ОПИТ ЗА ИЗОЛИРАНЕ НА АЛКАЛОИДИ ОТ VINCA MAJOR L

(II предварително съобщение)

Г. И. Якимов[1]

През последните години към индоловите алкалоиди, които се съдържат в различните представители на семейство Apocynaceae, се проявява голям интерес, определен от техните ценни фармакологични качества и от успехите, постигнати при изследване на структурите им с помощта на спектрални и химични методи. Във връзка с този засилен интерес се започна у нас фармакологично и химично изследване на малкия брой наши представители на това семейство. Първо се появиха данни за фармакологичното изследване на тотална алкалоидна смес от Vinca minor (1), на базата на които беше създаден препаратът винкапан. По-късно беше проучено фармакологичното действие на алкалоидите, изолирани от Vinca herbaceae W. K. (5). Алкалоидите и на двата вида Vinca имат добре изразено хипотензивно действие. Установено е също и курареподобно действие, наблюдавано и описано за първи път от Д. Желязков (2) за алкалоиди с индолова структура. Бяха описани и свойствата на редица чисти алкалоиди, изолирани от Vinca herbaceae W. K. (3, 4).

Третият разпространен у нас представител Vinca major L притежава аналогично на горните два вида фармакологично действие, поради което си поставихме за цел да проучим алкалоидното му съдържание, за да може по-задълбочено да се охарактеризират неговите фармакологични отнасяния. По литературни данни в растението са намерени около 40 алкалоида, 9 от които са изолирани в чисто състояние: резерпин ($C_{22}H_{26}N_2O_4$), винкамайоридин ($C_{22}H_{26}N_4O_2$), винкамайоерин ($C_{22}H_{26-28}N_2O_2$), винкамаин ($C_{22}H_{26}N_2O_3$), първинцин ($C_{22}H_{28}N_2O_4$), пубесцин ($C_{20}H_{26}N_2O_4$), винин ($C_{19}H_{29}N_2O_4$), алкалоид с т. т. 194—195°, серпиин (?) с т. т. 316° (6, 7).

Материал

В нашата работа бяха използувани надземните части на растението, събрани в района на гр. Пловдив и гр. Поморие.

[1] Изказвам благодарност на др. Никола Моллов и др. Илия Огнянов от секция „Природни вещества“ към ИОХ при БАН и на сътрудниците в лабораторията по молекулна спектрометрия при ИОХ за оказаната ценна помощ при провеждане на опитите.

