

PÔVOD HYPOTENZÍVNEJ ÚČINNOSTI *ACHILLEA MILLEFOLIUM L.*

Š. BAUER, L. MASLER, Š. ORSZÁGH

Oddelenie farmaceutickej chémie a biochémie Chemického ústavu Slovenskej akadémie vied v Bratislave

*Achillea millefolium L. (Asteraceae)* sa vo fytoterapii používa v najrozmanitejších indikáciách, z ktorých najzaujímavejšia je pri hypertonickej chorobe [1]. Pretože odborná literatúra bližšie necharakterizuje hypotenzívny princíp v droge, podrobili sme ju chemickému rozboru za účelom zistenia účinnej látky tohto charakteru. Pripravili sme preto sériu extraktov, ktoré sme podrobili informatívnym skúškam na hypotenzívny účinok. Extraktory sme pripravili takto:

Droga sa extrahovala 10 násobným množstvom 1 % -ných minerálnych kyselín, ako aj kyselinou octovou, resp. metanolom. Extrakt po odparení vo vákuu\* do sirupovitej konzistencie sa extrahoval 5 násobným množstvom metanolu. Metanolový extrakt po vákuovom odparení sa rozpustil v 5 násobnom množstve vody a obvyklým spôsobom sa prečistil čerstvo pripraveným hydroxydom olovnatým. Takto získaný vodný extrakt sa opäť vákuove odparil a zvyšok sa rozpustil v 5 násobnom množstve metanolu. Potom sa do metanolového roztoku pridal rovnaký objem etanolu a vzniknutá zrazenina sa odfiltrovala. K metanol—etanolovému filtrátu sa pridal rovnaký objem éteru, zrazenina sa odfiltrovala a z filtrátu po odparení do sucha sa pripravil 10 % vodný roztok na informatívne farmakologické pokusy. Jednotlivé zrazeniny vzniknuté pri extrakčnom postupe nejavili vo forme 10 % vodného roztoku prakticky nijaký hypotenzívny účinok.

Hypotenzívne účinky jednotlivých extraktov sú uvedené v tab. 1.

Tabuľka 1

extrahovadlo	% poklesu krvného tlaku u mačiek pri aplikácii		
	10 mg/kg	20 mg/kg	50 mg/kg
kyselina soľná 1 %	34,6	—	—
kyselina sírová 1 %	37,1	—	—
kyselina octová 1 %	—	54,0	—
metanol	—	47,5	46,3

Ako vyplýva z tab. 1, podarilo sa nám kvalitatívne dokázať prítomnosť hypotenzívne účinného princípu, pričom však jeho fyzikálno-chemická charakteristika nám ostala zatiaľ neznáma. Ako základ pre ďalšie bádanie sme brali do úvahy tieto dosiaľ v odbornej literatúre spomínané poznatky:

Prvý sa touto drogou po chemickej stránke zaoberal B. Zanon [2], ktorý z vodného extraktu drogy izoloval hnedú amorfnú hygroskopickú látku. Pomenoval ju achileín.

Roku 1870 A. v. Planta-Reichenau [3] izoloval z drogy *Achillea moschata* hnedý hygroskopický prášok sumárneho vzorca  $C_{20}H_{38}N_2O_{15}$  a predpokladal, že je to glykoal-

\* Všetade, kde sa v tejto práci uvádza vákuum, ide o vákuum vodnej pumpy.

kaloid. Nazval ho tak isto achileín. Tento po hydrolyze s minerálnou kyselinou poskytol hnedý prášok sumárneho vzorca  $C_{11}H_{17}NO_4$ , o ktorom predpokladal, že je aglykónom achileínu, a pomenoval ho achiletín. Aglykón ani jeho cukornú zložku však bližšie necharakterizoval.

Roku 1954 izolovali F. M. Miller a Lee Ming Chow [4] achileín, pričom dokázali, že nejde o glykoalkaloid, ale o alkaloid sumárneho vzorca  $C_{14}H_{26}N_2O_6$  s hemostatickým účinkom, ktorý pripomína nej droge pozoroval už r. 1944 M. N. Varlakov [5].

