

Alkaloidy z *Vinca minor* L. (V) Konštitúcia vinkamínu

J. MOKRÝ, I. KOMPIŠ, J. SUCHÝ, P. ŠEFČOVIČ, Z. VOTICKÝ

*ČSAV, Chemický ústav Slovenskej akadémie vied,
Oddelenie chémie alkaloidov, Bratislava*

Izolácia alkaloidov zo zimozeleňa menšieho *Vinca minor* L. je predmetom prác celého radu autorov [1—10]. Vinkamín, hlavný alkaloid tejto rastliny, po prvýkrát získali E. Schlittler a A. Furlenmeier [2].

Zo zimozeleňa menšieho, rastúceho na Slovensku v okolí Vinohradu n./Váhom, získali sme modifikovaným postupom podľa [4] zmes surových alkaloidov, ktorá v priemere predstavuje 0,4—0,5 % váhy suchej drogy.

Frontálnou analýzou éterového roztoku zmesi surových alkaloidov na stĺpci Al_2O_3 pri použití éteru ako eluenta sme surové alkaloidy rozdelili na tri frakcie: kryštalickú frakciu *A* (0,0168 % váhy suchej drogy), jej kryštalizačné lúhy označené ako žltá frakcia *B* (0,093 %) a frakciu získanú vymytím stĺpca Al_2O_3 metanolom — červenú frakciu *C*.

Z kryštalickej frakcie *A* protiprúdnym roztrepávaním v sústave rozpúšťadiel benzén—butanol-(1)—kyselina mravčia—McIlvainov tlmivý roztok o hodnote pH 3,5 pri 100 posunoch sme okrem vinkamínu získali nový alkaloid vinkareín [8] sumárneho vzorca $\text{C}_{21}\text{H}_{24}\text{N}_2\text{O}_4$ s b. t. 205—206 °C a $[\alpha]_D^{20} = -28,2 \pm 2^\circ$ (CHCl_3). Podrobnejším hodnotením vinkamínovej frakcie sa zaoberali J. Trojánek a spolupracovníci [11, 12], ktorí dvojnásobným protiprúdnym roztrepávaním získali okrem vinkamínu ďalšie tri alkaloidy: vincín, vinkaminín a vincinín.

Porovnanie fyzikálno-chemických konštánt vinkaminínu s konštantami vinkareínu, ako aj priame porovnanie obidvoch látok ukazuje, že ide o identické látky.*

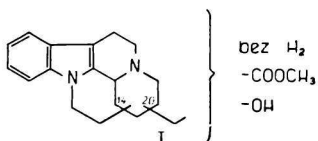
Kryštalizáciou produktu získaného z frakcií 41 až 70 protiprúdného roztrepávania kryštalickej frakcie *A* z acetónu sme získali vinkamín, ktorého konštanty sú v úplnom súhlase s hodnotami uvedenými v literatúre [3].

V našej pôvodnej práci [13] sme zverejnili, že vinkamín $\text{C}_{21}\text{H}_{26}\text{N}_2\text{O}_3$ (*IIIa*), hlavný alkaloid z *Vinca minor* L. (*Apocynaceae*), poskytuje alkalickým zmydením kyselinu vinkamínovú $\text{C}_{20}\text{H}_{24}\text{N}_2\text{O}_3$ (*IIIb*), ktorá esterifikáciou diazometánom opäť prechádza na vinkamín. Pri esterifikácii metanolom, syténym HCl, vzniknutý ester prechádza za súčasnej dehydratácie na apovin-

* Dr. J. Trojánkovi z VÚPL v Prahe dakujeme za láskavé poskytnutie vzorky vinkaminínu. Na základe priority zverejnenia (10., resp. 13. 3. 1961) navrhujeme tento alkaloid nazývať vinkaminín.

kamín $C_{21}H_{24}N_2O_2$ (IVa). Redukciou vinkamínu $LiAlH_4$ sme získali vinkaminol $C_{20}H_{26}N_2O_2$ (IIIc).

Dehydrogenáciou vinkamínu selénom sme získali $N_{(a)}$ substituované β -karbolíny: vincyřín a izovincyřín s rovnakým sumárnym vzorcom $C_{19}H_{22}N_2$. Na základe elementárnej analýzy, negatívneho výsledku starovania skupiny $N-CH_3$, infračervených a ultrafialových spektier týchto látok, ako aj dôkazu prítomnosti skupiny $C-C_2H_5$ sme dospeli k čiastočnej štruktúre vinkamínu (I):



Ultrafialové a infračervené spektrá vinkamínu, vincyřínu a izovincyřínu [13] jasne naznačujú, že etylová skupina, ako aj uzavretie kruhu *E* nemôže byť naviazané na kruhy *A*, *B*, *C*. Z priestorových dôvodov je možné naviazanie kruhu *E* na kruh *D* iba dvoma spôsobmi: vytvorením sedemčlenného, resp. šesťčlenného kruhu *E*. Pri vytvorení sedemčlenného kruhu a rešpektovaní biogenetického hľadiska pri tvorbe takéhoto skeletu je nevyhnutné etylovú skupinu umiestiť do polohy, zodpovedajúcej prekursoru takýchto látok, t. j. do polohy C_{20} [14—16], čím sme sa dostali ku skeletu, aký má kurarový alkaloid mavakurín.

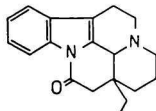
Hoci táto možnosť je v súlade s tým, že vincyřín a báza *X* získaná selénovou dehydrogenáciou normavakurínu [16] majú identické ultrafialové spektrá v neutrálnom i kyslom prostredí [13] a rovnaké body topenia ich prikranov, ďalšie pokusy, ako aj niektoré údaje literatúry nepotvrdili tieto predpoklady [17].