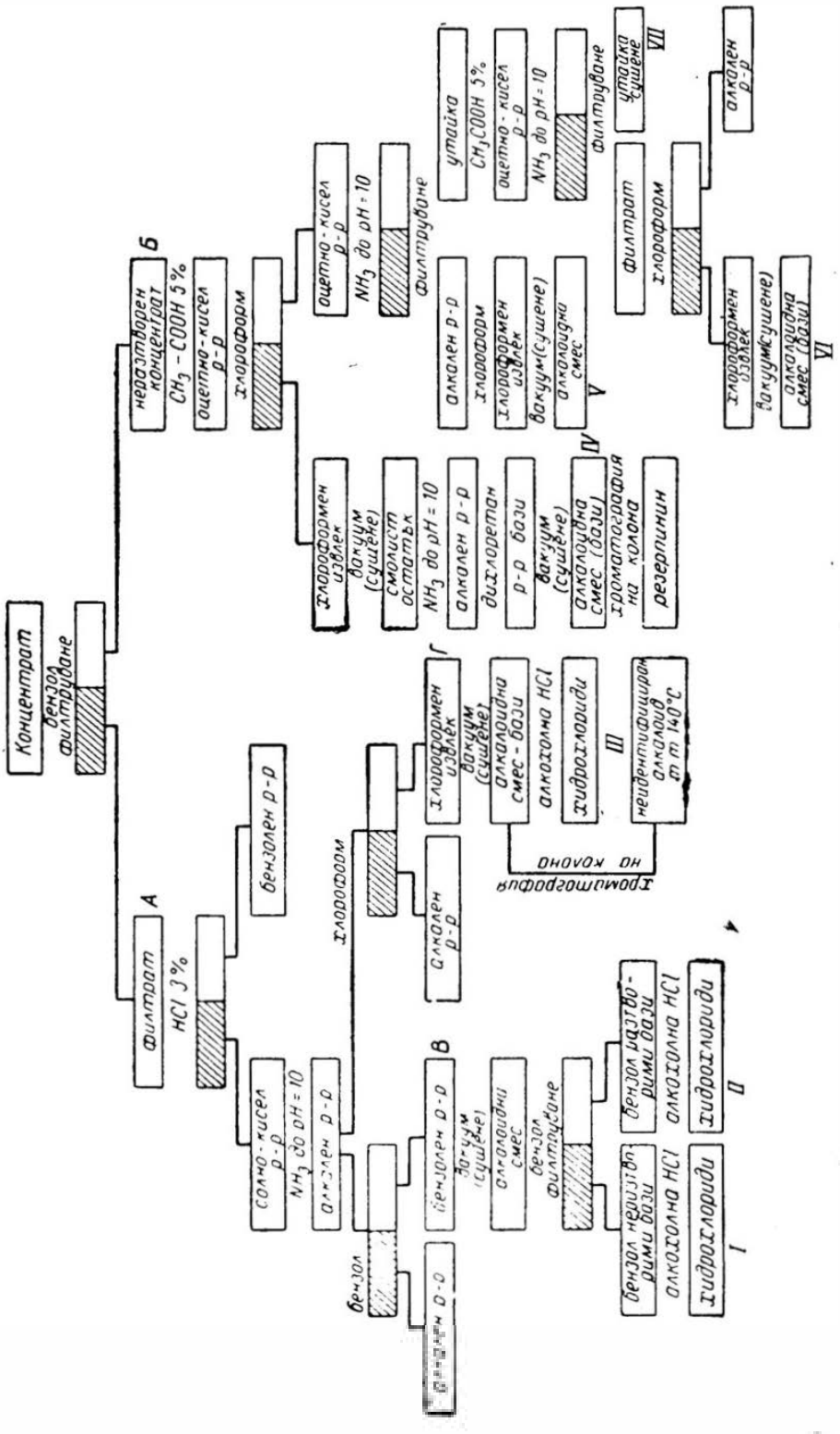
Концентрат
бензол
филтруване
Б
неразтворен концентрат
CH_3-COOH 5%
оцетно-кисел р-р
хлороформ
оцетно-кисел р-р
NH_3 до pH = 10
филтруване
утайка
CH_3COOH 5%
оцетно-кисел р-р
NH_3 до pH = 10
филтруване
алкален р-р
хлороформ
хлороформен извлек
вакуум (сушене)
алкалоидна смес
V
филтрат
хлороформ
алкален р-р
хлороформен извлек
вакуум (сушене)
алкалоидна смес (бази)
VI
утайка сушене
VII
хлороформен извлек
вакуум (сушене)
смолист остатьк
NH_3 до pH = 10
алкален р-р
дихлоретан
р-р бази
вакуум (сушене)
алкалоидна смес (бази)
IV
хроматография на колона
резерпинин
А
филтрат
HCl 3%
бензолен р-р
солно-кисел р-р
NH_3 до pH = 10
алкален р-р
хлороформ
алкален р-р
хлороформен извлек
вакуум (сушене)
алкалоидна смес - бази
алкохолна HCl
хидрохлориди
III
неидентифициран алкалоид т т 140°C
хроматография на колона
Г
бензол
алкален р-р
бензолен р-р
вакуум (сушене)
алкалоидна смес
бензол филтруване
бензол неразтворими бази
алкохолна HCl
хидрохлориди
I
бензол разтворими бази
алкохолна HCl
хидрохлориди
II

Схема 1

Методика, резултати и обсъждане

От изсушените и оситнени листа и стебла на растението се екстрахира извлек с 95% етилов алкохол. Полученият алкохолен извлек се концентрира под вакуум (температура на водната баня 85°) до пълно отделяне на алкохола. Концентратът се залива с бензол. Една част от него се разтваря в бензола. Разработката по-нататък протича в две посоки — на разтворения (А) и неразтворен (Б) в бензол концентрат (вж. схема 1).