Pri reprodukcii práce A. v. Reichenaua sme síce získali „achileín“ ako hnedý hygroskopický prášok (v množstve 0,6 %), avšak tento obsahoval veľké množstvo balastných látok, takže ho nemožno považovať za jednotnú látku.

Prácu F. M. Millera a Lee Ming Chowa, ktorí na izoláciu alkaloidu achileínu z *Achillea millefolium* ako vymieňač iónov použili Amberlit IR 120, sme reprodukovali za použitia vymieňačov iónov Wofatit F<sup>1</sup> a Katex FN<sup>2</sup>. V oboch prípadoch však bez výsledku. Preto sme drogu podrobili kvalitatívnemu rozboru extrakčným systémom podľa Gadamera [6]. Extrakciu sme vykonali takto: Drogu sme extrahovali etanolom, etanolový extrakt sme po odparení rozpustili v dostatočnom množstve vody a postupne vytrepávali prírodným pH rozpúšťadlami uvedenými v tab. 2.

Tabuľka 2

pH vodného roztoku	rozpušťaadlo	skúška na alkaloidy a glykozidy*
4	éter	negatívna
4	chloroform — etanol 9 : 1	negatívna
9	éter	negatívna
9	chloroform	negatívna
6	chloroform	negatívna
6	chloroform — etanol 9 : 1	negatívna

\* Podľa Mayera, Scheiblera a Brunner — Pettenkofera [6].

Vodný roztok po vytrepaní uvedenými rozpúšťadlami dával pozitívnu reakciu so Scheiblerovým a Brunner-Pettenkoferovým činidlom.

Z uvedeného vidieť, že látky reagujúce na alkaloidové a glykozidové činidlá sa nachádzajú v najpolárnejšej časti extrakčného systému. Pri informatívnych farmakologických skúškach javili tieto surové extrakty značný hypotenzívny účinok.

V ďalšej práci sme sa snažili izolovať hypotenzívne účinné látky prietokovou chromatografiou podľa Reichsteina [7, 8] na stĺpci  $Al_2O_3$  podľa Brockmanna, aktivovaného podľa Reichsteina [9] takto:

Droga sa extrahovala etanolom. Etanolový extrakt sa prefiltraval a zahustil. K zahustenému extraktu sa pridávala voda, kým vznikala zrazenina. Zrazenina sa odfiltravala a filtrát sa vyzrážal hydroxydom olovnatým. Filtrát po olovnatých soliach sa frakčne extrahoval za použitia extrahovadiel uvedených v tab. 3.

Benzénová a éterová frakcia sa ďalej nespracovávali. Frakcia chloroform—etanolová 9 : 1 sa chromatografovala na  $Al_2O_3$ . Ani jedna frakcia neposkytla kryštalickú látku.

<sup>1</sup> Wofatit F nám dodala Slovakofarma, n. p., Hlohovec.

<sup>2</sup> Katex FN pripravil inž. J. Šmid z Výskumného ústavu syntetických živíc, za čo mu na tomto mieste ďakujeme.

Tabuľka 3

extrahovadlo	množstvo v ml	odparený zvyšok	
		váha v g	vzhľad
petroléter	500	—	—
benzén	2250	2,41	olej
éter	2250	1,59	olej
chloroform	1200	—	—
chloroform — etanol 9 : 1	3000	4,53	živičná látka
chloroform — etanol 1 : 1	5000	15,00	živičná látka

Frakcia chloroform—etanolová 1 : 1 po chromatografii na  $Al_2O_3$  tak isto neposkytla kryštalickú látku.

Chromatografické frakcie dávajúce odparok sa spojili a acetylovali, aby sa znížila polarita chromatografovaných látok. Acetylované látky sa znovu chromatografovali na  $Al_2O_3$ , pričom jednotlivé frakcie poskytli zvyšky nedefinovateľných živičných látok.

Vodná fáza po frakčnej extrakcii sa odparila vo vákuu do sucha a zvyšok sa rozpustil v metanole. Metanol sa vo vákuu odparil a zvyšok sa rozpustil vo vode. Vodný roztok sa odparil vo vákuu do sucha a chromatografoval na stĺpci  $Al_2O_3$ . Kryštály izolované z metanolových frakcií boli identifikované ako KCl. Ostatné frakcie poskytli len nedefinovateľné živičné látky.

