

A RESZERPIN
ÁTALAKULÁSTERMEKEI

Bayer János
doktori disszertációja.

Készült a Kőbányai Gyógyszerárugyár Analitikai Laboratóriumában.

1958.



Diss. | B 36



I. R É S Z

Bevezetés.

A Rauwolfia-félések az Apocynaceae növényrendszertani családba tartozó növények, amelyeket ezzel a névvel először Leonard Rauwolf, a XVI. században élő német orvos-botanikus tiszteletére Charles Plumier francia kutató illetett.

A Rauwolfia gyökér, illetve az ebből készített kivonatok hatása régen ismert; már Garcia da Orta 1563-ban megjelent könyvében terjedelmesen írt róla. Ezt a könyvet a későbbiek folyamán latin, olasz, francia és angol nyelvre is lefordították és igen elterjedten használták.

Az Indiából származó Rauwolfia fajok a hatásos alkaloidokat elsősorban a gyökérrészben, különösen a gyökér kéregben tartalmazzák, csak kisebb mennyiség található a szárban és a levélben. Az első kémiai vizsgálatokat holland és indiai kutatók kezdték meg 1880-1890 között. Először M. Greshoff /37/ állapította meg, hogy a hatás hordozói alkaloid-szerű vegyületek. Első ízben indiai kutatók izoláltak kristályosan nitrogén tartalmú alkaloid jellegű vegyületeket a Rauwolfia serpentina-ból /76/. Ezután a mintegy 100-150 Rauwolfia-féleség vizsgálatáról és a különböző alkaloidok izolálásáról egymás után érkeznek a hírek /1. 94-102/.

A Rauwolfia extraktumok vérnyomáscsökkentő és szedatív hatásáról először szintén indiai kutatók számoltak be /20,74/. Az egymásután felfedezett és kristályosan kipreparált alkaloi-

idok egyike sem rendelkezett azonban ilyen hatással, vagy legalábbis nem olyan mértékben, mint azt az extraktumok biológiai hatásereőségéből várni lehetett volna. Dutt /32/vizsgálatai szerint az u.n. "oleoresin frakció" rendelkezik az erős szedatív és vérnyomáscsökkentő hatással. Ezt a tapasztalati tényt felhasználva sikerült 1952-ben Müllernek és - a Rauwolfia kutatásairól azóta világhírűvé vált társának - Emil Schlittlernek kristályosan izolálni az értékes farmakológiai hatás tulajdonképpeni hordozóját, egy új alkaloidot, melyet resserpiannak neveztek el. /61/

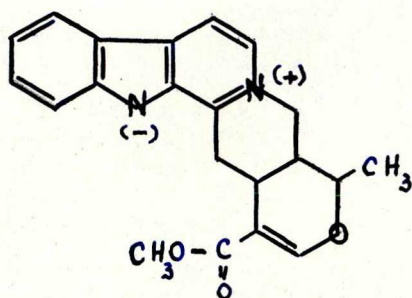
A reszerpin jellegzetes farmakológiai hatása a központi idegrendszer szimpatikus centrumainak gátlásában mutatkozik, ami által egy általános nyugtató hatás és a vérnyomás süllyedése jön létre /13/.

Steenhauer /79/ újabban kimutatta, hogy az általa annak idején kipreparált u.n. "B alkaloid" /78/ azonos a reszerpinnel.

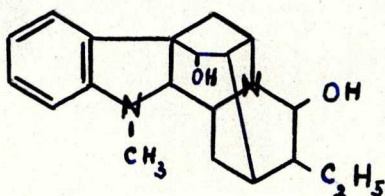
A Rauwolfia alkaloidokat bázicitásuk alapján három csoportra oszthatjuk:

erős bázicitásu kvaterner anhidronium alkaloidok
közepes bázicitásu tercier indolin alkaloidok
gyenge bázicitásu tercier indol alkaloidok.

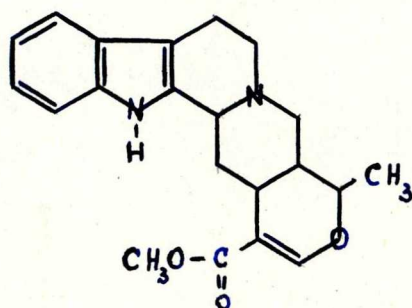
Az első csoportba tartozó alkaloidok jellegzetes képviselője a szerpentin, a második csoporté pedig az ajmalin. A harmadik csoportba tartozó alkaloidok yohimbin vázúak. Két csoportra oszthatók; az egyik alcsoport jellegzetes képviselője a δ -yohimbin, melynek E gyűrűje heterociklusos, a másik



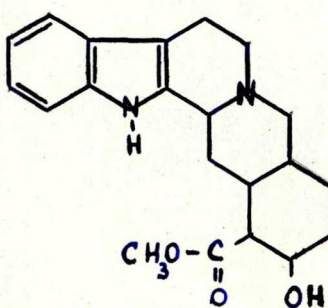
szerpentin



ajmalin



δ-yohimbin



α-yohimbin

alcsoporté az α -yohimbin, karbociklusos E gyűrűvel. Az α -yohimbin város alkaloidok legfontosabbjai a reszerpin, reszcinnamin és a deszerpidin.

