

ZUR FRAGE DES NACHWEISES VON DER ANAGYRIS FOETIDA L. (LEGUMINOSAE) ALKALOIDEN

Mustafa Güley*

Anagyris foetida L. enthält Alkaloide, die Vergiftungsfälle bei Menschen und Haustieren verursachen können. Ausser Cytisin ($C_{11} H_{14} O N_2$), Anagyrin ($C_{15} H_{20} O N_2$), Methylcytisin (Caulophillin) ($C_{12} H_{16} O N_2$) und d-Sparteïn (Pachicarcin) ($C_{15} H_{26} O N_2$) (Boit¹).

Die Alkaloide von *Anagyris foetida* sind zuerst von Partheil und Spasski¹¹ entdeckt und genannt worden. Litterscheid⁸, Goessmann³, Klostermann⁷, Späth und Galinowsky¹⁴, und Ing⁵ haben über Isolierung, Trennung, Identifizierung und Konstitutionsformula von *Anagyris foetida* Alkaloide gearbeitet. Später hat Ing⁶ neben zwei Hauptalkaloide im Samen von *Anagyris foetida* in geringen Mengen N-methylcytisin und d-Sparteïn isoliert.

Eigene Untersuchungen besteht die Ergebnisse von Ing⁶.

N-methylcytisin ist erst von Power und Salway¹² in *Caulophyllum thalictroides* gefunden. Orechov und Mitarb.¹⁰ haben d-Sparteïn aus *Sophora pachycarpa* und *Theropsis lanceolata* isoliert. *Theropsis lanceolata* enthält auch Anagyrin und N-methylcytisin.

Nach Ing^{5,6} ist d-Sparteïn identisch mit hexahydrodeoxyanagyrin.

Die Menge von d-Sparteïn in *Anagyris foetida* ist sehr gering, dass eine Gewinnung aus dem Samen sich nicht lohnt.

Extraktion der Alkaloide

25 g *Anagyris foetida* Samen [die von Güley aus wild wachsende Pflanzen (Kanhdivane - Mersin, Türkei) selbst gesammelt und im schatten getrocknet] wurden durch Kaffeemühle fein gepulvert und die Alkaloide nach der Methode Ing⁵ (die teilweise abgeändert wurde) extrahiert. Und zwar wurde gepulvertes Pflanzenmaterial mit 10 %

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

seines Gewichtes mit $\text{Ca}(\text{OH})_2$ angefeuchtet und mit 250 ml 90 % ige Ethyl Alkohol percoliert. Der Alkohol wurde im Rotationsumlaufverdampfer im Vakuum verdampft. Der leicht sirupöse Rückstand wurde mit 0,5 % ige Essigsäure aufgenommen und um farbige und andere Pflanzenstoffe zu entfernen vier Mal mit je 25 ml Benzol in einen Schütteltrichter extrahiert. Die Stammlösung wurde dann durch NH_3 alkalisch gemacht und drei Mal mit je 25 ml Benzol und drei Mal mit je 25 ml Chloroform ausgeschüttelt.

Die Benzol und Chloroform Extraktlösungen wurden jeweils in aliqueten Mengen durch Agla Spritze auf Dünnschicht Platten nach Stahl¹³ aufgetragen und mit dünschichtchromatographisch und bei Tieren (Taube) untersucht.

Die Alkaloide konnten auf Grund ihrer Anfärbbarkeit mit dem Dragendorff-reagens (modifiziert nach Munier-Macheboeuf, Merck⁹) sichtbar gemacht werden.

Als Vergleichsubstanz diente Cytisin purum Fluka (5 mg/10 ml Chloroform).

Die Ergebnisse

I- Dünnschichtchromatographie

Das beste Fließmittel war Butanol 96 + 98 % ige Ameisensäure 8 + Wasser 56. Das Gemisch wurde in einem Scheidetrichter kräftig geschüttelt und darin zur Faser Trennung 3 Stunden belassen. Untere Faser diente als Gasfaser und obere Schicht nach Filtration als Fließmittel.

