

*Б. Поголешов и М. Мицевска*

### ИЗДВОЈУВАЊЕ НА АРИСТОЛОХИЈА КИСЕЛИНА I ОД КОРЕНОТ НА *ARISTOLOCHIA CLEMATITIS* L.

Родот *Aristolochiaceae* на Балканскиот Полуостров е застапен со приличен број видови, кои најчесто се среќаваат по варовитите почви(1). Во подрачјето на Македонија застапени се повеќе видови меѓу кои и *Aristolochia clematitidis* L., што спаѓа во најраспространетите.

Од испитувањата на разните видови *Aristolochiaceae* установено е дека главен составен дел на овој род се аристолохија киселините А I и А II (2, 3, 4, 5, 6, 11, 12, 13, 14). Овие киселини се наоѓаат главно во коренот и тоа најчесто во смес, а исто така некои од нив се среќаваат и во другите делови на растението.

Pailer и неговите соработници установиле дека А I е 3-4 метилен диокси-8-метокси-10-нитрофенантрен карбонска киселина-(1) (3), а А II е 3-4-метилендиокси-10-нитрофенантрен карбонска киселина-(1) (4).

Со поновите испитувања на Pailer и соработниците (7, 8, 9, 10) покрај овие две утврдено е постоењето на уште четири нови киселини, кои се наоѓаат во многу мали количества, а за кои исто така е утврдено дека се деривати на фенантронот.

Разните видови *Aristolochiaceae* уште оддамна биле употребувани во народната медицина. Но, аристолохија киселините биле применети во терапијата дури откако е откриено нивното антибиотичко дејство, заради што станале предмет на разгледување како нивното екстрахирање и издвојување така и нивното квантитативно одредување. Особено тешко се покажало одвојувањето на поодделните киселини една од друга поради нивната блиска хемиска структура и слични својства. Прво успешно разделување на А I и А II имаат постигнато Pailer и сораб. со хроматографирање на  $Al_2O_3$  на нивните метилестери. Подоцна разделување на метилестерите на овие киселини имаат изведено и Rochelmeyer со сораб. (14) употребувајќи танкослојна хроматографија со Kieselgal GF<sub>254</sub> а бензол/ацетон (98:2) како средство за елуација. Истите автори имаат опишана метода за разделување и на самите киселини А I и А II употребувајќи танкослојна хроматографија. За таа цел тие употребувале плочи со слој од целулозен прав, импрегнирани со 20% г—г од формамид во ацетон. Како средство за елуирање употребиле бензол/хептан/хлоро-

форм/оцетна киселина (15:15:70:3). Подоцна истите автори за разделување на овие киселини употребиле плочи со танок слој од еднакви делови од Kieselgel GF<sub>254</sub> и MN-Cellulosepulver 300 GF<sub>254</sub> а бензол/ацетон/мравја киселина (93:3:1) како средство за елуација (14).

Користејќи го фактот, што UV-спектрите на двете киселини покажуваат максимуми при две различни таласни должини 318 nm и 297 nm, вршено е и нивно спектрофотометриско одредување (13).

Целта на нашите испитувања беше да се утврди присуството на аристолохија киселините во коренот од *Aristolochia clematitis* L.

Испитуваниот корен од *Aristolochia clematitis* L. беше собран по меѓите во близината на с. Бутел (Скопје) во јуни 1969 год во време на цутењето.

За издвојување на аристолохија киселините во литературата опишани се неколку начини (групите на Pailer, Schunack и др.).

