

## ALKALOIDY Z *VINCA MINOR* L. (II) HODNOTENIE CHROMATOGRAFIOU NA PAPIERI

O. BAUEROVÁ, J. MOKRÝ, I. KOMPIŠ, Š. BAUER, J. TOMKO

Oddelenie chémie alkaloidov Chemického ústavu Slovenskej akadémie vied  
v Bratislave

Pri prácach spojených s izoláciou alkaloidov z *Vinca minor* L. ako prví použili chromatografiu na papieri K. Szász a spolupracovníci [2]. Na rozdelenie zmesi kryštalických alkaloidov uviedli sústavu rozpúšťadiel tetrahydrofurán—éter—chloroform—formamid (7 : 4 : 3 : 1), pričom po oxydácii chlóróvými parami dokázali 6 až 7 látok detegovateľných v ultrafialovom svetle. V neskoršom oznámení [3] K. Szász a spolupracovníci opisujú sústavu rozpúšťadiel éter—benzén (1 : 10) pri impregnácii papiera formamidom, upraveným kyselinou mravčou na pH 5,0.

M. Dębska a F. Kaczmarek [4] uvádzajú ako najvhodnejšiu sústavu na oddelenie vinkamínu a izovinkamínu éter zbavený peroxydov a impregnáciu papiera McIlvainovým tlmivým roztokom o pH 4,4.

J. Trojánek a spolupracovníci [5] použili na rozdelenie zmesi strednobázických alkaloidov Zaffaroniho modifikovanú sústavu, kde zakotvenú fázu tvoril formamid a pohyblivú petroléter. Slabobázický vinkaminorín sa v uvedenej sústave neoddelil, a preto ho oddeľovali v ďalších dvoch sústavách. V prvej použili ako zakotvenú fázu parafínový olej a ako pohyblivú fázu metylalkohol—1 % kyselinu octovú (1 : 4). V druhej sústave bol zakotvenou fázou oktanol-(2) a pohyblivou fázou zmes metylalkohol—5 % kyselina octová (1 : 1) nasýtená oktanol-(2)-om.

V predchádzajúcom oznámení [1] opisujeme spôsob izolácie kryštalickej frakcie *A* a žltej frakcie *B* zo surových alkaloidov. Kryštalická frakcia *A* podľa predbežných izolačných pokusov obsahovala vinkamín a izovinkamín. Našou úlohou bolo nájsť vhodnejšiu sústavu rozpúšťadiel s dobrým rozdeľovacím efektom. Pri analýze žltej frakcie *B* sme hľadali sústavu, ktorá by okrem oddeľovania alkaloidov na papieri bola vhodná aj na preparatívnu izoláciu roztrepávania.

### Experimentálna časť

Pri prácach sa použil papier Whatman 1. Vyvíjalo sa vždy zostupnou metódou v sklenej CHROPA komore. Vzorky sa nanašali pomocou mikropipety po rozpustení látky v roztoku chloroform—metanol 1 : 1. Sústava sa pripravovala nasýtením organickej fázy vodnou fázou, pričom horná sa použila ako pohyblivá fáza. Odvážený papier sa impregnoval spodnou fázou, presušil sa medzi filtračnými papiermi a opäť sa odvážil na váhach upravených na tento účel. Pomer váh impregnovaného a neimpregnovaného papiera, tzv. impregnačný koeficient

$$I_k = \frac{P_i}{P_n}$$

( $P_i$  = váha papiera impregnovaného spodnou fázou,  $P_n$  = váha suchého papiera) sa pohyboval v rozmedzí 1,8—1,9.

Vzdialenosť čela od štartu na papieri dlhom 46 cm bola 30—40 cm a na 90 cm papieri bola 70—80 cm. Čas vyvíjania bol 3—4 hodiny, avšak pri použití chromatografickej sústavy s 2-metylpropanol-(1)-om; resp. pri 90 cm dlhých papieroch bol až 18—21 hodín. Teplota bola  $20 \pm 2$  °C. Sušilo sa v sušiarňi pri 60 °C. Detegovalo sa v ultrafialovom svetle a Dragendorffovým reagentom, ktorý zaviedli R. Munier a M. Macheboeuf [6].