Als Sorptionsmittel diente Aluminiumoxid G Merck (30 g + 60 ml Wasser). Laufzeit 2 Stunden. Laufstränge 9,5 cm. Die Alkaloidfraktionen mit den Flecken der Vergleichsubstanz zeigen (Abb. 1 und 2.).

II- Biologisch

1 - Als Versuchstier dienten Tauben von ca 400 g Gewicht. Vergleichsubstanz (Cytisin purum Fluka) wurde 5 mg/Kg. Körpergewicht I.M. (im Brustmuskel) injiziert. Nach einigen Minuten wurde das Tier von Brechreiz befallen und 15 Minuten später wurden beide Beine des Tieres nach rückwärts gestreckt (strychninartige Krämpfe, Gessner²).

2 - Der Rückstand von 8 ml des Benzolextraktes (Anagyrin) wurde 1 ml 0,5 % ige Essigsäure gelöst und wie oben eine andere Taube injiziert. Das selbe Erscheinungsbild jedoch ohne Brechreiz zeigte sich 5 Minuten nach der Injektion.

3 - Der Rückstand von 8 ml Chloroform Extrakt (Cytisin) wurde auch wie 2. oben andere Taube injiziert und die Bein Streckung trat nach 20 Minuten mit mehrmaligen Erbrechen ein.

Diskussion

1 - Da uns als Vergleichssubstanz nur Cytisin zur Verfügung stand, konnten 2 Fraktionen (Abb. 1 von unten nach oben 2. und 3. und Abb. 2 c und d) nicht mehr identifizieren werden.

Nach Ing^s kann Fraktion 3 (Abb. 1) (von unten nach oben) und (d, Abb. 2) bei Chloroform- und Benzolextrakten, Anagyrin sein.

2 - Als Versuchstier zum biologischen Nachweis der Extraktionen mit Chloroform (a, Cytisin) und Benzol (d, Anagyrin) (Abb. 2) diente die Taube. Diese Tiere zeigen nach der Alkaloidrückstand Injektionen Sträksymptome der Beine wie sie schon früher von Güley⁴ für die Gesamtalkaloide aus *Anagyris foetida* beschrieben wurden.

Zusammenfassung

1 - Mit Hilfe der Dünnschichtchromatographie wurden die Alkaloide aus *Anagyris foetida* getrennt. Die Methode eignet sich für pharmakognostische und toksikologische Untersuchungen.

2 - Die Taube ist das geeignete Versuchstier zum Nachweises der Alkaloide aus *Anagyris foetida* L.

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. Rärer für seine Hilfe bei der Durchführung der Untersuchungen.

Ö z e t

***Anagyris foetida* L. (Leguminosae) Alkaloidlerinin tanınması**

Öğütülmüş *Anagyris* tohumları etken maddeleri, kısmen değiştirilmiş Ing^s metodu ve % 10 Ca (OH)₂ ile karıştırıldıktan sonra 90° lik alkolle ve perkolasyon yolu ile izole edildi. Alkolün vakum'da uçurulmasından ve kalıntının % 0,5 asetik asidli suda eritilmesinden

sonra benzolle çalkanarak temizlendi. Amonyakla alkali yapıp önce benzol sonra kloroformla çalkanarak elde edilen ekstraksiyonlardan belirli miktarlar Agla şırıngası yardımı ve Stahl¹³ metodu ile ve Alüminyum oksid G Merck (30 g + 60 ml su) le hazırlanmış ince tabaka plaklarına nakledildi. Taşıma solvan'ı olarak Butanol 96 + % 98 lik Formik asid 8 + Su 56 karışımı kullanıldı.

Kloroform, Kloroform + Benzol, Benzol ekstraktları ile mukayese materyali olarak kullanılan Cytisin purum Fluka alkaloid lekeleri Munier-Machenboeuf tarafından modifiye edilmiş (Merck⁹) Drogen-dorff ayracı ile belirtildi.

I- İnce tabaka kromatografisi.

İnce tabaka kromatogram fotoğrafı (Şekil. 1) ve alkaloid'lerin R_f değerleri (Şekil. 2) deki çizelgede gösterilmiştir.