A reszerpin izolálása.

A különböző Rauwolfia-féleségekből a reszerpin kipreparálására több eljárás ismeretes, azonban ezek lényegileg azonosak. Az alábbiakban a CIBA cég szabadalmaztatott eljárását /31, 31/ vázolom röviden.

4,0 kg finoman elporított gyökeret 20 l metanollal perkoláltak mindaddig, amíg Mayer-reagenssel $/K_2HgJ_4/$ már negatív reakciót kaptak. A metanolos extraktumot vakuumban szárásra párolták és diatoma földdel való összekeverés után vízzel dige-

rálták. A vízben oldhatatlan csapadékot híg sósavval extrahálták, vízzel kimosták és a fel nem oldódott részt megszárították. A megszárított tömeget Soxhlet készülékben petroléterrel zsírtalanították, majd 95 %-os alkohollal kivonatolták és végül le-
szűrték. A szűrletet vakuumban bepárolták, amelynek eredményeként 200 g u.n. "oleoresin"-t nyertek. Az "oleoresin" frakciót továbbiakban Craig készüléken 12 frakcióra választották szét, majd a reszerpint tartalmazó részt Al_2O_3 oszlopon kromatografálták. Az eluátumot vakuumban szárazra párolták és metanolból átkristályosították. Kitermelés: 5 g reszerpin.

Hazánkban dr. Tuzson Pál és munkatársai foglalkoztak a reszerpin drogból való kinyerésével. Kísérleteik eredményeként egy gyors, jó kitermeléssel járó, egyszerű eljárás született. /57/: A finomra őrölt Rauwolfia gyökeret sósavas benzollal kivonatolták, a kivonatot bepárolták és a maradékot petroléterrel lipoidmentesítették. A visszamaradt szilárd részt ecetsavas metanolban oldva csontszénnel kezelték és a leszűrt oldatot cc. ammoniával semlegesítették. Ennek hatására kristályosan vált ki a nyers reszerpin, amelyet azután kromatográfiás úton tisztítottak és végül átkristályosítottak.

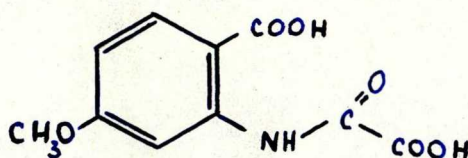
Reszerpin szerkezet felderítése.

A reszerpin szerkezet kutatását a CIBA kutató csoport munkája alapján /31, 36/ ismertetem, melyhez részben kiegészítésként, részben novumként járultak Heuss /62/ és Klohn /50/ eredményei.

- 1./ A reszerpinből lúgos hidrolízis során egy mol 3,4,5-trimetoxibenzoesav /gallussavtrimetiléter/, egy mol metanol és egy mol nitrogén tartalma sav keletkezett, amelyet reszerpsavnak neveztek el. Annak eldöntése érdekében, hogy az elszappanosítás során nem következett-e be izomerizáció, a nyert reszerpsavat diazometánnal észterositették és ezt a metilreszerpátot piridines közegben trimetoxibenzoesav-kloriddal reagáltatták. A nyert termék a fizikai, kémiai és farmakológiai vizsgálatok alapján a kiindulási reszerpinnel teljesen azonosnak bizonyult.
- 2./ Analitikai vizsgálatok a reszerpinre $C_{33}H_{40}O_9H_2$ -t eredményeztek, amelyből a már ismert oldalláncook $-OCH_3$, $-CO-C_6H_2-/OCH_3/3$ / elhagyásával a reszerpsavra $C_{22}H_{28}O_5H_2$ összegképlet adódik. További analitikai vizsgálatok szerint a reszerpin hat metoxi csoportot, egy bázikus és egy savanyu tulajdonságokkal rendelkező nitrogén atomot tartalmaz. Az ultraibolya és infravörös spektrumokból két észterkötés, egy metoxi-indol és egy második telítetlen kromofor csoport jelenléte állapítható meg.
- 3./ A reszerpsav az infravörös és analitikai vizsgálatok szerint két metoxi és egy hidroxil csoportot tartalmaz a karboxil gyökén kívül.
- 4./ A reszerpin két észter-kötése litiumaluminiumhidriddel redukálható, amikor is reszerpindiol és trimetoxibenzilalkohol keletkezik, a trimetoxibenzoesav jelenlétének újabb bizonyítékként.