Алкалоидите от бензолния разтвор се извличат с 3% солна киселина до отрицателна реакция с реактива на Майер. Солнокиселият разтвор се алкализира с 25% разтвор на амоняк до pH 10 и една част от алкалоидните бази се извличат от алкалния разтвор с бензол (В), а друга — с хлороформ (Г). Бензолният извлек след изпарване под вакуум (темп. на водната баня 55°) до получаване на суха смес се разтваря в бензол и се филтрира. Филтратът се изпарва до сухо и се получава смес от бензолно разтворими алкалоиди (II). Неразтворената част съдържа бензолно неразтворими бази (I). Хлороформеният извлек също се изпарва до сухо (III). Трите смеси се превръщат с помощта на алкохолна солна киселина в хидрохлориди.

Неразтворената в бензол част (Б) се залива с оцетна киселина (5%) и се филтрира. Това се повтаря няколко пъти до пълно извличане на алкалоидите. Оцетнокиселият разтвор се екстрахира с хлороформ до отрицателна реакция с реактива на Майер на хлороформените извлеци. Така полученият извлек, отдестилиран на хлороформ и последователно алкализиран и извлечен с дихлоретан, след отстраняване на разтворителя се разтваря с ацетон и изпарва до сухо (IV). Извлечещият с хлороформ оцетнокисел извлек се алкализира с амоняк (25°) до pH 10. Алкалният разтвор се филтрира, филтратът се извлича с хлороформ и хлороформеният извлек се изпарва под вакуум до получаване на сух остатък (V). Утайката се разтваря в 5% оцетна киселина, полученият разтвор се алкализира с амоняк (25%) до pH 10 и се филтрира. Базите от филтрата се извличат с хлороформ, извлекът се отдестилира под вакуум (темп. на водната баня 55°) и остатъкът след разтваряне в ацетон се изпарява до сухо (VI). Утайката се събира и изсушава на въздух (VII).

Описаният начин за разработване на растението беше подбран по аналогия на метода, предложен от Farnsworth и сътр. (16), за да се получат фракции, всяка от които да бъде с по-малък брой алкалоиди, което значително облекчава работата във връзка с разпределянето им. Същата цел се преследва и при извличането на първоначалните кисели разтвори на алкалоидите с ограничен разтворител. С него се цели да се извлекат само слабо базичните алкалоиди.

Получените седем фракции бяха дадени на фармакологични изследвания. С някои от тях се направиха опити за изолиране на индивидуални вещества и за част от резултатите се съобщава в настоящата работа, а останалата част ще бъде публикувана по-късно.

Изолиране на резерпинин. 1 г от алкалоидната смес IV (бази) се разтваря в 10 мл дихлоретан и полученият разтвор се пропуска през колона, заредена с 30 г силикагел. Елюирането се извършва с дихлоретан, а след това с дихлоретан-етанол в съотношение 99 : 1 и 95 : 5 и чист етанол. Събраните 25 фракции бяха сравнявани с помощта на тънкослойна хроматография върху пластинки от силикагел при система: дихлоретан — метанол в съотношение 50 : 50, наситена с вода. От осма фракция, която на пластинка дава едно петно, след изсушаване под вакуум и прекристализиране из дихлоретан се получи резерпинин. С инфрачервения спектър, с точката на топене (241—242°) и чрез хроматографското сравняване с чист продукт се потвърди мнението, че полученото вещество е резерпинин (5).