Druhou možnosťou bolo vytvorenie šesťčlenného kruhu *E*, ako to na základe iného pokusu navrhli J. Trojánek a spolupracovníci [18], ktorí kyslou hydrolyzou vinkamínu v 8% výťažku získali látku, ktorej infračervené spektrum je totožné s infračerveným spektrom známeho alkaloidu eburnamónínu [19]; teda kruh *E* i etylová skupina sú naviazané v polohe C_{14} , čo vedie k štruktúre vinkamínu *IIIa* [20].

Konečnú odpoveď a dôkaz o charaktere kruhu *E* a umiestení etylovej skupiny sme podali pri riešení polohy a vlastností substituentov vinkamínu.

Redukčné vlastnosti hydroxylovej skupiny naznačovali [13], že ide o aminokarbinol a teda hydroxylová skupina je v α -polohe k indolovému dusíku. Táto poloha vyplýva aj z biogenetického aspektu či už mavakurínového alebo eburnamónínového skeletu. Tieto dôvody však určujú odlišnú polohu karbmetoxylovej skupiny, ktorá pri mavakurínovom type by mala byť v β -polohe ku hydroxyly, teda ide o 1,2-hydroxyester, kým pri eburnamónínovom type v α -polohe, teda 1,1-hydroxyester.

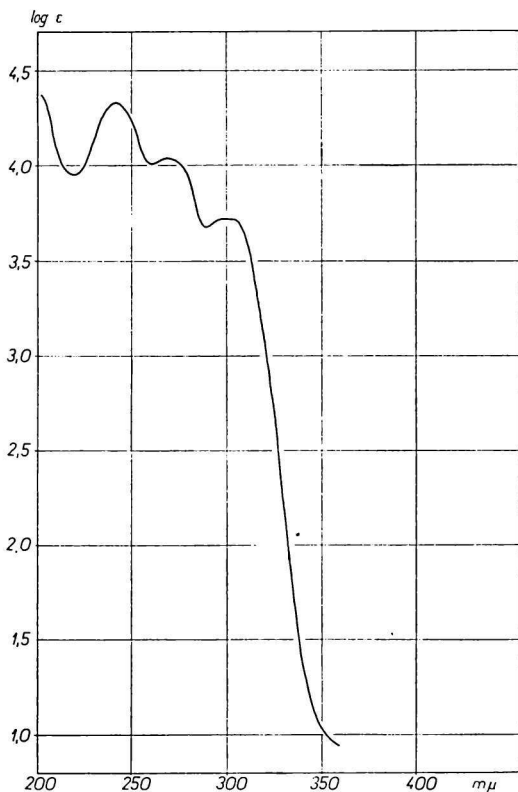
Keďže však oxydáciou vinkaminolu (*IIIc*) kyselinou jodistou vzniká okrem ketónu, vinkamónu (*II*) i formaldehyd, je týmto jednoznačne dokázané, že ide o 1,2-diol, z čoho vyplýva, že skupina $-\text{OH}$ a $-\text{COOCH}_3$ vo vinkamíne sú na tom istom uhlíku v polohe C_{14} :



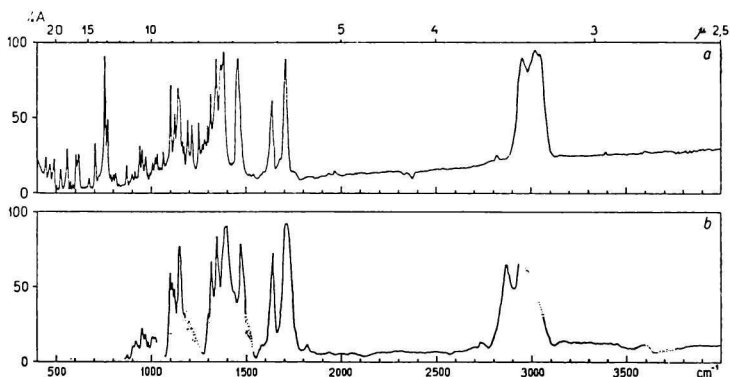
II

Vinkamón sa dá vo výbornom výťažku pripraviť oxydáciou kyseliny vinkamínovej (*IIIb*) amoniakálnym roztokom kysličníka strieborného. Oxydácia kyseliny vinkamínovej kyslíčnikom chrómovým z hľadiska výťažku nie je taká výhodná. Samotný vinkamín sa za rovnakých podmienok neoxyduje.

Sumárny vzorec, ultrafialové (obr. 1) a infračervené spektrá (obr. 2) a bod topenia vinkamónu sú totožné s rovnakými hodnotami eburnamóninu [21, 22].

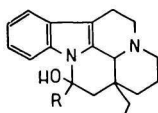


Obr. 1. Ultrafialové spektrum vinkamónu (*II*) v 95 % etanole.
Koncentrácia 10^{-3} až 10^{-5} mól/l.



Obr. 2. Infračervené spektrá vinkamónu (II).
 a) v olejovej suspenzii; b) v 1 % CHCl_3 roztoku v 1 mm kyvete z KBr s kompenzáciou.