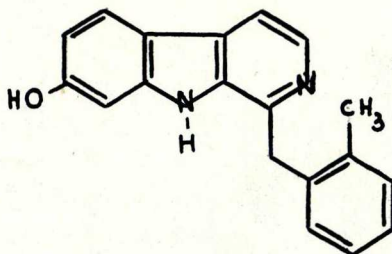
5./ Ha a reszerpsavat piridinben ecetsavanhidriddel kezeljük, egy γ -laktont tartalmazó vegyület jön létre, amely tény arra enged következtetni, hogy az OH és a COOH csoportok térközben foglalnak helyet.

6./ Ha a reszerpsavat lugos káliumpermanganáttal oxidáljuk, 4-metoxi-N-oxalil-antranilsav keletkezik,



ami azt mutatja, hogy az indol váz a 6-os helyzetben metoxi csoportot tartalmaz.

7./ A szelénos redukció során egyik termékként 7-hidroxiyobirint sikerült kiperarálni,

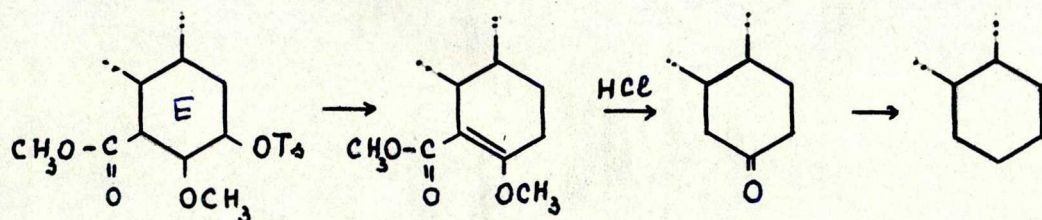


amely egyrészt megerősíti a 6-metoxiindol jelenlétét, másrészt pedig bizonyítja, hogy a reszerpsav yohimban vázzal rendelkezik.

8./ A reszerpsav káliulugos bomlástés hatására szimmetrikus, 5-hidroxiizoftálsavat ad, amelyből az a következtetés vonható le, hogy az OH és COOH csoport ugyanazon a karbociklusos gyűrűn foglal helyet./Ezt a tényt a könnyű laktonkép-

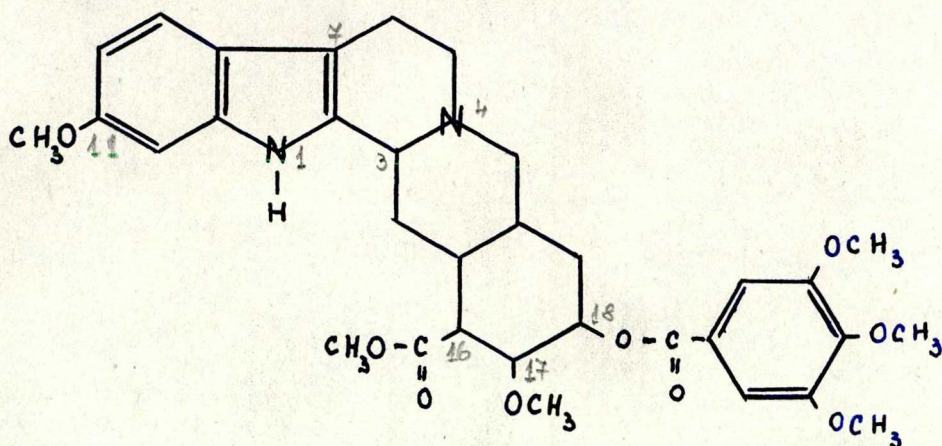
sődés is megerősíti, sőt - a kettőt egybevetve - azt a fel-
tételezést is megengedi, hogy a két szubsztituens cisz hely-
zetű./

9./ A metilreszerpáthból piridinben p-toluolszulfoklorid hatá-
sára metilreszerpáttozilát keletkezik, amely kollidinben
forralva detozilálódik, miközben metilanhidroreszerpát jön
létre. Ennek a vegyületnek a jellegzetes $\text{ROOC-C}\equiv\text{C-OR}$ csoport-
ja mind az infravörös, mind az ultraibolya spektrumban je-
lentkezett.



Továbbá, ha a yohimbinek mintájára feltételezett $\text{C}_{17}\text{-OCH}_3$
helyes, az enolos metiléternek sav hatására hidrolizálni
kell és keton csoport kialakulása várható. Sósavas hidroli-
zissal sikerült is reszerpont előállítani, amely azután a
ticketálos módszerrel reszerpánná alakítható./A sav hatá-
sára u.i. a hidrolízis mellett dekarboxilálódás is bekö-
vetkezik./

A fenti kísérletek eredményeit összevetve, megállapítható
a reszerpin szerkezetiképlete, egyelőre a sztereokémiai ismere-
tek nélkül:



A reszerpin sztereokémiája.