Kryštalickú zmes alkaloidov sme nanášali v množstve 25—50  $\mu\text{g}$  a vyvíjali v sústave rozpúšťadiel:

1. petroléter—McIlvainov tlmivý roztok (1 : 1),
2. benzén—McIlvainov tlmivý roztok (1 : 1),
3. butyléter—McIlvainov tlmivý roztok (1 : 1),
4. 2-metylpropanol-(1)—McIlvainov tlmivý roztok (1 : 1).

pH hodnoty tlmivého roztoku sme menili v oblasti pH 3,5—6,5. Výsledné  $R_F$  hodnoty sú uvedené v tab. 1.

Pre hodnotenie žltej frakcie B, resp. zmesi alkaloidov  $P_1$ ,  $P_2$ , R,  $S_3$ ,  $S_2$ ,  $S_1$ , T a U, získaných roztrepaním v sústave benzén—0,1 M kyselina citrónová, ktoré sme nanášali v množstve 250—750  $\mu\text{g}$ , použili sme tieto sústavy:

5. benzén—McIlvainov tlmivý roztok (1 : 1),
6. butanol-(1)—McIlvainov tlmivý roztok (1 : 1),
7. benzén—butanol-(1)—McIlvainov tlmivý roztok (5 : 1 : 6),
8. benzén—kyselina mravčia—McIlvainov tlmivý roztok (25 : 1 : 26),
9. butanol-(1)—kyselina mravčia—McIlvainov tlmivý roztok (5 : 1 : 6).

pH hodnoty zakotvenej fázy sa pohybovali od 3,5 do 6,5. Na základe výsledkov získaných z týchto pokusov sme dospeli k sústave rozpúšťadiel:

10. benzén—butanol-(1)—kyselina mravčia—McIlvainov tlmivý roztok o pH 3,5 (25 : 5 : 1 : 31),

ktorá najúčinnejšie rozdeľovala tieto zmesi.

## Diskusia

Pri hľadaní sústavy rozpúšťadiel na oddelenie kryštalickej frakcie získanej z *Vinca minor* L. [1] zisťovali sme  $R_F$  hodnoty alkaloidov v závislosti od polarít rozpúšťadiel v poradí petroléter, benzén, butyléter, 2-metylpropanol-(1) a od pH hodnoty zakotvených fáz v oblasti pH 3,5—6,5 tlmivými roztokmi podľa McIlvaina. Výsledky jednoznačne poukazovali na to, že táto zmes okrem vinkamínu a izovinkamínu obsahuje ešte jednu novú látku, a to vinkareín [1].

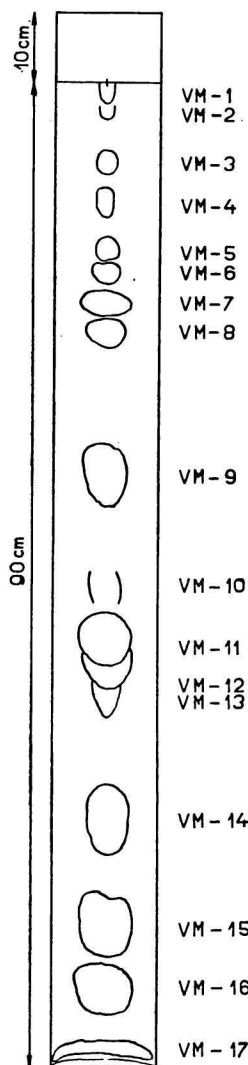
Petroléterová sústava oddeľuje tieto tri látky v úzkej oblasti pH, najlepšie pri pH 6,0. V benzénovej sústave sa v oblasti pH 4,0—6,5 dosiahlo dobré oddelenie vinkareínu, ale pretiahnutý tvar škvŕn sťažuje identifikáciu vinkamínu a izovinkamínu. Butyléterová sústava má optimálnu schopnosť oddeľovať všetky tri alkaloidy, a to pri pH 6,0. V sústave 2-metylpropanol-(1) sme dosiahli dobré oddelenie vinkareínu od zmesi vinkamínu a izovinkamínu, a to pri hodnotách pH 3,5—5,5.