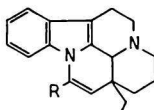
Na základe uvedených dôkazov má vinkamín štruktúru *IIIa*:



III

- IIIa*: R = $-\text{COOCH}_3$ vinkamín
IIIb: R = $-\text{COOH}$ kyselina vinkamínová
IIIc: R = $-\text{CH}_2-\text{OH}$ vinkaminol

Produkt dehydratácie vinkamínu — apovinkamín — má štruktúru *IVa*:

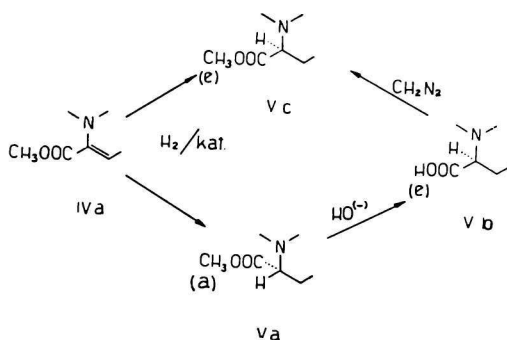


IV

- IVa*: R = $-\text{COOCH}_3$ apovinkamín
IVb: R = $-\text{COOH}$ kyselina apovinkamínová

Apovinkamín na rozdiel od vinkamínu sa dá katalyticky hydrogenovať, pričom hlavným produktom hydrogenácie je epidezoxývinkamín $\text{C}_{21}\text{H}_{26}\text{N}_2\text{O}_2$. Tento alkalicným zmydlením poskytuje kyselinu dezoxývinkamínovú, ktorá esterifikáciou diazometánom prechádza na dezoxývinkamín $\text{C}_{21}\text{H}_{26}\text{N}_2\text{O}_2$, vedľajší produkt hydrogenácie apovinkamínu. Z týchto skutočností vyplýva ekvatoriálna poloha karbmetoxylovej skupiny v dezoxývinkamíne. Tú istú konfiguráciu v samotnom vinkamíne možno predpokladať jednak na základe

lahkej dehydratácie, ktorá svedčí o axiálnom postavení hydroxylovej skupiny na uhlíku C₁₄, jednak na základe pravdepodobnosti, že objemná karbometyloxylová skupina, ktorej poloha v predpokladanom prekurzore [23] nie je jednoznačne určená, pri mechanizme biogenézy kruhu E zaujme výhodnejšiu ekvatoriálnu polohu.



- IVa: apovinkamín
 Va: epidezoxývinkamín
 Vb: kyselina dezoxývinkamínová
 Vc: dezoxývinkamín

Hypotézou biogenézy vinkamínu, eburnamonínu i ďalšieho alkaloidu, ktorý sme izolovali z *Vinca minor* L., vinkanorínu [8], ktorá dovoľuje vysvetliť vznik týchto troch alkaloidov zo spoločného prekurzoru, vzniknutého interakciou tryptamínu s redukovanou formou kyseliny prefénovej, zaoberáme sa v našej predchádzajúcej práci [23].

Experimentálna časť

Body topenia sa stanovili na Koflerovom bloku s presnosťou ± 2 °C. Vzorky pre analýzu sa 4 hodiny sušili pri 65 °C vo vákuu 0,01 tor nad P₂O₅.

Ultrafialové spektrá sa merali na univerzálnom spektrofotometri Zeiss, infračervené spektrá na ultraspektrofotometri Zeiss UR 10.

Extrakcia drogy

15 kg suchej rozpráškovanej drogy *Vinca minor* L. zbieranej v jeseni r. 1958 v okolí Vinohradu n./Váhom sa 24 hodín napučovalo 12 litrami 10 % NH₄OH a extrahovalo sa úhrnom 250 litrami benzénu. Benzénový extrakt sa vákuove zahustil pri teplote nižšej než 40 °C na objem ca 1,5 litra a po pridaní 500 g kremeliny sa odparil vákuove do sucha. Suchý jemne rozotretý odparok sa extrahoval 6 × 1,5 l 0,5 % HCl. Kyslý extrakt sa po alkalizácii amoniakom vytrepal éterom.

Chromatografia éterového extraktu

Éterový extrakt po zahustení na objem ca 2 l a po vysušení síranom sodným sa chromatografoval na kolóne s náplňou 600 g Al₂O₃ (aktivita II). Kolóna sa vymývala éterom, pokiaľ vytekal bezfarebný až žltý eluát. Množstvo éteru potrebné na vymytie

kolóny bolo 8 l. Zvyšok látky sa z kolóny vymyl metanolom. Éterová frakcia sa zahustila na objem ca 300 ml. Z roztoku vykryštalizovalo 2,5 g zmesi alkaloidov (kryštalická frakcia *A*), t. j. 0,016 % váhy suchej drogy. Odparením kryštalizačných lúhov po izolácii kryštalického podielu do peny sa získalo 18 g (0,12 %) žltej frakcie *B*. Z metanolovej červeno sfarbenej frakcie odparením do sucha sa získalo 28 g (0,18 %) zmesi látok silne polárneho charakteru (červená frakcia *C*).

Roztrepávanie kryštalickej frakcie A

2,5 g kryštalickej zmesi alkaloidov *A* sa oddelilo protiprúdnym roztrepávaním na plnoautomatickej roztrepávacej aparatuře v úprave podľa F. A. von Metzsch [24] v konjugovanej sústave benzén—butanol-(1)—85 % kyselina mravčia—tlmivý roztok McIlvainov o hodnote pH 3,5 (25 : 5 : 1 : 31). Pomer fáz bol 25 : 25 ml; počet posunov $n = 100$.

Roztrepávanie sa hodnotilo titráciou 2 ml hornej fázy 0,01 N-HClO₄ v dioxáne na metyloranž a papierovou chromatografiou v skôr opísanej sústave [9].