A yohimbin gyűrű rendszerben 3 asszimmetria centrum van, ezért $2^3 = 8$ aktiv módosulat és 4 racém pár lehetséges. A C_3 - C_{15} - C_{20} hidrogének egymáshoz viszonyított helyzete és egyúttal a C-D-E gyűrűk anellációjának alapján lehetséges yohimbin izomereket az 1. ábra mutatja. (10. old.)

A yohimbin további két aktiv centrumot / C_{16} -COOCH₃ és C_{17} -OH / tartalmaz, amelynek következményeként az izomerek száma $2^5 = 32$. A reszerpin C_{18} -OR szubsztituense az összes lehetséges izomerek számát 64-re növeli.

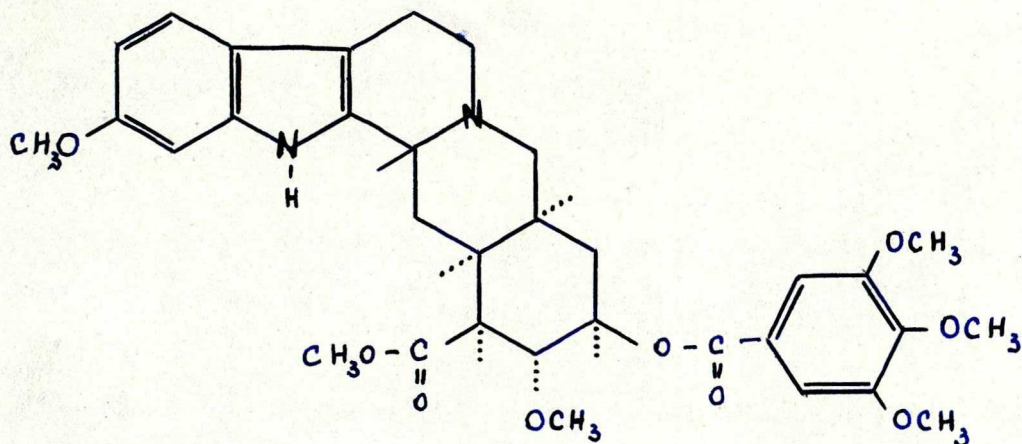
A reszerpin térszerkezeti problémáinak megoldását nagyban elősegítette az a tény, hogy a deszerpidint /11-desmetoxireszerpin/ - szerkezet kutatása során - sikerült α -yohimbinolra lebontani /66/:

Metildeszerpidáttozilátból litiumbromiddal C_{16} -Br származékot állítottak elő, amely cinkkel ecetsavas közegben dehalogénezhető. A C_{17} -metoxi csoportot HBr-dal sikerült meg-

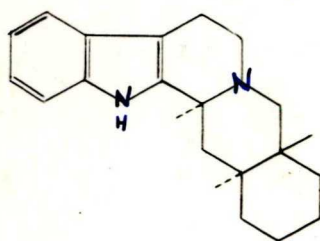
bontani, majd az ugyancsak felszakadt karbometoxi csoportot diazometánnal visszaésteresíteni és litiumaluminium-hidriddel redukálni. Ezen az úton α -yohimbil alkoholt nyertek, amelynek szerkezete már ismert volt /18/.

Viszont a reszerpin és deszerpidin nagyon hasonló kémiai, fizikai és farmakológiai tulajdonságai arra engednek következtetni, hogy a két alkaloid térszerkezete azonos. Így feltételezhető, hogy a reszerpin is α -yohimbil térszerkezettel rendelkezik, ha a deszerpidin lebontása közben izomerizáció nem következett be.

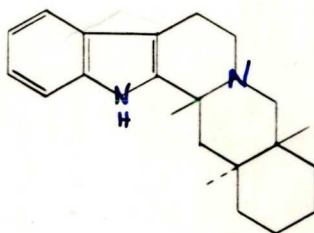
Az α -yohimbil alkohol keletkezése során a C_{16} és C_{17} konfiguráció megváltozása nem valószínű /66/, a C_{15} -H és C_{20} -H oiaz helyzete is igen stabil /89/, ellenben a C_3 -H sav hatására könnyen izomerizálódik /2, 22, 66/. Ezért tehát fel kellett tételni, hogy a reszerpin 3-epi- α -yohimbil vázzal rendelkezik:



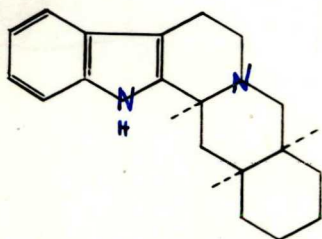
Az egyes aszimmetria centrumok térszerkezetének a fentiekben tulmenő kísérleti bizonyítását l. 28, 46, 84 és 86.