Pretože ani prietokovou chromatografiou sme nedosiahli žiadany výsledok, pokúsili sme sa vysokopolárne alkaloidy izolovať cez ich chloroplatičitany takto:

Rozomletú drogu sme extrahovali metanolom, metanol sme odparili a sirupovitý zvyšok zriedili vodou. Takto získaný extrakt sme vyžrážali hydroxydom olovnatým. Filtrát po olovnatých soliach sme odparili vo vákuu do sucha a rozpustili v absolútnom metanole, čím sme odstránili anorganický podiel. Po filtrácii sme extrakt odparili vo vákuu a znovu rozpustili v absolútnom metanole. Napokon metanolový extrakt sme zrážali rovnakým objemom etanolu.

Po odfiltrovaní zrazeniny metanol—etanolový extrakt sme zrážali rovnakým objemom éteru, čím sa vyžrážali gumovité látky. Po filtrácii sme metanol—etanol—éterový extrakt odparili vo vákuu do sucha a rozpustili vo vode. Vodný extrakt sme odparili do sucha a zvyšok rozpustili v absolútnom etanole. Nerozpustný zvyšok sme odfiltrovali a etanolový filtrát vyžrážali absolútnym acetónom. Etanol—acetónový extrakt sme vákuove odparili do sucha a rozpustili v absolútnom etanole. Etanolový roztok sme vyžrážali 10 % roztokom kyseliny chloroplatičitej v absolútnom etanole. Vzniknutý chloroplatičitan sme vyvarili absolútnym etanolom, rozpustili vo vode a platínu vyredukovali vodíkom. Po odfiltrovaní platiny sme vodný roztok odparili vo vákuu. Zvyšok tvorili rozplývavé kryštály v množstve 0,025 %, počítané na východiskovú drogu, ktoré boli identifikované ako cholín.

### Experimentálna časť

Všetky body topenia sú nekorigované.

#### Isolácia cholínu

20 kg drogy sa 5 dní extrahovalo 275 l metanolu. Extrakt sa zahustil do sirupovitej konzistencie. Váha sirupovitého zvyšku bola 5,23 kg.

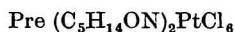
K zvyšku sa pridalo 5,23 kg destilovanej vody na vyzrážanie chlorofylu a živočíchých látok nerozpustných vo vode. Vzniknutá tmavá zrazenina sa odfiltrovala a filtrát hnedo-červenej farby sa pretrepal 250 g čerstvo pripraveného hydroxydu olovnatého, aby sa odstránili kyseliny. Na druhý deň sa olovnaté soli odfiltrovali a filtrát sa zbavil olova vyzrážaním sirovodíkom. Vzniknutý sírník olovnatý sa odfiltroval a filtrát sa zahustil vo vákuu do sirupovitej konzistencie.

1273 g sirupovitého zvyšku sa rozpustilo v 5 l absolútneho metanolu, pričom sa vylúčila filtrovateľná kryštalická zrazenina, ktorá sa viackrát prekryštalovala z horúcej vody. Získalo sa 95 g chloridu draselného. Metanolový roztok sa odparil vo vákuu do sucha, 1100g zvyšku sa rozpustilo v 3,5 l absolútneho metanolu a pridalo sa 6 l absolútneho éteru, ktorým sa z roztoku vyzrážala gumovitá zrazenina o váhe 954 g. Číry roztok sa zliat a zahustil vo vákuu do sucha.

Zvyšok 146 g sa rozpustil v 450 ml destilovanej vody, vzniknutá zrazenina 48 g sa odfiltrovala a filtrát sa vo vákuu odparil do sucha. Zvyšok 98 g sa za varu extrahoval 200 ml absolútneho etanolu, vzniknutá zrazenina sa odfiltrovala, filtrát sa prečistil živočíšnym uhlím a zrážal absolútnym acetónom, až vznikala zrazenina. Zrazenina sa odfiltrovala a číry filtrát sa odparil vo vákuu do sucha. Zvyšok vážil 53 g.

50 g zvyšku sa rozpustilo v 250 ml absolútneho etanolu a zrážalo sa 10 % roztokom kyseliny chloroplatickej v absolútnom etanole, až kým vznikala zrazenina. Zrazenina sa odfiltrovala a dvakrát vyvarila 150 ml absolútneho etanolu. Po vysušení vážila 11,72 g.

