyz je jedom nervovým, pretože histologické zmeny, ktoré vyvolávajú, sú podobné zmenám, vyvolaným autelýzou. Predpokladá sa, že pyretriny prenikajú selektívne do nervového systému a tam sa akumulujú, pričom pyretrin I vyvolá pomalú paralýzu, ktorú potom ukončí pyretrin II. Pre človeka a teplokrvné živočíšstvo je neškodný, iba v prípadoch intravenózneho a intraperitoneálneho podávania spôsobuje kŕče, ochabnutie svalstva a pri psoch, myšiach a mačkách aj smrť, hoci potrava, obsahujúca 10% pyretrinu, nevyvolá nijaké symptomy. Účinok na ľudí je sporný. Jedni tvrdia, že pri ľuďoch, pracujúcich s pyrethrom, vyvoláva dermatitis, na druhej strane sa tento vplyv popiera a príčiny choroby sa hľadajú inde. Sú zaznamenané úspešné účinky pyretrinu proti parazitom tlstého čreva (Klin. Wschr., Hamburg, 18, 1939). Otázka priebehu činnosti pyre-

trinov s hľadiska neuropatologie hmyzu ostáva nevyriešená. Známe ostáva to, že je prudký, najmenej špecifický dotykový jed pre chladnokrvné živočíšstvo a z tohto vyplývajú jeho neohraničiteľné možnosti použitia:

1. V internej a eksternej medicíne vo forme olej. roztokov, pastiliek, pomád, suppozitórií, granúl, kapsúl a pilúl.

2. Vo forme olejových roztokov vo veterinárstve.

3. V domácnostiach ako hygienické insekticídum.

4. V poľnohospodárstve a záhradníctve.

Forma používania pyrethra je podmienená účelu. Môže sa používať:

1. Ako pôvodný prášok, získaný jednoduchým mletím vysušených kvetov.

2. Ako prášok, ktorý sa získa rozdrvením zvyšku po extrakcii, po odstránení rozpúšťadla.

3. Ako roztok, získaný priamou extrakciou kvetov.

Všetky druhy týchto preparátov sa kombinujú s rôznymi prísadnými látkami alebo riedidlami. Sú to:

1. Plnidlá.

2. Aktivátory, zvyšujúce účinnosť, najmä jej rýchlosť:

živičné mydlá, smrekový olej, všetky druhy tiuramsulfidov, oxyetyléter alkyl. alebo cykloalkylfenolu, halogénfenoxyalkyltiocyanaty, DHS-aktivátor (etylenglykoléter pinenu), aryloxy-polyalkylénéterchlorid.

3. Látky, pôsobiace synergicky, t. j. ktoré v spojení s pôvodnou látkou dávajú smes s vyššou účinnosťou, ako by bol súčet účinnosti, ktoré by mali tieto látky samy osebe: sezamový olej, kokosový olej, ricínový olej, olivový olej, izobutylundecylamid a isté pyperonylové deriváty.

4. Kombinácie pyretrínov s inými rastlinnými a syntetickými insekticídmi, najmä s DDT, napr. najnovšie používané aerosoly (hmloviny), ktorých zloženie je asi nasledovné:

85% Freon 12 (dichlórdifluoretán) + 2% 20 percentného pyret. extraktu + 5% maz. oleja + 3% DDT + 5 perc. cyklohexanonu, alebo táto smes bez DDT, napr. proti moskytom: 5 g 20 perc. čistého Py-extr. + 2 g raf. sezam. oleja + 93 g Freon 12, alebo metylechlorid. aerosol tohto zloženia zabíjal moskyty v 2 min., pričom jeho konc. v 1000 kub. stopách vzduchu bola 5 mg Py. a 10 mg sezam. oleja.

Techniku príprav a zložení preparátov, spôsob ich používania zahrnuje obsiahla patentná literatúra. Ostáva poznamenať, že pyrethrum patrí medzi najúčinnšie insekticídne látky, je najmenej špecifickým a najmenej nebezpečným pre človeka alebo rastlinstvo, ktoré s ním prišlo do styku.

Otázkou výskumu ostáva nájdenie najvhodnejšej metódy stanovovania, zistenie najlepších podmienok sušenia a spracovania kvetov, zníženie citlivosti pyrethra proti vonkajším vplyvom a sledovane zmien v obsahu akt. zložiek pri týchto vonkajších vplyvoch.

Literatúra.

- J. Org. Chem., 1947, 12, 199-202.
Produits Pharmaceutiques, 4, No. 8, 303-309.
Mitchel Cotts & Co. Ltd. London, 1946: Das Pyrethrum und die Chemie der Pyrethrine.
Ibid.: Herstellung von Pyrethrum-Extrakt.
The Analyst: 73, 484-494, 1948.
Ind. Eng. Chem., 15, 107, 1941 Anal. Ed.
Ibid. 16, 453, 1944. Anal. Ed.
Ibid. 40, 683, 1948.
Ztschrift. f. an. Chem. 100, 318-19, 1935.
Ibid. 106, 455-464, 1936.
Ibid. 108, 145-147, 1937.
Ibid. 113, 1, 1938.
Ibid. 119, 455-57, 1940.
Farmacia SSSR, 5, 31-33, 1941.
Ibid. 12, 35-36, 1940.

Syntéza polypeptidov pomocou enzýmov za vysokých tlakov

VOJTECH BYSTRICKÝ

Enzýmy, ktoré sa zúčastňujú pri látkovom metabolizme bielkovín, chovajú sa pri laboratórnych pokusoch zvyčajne proteolyticky. Jednako sa zistilo, že pri tlakoch 5000 atm. trypsín, papain, erepsín a pepsín pôsobia syntetizujúce a tvoria polypeptidy a proteíny z aminokyselín. Táto syntetizujúca aktivita proteolytických enzýmov za vysokých tlakov sa vysvetľuje Le Chatelierovým princípom tak, že vysoké tlaky podporujú vznik látok so zmenšeným molekulovým objemom. Tak napr. v kryštale alanínu vzdialenosť medzi molekulami je 5,8 Å, kdežto vzdialenosť medzi alanínovými skupinami polypeptidu je len 3,5 Å. Postup použitý pri enzymatickej syntéze bol tento: 3 ccm bielkovinného hydrolyzátora sa dá do ampulky opatrenej malým kapilárnym otvorom. Táto ampulka sa vloží do gumenného vrecúška naplneného taktiež 3 ccm toho istého hydrolyzátu. Vrecúško sa vloží do hrubostennej bomby obklopenej destilovanou vodou. Tlakom sa pôsobí hydraulicky cez destilovanú vodu oceľovým piestom. Gumené vrecúško chráni hydrolyzát pred znečistením ťažkými kovmi. Pri pokusoch so želatínou sa použil trypsínový hydrolyzát v prostredí 0,1 n boratového nárazníkového roztoku (pH 8,5—9,2), koncentrácia želatíny 1—4 perc. a pomer trypsínu k substrátu 1 : 30. Tú istú vzorku želatínového roztoku bolo možno niekoľko ráz hydrolyzovať (pri atmosferickom tlaku) a resyntetizovať (pri tlaku 5000 atm. účinkom pôvodne pridaného trypsínu). Rýchlosť enzymatickej hydrolyzy resyntetizovanej želatíny bola taká, ako rýchlosť pôvodnej hydrolyzy. Po resyntéze sa želatína správala tak isto ako pôvodná želatína; roztoky