

KROMATOGRAFSKA IDENTIFIKACIJA
ALKALOIDA BUFOTENINA U LJUTOJ
KOPRIVI (*URTICA PILULIFERA* L.)

With Summary in English

IVAN REGULA

(Iz Instituta za botaniku Sveučilišta u Zagrebu)

Primljeno 3. 2. 1972.

Uvod

Neki od spojeva što pripadaju alkaloidima rasprostranjeni su u biljnom i životinjskom svijetu. Međutim indolske baze 5-hidroksitriptaminskog tipa ipak nisu česte. Tako je bufotenin (N, N-dimetil-5-hidroksitriptamin) prvi put nađen i izoliran iz otrovnog sekreta kože žabe *Bufo communis* (Wieland, Konz i Mittasch 1934) po kojoj je dobio ime.

Kasnije je identificiran u otrovnim gljivama roda *Amanita* (Wieland i Motzel 1953), dok je u višim biljkama nađen samo u četiri vrste roda *Piptadenia* (Stromberg 1954; Fish, Johnson i Horning 1955; Jacobucci i Rúveda 1964), koje su domoroci nekih južno-američkih zemalja dugo upotrebljavali kao izvor narkotičkih sredstava i lijekova.

Ispitujući prisutnost 5-hidroksiindolskih spojeva u ekstraktima ljute koprive primijećene su osim serotonina (Regula 1970) indolske supstance za koje se pretpostavljalo da su vjerojatno dalje stepenice u metaboličkom putu ove grupe spojeva u biljci.

Ekperimentalni dio

Biljni materijal (692 g) je smrznut (kod -10°C) a zatim homogeniziran u hladnom metanolu.

Ekstrakcija hladnim metanolom trajala je 22 sata u hladnim uvjetima ($+3^{\circ}\text{C}$). Ekstrakti su odsisani, spojeni i upareni pod blagim uvjetima (temp. $+33^{\circ}\text{C}$, vakuum 18 mm Hg) na volumen 11 ml. Izmučkavanjem petroleterom uklonjene su biljne boje i lipofilne supstance iz ekstrakta.

Tabela 1 — Table 1

Rf vrijednosti i obojene reakcije supstancije A iz koprive i uzorka bufotenina
Rf Values and Colour Reactions of the Compound from the Roman nettle and of the sample of bufotenine

Supstancija Substance	Papirna kromatografija Rf u otapalu*	Tankoslojna kromatografija	Thin layer chromatography	Reagensi Reagents						
	1	2	3	4	5	I	II	III	IV	V
Supstancija A iz koprive	0.54	0.82	0.79	0.22	0.74	m.	m.	m.	crv-sm.	tlj.
Compound from the Nettle	0.54	0.82	0.80	0.82	0.74	m.	m.	m.	crv-sm.	tlj.

- * 1. n-BuOH-AcOH-H₂O (60 : 15 : 25)
 2. izo-PropOH-NH₃-H₂O (10 : 1 : 1)
 3. MeOH-BuOH-C₆H₆-H₂O (4 : 2 : 2)
 4. Dest. H₂O
 † SiO₂ G
 5. izo-PropOH-NH₃-EtAc (35 : 20 : 45)

- I = Ehrlich-ov
 II = p-N, N-Dimetilaminocimtaldehyd
 III = Ksanthidrol
 IV = Diazot. p-nitroanilin
 V = Jodoplatinat

m. = modra — blue
 tlj. = tamnoljubičasta — dark-violet
 crv-sm. = crvenosmeđa — red-brown

Kromatografijom na papiru s Ehrlichovim reagensom primijećene su osim serotonina još dvije indolske supstancije A i B. Radi separacije tih supstancija ekstrakt je propuštan kroz kolonu aluminijeva oksida (aktivitet II—III, Merck), veličine 0,5 cm x 25 cm. Stupac je pripremljen s kloroformom, a elucija je vršena s otapalima kloroform-etanol (47,5 : 2,5 i 45 : 5). Eluati su kromatografirani na Whatman papiru br. 1 i tankom sloju silika gela G u različitim otapalima (tabela 1).

Rezultati i diskusija

Propuštanjem ekstrakata preko kolone Al_2O_3 uspjelo je eluensom kloroform-etanol (47,5 : 2,5) djelomično odijeliti supstanciju A. Otapalo s većim sadržajem etanola, kojim je izvršena elucija tek od 20. frakcije nadalje, eluira obje supstancije. Kromatografsko ponašanje supstancije A u različitim otapalima (tabela 1) pokazuje da ona ima relativno velike Rf vrijednosti, pogotovu u baznom otapalu, dok u kiselom putuje slabije što upućuje na njezin alkalni karakter. Mala Rf vrijednost uz razvlačenje mrlje u slučaju kad je kromatogram razvijan u destiliranoj vodi karakteristična je za triptamine bez obzira na to je li im amino skupina supstituirana ili ne.

Na temelju dobivenih vrijednosti Rf kao i obojenih reakcija Ehrlichovim reagensom i ksanthidrolom na indolske spojeve, diazotiranim p-nitroanilinom na fenolne grupe te jodoplatinatom na tercijarne amine, odnosno alkaloida, uz istovremene negativne reakcije na primarne i sekundarne amine (Jepson-Stevensonov reagens, Na-nitroprusid) pokazalo se da je supstancija A identična sa sintetskim uzorkom bufotenina.

Zaključak

Kromatografska ispitivanja metanolskog ekstrakta ljute koprive (*Urtica pilulifera* L.) na papiru i tankom sloju silika gela upozorila su na prisutnost alkaloida bufotenina.

*

Zahvaljujem prof. dru Zvonimiru Devidéu na susretljivosti i korisnim sugestijama.

Literatura — References

- Fish, M., Johnson, N., and Horning, E., 1955: *Piptadenia alkaloids*. Indole Bases of *P. peregrina* (L.) Benth. and Related Species. J. Am. Chem. Soc. 77, 5892—5897.
- Iacobucci, G., and Rúveda, E., 1964: Bases derived from tryptamine in Argentine *Piptadenia* species. Phytochemistry 3, (3) 465—467.
- Regula, I., 1970: 5-hidroksitriptamin u ljutoj koprivi (*Urtica pilulifera* L.). Acta Bot. Croat. 29, 69—74.
- Stromberg, V., 1954: The isolation of Bufotenine from *Piptadenia peregrina*. J. Am. Chem. Soc. 76, 1707—1709.
- Wieland, H., Konz, W., und Mittasch, H., 1934: Die Konstitution von Bufotenin und Bufotenidin. Über Krötengiftstoffe. Liebigs Ann. 5133, 1—4.
- Wieland, H., und Motzel, W., 1953: Über das Vorkommen von Bufotenin im gelben Knollenblätterpilz. Liebigs Ann. 581, 10—12.

SUMMARY

CHROMATOGRAPHIC IDENTIFICATION OF ALKALOID BUFOTENINE IN THE ROMAN NETTLE (*URTICA PILULIFERA* L.)

Ivan Regula

(Botanical Institute of the University of Zagreb)

Leaves and stems of the Roman nettle were frozen and homogenized in cold methanol (+ 3 °C) and extracted several times with the same solvent.

The separation of the compound was achieved on the Al₂O₃ (Activity II—III, Merck) column. The indole alkaloid bufotenine was identified by comparison of R_f values and colour reactions with authentic sample of bufotenine.

Ivan Regula mr biol.
Odjel za fiziologiju
Institut za botaniku
Sveučilišta u Zagrebu
Rooseveltov trg 6/III, p.p.933
41001 Zagreb (Jugoslavija)