II- Biyolojik

Kloroform ekstraksiyon fraksiyonu (2,a) Cytisin ile benzol ekstraksiyon fraksiyonu (4,d) Anagyrin güvercinlere intra muskuler olarak şırınga edildikte önceleri Güley⁴ tarafından Anagyris foetida'nın alkaloid karışımı ile bildirdiği şekilde ve şuur kaybı husule gelmeden bacakların geriye doğru kasıldıkları tesbit edilmiştir.

L i t e r a t u r

- 1 - **Boit, H.G.** (1961): *Ergebnisse der Alkaloid Chemie bis 1960*. Akademi Verlag. Berlin. 179, 180, 181, 184.
- 2 - **Gessner, O.** (1953): *Die gift-und Arzneipflanzen von Mitteleuropa*. Heidelberg. Carl Winter Universitätsverlag, 61.
- 3 - **Goessmann, L.** (1906): Arch. Pharm. 244, 30 Zit. bei Ing.
- 4 - **Güley, M.** (1960): *Anagyris foetida L. (Leguminosae). Fena kokulu Çalı, Zıvırcık, A. Ü. Veteriner Fakültesi Dergisi VII, 4, 275.*
- 5 - **Ing. H.R.** (1933): *The Alkaloids of Anagyris foetida and their Relation to the lupin Alkaloids*. Journ. Chem. Soc. Lond. 504.
- 6 - **Ing. H.R.** (1935): *The Alkaloids of Anagyris foetida part II*. Journ. Chem. Soc. Lond. 1053.
- 7 - **Klostermann** (1900): Arch. Pharm. 238, 191, 230, Zit. bei Ing. (5).
- 8 - **Littersheid** (1900): Arch. Pharm. 238, 227, Zit. bei Ing (5).
- 9 - **Merck, A.G.** (o.J.): *Chromatographie*. Darmstadt 2. Auflage.
- 10 - **Orechov und Mitarb.** (1933): Ber. 66 und 621, 625, Zit. bei Ing (6).

- 11 - **Partheil and Spasski** (1895): Apoth. Ztg. 10, 903, Zit. bei Ing. (5).
 12 - **Power and Salway** (1913): J. 103, 194, Zit. bei Ing. (6).
 13 - **Stahl, E.** (1962): *Dünnschicht-Chromatographie*. Springer-Verlag, Berlin, Göttingen, Heidelberg.
 14 - **Spath, E. und Galinowsky, F.** (1933): *Zur Konstitution des Cytisin*. Ber. Dtsch. Chem. Ges. 66, 1338.

Eingegangen am 1. Dezember 1965.



Abb.1: D.C. Al_2O_3 . Laufmittel: (Butanol 96+98 % Ameisensäure 8 + Wasser 6). Laufzeit: 2 Std. Laufstr. 9,3 cm. Von links nach rechts Cytisin purum Fluka (40 γ), Chloroformext. (0,08 ml), Chloroform- und Benzolext. (0,08 + 0,08 ml) und Benzolext. (0,08 ml) von *Anagyris foetida* Samen.

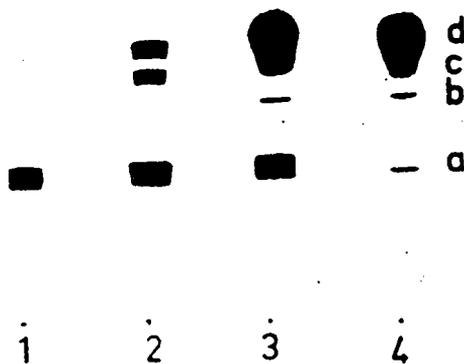


Abb.2: 1. Cytisin purum Fluka (40 γ , Rf = 0,39), 2. Chloroformextrakt (a. Cytisin Rf = 0,40, c. Rf = 0,69, d. Rf = 0,75), 3. Chloroform + Benzolextrakt (a. Rf = 0,39, b. Rf = 0,57, d. Rf = 0,76), 4. Benzolextrakt (a. Rf = 0,41, b. Rf = 0,57, d. Rf = 0,76) von *Anagyris foetida* Samen.