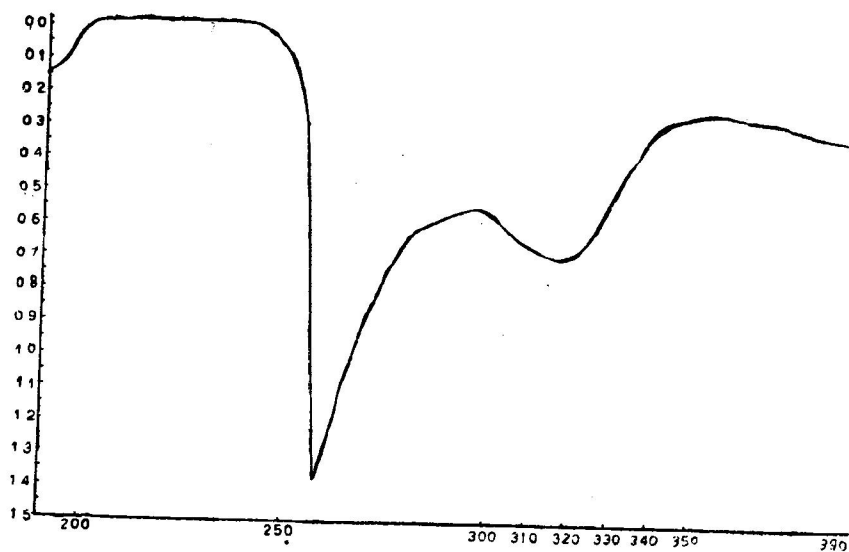
Во нашата работа ние се служевме со малку изменетата метода на Pailer, користејќи го метанол како средство за екстракција.

Исушени на собна температура и фино сомелени корените се екстрахираат 20 часа во Soxhlet-апарат со петролетер (т. в. 40—70°). Добиено е околу 1,15% уље. За извојување на аристолохија киселините обезмастениот прав од коренот се екстрахира со метанол. По одпарувањето на метанолот остатокот се обработува со 15% раствор од NaHCO<sub>3</sub> на водена бања. По додавање на вода добиениот раствор се екстрахира со хлороформ. Водениот раствор се филтрира и закиселува со разреден раствор на HCl. При тоа се добива окер обоен талог од сурови аристолохија киселини, кој се остава да стои преку ноќ. По филтрирањето талогот се плакне со вода и суши. Добиени се 1,47 г (1,47%) сурови киселини со т.т. 170°. По повеќе прекристализации од диоксан и на крајот од диметилформаид/метанол добиени се околу 0,30 г (0,30%) убави жолто обоени игличести кристали со т.р. 280°.

Изолираниот продукт е идентифициран како А I не само со точката на топење туку уште со елементарната анализа и со UV-спектарот. UV-спектарот (сл. 1) покажува само еден изразит максимум наспротив на трите дадени од Rochelmeyer.

Покрај тоа изолираната аристолохија киселина беше идентифицирана како А I и со нејзиниот метилестер, добиен со метилирање на истата со диазометан. Добиениот метилестер има т.е. 280° (Лит. 281°) (3).

Освен со точката на топење добиениот метилестер беше идентифициран како метилестер на А I исто така и преку танкослојнохроматографирање споредувајќи го со аутентичен метилестер на А I (сл. 2).



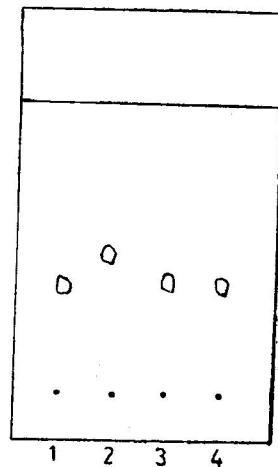
Сл. 1. — UV-спектар на најдената аристолохија киселина I

Сл. 2 — Танкослојнихроматограм на метилестерите на А I и А II

Абсорпционо средство: Киселгел GF<sub>254</sub>

Елуациона смес: Бензол/ацетон (98:2)

1. Метилестер на аристолохија киселина I
2. Метилестер на аристолохија киселина II
3. Метилестер на издвоената чиста аристолохија киселина
4. метилестер на издвоената сурова аристолохија киселина



### ЕКСПЕРИМЕНТАЛЕН ДЕЛ

Точките на топење не се корегирани. UV-спектарот е направен на Ultraviolet-Visible Spectrophotometer Perkin-Elmer Model 137 UV.

