

**IDENTIFIZIERUNG DER ALKALOIDE VON
DELPHINIUM STAPHISAGRIA L. (RANUNCULACEAE)
AUF DÜNSCHICHTCHROMATOGRAPHISCHEN
UND BIOLOGISCHEN WEGE**

Mustafa Güley*

Die Samen des *Delphinium staphisagria* (*Semen staphidis agria*) wurden früher und werden auch heute noch als Antiparasiticum bei Mensch und Haustiere (Vieh) benützt.

Delphinium staphisagria Samen enthalten Delphinin ($C_{33}H_{45}O_9$, N), Staphisin ($C_{21}H_{31}$, O N oder $C_{42}H_{60}$ O N₂), Delphonin ($C_{24}H_{39}$ O₇, N) und unbenannt ($C_{20}H_{29}$ O₅, N) Alkaloide (Boit¹).

An der Isolierung der *Delphinium* Alkaloide wurde von mehrere Forscher gearbeitet. Über Delphinin Jacobs und Craige⁵, Clemo und Nath², über Staphisin Jacobs und Craige⁶ und andere.

Zur Strukturauflklärung hat Schneider^{11, 12, 13, 17, 18} zahlreiche Untersuchungen gemacht.

Die Anfänge der Strukturforchung der *Delphinium* Alkaloide sind von Schneider¹⁶ sehr gut beschrieben worden.

Die pharmakologische Wirkungen der Quartären Delphininderivaten sind von Schneider und Enders¹⁴ untersucht worden.

Eine Trennung der Salze zur Identifizierung dieser flüchtigen Basen sind erstmalig papierchromatographisch von Schneider¹⁵ versucht worden.

Die toksikologische Identifizierung der Gesamtalkaloide aus *Delphinium staphisagria* wurde von Güley⁴ biologisch probiert.

Extraktion der Alkaloide

Die Samen, die von Güley selbst (Kanhdivane, Mersin-Türkei) gesammelt und im Schatten getrocknet wurden durch eine Kaffee-

* Prof. Dr. Med. Vet. im pharmakologischen und toksikologischen Institut der veterinärmedizinischen Fakultät, Ankara - Türkei.

mühle fein gepulvert und die Gesamtalkaloide nach der Methode von Stas-Otto isoliert. Die Extrakte wurden im Rotationsumlaufverdampfer im Vakuum eingeeengt. Der leicht sirupöse Rückstand wurde mit Wasser aufgenommen. Die vom Fett und andere pflanzliche Stoffe durch filtration befreite, schwach saure Lösung wird mit Petroläther zur Beseitigung von Verunreinigungen geschüttelt. Der Chloroformextrakt wurde jeweils in aliqueten Mengen durch Agla Spritze auf Dünnschichtplatten nach Stahl¹⁹ aufgetragen und chromatographiert. Die Alkaloidfraktionen wurden mit dem Dragendorffreagens (modifiziert nach Munier-Macheboeuf, Merck⁷) sichtbar gemacht und photographiert.

Der Chloroformextrakt wurde auch bei Tieren (Mäuse) biologisch untersucht.

Als Vergleichsubstanz dienten rein Aconitin Fluka und Delphinin Fluka.

Die Ergebnisse

I - Dünnschichtchromatographie (D.C).

Aus Versuchen mit dem verschiedensten Fliessmittelgemischen wurde gefunden, dass die Verwendung des Fliessmittelgemisches Butylazetat (85 % Merck): Eisessig: Wasser: (47:6:3), welches früher von Schneider¹⁵ bei der Papierchromatographie derselben Alkaloide angewandt werden, die beste Resultate lieferte. Versuche mit den verschiedensten Sorptionsmittel (gepuffert und ungepuffert) ergaben als brauchbares Sorptionsmittel Aluminiumoxid G Merck (30 g + 60 ml Wasser).

Abbildung 1 zeigt (von links nach rechts) I mit R_f Werte 0,29 Aconitin (20 γ); II Chloroformextrakt von Delphinium staphisagria (Von unten nach oben) 1. $R_f = 0,29$, 2. $R_f = 0,39$, $R_f = 0,48$; III Delphinin (20 γ) mit $R_f = 0,39$. Alle Flecke waren scharf abgegränzt und sehr intensiv gefärbt.

II - Tier Versuche

Als Versuchstier dienten weisse Mäuse (eigene Zucht) von Ca 20 g Gewicht.

Getestet wurden die Vergleichsubstanzen, Aconitin Fluka und Delphinin Fluka wurden 5 γ /20 g Maus, sowie die durch dünnschichtchromatographisch preparativ getrennten Alkaloidfraktionen gelöst in 0,5 % ige Essigsäure. Alle injektionen erfolgten s.c. 15-25 Minuten

nach der Injektion zeigten die Mäuse spezifische Respirationzeichen. Nur die 3. (c) Fraktion ($R_f = 0,48$) zeigte keine Wirkung.