Vinkareín (vinkaminín)

Obsah roztrepávačiek 0 až 18 sa spojil, zalkalizoval amoniakom, oddelila sa horná vrstva a spodná fáza sa vytrepala benzénom. Horná vrstva sústavy a spojené benzénové extrakty po premytí destilovanou vodou sa vákuove odparili do sucha. Kryštalizáciou odparku z acetónu sa získal vinkareín (38,2 mg) o b. t. 205—206 °C; $[\alpha]_D^{20} = -28,2 \pm 2^\circ$ (CHCl₃; $c = 1,48$).

Zmesný bod topenia s vinkaminínom nevykazuje depresiu. Rovnako ich ultrafialové a infračervené spektrá, ako aj R_f hodnoty v sústavách izobutylalkohol (0,2 M-KH₂PO₄) (0,37) a benzén—butanol-(1)—85 % kyselina mravčia—tlmivý roztok McIlvainov o hodnote pH 3,5 (25 : 5 : 1 : 31) (0,14) sú identické.

Pre C₂₁H₂₄N₂O₄ ($M = 368,42$)

vypočítané: 68,46 % C, 6,57 % H, 7,60 % N;
zistené: 68,70 % C, 6,60 % H, 7,89 % N.

Stanovenie molekulovej váhy titráciou v bezvodom prostredí 0,01 N-HClO₄ v dioxáne (faktor stanovený na vinkamín), počítané na jeden bázičný dusík, poskytlo hodnoty 369,3 a 371,2 potvrdzujúce sumárny vzorec.

Metojodid vinkareínu (vinkaminínu)

16,4 mg vinkareínu a 1 ml metyljodidu sa rozpustilo v 3 ml chloroformu a roztok sa 1 hodinu refluxoval na vodnom kúpeli. Odparok tohto roztoku kryštalizáciou z acetónu poskytol metojodid vinkareínu o b. t. 221—222 °C.

Pre C₂₁H₂₄N₂O₄ · CH₃J ($M = 510,37$)

vypočítané: 24,87 % J;
zistené: 24,43 % J.

Vinkamín (IIIa)

Z roztrepávačiek 41 až 70 ($k = 0,43$) sa po zalkalizovaní čpavkom oddelila horná fáza a spodná vrstva sa extrahovala benzénom. Spojené extrakty i horná fáza sa po spojení premyli destilovanou vodou a vákuove sa odparili do sucha (1,96 g). Šestnásobnou frakčnou kryštalizáciou z acetónu sa získal vinkamín o b. t. 233—234 °C.

$[\alpha]_D^{24} = +38 \pm 2^\circ$ (pyridín, $c = 0,512$)
 $[\alpha]_D^{24} = -15 \pm 2^\circ$ (chloroform, $c = 0,498$)

Pre $C_{21}H_{26}N_2O_3$ ($M = 354,4$)

vypočítané: 71,15 % C, 7,40 % H, 7,91 % N;
zistené: 71,11 % C, 7,64 % H, 7,94 % N.

V produktoch oxydácie vinkamínu kyselinou chrómsírovou Kuhn—Rothovou metódou, ktorú modifikovali G. F. Garbers a spolupracovníci [25], dokázala sa prítomnosť kyseliny octovej a kyseliny propiónovej.

Metojodid vinkamínu sa pripravil postupom ako metojodid vinkareínu. Jeho bod topenia po kryštalizácii zo zmesi rozpúšťadiel éter—etanol bol 218—220 °C.

Pre $C_{21}H_{26}N_2O_3 \cdot CH_3J$ ($M = 498,4$)

vypočítané: 53,38 % C, 6,10 % H, 26,7 % J;
zistené: 53,45 % C, 6,02 % H, 26,0 % J.

Oxydácia vinkamínu $KMnO_4$

50 mg vinkamínu sa rozpustilo v 2 ml zriedenej kyseliny sírovej a roztokom Na_2CO_3 sa upravilo pH na hodnotu ca 5. Za tepla (pri 70 °C) sa pomaly pridalo 6 ml 5 % roztoku $KMnO_4$. Vzniknutý MnO_2 sa sfiltraval, premyl horúcou vodou a spojené vodné roztoky po zahustení a okyslení HCl sa extrahovali éterom. Porovnaním odparku éterového roztoku s autenticou vzorkou kyseliny oxalylantranilovej papierovou chromatografiou (papier Whatman 1, mobilná fáza: 60 % etanol sýtený benzénom, $R_f = 0,82$) sa v ňom dokázala prítomnosť tejto kyseliny.

Alkalické zmydelnenie vinkamínu

1,0 g vinkamínu sa suspendovalo v 50 ml 2 % roztoku KOH v 50 % etanole a refluxovalo sa 2 hodiny. Po skončení refluxovania sa etanol vákuovo oddestiloval. Po ochladení sa pH roztoku upravilo zriedenou kyselinou soľnou na 6 až 7. Vylúčená kyselina vinkamínová (*IIIb*) (950 mg) sa odsala, premyla vodou a vysušila sa vo vákuu nad P_2O_5 . Bod topenia bol 256—258 °C. Optická otáčavosť sa pre malú rozpustnosť kyseliny vinkamínovej v bežných organických rozpúšťadlách nestanovila.

Pre $C_{20}H_{24}N_2O_3 \cdot 1/2H_2O$ ($M = 349,49$)

vypočítané: 68,75 % C, 7,21 % H, 8,02 % N;
zistené: 68,24 % C, 7,05 % H, 7,74 % N.

