

Alkaloide aus dem Milchsaft von *Papaver Orientale* L.

Papaver Orientale L. Lateksinin Alkaloidleri

M. Koray SAKAR* Rolf ENGELSHOWE** Hilmar FRIEDRICH**

ZUSAMMENFASSUNG

Aus dem Milchsaft von *Papaver Orientale* L. (diploide Chromosomenzahl $2n = 28$) wurden Isothebain, Salutaridin, Orientalidin, Mecambridin und Alborin isoliert und durch spektroskopische Methoden identifiziert.

ÖZET

Diploid kromosom sayısı $2n = 28$ olan *Papaver Orientale* L. lateksinden İzotebain, Salutaridin, Orientalidin, Mekambridin ve Alborin izole edilip spektroskopik yöntemlerle teşhis edildi.

Schlüssel Wörter: *Papaver Orientale* L.; Alkaloide

Aufgrund morphologischer, cytologischer, cytogenetischer und chemischer Merkmale werden bei der Gattung *Papaver* innerhalb der Sektion *Oxytona* nach Goldblatt (1) die drei folgenden Species unterschieden: *Papaver bracteatum* Lindl. (diploide Chromosomenzahl $2n = 14$), *Papaver Orientale* L. (tetraploide Chromosomenzahl $2n = 28$) und *Papaver pseudo-orientale* (Fedde) Medw. (hexaploide Chromosomenzahl $2n = 42$).

Spaeter wird für Vertreter der Arten *P. Orientale* und *P. pseudo-orientale* sowohl eine tetraploide als auch hexaploide Chromosomen-

Redaksiyona verildiği tarih: 10.10.1084

*Farmakognozi A.D., Eczacılık Fakültesi, Anadolu Üniversitesi

**Institut für Pharmazeutische Biologie und Phytochemie der Universitaet Münster, Bundesrepublik Deutschland

zahl beschrieben (2,3). Andererseits werden auch Vertreter von *P. pseudo-orientale* angetroffen, die wie *P. bracteatum* eine diploide Chromosomenzahl aufweisen (3).

Seit Jahren sind die Angaben über die Alkaloidzusammensetzung in *P. Orientale* sehr unterschiedlich. Als Hauptalkaloid wird einmal Isothebain (2,4-12) aber auch Thebain (9, 13), Oripavin (1-3, 12, 14-16) und Mecambridin (3) aufgeführt. Darüberhinaus wird u.a. über das Auftreten eines typischen Flavonoglykosids berichtet (17). Das Alkaloidspektrum von *P. pseudo-orientale* wird ebenfalls als unterschiedlich beschrieben. So werden als Hauptalkaloide Isothebain (1-3, 14, 18), Salutaridin und Thebain (3), Isothebain und Orientalidin (12, 19, 20), Isothebain und Mecambridin und Orientalidin (3), Oripavin (2) oder Macrantalin und Salutaridin (20, 21) genannt.

Die vorliegende Arbeit beschäftigt sich mit der Alkaloidzusammensetzung des Milchsafts von *P. Orientale* L. Die Pflanzen wurden auf einen Versuchsfeld angepflanzt und morphologisch und cyto-genetisch nach Goldblatt (1) eindeutig als *P. Orientale* L. (tetraploide Chromosomenzahl $2n = 28$) bestimmt (22).

EXPERIMENTELLER TEIL

Pflanzenmaterial

Zur Untersuchung gelangten einmal *P. Orientale* Pflanzen aus verschiedenen Botanischen Gärten und zudem als *P. Orientale* deklarierte Pflanzen, die vor Jahren auf dem Versuchsfeld des Instituts für Pharmazeutische Biologie und Phytochemie der Westfälischen Wilhelms Universität Münster, Bundesrepublik Deutschland, angepflanzt worden waren. Die auf dem Versuchsfeld wachsenden *P. Orientale* Exemplare waren ebenso wie auch die bezogenen Pflanzen morphologisch sehr uneinheitlich.