Žltú frakciu B a jednotlivé zmesi alkaloidov  $P_1$ ,  $P_2$ , R,  $S_3$ ,  $S_2$ ,  $S_1$ , T a U

Tabuľka 1

Sústava rozpúšťadiel	Látka		pH						
			3,5	4,0	4,5	5,0	5,5	6,0	6,5
petroléter—McIlvainov tlmivý roztok (1 : 1)	vinkareín	<i>R<sub>F</sub></i>	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
	izovinkamín		0,0	0,0	0,0	0,0	0,4	0,08	0,11—0,21
	vinkamín		0,0	0,0	0,0	0,0	0,4	0,13	0,16—0,29
benzén—McIlvainov tlmivý roztok (1 : 1)	vinkareín	<i>R<sub>F</sub></i>	0,0	0,02	0,05	0,14	0,32—0,54	0,63	0,80
	izovinkamín		0,0	0,08	0,17	0,37—0,47	0,62—0,75	0,83	0,94
	vinkamín		0,0	0,08	0,17	0,45—0,47	0,68—0,79	0,83	0,94
butyléter—McIlvainov tlmivý roztok (1 : 1)	vinkareín	<i>R<sub>F</sub></i>	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,1	0,31
	izovinkamín		0,0	0,0	0,01	0,04	0,12	0,28	0,43—0,66
	vinkamín		0,0	0,02	0,03	0,09	0,22	0,42	0,43—0,66
2-metylpropanol-(1)—McIlvainov tlmivý roztok (1 : 1)	vinkareín	<i>R<sub>F</sub></i>	0,36	0,38	0,40	0,40	0,50	0,70	0,88
	izovinkamín		0,60	0,60	0,60	0,60	0,70	0,81	0,94
	vinkamín		0,60	0,60	0,60	0,60	0,70	0,81	0,94

sme chromatografiou na papieri rozdeľovali na impregnovaných papieroch pri rôznych pH hodnotách zakotvenej fázy, a to pri pH 2,5; 3,0; 3,5; 4,0; 4,5; 5,0 McIlvainovho tlmivého roztoku. Pohyblivou fázou bol jednak benzén alebo butanol-(1), jednak kombinácia týchto rozpúšťadiel či už za súčasného pridávania kyseliny mravčej (1, 3, 5—15 % celkového objemu) alebo bez nej. Najvhodnejšou sústavou rozpúšťadiel bol benzén—butanol-(1)—kyselina mravčia—McIlvainov tlmivý roztok o pH 3,5 (25 : 5 : 1 : 31), ktorou sme dokázali z jednej nanášky v žltej frakcii *B* na 90 cm dlhom papieri prítomnosť sedemnástich Dragendorffovým činidlom detegovateľných alkaloidov o týchto  $R_F$  hodnotách (tab. 2).