Изолиране на алкалоид с т. т. 140°. 1 г от алкалоидна смес III (бази) се разтваря в 10 мл дихлоретан и разтворът се пропуска през колона, заредена с 20 г силикагел. Елюирането се извърши в началото с дихлоретан, а

след това със смес дихлоретан — метанол в отношение 99:1, 95:5 и 90:10 и чист метанол. Събрани бяха 30 фракции от по 20 мл. Всички фракции се сравняваха върху пластинки от силикагел при система: дихлоретан—метанол в отношение 60 : 40 (до № 14) и дихлоретан — метанол в отношение 50 : 50 (за останалите), наситени с вода. При това фракциите 6, 7, 8 и 9 дават само едно петно на еднакво разстояние от старта. Тия фракции бяха смесени и разтворителят изпарен под вакуум до получаване на сух остатък. След прекристализиране из хексан се получи вещество с т. т. 140°. Инфрачервеният му спектър бе сравнен със спектри на алкалоиди от предполагаемо близки в химическо отношение групи, но аналог не беше намерен. Предстои по-нататъшна работа по идентифицирането му.

Определянето на точката на топене се правеше с Кофлерблок, а спектралният анализ беше направен в лабораторията по молекулна спектрометрия към ИОХ при БАН.

Изводи

1. В резултат на проведените химични изследвания на растението V. major L се изолират тотални алкалоиди, които се разделят на фракции с по-малък брой алкалоиди, за да се улесни разпределянето им и изследването на фармакологичното им действие.

2. От алкалоидна смес III с помощта на хроматографско разделяне на колона при адсорбент силикагел се получи неидентифициран алкалоид с точка на топене 140°.

3. От алкалоидна смес IV също при хроматографско разделяне на колона с адсорбент силикагел се получи резерпинин, идентичността на който се потвърди с инфрачервен спектър, с точката на топене и чрез хроматографското сравняване с чист продукт.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бойчинов, А., Д. Желязков, А. Панова. *Фармация*, 1957, 6. — 2. Желязков, Д. — *Съвр. медицина*, 1958, 9, 16. — 3. Моллов, Н., И. Мокрин, И. Огнянов и др. — *ДБАН 14*, 1961, 1, 43. — 4. Огнянов, И., П. Далев, Х. Дучевска и др. — *ДБАН 17*, 1964, 2, 153. — 5. Панов, Н., И. Огнянов, Н. Моллов и др. — *ДБАН 14*, 1961, 1, 39. — 6. Farnsworth, N. R., H. H. S. Fong, R. N. Blomster — *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 1962, V. 51,3. — 7. Trojanek, J., J. Hoolkova. — *Collection Czechoslov. Chem. Commun.*, 1962, 27, 2981.

ОПЫТ ПОЛУЧЕНИЯ АЛКАЛОИДОВ ИЗ VINCA MAJOR L

II. Предварительное съобщение

Г. И. ЯКИМОВ

Сообщается, что в виду большого числа алкалоидов, содержащихся в растении Vinca major, является целесообразным получение разных фракций с меньшим числом алкалоидов, что облегчило бы работу по их раз-

делинию и их фармакологическому исследованию. В результате проведенной работы, получено семь алкалоидных смесей. Изолированы в чистом виде один неидентифицированный алкалоид с удельным весом 1400 и резерпинин, причем использовано хроматографическое разделение колоны при использовании силикагела в виде адсорбента.

AN ATTEMPT FOR ISOLATING ALKALOIDS FROM VINCA MAJOR L

G. I. Yaklimov

SUMMARY

Considering the great number of alkaloids contained in the plant Vinca major, it is stated that obtaining of various fractions with smaller number alkaloids would be most expedient insofar facilitating the process of disintegration and pharmacological investigation of the same is concerned. The investigations performed resulted in obtaining seven alkaloidal mixtures. Non-identified alkaloid in pure state with relative weight 140° and reserpin are isolated, employing chromatographic division of column with silicagel as adsorbent.