Aus einer grossen Vielzahl von Pflanzen erfolgte anhand eines Bestimmungsschlüssels (1) ein Aussortieren von wenigen Exemplaren, die die typischen Merkmale von *P. Orientale* aufwiesen. Um weitere Bastardierungen auszuschliessen, wurden die Blütenknospen der ausgewählten Pflanzen vor dem Aufblühen mit Drahtkaefigen verse-

hen, die mit einem feinmaschigen Kunststoffuch bespannt waren. Es folgte eine Selbstbestäubung der Pflanzen durch eingebrachte Hummeln oder mit kleinen Pinseln. Die aus den reifen Samen gezogenen Jungpflanzen wurden wieder im nächsten Jahr im Feld angepflanzt und das Material wurde weiter selektioniert. Die selektionierten Pflanzen wurden morphologisch und cyto-genetisch untersucht (22) und nach Goldblatt (1) eindeutig als *P. Orientale* L. bestimmt. Von diesen Pflanzen erfolgte die Gewinnung des Milchsaftes durch Anritzen der unverholzten Kapseln. Der austretende Milchsaft wurde abgeschabt und unter Zusatz von 0,1 M Citronensäure und 0,1 % iger Natriummetabisulfitlösung (23) dann bei -15°C bis zur Untersuchung gelagert.

Verwendete Geräte

Die Schmelzpunktbestimmung erfolgte mit einem Schmelzpunktmikroskop der Firma Leitz (Wetzlar).

Die UV-Spektren wurden mit einem Perkin-Elmer Double Beam Spectrometer 124 aufgenommen.

Die IR-Spektren wurden mit einem Perkin-Elmer Infrared Spectrometer 257 aufgenommen.

Die Aufnahme der MS-Spektren erfolgte mit einem Varian MAT SM 1B (70 eV).

Die $^1\text{H-NMR}$ -Spektroskopie wurde mit einem NMR-Spektrometer Bruker WH 90 durchgeführt.

Extraktion und Isolierung

Der Konservierte, tiefgefrorene Milchsaft (30 g) wurde nach dem Auftauen mit einer 5 % igen Essigsäure aufgeschlämmt und in Lösung gebracht. Die filtrierte Lösung wurde anschliessend mit 25 % iger Ammoniaklösung alkalisiert (pH 9), um danach mehrmals mit Chloroform ausgeschüttelt zu werden. Die Chloroformphase wurde im Anschluss daran mit einer 5% igen Natriumhydroxydlösung erneut ausgeschüttelt, um die phenolischen Alkaloide in die wässrige Phase überzuführen. Die abgetrennte Chloroformphase wurde mit

Natriumsulfat getrocknet und nach dem Filtrieren im Vakuum eingengt. Der Rückstand enthielt die nichtphenolischen Alkaloide. Die wässrige alkalische Phase wurde tropfenweise mit 25% iger Schwefelsäure angesäuert (pH 4-5) und dann wieder mit 25% iger Ammoniaklösung alkalisiert (pH 9). Die wässrige alkalische Phase musste mehrmals mit Chloroform ausgeschüttelt werden. Nach dem Trocknen der Chloroformphase mit Natriumsulfat und nach dem Filtrieren zur Trockene eingengt. Der Rückstand enthielt die phenolischen Alkaloide.

Die nichtphenolischen Alkaloide wurden säulenchromatographisch an Aluminiumoxid (basisch, Aktivitätsstufe I) vorgetrennt (Elutionsmittel, Chloroform: Petroläther (8:2), Chloroform, Chloroform: Methanol (9:1). Die phenolischen Alkaloide und ein quarternäres Alkaloid Alborin wurden säulenchromatographisch an Aluminiumoxid (basisch, Aktivitätsstufe III) vorgetrennt (Elutionsmittel, Chloroform, Chloroform: Methanol (8:2).