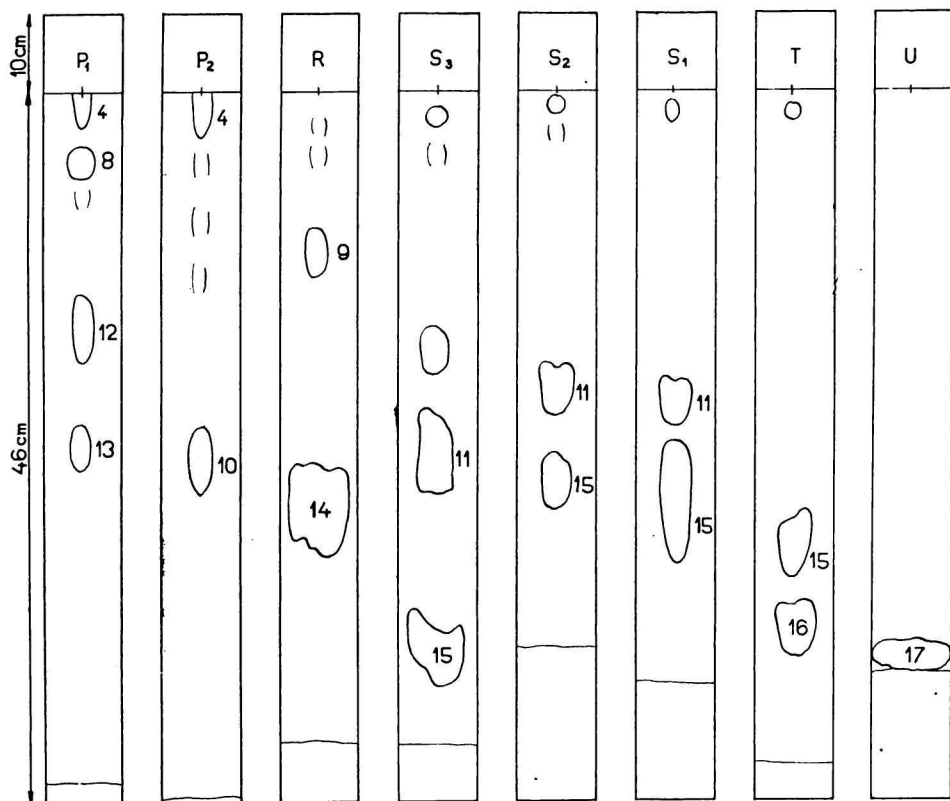


Tabuľka 2

Alkaloid	$R_F$	Poznámka
VM-1	0,009	—
VM-2	0,03	—
VM-3	0,08	—
VM-4 vinkareín	0,13	kryštalický
VM-5	0,17	—
VM-6	0,19	—
VM-7	0,23	—
VM-8	0,25	amorfný
VM-9	0,40	amorfný
VM-10	0,51	kryštalický
VM-11	0,57	amorfný
VM-12 vinkamín a izovinkamín	0,61	kryštalický
VM-13	0,63	kryštalický
VM-14 vinkanorín	0,75	kryštalický
VM-15	0,86	amorfný
VM-16	0,92	kryštalický
VM-17 vinkaminorín	0,99	kryštalický

Chromatogram 1. Sústava rozpúšťadiel: benzén—butanol-(1)—kyselina mravčia—McIlvainov tlmivý roztok o pH 3,5 (25 : 5 : 1 : 31); nanáška 750  $\mu\text{g}$  látky žltej frakcie *B*; papier Whatman 1 o rozmeroch 90,0 cm  $\times$  6,0 cm; čas vyvíjania 21 hodín; detekcia Dragendorffovým činidlom.

Táto sústava sa osvedčila i z preparatívneho hľadiska pri oddeľovaní jednotlivých alkaloidov protiprúdnym roztrepávaním podľa Craiga [1].



Chromatogram 2. Sústava rozpúšťadiel: benzén—butanol-(1)—kyselina mravčia—McIlvainov tlmivý roztok o pH 3,5 (25 : 5 : 1 : 31); nanáška 250  $\mu$ g frakcie P<sub>1</sub>, P<sub>2</sub>, R, S<sub>3</sub>, S<sub>2</sub>, S<sub>1</sub>, T a Ť z roztrepávania žltej frakcie B; papier Whatman 1 o rozmeroch 46,0 cm  $\times$  6,0 cm; čas vyvíjania 3—4 hodiny; detekcia Dragendorffovým činidlom.

Číslo škvrny odpovedá príslušnému VM-číslu uvedenému na chromatograme 1.

### Súhrn

Chromatografiou na papieri sme analyzovali zmesi alkaloidov z *Vinca minor* L.

Najlepšie rozdelenie kryštalickej zmesi alkaloidov A, ktorá obsahuje vinkamín, izovinkamín a vinkareín, sme dosiahli v sústave rozpúšťadiel butyléter—McIlvainov tlmivý roztok o pH 6,0 (1 : 1).