Das Verfahren beruht auf einer charakteristischen Wirkung des Delphiniumstoffes an der Respiration von Mäuse, die früher von Pulewka und Grevener⁸ bei Aconitin, von Pulewka und Mitarbeitern⁹ bei Aconitin und Veratrin, Pulewka¹⁰ bei Andromedotoxin, Güley^{3,4} bei Protoveratrin, Rhododendronextrakten und Delphinium staphisagria Gesamtalkaloidrückstände beschriebenen Wirkungen ähnlich ist.

Diskussion

1 - Durch Dünnschichtchromatographie konnten aus dem Extrakt von Delphinium staphisagria L. 3 Alkaloidfraktionen isoliert werden. Es handelt sich um die gleichen Fraktionen, die Schneider¹⁵ durch Chromatographie mit Natrium azetat (0,2 % ige) -papieren erhielt.

Die Wirkungen von Natrium azetat, in den verschiedensten Concentrationen brachte in der Dünnschichtchromatographie keine Verbesserung der Trennung.

2 - Da uns als Vergleichsubstanz von Delphinium staphisagria L. Alkaloiden nur Delphinium purum zur Verfügung stand, konnten die Alkaloidfraktionen 1. (a) und 3. (c) (von unten nach oben in der Mitte von Abb. 1. und 2.) nicht identifiziert werden.

Schneider¹⁵ hatte 1. (a) Fraktion (auf Papierchromatogram mit R_f Werte 0,20) Staphisin bezeichnet.

Zusammenfassung

1 - Mit Hilfe der Dünnschichtchromatographie und zwar als Fließmittel Butylazetat (85 % Merck): Eisessig: Wasser (47:6:3) und Sorptionsmittel Aluminiumoxid G (Merck) wurden die Alkaloide aus Delphinium staphisagria L. getrennt und durch Dragendorffs-reagens (modifiziert nach Muncie-Macheboeuf) sichtbar gemacht.

Die Methode ist für pharmakognostische und toksikologische Zwecke verwendbar.

2 - Die weiße Maus ist das empfindlichste Versuchstier zum Nachweis der Alkaloide (Delphinin, Staphisin) aus Delphinium staphisagria L.

Die Mäuse zeigen mit geringsten Alkaloidmengen die spezifischen Respirationzeichen ohne dass der Tod eintritt.

Diese Arbeit ist im pharmakologischen Institut der Justus Liebig Universität während meines Aufenthaltes in Giessen durchgeführt worden. Ich danke an dieser Stelle dem verstorbenen Herrn Prof. med. Dr. W: Grab für die herzliche Aufnahme in seinem Institut. Mein Dank gilt ferner Herrn Dr.K.O.Räker für seine Hilfe bei der Durchführung der Untersuchungen.

Özet

Delphinium staphisagria L. (Ranunculaceae) Alkaloid'lerinin İnce Tabaka Kromatografisi ve Biyolojik Yolla Tanınmaları

Değirmende öğütülerek toz edilmiş tohumlardan alkaloid'ler Stas-Otto metodu ile izole edildikten sonra alkali ortamda kloroformla çalkanarak uygun miktar kloroform ekstraktı Agla şırıngası yardımı ve Stahl⁹ in bildirdiği tarzda hazırlanmış ince tabaka plaklarına nakledilmiştir.

Mukayese materyalı olarak Akonitin Fluka ve Delfinin Fluka kullanılmıştır. Denenen çeşitli sorption maddelerinden en iyi sonuç alüminyum oksid G Merck (30 g + 60 ml su) ile elde edilmiştir. Taşıma solvan'ı olarak butil asetat (85 % Merck): asetik asid: su (47:6:3) karışımı kullanılmıştır. Çeşitli alkaloid fraksiyon ürünleri ile mukayese materyalı alkaloid lekeleri Munier-Machenboeuf tarafından modifiye edilmiş (Merck⁷) Dragendorff ayracı ile belirtilmişlerdir.

I - İnce tabaka kromatografisi.

İnce tabaka kromatogram fotoğrafı (Şekil. 1) ve alkaloidlerin R_f değerleri çizelge (Şekil.2) de gösterilmiştir.

II - Biyolojik.

(Şekil.2) deki çizelgede gösterilen Staphisin (a) ve Delphinin (b); önceleri Pulewka ve Grevener⁸, in Aconitin, Pulewka ve arkadaşlarının¹⁰ Andromedotoxin, Güley^{3,4} in Protoveratrin, Rhododendron ekstraktı ile Delpphinium staphisagria alkaloid karışımlarının beyaz faredede meydana geldiğini bildirdikleri tipik respirasyon işareti göstermişler, (c) fraksiyonu etkisiz kalmıştır.