Lösungen mit Orientalidin und Mecambridin wurden zur präparativen Trennung auf Kieselgel-GR-Platten (Schichtdicke 0,5 mm) bandförmig aufgetragen und mit dem Fließmittel, Benzol: Aceton: Methanol (7:2:1) chromatographiert. Anschliessend wurde das Orientalidin zur Endreinigung erneut auf Kieselgel-HR-Platten aufgetragen. Die Trennung erfolgte mit dem Fließmittel, Benzol: Aceton: Methanol (85:10:5). Die Fraktionen mit den Komponenten Isothebain und Salutaridin Hessen sich, auf Kieselgel HR-Platten aufgetragen, mit dem Fließmittel, Benzol:Aceton:Methanol (85:10:5) sauber trennen. Die Reinigung von Alborin erfolgte gleichfalls auf Kieselgel-HR-Platten, die Entwicklung wurde mit dem Fließmittel, Chloroform:Methanol (7:3) vorgenommen.

Derivatisierung

50 mg getrocknetes Isothebain wurde in 2 ml Essigsäureanhydrid gelöst. Die Lösung wurde 2 Tropfen getrocknetem Pyridin versetzt.

1 Stunde auf dem Wasserbad erhitzt und dann im Vakuum eingengt. Der Rückstand wurde mit 10% iger Ammoniaklösung alkalisiert und diese Lösung mit Ether ausgeschüttelt.

ERGEBNISSE UND DISKUSSION

Aus dem untersuchten Milchsafte von *P. Orientale* konnte als Hauptalkaloid das Isothebain isoliert werden. Als Nebenalkaloide waren Salutaridin, Orientalidin, Mecambridin und Alborin nachweisbar. Obwohl anhand der morphologischen und cytotogenetischen Merkmale als Art nur *P. Orientale* bestimmt werden kann (1), laesst sich ein für diese Art als typisch betrachtetes Alkaloid - in einigen Faellen sogar Hauptalkaloid (1-3, 12-, 14-16) - das Oripavin nicht identifizieren. Auch ist der Nachweis von Thebain negativ, das ebenso von einigen Autoren (9, 13) für *P. Orientale* als typisches Alkaloid angesehen wird. Die eigenen Untersuchungen geben Anlass zu dem Schluss, dass es sich bei dem selektionierten Pflanzenmaterial um eine chemische Rasse gehandelt hat.

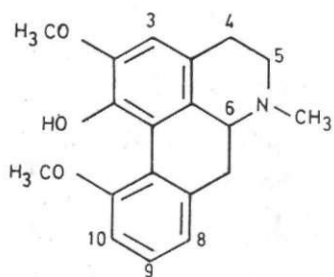
Messdaten

Isothebain (I, siehe Abb. I): kristallisierte aus einer Mischung Etylacetat: Chloroform (1:1). Schmp. 198-200°C. Isothebainacetat, kristallisierte aus petrolether. Schmp. 145-146°C.

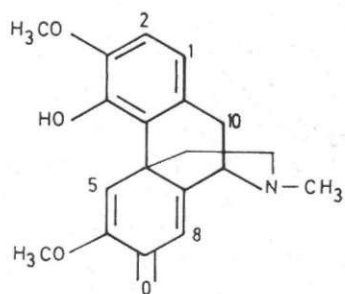
UV(MeOH): λ_{max} 271, 294 nm; IR (cm⁻¹, KBr): 3250, 2938, 2840, 2770, -1590 und 1570 (Dublett, Valenzschwingungen der C=C Vibration arom. Ringen) -, 1252, 1080; ¹H-NMR (CDC1₃) δ 7.81 (1H, br s, OH) 7, 0-7.39 (3H, m, H-8, 9, 10), 6.68 (1H, s, H-3), 3.98 (3H, s, OCH₃), 3.90 (3H, s, OCH₃), 3.16 (1H, d, J=3,5 Hz, H-6), 2.53 (3H, s, N-CH₃), 3.15-2.33 (6H, m, 3xCH₂); MS, m/z (%): 311 (M+, 100), 310 (65), 296(38), 294(58), 280(47), 268(25), 253(16), 250(14), 165(18), 155(13).

Salutaridin (II): kristallisierte aus Ether. Schmp. 196-199°C.