V žltej frakcii B zmesi alkaloidov sme chromatografiou na papieri v sústave rozpúšťadiel benzén—butanol-(1)—kyselina mravčia—McIlvainov tlmivý roztok o pH 3,5 (25 : 5 : 1 : 31) dokázali 17 alkaloidov, detegovateľných Dragendorffovým činidlom.

## АЛКАЛОИДЫ ИЗ *VINCA MINOR L.* (II) ОЦЕНКА БУМАЖНОЙ ХРОМАТОГРАФИЕЙ

О. БАУЭРОВА, Й. МОКРÝ, И. КОМПИШ, Ш. БАУЭР, Й. ТОМКО

Отдел химии алкалоидов Химического института Словацкой академии наук  
в Братиславе

### Выводы

Бумажной хроматографией мы провели анализ смеси алкалоидов из *Vinca minor L.* Самое лучшее деление кристаллической смеси алкалоидов *A*, которая содержит винкамин, *изовинкамин* и *винкареин*, мы достигли в системе растворителей бутилэфир—буферный раствор Мак-Илвейна о значении рН 6,0 (1 : 1).

В желтой фракции *B* смеси алкалоидов мы определили бумажной хроматографией в системе растворителей бензол—бутанол-(1)—муравьиная кислота—буферный раствор Мак-Илвейна о рН 3,5 (25 : 5 : 1 : 31) семнадцать алкалоидов, проявленных раствором Драгендорффа.

Поступило в редакцию 12. 12. 1960 г.

## ALKALOIDE AUS *VINCA MINOR L.* (II) BEWERTUNG MITTELS DER PAPIERCHROMATOGRAPHIE

O. BAUEROVÁ, J. MOKRÝ, I. KOMPIŠ, Š. BAUER, J. TOMKO

Abteilung für Chemie der Alkaloide des Chemischen Instituts  
an der Slowakischen Akademie der Wissenschaften in Bratislava

### Zusammenfassung

Unter Zuhilfenahme der Papierchromatographie haben wir ein Gemisch der Alkaloide aus *Vinca minor L.* analysiert.

Die beste Trennung des Kristallgemisches der Alkaloide *A*, welches Vincamin, *Isovincamin* und *Vincarein* enthält, wurde im System der Lösungsmittel Butyläther—McIlvainsche Pufferlösung mit einem pH-Wert 6,0 (1 : 1) erzielt.

In der gelben Fraktion *B* des Alkaloidengemisches vermochten die Autoren mittels der Papierchromatographie im System der Lösungsmittel Benzol—Butanol-(1)—Ameisensäure—McIlvainsche Pufferlösung mit einem pH-Wert 3,5 (25 : 5 : 1 : 31) siebzehn Alkaloide nachzuweisen, welche unter Anwendung des Dragendorffschen Reagens sichtbar gemacht wurden.

In die Redaktion eingelangt den 12. 12. 1960

### LITERATÚRA

1. Mokřý J., Kompiš I., Tomko J., Bauer Š., Bauerová O. (v tlači). —
2. Szász K., Szporny L., Bittner E., Gyenes I., Hável E., Magó I., Magyar Kém. Folyóirat 64, 296—297 (1958). —
3. Szász K., Kováts T., Karácsony M. E., Lőrincz Cs., Bayer J., Planta Medica 7, 234 (1959). —
4. Dębska M., Kaczmarek F., Planta Medica 7, 241 (1959). —
5. Trojánek J., Štrouf O., Kavková K., Čekan Z., Collection 25, 2045 (1960). —
6. Munier R., Macheboeuf M., Bull. soc. chim. biol. 31, 1144 (1949).

Do redakcie došlo 12. 12. 1960

### Adresa autorov:

PhMr. Oldřiška Bauerová, inž. Jozef Mokřý, C. Sc., inž. Ivan Kompiš, inž. dr. Štefan Bauer, C. Sc., inž. dr. Jozef Tomko, C. Sc., Bratislava, Mlynské nivy 37, Chemický ústav SAV.