Príprava hydrochloridu kyseliny vinkamínovej

Bežným postupom sa zo suspenzie 250 mg kyseliny vinkamínovej v 5 ml etanole a koncentrovanej HCl pripravil jej hydrochlorid, ktorý po trojnásobnej kryštalizácii z bezvodého etanolu mal b. t. 264—265 °C; $[\alpha]_D^{22} = +89,21 \pm 2^\circ$ ($c = 0,505$, etanol 96 %).

Pre $C_{20}H_{24}N_2O_3 \cdot HCl$ ($M = 376,86$)

vypočítané: 63,73 % C, 6,68 % H, 7,43 % N, 9,41 % Cl;
zistené: 63,92 % C, 6,62 % H, 7,81 % N, 9,76 % Cl.

Esterifikácia kyseliny vinkamínovej diazometánom

69,5 mg kyseliny vinkamínovej sa suspendovalo v 12 ml metanolu a pridalo sa 20 ml éterového roztoku diazometánu (obsahujúceho ca 200 mg diazometánu). Na druhý deň sa reakčná zmes (po odfarbení roztoku kvapkou kyseliny octovej) odparila do sucha a kryštalizáciou odparku z acetónu sa získal vinkamín o b. t. 234—235 °C vo všetkých ohľadoch zhodný s autenticým vinkamínom.

Príprava apovinkamínu (IVa)

a) Z kyseliny vinkamínovej

1 g kyseliny vinkamínovej sa rozpustil v 200 ml metanolu nasýteného HCl a roztok sa refluxoval 2 hodiny. Po odparení roztoku do sucha sa do odparku pridalo opäť 200 ml metanolového roztoku HCl a po dvojhodinovom zahrievaní pod spätným chladičom sa metanol oddestiloval. Odparok sa rozotrel s ca 20 ml 5 % roztoku Na_2CO_3 a filtroval sa. Zrazenina na filtri sa rozpustila v zriedenej HCl a po zalkalizovaní roztoku čpavkom sa vytrepala do benzénu. Z odparku benzénového roztoku (430 mg) po kryštalizácii z acetónu sa získal apovinkamín o b. t. 160—162 °C; $[\alpha]_D^{25} = +108,8 \pm 2^\circ$ ($c = 0,8717$, etanol 96 %).

Pre $\text{C}_{21}\text{H}_{24}\text{N}_2\text{O}_2$ ($M = 336,4$)

vypočítané: 74,97 % C, 7,19 % H, 8,33 % N;
zistené: 74,73 % C, 6,95 % H, 8,45 % N.

b) Z vinkamínu

Roztok 1 g vinkamínu v 50 ml metanolu nasýteného chlorovodíkom sa 2 hodiny varil pod spätným chladičom. Po skončení refluxu sa roztok vákuove odparil do sucha a do odparku sa opäť pridalo 50 ml metanolu nasýteného HCl. Po dvojhodinovom varení sa metanol oddestiloval, odparok sa rozpustil v 20 ml vody a zalkalizoval čpavkom. Zrazenina po odfiltrovaní a kryštalizácii z metanolu poskytla apovinkamín o b. t. 160—161 °C vo výťažku 920 mg, t. j. 93 %.

Príprava metojodidu apovinkamínu

75 mg apovinkamínu a 2 ml metyljodidu sa rozpustili v 5 ml chloroformu a roztok sa 1 hodinu refluxoval na vodnom kúpeli. Po odparení roztoku do sucha sa získal olej, ktorý stáťm vykryštalizoval. Dvojnásobnou kryštalizáciou zo zmesi octan etylnatý—éter sa získal metojodid apovinkamínu o b. t. 187—189 °C.

Pre $\text{C}_{21}\text{H}_{24}\text{N}_2\text{O}_2 \cdot \text{CH}_3\text{J}$ ($M = 477,36$)

vypočítané: 26,53 % J;
zistené: 27,00 % J.

Zmydelnenie vinkamínu 10 % HCl

1 g vinkamínu sa rozpustil v 50 ml 10 % HCl a refluxoval sa 1 1/2 hodiny. Po vychladnutí sa roztok zalkalizoval, vzniknutá zrazenina (190 mg) sa odfiltrovala a identifikovala ako apovinkamín. Vo filtráte sa upravilo pH na hodnotu 5 až 6, vylúčená zrazenina sa odsala (690 mg). Na základe infračervených spektier sa zistilo, že ide o zmes kyseliny vinkamínovej a kyseliny apovinkamínovej. Ďalším varom so zriedenou HCl sa vzájomný pomer týchto kyselín (ca 3 : 2) nezmenil.

Alkalické zmydelnenie apovinkamínu

880 mg apovinkamínu sa suspendovalo v 50 ml etanolu a 50 ml 4 % NaOH. Reakčná zmes sa 2 hodiny refluxovala pod spätným chladičom. Po skončení hydrolyzy sa z roztoku vákuove oddestiloval etanol, roztok sa prefiltroval a vo filtráte sa zriedenou HCl upravilo pH na hodnotu 3 až 4. Vylúčená olejovitá zrazenina sa premyla vodou a po rozotretí v etanole sa získala kryštalická kyselina apovinkamínová (IVb). Kyselina apovinkamínová po vysušení vo vákuu (100 °C 0,01 tor) nad P_2O_5 má b. t. 253—254 °C. V bežných organických rozpúšťadlách je prakticky nerozpustná.

Pre $C_{20}H_{22}N_2O_2 \cdot 1/2H_2O$ ($M = 331,4$)

vypočítané: 72,38 % C, 6,99 % H, 8,45 % N;
zistené: 72,77 % C, 6,89 % H, 8,38 % N.