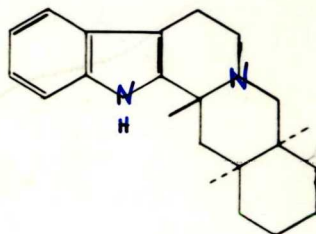
syn - trans
/yohimban/



anti - trans
/γ-yohimban/



syn - cis
/allo-yohimban/



anti - cis
/3-epi-allo-yohimban/

1.ábra. A yohimban lehetséges izomér-párjai.

Mivel a resserpin nátriummetoxiddal metanolban forralva csak metilresszerpáttá alakul, azonban a C_{16} konfigurációja nem változik meg, valószínű az a feltevés, hogy a C_{16} szubsztituens a stabilabb ekvatoriális elhelyezkedésű. A konformációs viszonyokat is feltüntető ábrázolási módban a resserpin térszerkezetét a 13. ábra mutatja /1. 44. oldalon/.

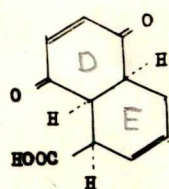
A reszerpin szintézise.

Egy vegyület szerkezetének legdöntőbb bizonyítéka, ha azt a feltételesett konstitúció, konfiguráció és konformáció alapján lépésről-lépésre fel lehet építeni. Ezt az elvet követték Woodward és munkatársai /90, 91/ a reszerpin totálszintézisé-nél. Eljárásuk lényege a következő:

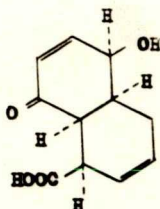
Vinilakrilsavból és p-benzokinonból az I. terméket /2. ábra/ nyerték, amelyet nátriumborohidriddel alkohollá /II./ redukáltak. /A kialakult OH csoport β állásu ekvatoriális elhelyezkedésű, a két gyűrű anellációjá pedig cisz./ Ennek a terméknek az E gyűrűjében található kettőskötést benzol-dioxán elegyben perbenzoesavval epoxiddá oxidálták, majd benzolos közegben ecetsavanhidrid és nátriumacetát hatására laktonná alakították /III./. A laktont izopropilalkoholban aluminiumisopropoxiddal kezelték, amikor egy éter jött létre /IV./, amelyből nátriummetoxid hatására metanolos közegben az V. keletkezett. /A metoxi csoport a reszerpin E gyűrűjében is megtalálható térhelyzetben, azaz a karboxil csoporttal transz állásban helyezkedett el./

Ezt az V. intermediér terméket később közvetlenül az I. aluminiumisopropoxiddal való redukálása, brómmal való oxidálása és nátriummetoxiddal való kezelése útján tudták egyszerűbben előállítani.

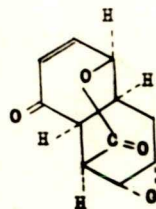
A telítetlen V. vegyületet kénsavas H-brómszukoïnimiddal való kezelés /VI./, majd ecetsavas közegben krómsavval való oxidáció után /VII./ cinkkel redukálták /VIII./, diazometánnal



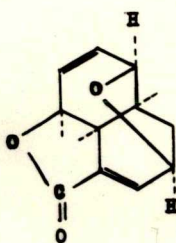
I.



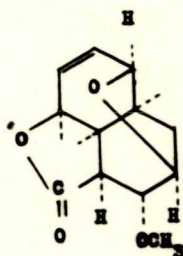
II.



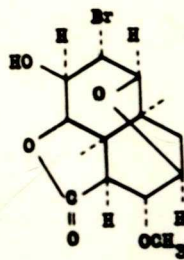
III.



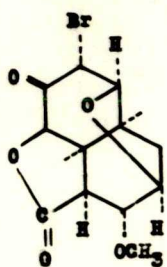
IV.



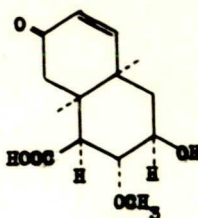
V.



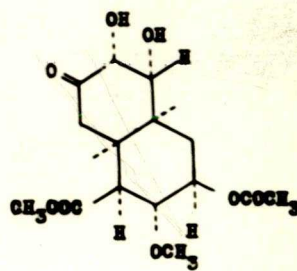
VI.



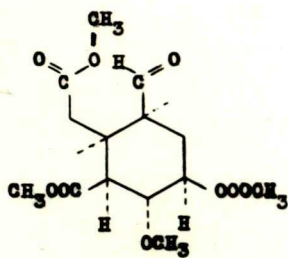
VII.



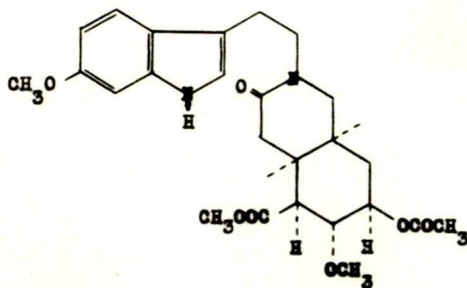
VIII.