11,6 g chloroplaticitanu sa rozpustilo v 250 ml destilovanej vody a pridalo sa 1 ml koncentrovanej kyseliny solnej. Hydrogenizovala sa bez tlaku za laboratórnej teploty. Spotreba  $H_2$  bola 960 ml. Vyredukovaná platina sa odfiltrovala a číry bezfarebný filtrát sa odparil vo vákuu do sucha. Získalo sa 5 g kryštalickej hygroskopickéj látky, ktorá bola ďalšími kvalitatívnymi skúškami identifikovaná ako cholín, pretože poskytovala fosfomolybdénan, fosfovolfráman, silikovolfráman, komplexnú ortuťnatú soľ, ktorej b. t. po prekryštalovaní z vody bol 242—243 °C, a napokon chloroplaticitan, ktorého b. t. bol 216 °C za rozkladu.



teoreticky C = 19,47 %, H = 4,54 %, N = 4,54 %, Pt = 31,70 %, Cl = 34,60 % ;  
 nájdené C = 19,80 %, H = 4,61 %, N = 4,55 % (Kjehldal) a 4,23 % (Dumas),  
 Pt = 31,25 %, Cl = 34,55 %.

### Súhrn

V *Achillea millefolium* L. (*Asteraceae*) nazbieranej r. 1954 v Ponitří sa nezistil ani achileín ani iné látky alkaloidného alebo glykoalkaloidného charakteru. Jedinou hypotenzívne účinnou látkou je cholín, ktorý sa izoloval v množstve 0,025 % (počítané na suchú drogu).

ПРОИСХОЖДЕНИЕ ГИПОТЕНСИВНОГО ДЕЙСТВИЯ  
*ACHILLEA MILLEFOLIUM L.*

Ш. БАУЭР, Л. МАСЛЕР, Ш. ОРСАГ

Отделение фармацевтической химии и биохимии Химического института  
Словацкой Академии наук в Братиславе

В ы в о д ы

В *Achillea millefolium L. (Asteraceae)* собранной в 1954 году в Понитри не был найден ахиллеин ни другие вещества алкалоидного или гликоалкалоидного характера и единственным гипотенсивно действующим веществом является холин, который был изолирован в количестве 0,025 % (расчитано на сухое лекарственное сырье).

Поступило в редакцию 5. III. 1956 г.

URSPRUNG DER HYPOTENSIVEN WIRKSAMKEIT VON *ACHILLEA MILLEFOLIUM L.* — GEMEINE SCHAFGARBE

Š. BAUER, L. MASLER, Š. ORSZÁGH

Abteilung für pharmazeutische Chemie und Biochemie des Chemischen Instituts an  
der Slowakischen Akademie der Wissenschaften in Bratislava

Zusammenfassung

In *Achillea millefolium L. (Asteraceae)*, gesammelt im Jahre 1954 in Ponitri, wurde weder Achillein, noch andere Stoffe alkaloiden oder glykoalkaloiden Charakters festgestellt. Der einzige hypotensiv wirksame Stoff ist Cholin, welches in einer Menge von 0,025 %, berechnet auf die trockene Droge, isoliert wurde.

In die Redaktion eingelangt den 5. III. 1956

LITERATÚRA

1. Nessnera E., súkromné oznámenie. 2. Zanon B., Ann. 58, 21 (1846). 3. v. Planta-Reichenau A., Ann. 155, 145 (1870). 4. Miller F. M., Lee Ming Chow, J. am. chem. Soc. 76, 1353 (1954). 5. Shass E. J., Varlakov M. N., Farmacija 7, 33—35 (1944). 6. Beythiem A., *Laboratoriumsbuch für den Lebensmittelchemiker*, Dresden, Leipzig 1951. 7. Rosenmund H., Reichstein T., Pharm. Acta Helv. 17, 176 (1942). 8. Reichstein T., Shoppe C. W., Diss. Faraday Soc. 7, 305 (1949). 9. v. Euv I., Reichstein T., Helv. 27, 1292 (1944).

Došlo do redakcie 5. III. 1956