Esterifikáciou kyseliny apovinkamínovej diazometánom sa získal apovinkamín.

Hydrogenácia apovinkamínu

Roztok 500 mg apovinkamínu v 15 ml 50 % kyseliny octovej a 50 mg katalyzátora (5 % Pd/C) sa za laboratórnych podmienok (23,5 °C, 743 tor) hydrogenoval 24 hodín.

Teoretická spotreba na 1 ekv. H_2 33,3 ml H_2 n. p.

Skutočná spotreba 33,6 ml H_2 n. p.

Po odfiltrovaní katalyzátora sa roztok zalkalizoval čpavkom, zrazenina sa odfiltrovala a vysušila nad P_2O_5 vo vákuu (0,01 tor). Kryštalizáciou zrazeniny z acetónu sa získalo 37,0 mg dezoxývinkamínu (*Vc*) o b. t. 159—160 °C; $[\alpha]_D^{21} = +99,33 \pm 2^\circ$ ($c = 0,9267$, etanol 96 %).

Pre $C_{21}H_{26}N_2O_2$ ($M = 338,43$)

vypočítané: 74,52 % C, 8,28 % H, 7,74 % N;
zistené: 74,32 % C, 8,40 % H, 7,58 % N;
74,22 % C, 8,32 % H, 7,58 % N.

Odparením kryštalizačných lúhov po izolácii dezoxývinkamínu do sucha (411,2 mg) ich kryštalizáciou z heptánu sa získal epidezoxývinkamín (*Va*) o b. t. 123—124 °C; $[\alpha]_D^{23} = -100,46 \pm 2^\circ$ ($c = 1,0133$, etanol 96 %).

Pre $C_{21}H_{26}N_2O_2$ ($M = 338,43$)

vypočítané: 74,52 % C, 7,74 % H, 8,28 % N;
zistené: 74,48 % C, 7,73 % H, 8,82 % N;
74,45 % C, 7,73 % H, 8,66 % N.

K rovnakým výsledkom sa došlo i hydrogenáciou apovinkamínu v etanole na Adamsovom katalyzátore i na paládiovom katalyzátore.

Epimerizácia epidezoxývinkamínu (Va)

29,7 mg epidezoxývinkamínu sa rozpustilo v 6 ml 2 % roztoku KOH v 50 % etanole a roztok sa refluxoval 1 1/2 hodiny. Po vákuovom zahustení roztoku na 2 ml a opatrnom okyslení koncentrovanou HCl na pH 3—4 sa vyzrážala kyselina dezoxývinkamínová (*Vb*) (14,9 mg) o b. t. 277—279 °C (rozklad). Táto sa suspendovala v 3 ml bezvodého metanolu a po čiastkach sa pridalo 10 ml ca 2 % éterového roztoku diazometánu, pričom kyselina prešla do roztoku. Po trojhodinovom státi sa diazometán v roztoku odfarbil kvapkou kyseliny octovej a reakčný roztok sa odparil do sucha. Odparok sa rozpustil v 2 ml zriedenej HCl, prefiltroval sa a filtrát sa zalkalizoval amoniakom. Zrazenina kryštalizáciou zo zmesi metanol—éter 1 : 1 poskytla 9,2 mg dezoxývinkamínu o b. t. 159—161 °C, ktorého infračervené spektrum bolo identické s infračerveným spektrom autentického dezoxývinkamínu získaného priamo hydrogenáciou apovinkamínu.

Príprava vinkamínolu (IIIc)

1,0 g vinkamínu sa extrahoval v Soxhletovom prístroji éterom do roztoku 1 g $LiAlH_4$ v 250 ml bezvodého éteru. Po 2 hodinách všetok vinkamín prešiel do roztoku. Po polhodinovom refluxe sa do reakčnej zmesi pridalo 50 ml vlhkého éteru a 50 ml vody. Po oddelení éterovej vrstvy sa vodná vrstva extrahovala chloroformom. Spojením éterovej vrstvy i chloroformových extraktov a ich odparením do sucha sa získal surový vinka-

minol, ktorý po kryštalizácii zo zmesi éter—metanol (25 : 1) poskytol 680 mg vinkamínolu o b. t. 173 °C; $[\alpha]_D^{22} = 0 \pm 2^\circ$ ($c = 0,8086$, etanol 96 %).

Pre $C_{20}H_{26}N_2O_2$ ($M = 326,42$)

vypočítané:	73,59 % C,	8,03 % H,	8,58 % N;
zistené:	73,28 % C,	8,04 % H,	8,77 % N;
	73,50 % C,	8,02 % H,	8,75 % N.

Selénová dehydrogenácia vinkamínu

3 g vinkamínu sa jemne rozotrel s 3 g šedého selénu a zahrievali sa 20 minút na 300 °C v Cariových trubiciach zatavených pod vákuom. Po vychladnutí sa trubice rozdrvili a obsah sa extrahoval zmesou benzén—metanol (2 : 1). Extrakt sa prefiltraval cez kremeninu a odparil sa do sucha (2,05 g). Odparok po rozpustení v benzéne sa vytrepával 1 % HCl. Spojené kyslé extrakty po alkalizácii sa opätovne extrahovali benzénom. Odparením benzénového roztoku sa získalo 1,43 g báz, ktoré sa ďalej chromatografovali.

Chromatografia báz získaných selénovou dehydrogenáciou vinkamínu

1,43 g báz získaných selénovou dehydrogenáciou vinkamínu sa chromatografovalo benzénom na kolóne (\varnothing 6 cm) naplnenej 1400 g Al_2O_3 (aktivita II). Veľkosť frakcií bola 100 ml.