IX.



X.



XI.

2. ábra. A reszerpin szintézisének fontosabb fázistermékei.

észtereszítették, ecetsavanhidriddel acilesték, majd ozmiumtetroxiddal és káliumkloráttal vicinális diollá alakították át /IX./. A diolt vízes perjódssavval oxidálták, diazometánnal észtereszítették /X./ és 6-metoxitriptaminnal kondenzálták, majd a keletkezőt iminovegyületet metanolban nátriumborohidriddel redukálták /XI./. A gyűrűszáródást foszforoxikloriddal való melegítés hatására tudták elérni. A ciklizáció közben kialakult kvaterner vegyületet nátriumborohidriddel 4,1-/0-acetil/-3-izoreszerpáttá redukálták, amelyeket di-p-toluil-1-borkőssavas sóik kipreparálásával választottak szét. A bázis felszabadítása és lúgos hidrolízise után nyert 3-izoreszerpsavat izoreszerpsavlaktonná alakították és pivalssavval /Trimetilecetsav/ forró xilolban izomerizálták. A reszerpsavlakton metanolízise után keletkezett metilreszerpátot piridinben 3,4,5-trimetoxibenzoesavkloriddal reagáltatták, amikor is a natív reszerpinnel teljesen azonos fizikai, kémiai és farmakológiai tulajdonságokkal rendelkező terméket nyertek.

A konvertálás másik lehetséges útja az izoreszerpin oxidációja dehidroreszerpinné; ugyanis ennek a kvaterner kationnak a redukciója reszerpint eredményez /85/.

A jelöléseknél a Fieser által bevezetett módszert /35/ alkalmaztam: A gyűrű síkja fölött elhelyezkedő kötések / β kötés/ kihúzott vonallal, a gyűrű síkja alá nyúló atomokhoz tartozó kötésvonalakat / α kötés/ pedig szaggatottan rajzoltam.

A reszerpin analitikája.[•]

Ahhoz hogy a reszerpint gyógyszeres készítményekben fel tudják használni, tisztán, kristályosan kell kinyerni a drog-ból. A kristályos reszerpin jól definiált vegyület, amelynek azonban a klasszikus értelemben vett fizikai állandói és kémiai jellemzői nem mutatják meg egyértelműen tisztasági fokát. Ezért ezeket a modern analitikai és fizikai kémia újabb vizsgálati módszereivel kell kiegészíteni /pl. papírkromatográfia, kristallográfia, ultrabolya és infravörös spektrum, stb./.

Azonossági színreakciók. A reszerpin molekulájában szereplő indol részzel ad színeződést a p-dimetilaminobenzaldehid és a vanilin /14/. A cukroknál használatos xanthidrol /14/ és u.n. Keller-Kiliani reakció /43/ segítségével szintén kimutatható a reszerpin jelenléte. Specifikus és érzékeny a fluoreszkáláson alapuló kimutatási mód /14/. A reszerpin salétromsavban piros színnel oldódik, majd az oldat színe kéken keresztül sárgává változik /58, 63/. Mikrokémiai azonosítása elvégezhető hidroxilaminklorhidráttal /58/, meléndioxiddal, ammóniumvanadáttal és molibdáttal, stb. /2, 21/. Ammóniumrodanid vagy káliumrodanid jelenlétében még 0,5 γ reszerpin is jól kristá-

[•] Tekintettel arra, hogy a téma analitikai problémáiból fejlődött ki, aránylag részletesen ismertettem a reszerpin analitikáját is.

lyosítható és a kristályok mikroszkóp alatt azonosíthatók /21/.

Fajlagos forgatóképesség. A reszerpin molekulájában hat aszimmetria centrum van, amelyek a poláros fény síkját elforgatják. A különböző közegekben mért fajlagos forgatóképesség értékek a következők:

$[\alpha]_D^{25} = -118^\circ$	kloroformban	/31,60,61/
$[\alpha]_D^{25} = -125^\circ$	dioxánban	/60/
$[\alpha]_D^{25} = -100^\circ$	1 n ecetsavban	/60/
$[\alpha]_D^{26} = -164^\circ$	piridinben	/63/
$[\alpha]_D^{26} = -168^\circ$	dimetilformamidban	/63/

Bomláspont. Bár a nagy molekulájú szerves vegyületeknél a bomláspont vizsgálata nehezen reprodukálható és éppen ezért nem is jellemző, a reszerpin esetében mégis célszerű meghatározni /60/; u.i. a legtöbb Rauwolfia alkaloid és a reszerpin hidrolizis termékei is alacsonyabb bomlásponttal rendelkeznek, mint a reszerpin és esetleges nagyobbfokú szennyezés jelenléte a bomláspont értéke alapján is megállapítható.