### Издвојување ан суровата киселина

100 г исушени на собна температура и фино сомелени корени од *Aristolochia clematitis* L. се екстрахираат со етролетер (т.в. 40—70°) во Soxhlet-апарат за време од 20 часа. Екстрактот се суши со безводен  $MgSO_4$  и потоа петролетерот се испарува. Добиено е 1,15% темнокафеаво уље. Обезмастениот прав од коренот потоа се екстрахира со метанол во продолжение од 70 час.а По испарувањето на метанолот останува густ екстракт со темно кафеава боја.

Густиот екстракт се обработува со 35 ml 15%  $NaHCO_3$  раствор со загревање на водена бања. Потоа се додава 15 ml вода па настанатата емулзија се екстрахира три пати со по 70 ml хлороформ. Водената фаза се филтрира преку азбестен филтер за да се одстранат нерастворените примеси. Бистриот темно кафеавкасто-црвен раствор внимателно се закиселува со разреден раствор од  $HCl$ , а одделените окер-жолти сурови киселини се оставаат преку ноќ да стојат. Следниот ден се филтрираат и плакнат три пати со вода, се сушат прво во вакуум над  $CaCl_2$ , а потоа на 100° во вакуум. Добиено беше 1,47 г (1,47%) окер-жолта сурова киселина со точка на топење 170° C.

### Пречистување на суровата киселина

Фино спрашена и сува суровата киселина се вари 0,5 часа со 100 ml диоксан при употреба на повратно ладило и се филтрира. Нерастворениот остаток се вари уште два пати со по 50 ml диоксан и се филтрира. Останува 0,39 г нерастворена супстанца. Од неа со прекристализација од диметилформаид (ДМФ) се добива мало количество темнокафеава кристална супстанца со точка на топење над 320° C.

По одпарувањето на вишокот од диоксан во растворот се изолираа 0,49 г жолти кристали со т.т. 275° C. Со две прекристализации од диметилформаид/метанол се добија 0,30 г сјајни, жолти, игличести кристали од аристолохија I (A I) киселината со т.т. 280° C (Лит. 281—285° C) (12<sub>2</sub>).

Анализа:

најдени	C — 59,77%	H — 3,48%	N — 3,92%
Пресметани од $C_{17}H_{11}O_7N$	C — 59,82%	H — 3,22%	N — 4,10%

Покрај точката на топење и елементарната анализа за идентификација на изолираната A I направен е и UV-спектар во метанол/ДМФ (8 : 2). Спектарот покажува само еден јако истакнат максимум при 318 nm, која вредност е во согласност со вредноста дадена за A I од Rochelmeuer и соработниците.

Издвоената аристолохија I киселина беше идентифицирана и со нејзиниот метилестер.

### Метилестер на аристолохија I киселина

1 г од чиста А I (t.t. 280°C) беше растворена во 5 ml ДМФ на топло. По оладувањето на растворот беше додаден десет пати поголем вишок на етерен раствор од диазометан во повеќе порции. Од реакционата смес вденаш се оделува талог и азот. Се остава да стои извесно време. Издвоениот талог се филтрира и плакне неколку пати со етер. Се добиваат 0,7 г жолти кристали од суров метилестер со t.t 265°C. По три прекристализации од ДМФ/метанол се добиваат 0,35 г жолти иглички од метилестер со точка на топење 280°C (Лит. 281°C).

#### Анализа:

најдени	C — 60,64%	H — 3,31%	N — 4,01%
пресметани од C <sub>18</sub> H <sub>13</sub> O <sub>7</sub> N	C — 60,84%	H — 3,68K	N — 3,94%

Добиениот метилестер на А I е идентификуван и преку споредување со аутентични метилестери на А I и А II со танкослојна хроматографија\*. Танкослојниот хроматограм беше направен на Kieselgel GF<sub>254</sub>-плочи и бензол/ацетон (98 : 2) како елуат. При споредувањето беше утврдено дека нашиот метилестер има иста R<sub>F</sub> вредност со метилестерот на А I. Бидејќи други обоени дамки не беа забележени можевме да заклучиме дека од *Aristolochia clematitis* L. беше изолирана само А I киселината.