Frakcia	Váha v mg	R_f^*	
1—2	25,4	0,90	
3	8,0	0,90	(0,76)
4—6	28,2	(0,55)	0,76
7—9	293,1	0,55	—
10—15	370,9	(0,55)	0,43
			izovincyrín (izovincyrín), vincyrín
16—20	62,2	0,43	0,29
21—38	146,9	(0,43)	0,29
39—50	19,7	0,19	
51—58	10,0	0,10	
metanol	100,6	na štarte	

Izovincyrín

293 mg látky o R_f 0,55 (frakcia 7 až 9) sa rozpustilo v 25 ml bezvodého etanolu a pridalo sa ekvivalentné množstvo nasýteného roztoku kyseliny pikrovej v etanole. Vzniknutá zrazenina pikranu izovincyrínu sa odsala a trikrát prekryštalizovala zo zmesi etanol—acetón (1 : 1). Získal sa pikran izovincyrínu o b. t. 203—205 °C.

Pre $C_{19}H_{22}N_2 \cdot C_8H_9N_3O_7$ ($M = 507,49$)

vypočítané:	59,05 % C,	4,96 % H;
zistené:	58,96 % C,	5,08 % H.

Trikrát kryštalizovaný pikran izovincyrínu sa rozložil na Amberlite IRA 400 [26]; z vymieňača iónov sa báza vymyla 80 % acetónom. Eluát sa oddestiloval a báza sa predestilovala pri 120 °C a 0,01 tor; $[\alpha]_D^{20} = -27,2$ ($c = 0,637$, etanol 96 %).

* Jednotlivé frakcie sa hodnotili chromatografiou na tenkej vrstve Al_2O_3 (aktivita II). Vydávalo sa benzénom a detegovalo Dragendorffovým činidlom.

Pre $C_{19}H_{22}N_2$ ($M = 278,38$)

vypočítané:	81,97 % C,	7,97 % H,	10,06 % N;
zistené:	82,09 % C,	8,09 % H,	9,89 % N;
	82,15 % C,	8,01 % H,	10,03 % N.

Vincyrín

370,9 mg frakcií 10 až 15 o R_f 0,43 a 0,53 (zmes vincyrínu a izovincyrínu) sa chromatografovalo na 450 g Al_2O_3 (aktivita II) benzénom. Frakcia bola 30 ml.

Z frakcií 15 až 28 sa izolovalo 252,6 mg vincyrínu, ktorý po trojnásobnej kryštalizácii z heptánu mal b. t. 106—108 °C. Sublimáciou vincyrínu pri 115 °C a 0,01 tor sa získal vincyrín o b. t. 107—109 °C. $[\alpha]_D^{22} = -53,1 \pm 2^\circ$ ($c = 0,850$, etanol 96 %).

Pre $C_{19}H_{22}N_2$ ($M = 278,38$)

vypočítané:	81,97 % C,	7,97 % H,	10,06 % N;
zistené:	81,99 % C,	7,32 % H,	9,96 % N;
	82,06 % C,	7,25 % H,	10,03 % N.

Oxydácia vinkaminolu kyselinou jodistou

122 mg H_3JO_6 sa rozpustilo v 10 ml vody, pridala sa kvapka zriedenej H_2SO_4 a v roztoku sa rozpustilo 85 mg vinkaminolu (IIIc). Roztok sa nechal 24 hodín stáť. Po zalkalizovaní ěpavkom sa extrahoval benzénom a benzénový extrakt sa odparil do sucha. Z odparku benzénového roztoku kryštalizáciou z metanolu sa získal vinkamón (II) o b. t. 174—176 °C; $[\alpha]_D^{22} = -96,5 \pm 2^\circ$ ($c = 0,557$, chloroform).

Pre $C_{19}H_{22}N_2O$ ($M = 294,4$)

vypočítané:	77,52 % C,	7,53 % H,	9,52 % N;
zistené:	77,53 % C,	7,61 % H,	9,50 % N.

Skúška na formaldehyd v roztoku po oxydácii vinkaminolu kyselinou jodistou, ktorá sa urobila fuksínsiričitým činidlom, bola pozitívna.

Oxydácia kyseliny vinkamínovej kyslíčnikom chrómovým

200 mg kyseliny vinkamínovej sa pridalo do ochladeného (0 °C) 5 % roztoku CrO_3 v pyridíne a suspenzia sa 10 minút intenzívne premiešavala. Po 10 minútach sa roztok nalial na stĺpec 20 g Al_2O_3 a stĺpec sa premýval octanom etylatým. Odparením bezfarebného eluátu sa získalo 64 mg vinkamónu, ktorý po kryštalizácii z metanolu mal b. t. 174—176 °C. $[\alpha]_D^{25} = -94,4 \pm 2^\circ$ ($c = 0,790$, chloroform).

Oxydácia kyseliny vinkamínovej kyslíčnikom strieborným

Roztok 618,4 mg kyseliny vinkamínovej v 30 ml amoniakálneho roztoku kyslíčnka strieborného (10 ml roztoku obsahuje 0,4 g Ag_2O) sa refluxoval 20 minút. Vytvorené zrkadlo sa zoškrabalo a rozotrela s kyselinou soľnou zriedenou v pomere 1 : 1. Suspenzia sa sfiltravala a filtrát sa zalkalizoval ěpavkom. Vylúčená zrazenina sa odsala, vysušila a po kryštalizácii z metanolu poskytla vinkamón o b. t. 174—176 °C vo výťažku 468,8 mg, t. j. 87,6 %.