Literatur

- 1 - **Boit, H.G.** (1961): *Ergebnisse der Alkaloid Chemie bis 1960* Akademi Verlag, Berlin.
- 2 - **Clemo, G.R. and Nath, B.** (1952): *J. of the Chem. Soc. (Lond.)* 1750.
- 3 - **Güley, M.** (1953): *Samsun ve Trabzon bölgeleri tabii ve zehirli bitkilerden başlıcalarının farmakodinamik etkileri ve tedavideki önemleri.* Veteriner Fakültesi. Y. 49. Ç. 26. 24, 34, 88.
- 4 - **Güley, M.** (1961): *Özel Respiration işareti veren Delphinium, Delphinium staphisagria L. (Ranunculaceae).* Veteriner Fakültesi Dergisi C. VIII. No. 3, 255.
- 5 - **Jacobs, W.A. and Craige, L.C.** (1939): *J. Biol. Chem.* 127, 361.
- 6 - **Jacobs, W.A. and Craige, L.C.** (1941, 1944): *J. Biol. Chem.* 141. 67, (1941) und 152, 645 (1944).
- 7 - **Merck, E. (O.J.)**: *Chromatographie.* Darmstadt. 2. Auflage.
- 8 - **Pulewka, P. und Grevener, A.** (1934): *Arch. f. exp. Path. u. Pharmakol.* Bd. 177, 74.
- 9 - **Pulewka, P., Erkmen, R., Yeğinsoy, A.T.** (1938): *Versuche zur Quantitativen Bestimmung des Aconitins und zur Auswertung aconitinhaltiger Heilmittel auf biologischen Wege.* Türkische Zeitschr. f. Hygiene u. exp. Biologie. Bd. 1. Nr. 1, 16.
- 10 - **Pulewka, P.** (1941): *Andromedotoxin ihtiva eden bal ve bunun zehirliliğini tayin için biyolojik bir metod hakkında.* Türk, Hıfzıssıhha ve tecrübi biyoloji mecm. 2/2,7.
- 11 - **Schneider, W.** (1950): *Arch. Pharmaz. Ber. dtsh. pharmaz. Ges.* 283, 86.
- 12 - **Schneider, W.** (1950): *Arch. Pharmaz. Ber. dtsh. Pharmaz. Ges.* 283, 281.
- 13 - **Schneider, W.** (1951): *Die Alkaloide der Gattung Delphinium.* Pharm. ZH. f. D. 90, 151.
- 14 - **Schneider, W. u. Enders, A.** (1955): *Zur Pharmakologie von Quartären Delphinin Derivaten.* *Arzneim. Forsch.* 5. 324.
- 15 - **Schneider, W.** (1955): *Zur Konstitution des Alkaloids Delphinin.* *Arch. Pharmaz. Ber. dtsh. Pharmaz. Ges.* 288, 365.
- 16 - **Schneider, W.** (1957): *Die Anfänge der Strukturforshung der Delphinium Alkaloide.* *Pharm. ZH.* 96.8/9, 470.

- 17 - **Schneider, W.** (1957): *Diterpen-Alkaloide* *Arzneim. Forsch.* 7, 485.
- 18 - **Schneider, W.** (1959): *Die Struktur des Diterpenalkaloids Delphinin.* *Arch. Pharmaz.* 293/65. H. 6, 577.
- 19 - **Stahl, E.** (1962): *Dünnschicht-Chromatographie.* Springer Verlag. Berlin, Göttingen, Heidelberg.

Eingegangen am 1 Dezember 1965.

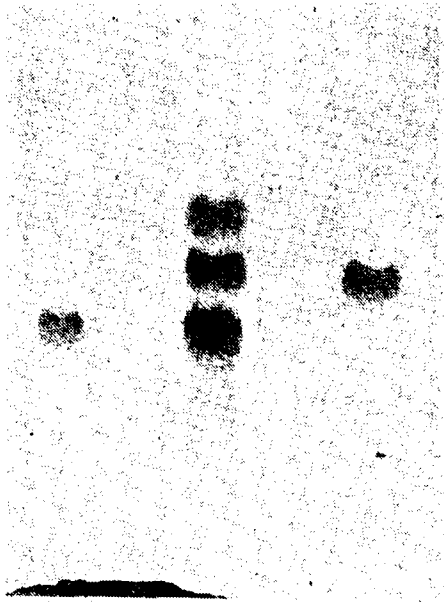


Abb. 1: D.C. Al_2O_3 . Laufmittel: Butylacetat, Eisessig, Wasser (47:6:3). Laufzeit: 2 Std. Laufstränge: 9,3 cm. Von links nach rechts Aconitum purum Fluka (20 γ), Chloroformextrakt von *D. staphisagria* Samen, Delphinium purum Fluka (20 γ).

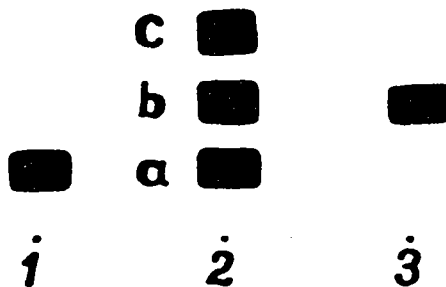


Abb. 2: 1. Aconitin (20 γ , $R_f = 0,29$), 2. Chloroformextrakt von *D. staphisagria* (a. $R_f = 0,29$, b. Delphinin $R_f = 0,39$, c. $R_f = 0,48$), 3. Delphinin purum Fluka (20 γ , $R_f = 0,39$).