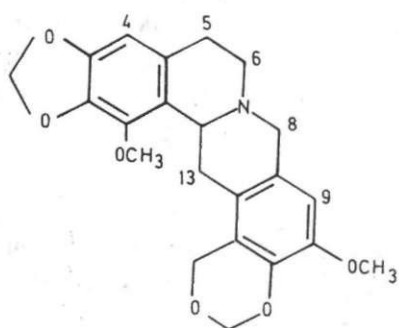
UV(MeOH): λ_{max} 240, 276 nm; IR(cm⁻¹, KBr) 3400, 2940, 2338, -1665, 1640 und 1610 (α , β ungesaettigte Carbonylgruppe) -, 1470, 1433; ¹H-NMR(CDC13): δ 7, 55 (1H, s, H-5), 6.70 (2H, dd, J=8 Hz, H-1,2), 6.32 (1H, s, H-8), 3.88 (3H, s, CH₃OAr), 3.75 (3H, s, OCH₃), 2.44 (3H, s, N-CH₃); MS, m/z (%): 327 (M+, 100), 326(18), (312(90), 299(26), 284(42), 268(19), 267(14), 266(15), 258(16), 255(23), 252(19), 242(22), 241(21), 227(29), 198(22), 152(22).



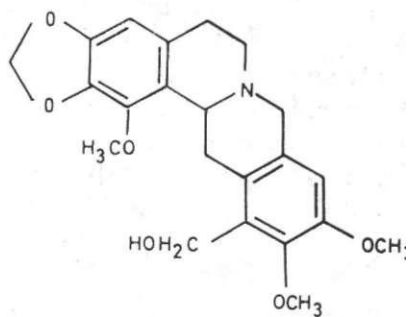
I



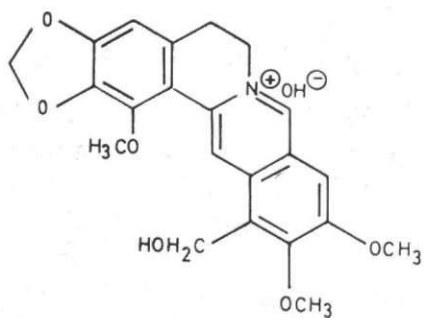
II



III



IV



V

Orientalidin (III): kristallisierte aus einer Mischung von Methanol und Chloroform (1:1) in Nadeln. Schmp. 196-197°C.

UV(MeOH): λ_{max} 286 nm; IR (cm^{-1} , KBr): 2910, 2840, 1617, 1113, 1080, 1035; $^1\text{H-NMR}(\text{CDCl}_3)$: δ 6.51 (1H, s, arom. H-9), 6.35 (1H, s, arom. H-4), 5.89 (2H, s, O-CH₂-O), 5.24 (2H, s, CH₂OCH₂-O-aromat.), 4.76 (2H, dd, J=15 Hz. arom. CH₂O), 3.98 (3H, s, OCH₃), 3.96 (2H, dd, J=16 Hz arom. CH₂N), 3.85 (3H, s, OCH₃); MS, m/z (%): 397 (M+, 100), 396(18), 367(12), 366(11), 205(24), 204(49), 193(21), 192(51), 164(13), 162(78), 133(12).

Mecambridin (IV): kristallisierte aus einer Mischung Methanol: Chloroform (1:1) als braeunliche Blaettchen. Schmp. 178°C.

UV(MeOH): λ_{max} 287 nm., IR (cm^{-1} , KBr): 3200, 2960, 2925, 2910, 2835, -1622 und 1597 (Dublett, Valenzschwingungen der C=C Vibration arom. Ringen)-; $^1\text{H-NMR}(\text{CDCl}_3)$: δ 6.60 (1H, s, arom. H-9), 6.35 (1H, s, arom. H-4), 5.89 (2H, s, O-CH₂-O), 4.68 (2H, s, arom. CH₂OH), 4,0 (2H, dd, J=16 Hz, arom. CH₂N), 3.99 (3H, s, OCH₃), 3.86 (3H, s, OCH₃), 3.85 (3H, s, OCH₃), 1.91 (1H, s, -OH); MS, m/z (%): 399 (M+, 100), 398(39), 384(20), 368(19), 294(12), 280(9), 206(62), 204(65), 196(17), 195(40), 194(45), 189(23), 179(70); 165(22), 151(19), 149(76), 121(26), 119(22).