Ďakujeme pracovníkom fyzikálneho a analytického oddelenia nášho ústavu (vedúci inž. M. Fedoroňko, C. Sc., a inž. C. Peciar) za premeranie spektier a vykonanie analýz.

Súhrn

V práci sa opisuje oddeľovanie surových alkaloidov z *Vinca minor* L., izolácia vinkareínu a vinkamínu z kryštalickej frakcie A a potvrdzuje sa identita vinkareínu s vinkaminínom.

Na základe konečného dôkazu oxydácie vinkaminolu (*IIIc*) sa stanovuje konštitúcia vinkamínu (*IIIa*).

АЛКАЛОИДЫ ИЗ *VINCA MINOR* L. (V)
СТРОЕНИЕ ВИНКАМИНА

Й. Мокри, И. Компиш, Я. Сухи, П. Шефчович, З. Вотицки
ЧСАН, Химический институт Словацкой академии наук,
Отдел химии алкалоидов, Братислава

V работе описывается выделение сырых алкалоидов из *Vinca minor* L., изоляция винкареина и винкамина из кристаллической фракции A и подтверждается идентичность винкареина с винкаминином.

На основании окончательного доказательства окисления винкаминола (*IIIc*) определяется строение винкамина (*IIIa*).

ALKALOIDE AUS *VINCA MINOR* L. (V)
KONSTITUTION DES VINCAMINS

J. Mokřý, I. Kompiš, J. Suchý, P. Šefčovič, Z. Votický
ČSAV, Chemisches Institut der Slowakischen Akademie der Wissenschaften,
Abteilung für Chemie der Alkaloide, Bratislava

In der vorliegenden Arbeit wird die Trennung der rohen Alkaloide aus dem Kleinen Singrün (*Vinca minor* L.) beschrieben, ferner die Isolierung des Vincareins und Vincamins aus der kristallinen Fraktion A, und schliesslich die Identität des Vincareins mit dem Vincaminin bestätigt.

Auf der Grundlage des endgültigen Nachweises der Oxydation des Vincaminols (*IIIc*) wird die Konstitution des Vincamins (*IIIa*) ermittelt.

LITERATÚRA

1. Zabolotnaja E. S., *Trudy VILLAR*, zv. 10, 29. Moskva 1950.
2. Schlittler E., Furlenmeier A., *Helv. Chim. Acta* **36**, 2017 (1953).
3. Pailer M., Belohlav L., *Monatsh.* **85**, 1056 (1954).
4. Scheindlin S., Rubin N., *J. Am. Pharm. Assoc. (Sci. Ed.)* **44**, 330 (1955).
5. Janot M. M., *XV Congrès de Chimie pure et appliquée* (Zürich 1955).
6. Trojánek J., Hoffmannová J., Štrouf O., Čekan Z., *Collection* **24**, 526 (1959).
7. Trojánek J., Štrouf O., Kavková K., Čekan Z., *Collection* **25**, 2045 (1960).
8. Mokřý J., Kompiš I., Bauerová O., Tomko J., Bauer Š., *Experientia* **17**, 354 (1961).
9. Bauerová O., Mokřý J., Kompiš I., Bauer Š., Tomko J., *Chem. zvesti* **15**, 523 (1961).

10. Mokrý J., Kompiš I., *Collection* (v tlači).
11. Trojánek J., Štrouf O., Kavková K., Čekan Z., *Chem. Ind.* **1961**, 790.
12. Trojánek J., Kavková K., Štrouf O., Čekan Z., *Collection* **26**, 867 (1961).
13. Mokrý J., Kompiš I., Suchý J., Šefčovič P., Votický Z., *Chem. zvesti* **16**, 140 (1962).
14. Wenkert E., Bringi N. V., *J. Am. Chem. Soc.* **81**, 1474 (1959).
15. Wenkert E., *Experientia* **15**, 165 (1959).
16. Bickel H., Schmid H., Karrer P., *Helv. Chim. Acta* **38**, 649 (1955).
17. Rappoport H., Windgassen R. J., Hughes N. A., Onak T. P., *J. Am. Chem. Soc.* **82**, 404 (1960).
18. Trojánek J., Štrouf O., *Kolokvium o výskume alkaloidov*. Smolenice 1961.
19. Neuss N., *Physical Data of Indole and Dihydroindole Alkaloids*, 4. vyd. Eli Lilly, Indianapolis 1960.
20. Trojánek J., Štrouf O., Holubek J., Čekan Z., *Tetrahedron Letters* **20**, 706 (1961).
21. Bartlett M. F., Taylor W. I., Raymond—Hamet: *Compt. rend.* **249**, 1259 (1959).
22. Bartlett M. F., Taylor W. I., *J. Am. Chem. Soc.* **82**, 5941 (1960).
23. Mokrý J., Kompiš I., Šefčovič P., *Tetrahedron Letters* **10**, 433 (1962).
24. von Metzsch F. A., *Chem. Ing. Tech.* **25**, 66 (1953).
25. Garbers G. F., Schmid H., Karrer P., *Helv. Chim. Acta* **37**, 1377 (1954).
26. Bobbitt J. M., *J. Org. Chem.* **22**, 1729 (1957).

Do redakcie došlo 27. 6. 1962

Adresa autorov:

Inž. Jozef Mokrý, C. Sc., inž. Ivan Kompiš, C. Sc., inž. Ján Suchý, C. Sc., dr. inž. Pavel Šefčovič, C. Sc., dr. inž. Zdeno Votický, C. Sc., Chemický ústav SAV, Oddelenie chémie alkaloidov, Bratislava, Dúbravská cesta.