A bomláspont meghatározására két eljárás ismeretes. Az egyik a kénsavas, ill. paraffinos fürdőben való melegítés /gázlánggal vagy elektromos árammal/, a másik pedig a Kofler-féle mikrobomláspont meghatározás. Az előző módszeren belül is a bomláspont értékek lényeges eltérését okozhatja a kapilláris csövek átmérőjének, a fürdőbe való behelyezés időpontjának

és a fürdő felfűtési sebességének nem egységesen rögzített volta. További eltérések forrása lehet, hogy a szerzők sokszor nem közlik, hogy a megadott olvadás vagy bomláspont korrigált-e vagy sem. A bomláspont értékét a fentiekben tulmenősen még megváltoztathatja az is, ha a reszerpint más közegből kristályosítják.

Feltételezhetően ezekre vezethető vissza az a tény, hogy a reszerpin különböző szerzők által megadott bomláspont értéke nem egyezik egymással. Az alábbi táblázatban összegyűjtöttem néhány legismertebb és legmegbízhatóbb szerző által megadott adatot:

262 - 263° C	/29/
264 - 265° C	/63/
264 - 266° C	/36/
277 - 277,5° C	/31/

Főleg nagy az eltérés Dorfman és a többiek által megadott adatok között. A probléma tisztázására McMullen /60/ egy kromatográfiásan tiszta reszerpin bomláspontját határozta meg az USP XIV-ben leírt eljárással⁵ és a Kofler módszerrel. Míg az előző technikával végzett meghatározásnál 271,0-271,5 °C-t talált, addig ugyanarra a mintára Kofler blokkal 261,5-262 °C

⁵ A várt olvadás ill. bomláspont előtt 30°-kal helyezte be a kapillárist a kénsvas fürdőbe, amelynek felfűtési sebessége 3° pro perc egészen a várt olvadás ill. bomláspont előtt 3°-ig, tovább pedig 1° pro perc. Megfigyelte az olvadás kezdetét és a bomlás végét, amikor az egész anyag elbomlott.

adódott. Tehát a két különböző eljárás nem ad azonos eredményt.

Szokás a bomláspontot vákuumban meghatározni /pl. 91/; így rendszerint magasabb érték adódik, de még kevésbé reprodukálható /60/.

Ultraibolya és infravörös spektrumok. H. Neuss /63/ kimutatta, hogy a reszerpin u.v. spektruma a 2,3-dimetil-6-metoxi-indol spektrumához hasonlít leginkább, sőt ha ekvimoláris mennyiségű 3,4,5-trimetoxibenzoesavas metiészter is van jelen, a reszerpin spektrumával teljesen azonos lefutású görbe jön létre /31, 63/.

A reszerpin elnyelési spektrumát ultraibolya fényben szerkezet kutatás szempontjából még Müller /61/, Furlenmeier /36/, Dorfman /31/ és Neuss /62/, analitikai szempontból pedig McMullen /60/, Monseur /59/, Sakal /72/ és Shali /75/ vették fel.

Az alábbi táblázatban a Sakal által megadott és tapasztalataim szerint a legreálisabb adatokat tüntetem fel:

minimum	246 m ^μ	$\frac{1\%}{1\text{cm}} = 159$
maximum	267-8 m ^μ	278
minimum	288 m ^μ	169
maximum	293-5 m ^μ	172

A 216-7 m^μ -nál észlelt erős maximumhoz tartozó specifikus extinkció az alacsony hullámhossz miatt nem értékelhető ki megbízhatóan.

A reszerpin infravörös spektrumát eddig csak a szerke-

zet kutatás szempontjából vették fel és értékelték ki /29,36, 59,61,63/.

Mennyiségi meghatározások. A Rauwolfia-féleségek reszerpintartalmának meghatározása nagy nehézségekbe ütközik, főleg azért, mert egyes Rauwolfia alkaloidok kémiai tulajdonságukban - a hasonló szerkezet következményeként - nagyon hasonlítanak a reszerpinhez, amelyet ezért nehéz tisztán elkülöníteni és mennyiségét meghatározni.

A drogok összalkaloidtartalmát Eder /33/, Holt /44/, Hørrhammer /45/, Neuwald /64/ és Pillay /67/ vizsgálták. Fenti szerzők módszerei azonban csak az összalkaloid mennyiségét képesek meghatározni gravimetrián, az alkaloidok kipreparálása után, vagy valamilyen kémiai úton, átlag molekulasúlyt véve alapul. A tényleges reszerpintartalmat jobban megközelíti Bhar /25/ eljárása, aki a reszerpin elszappanosítása után keletkezett trimetoxibenzoosav ultraibolya abszorpciója alapján határozta meg a drogok reszerpin-tartalmát. Csupán azok az alkaloidok zavarják a meghatározást, amelyek hidroliziskor szintén trimetoxibenzoosavat szolgáltatnak /deszerpidin, zaunesscin, renoxidin, stb./; de meg kell jegyezni, hogy ezekből az alkaloidokból általában csak elhanyagolhatóan kis mennyiség található a drogokban.