Alborin (V): wurde aus methanolischer Lösung mit Ether als gelb gefaerbte Base ausgefaellt. Schmp. 236-240°C(24).

UV(MeOH): λ_{max} 245, 260, 289, 322, 335 nm.; MS, m/z (%): 411 (M+15, 4,8-oxo-7,8 Dihydroalborin), 397 (M+1, 96, 7,8-Dihydroalborin), 396 (M+, 100), 395(23), 382(27), 380(29), 366(27), 364(18), 350(15), 336(13), 322(12), 206(5), 204(6), 194(5), 179(5).

DANKSAGUNG

Für die Aufnahme der Massenspektren sei der Abteilung Massenspektrometrie und für die Aufnahme der $^1\text{H-NMR}$ -Spektren der Abteilung Kernresonanzspektroskopie im Institut Organische Chemie der Universitaet Münster und für die Überlassung der Vergleichssubstanzen (Salutaridin, Orientalidin und Mecambridin) Frau Prof. G. Sanyar, Pharmazeutische Fakultaet der Universitaet Istanbul, gedankt.

LİTERATÜR

- 1- Goldblatt, P., *Ann. Missouri Bot. Gard.*, **61**, 264 (1974).
- 2- Fairbairn, J.W., Williamson, E.M., *Planta Med.*, **33**, 365 (1978).
- 3- Phillipson, J.D., Scutt, A, Baytop, A., Özhatay, N. und Sariyar, G., *Planta Med.*, **43**, 261 (1981).
- 4- Klee, W., *Arch. Pharm.*, **252**, 211 (1914).
- 5- Gadamer, J., *Arch. Pharm.*, **252**, 274 (1914).
- 6- Fulton, C.C., *The Opium Poppy and Other Poppies*, US Treasury Department, Bureau of Narcotics, US Government Print, off. Washington (1944).
- 7- Dawson, R. F., James, C, *Lloydia*, **19**, 59.(1956).
- 8- Kleinschmidt, G., *Arch. Pharm.*, **294/66**, 254 (1961).
- 9- Neubauer, D., Mothes, K., *Planta Med.*, **9**, 666 (1961).
- 10- Preininger, V., Santavy, F., *Acta Univ. Palackiana Olumucensis Fac. Med.*, **43**, 5 (1966).
- 11- Delenk-Heydenreich, K., Pfeifer, S., *Pharmazie*, **24**, 635 (1969).
- 12- Baytop, T. und Sariyar, G., *J. Fac. Pharm. İstanbul*, **13**, 7 (1977).
- 13- Konowalova, R., Yunusov, S., Orechoff, A., *Chem. Ber.*, **68 B**, 2158 (1935).
- 14- Shafiee, A., Lalezari. I., Nasserri-Nouri, P., Asgharian, R., *J. Pharm. Sci.* **64**, 1570 (1975).
- 15- Shafiee, A., Lalezari. I., Assadi, F., Khalafi, F., *J. Pharm. Sci.* **66**, 1050 (1977).
- 16- Sonja, G., Dawson, R. F., *Biochemisry*, **2**, 186 (1963).
- 17- Sakar, M. K. Engelshowe, R. Friedrich, H., *Planta Med.*, **40**, 193 (1980).
- 18- Sariyar, G., *J. Fac. Pharm. İstanbul*. **13**, 171 (1977).
- 19- Sariyar. G., *J. Fac. Pharm. İstanbul*, **12**, 171 (1976).
- 20- Sariyar, G. Baytop T. *Planta Med.* **38**, 378 (1980).
- 21- Sariyar, G., Phillipson, D., *Phytochemistry*. **16**, 2009 (1977).
- 22- Sakar, M. K., *Dissertation, Universtaet Münster*, (1981).
- 23- Fairbairn, J.W., Hakim, F., *J. Pharm. Pharmacol.* **25**, 353 (1973).
- 24- Pfeifer, S., Thomas, D., *Pharmazie* **21**, 701 (1966).