За уште поголема сигурност беше направено диазометанско метилирање и на суровата аристолохија киселина. Добиениот метилестер без предходно пречистување беше танкослојно хроматографски споредван со аутентични метилестери на А I и А II. И со ова споредување беше утврдено присуството само на метилестерот на А I киселината.

Природно-математички факултет

Хемиски институт

Скопје

#### L I T E R A T U R A

1. Hegi G. *Illustrierte Flora von Mitteleuropa* Bd. III.
2. M. Pailer, L. Belohlav and E. Simonitsch, *Monatsh. Chem.* 86, 676—80 (1955).
3. Pailer M., L. Belohlav and E. Simonitsch, *Monatsh. Chem.* 87, 249—68 (1956).
4. Pailer M., A. Schlepplik, *Monatsh. Chem.* 88, 367—87 (1957).
5. Pailer M., A. Schlepplik, *Monatsh. Chem.* 89, 175—85 (1958).

\*) На ова место ја изразуваме нашата благодарност за примероците од метилестерите на А I и А II, што ни ги стави на располагање Проф. Dr. H. Rochelmeyer од фармацевтскиот институт на Johannes-Gutenberg—Univerzitet, Mainz.

6. Pailer M., G. Pruckmegen, Monatsh. Chem. 90, 145—7 (1959)
7. Pailer M., P. Bergtaller, Monatsh. Chem. 97 (2), 484—93 (1966).
8. Pailer M., P. Bergtaller and G. Schaden, Monatsh. Chem. 96 (3), 863—83 (1965).
9. Pailer M., and P. Bergtaller, Monatsh. Chem. 98 (3), 579—91 (1967).
10. Pailer M., H. Berner and S. Makleit, Monatsh. Chem. 98 (4), 1603—12 (1967).
11. Schneider Gy., I. Szöke and S. Kovacs, Arch. exptl. Pathol. Pharmacol. 234, 566 (1958).
12. Schneider Gy., Acta Univ. Szegediensis, Acta phys. chem. (N. S.) 6,92—6 (1960).
13. Schunack W., E. Mutschler and H. Rochelmeyer, Pharmazie 20 (11) 685—8 (1965).
14. Schunack W., E. Mutschler and H. Rochelmeyer, Pharmazie, 22 (2), 118—20 (1967).

*B. Podolešov i M. Micevska*

## ISOLIERUNG VON ARISTOLOCHIA SAURE I AUS DEN WURZELN VON ARISTOLOCHIA CLEMATITIS L.

### Z u s a m m e n f a s s u n g

Es wurde die Isolierung von Aristolochia Säure I aus den Wurzeln von *Aristolochia clematitidis* L. durchgeführt. Nach der Extraktion mit Methanol der Rückstand des Extrakts wurde mit 15%  $\text{NaHCO}_3$ -Lösung behandelt und aus der Lösung nach Ansäuern mit HCl wurde die Rohsäure ausgefallen. Man bekommt 1,47% von rohe Aristolochia Säure I von Smp. 170°C. Nach mehrere Umkristallisationen aus Dioxan und schliesslich aus Dimethylformamid / Methanol wurde etwa 0,30% glänzende, gelbe Nadelchen von Aristolochia Säure I isoliert mit Schmelzpunk 280°C (Lit. 281—5°C). Zur Charakterisierung der isolierte AS I wurde ihre Methylester hergestellt. Der Methylester zeigt einen Smp. von 280°C (Lit. 281°C).

Naturwissenschaftlich-mathematische Fakultät  
Chemischen Institut — Skopje.