A másik lehetséges megoldás a reszerpin mennyiségének megállapítására az oszlopkromatográfiás /4,54/, papírkromatográfiás /1,4,5,17,51,54,56,65/, elektroforetikus /40,54, 65,75/ és a Craig készüléken /49/ történő elkülönítés utáni

meghatározás. Tekintettel arra, hogy az ilyen típusú frakcionálás után teljesen tiszta reszerpin mennyiségét kell megállapítani, a szerzők többsége az u.v. elnyelésen alapuló analitikai eljárást választotta.

Több eljárást hasonlított össze és vizsgált kritikailag Gestirner /38/ és megállapította, hogy az eddig ismeretes drog-vizsgálati módszerek közül legmegbízhatóbb és a legreprodukálhatóbb eredményeket a Banes /4,5/ eljárása szolgáltatja.

Kristályos reszerpin preparátumok, valamint reszerpin tartalmu gyógyszeres készítmények alkaloidtartalmának meghatározására több módszer ismeretes. Ezek egy része a reszerpinre jellemző reakciókon alapszik, másik része általános alkaloid-reagensekkel határozza meg a reszerpin-tartalmat. Az alábbiakban röviden beszámolok az irodalomban ismeretes meghatározási eljárásokról.

1./ Az ultraibolya spektrum alapján részben az u.n. "ráción", részben pedig a standard anyaggal megállapított specifikus extinkciókhoz viszonyítva lehet a vizsgálandó minta tisztaságát ellenőrizni és reszerpintartalmát meghatározni /7,60,72,75/.

2./ Fluorimetriás eljárások. A különböző szerzők által megadott módszerek megegyeznek abban, hogy a reszerpint savanyu közegben oxidáló reagensekkel kezelik és a keletkezett ultraibolya fény hatására fluoresszkáló termék fluoreszcencia fényintenzitását, esetleg u.v. fény abszorpcióját mérik. McMullen /60/ cc. kénsavas melegítés, Dechene /24/ ecetsavas közegben hidrogén-

hiperoxiddal való kezelés. Szalkowszki /82/ kénsavas közegben nátriumnitrites kezelés után határozta meg a reszerpintartalmat. Ez utóbbi u.n. nitrites eljárást Banes módosította /5/ , míg mechanizmusát Haycock kutatta /41/.

Mannel /56/ az u.v. spektrofotometriás /72/ ill. fluorimetriás /24/ eljárásokat hasonlította össze és megállapította, hogy gyógyszeres készítmények vizsgálatánál az utóbbi a megfelelőbb.

3./ Abszorpciometriás és kolorimetriás eljárások. Banes /3/ a reszerpintartalom megállapítására a vanilinnel alkotott színreakciót használta fel. Mérésének pontosságát az által növelte, hogy a reszerpin elszappanosítása után nyert reszerp-savat és trimetoxibenzoesavat külön-külön is meghatározta. Booth /15/ a reszerpin-brómfenolkék, Reichelt /69/ a reszerpin-metilnarancs adduktus kolorimetrálásával határozta meg az alkaloidtartalmat. Wunderlich /92/ a reszerpin ammónium-Reineckáttal alkotott csapadékának metanolos oldatát, Jung /47/ pedig a xanthidrolis színreakcióval nyert színes oldatot vizsgálta fotométeren.

4./ Titrimetrikus eljárások. Saját kísérleteink szerint a kristályos reszerpin /8/ ill. a kieszorolt gyógyszeres készítmények /39/ reszerpintartalma igen pontosan meghatározható vízmentes közegben végzett titrálással. Két mérőoldatot alkalmazunk, kloroformos p-toluolszulfosavat /0,005 n, indikátor: dimetilsárga/ és jégecetes perklórsavat /0,1 n, indikátor: kristályibolya/. Az előző mérőoldattal mg nagyságrendű alka-

loid mennyiség is $\pm 0,6\%$ pontossággal titrálható meg.

A tercier nitrogén tartalma miatt kissé bázikus reszerpint vises közegben a többi alkaloidhoz hasonlóan $0,02\text{ N}$ kén-savval a közismert módon meg lehet titrálni./L. Ph.Hg. V./

Drogok összesalkaloidtartalmának meghatározására Ljunberg /54/ perklórsavas titrálást alkalmazott kloroformos közegben. Valószínűleg az 5 vizsgálatait alapján került be a "Codex Med. Skand.Dansk 1957" reszerpin cikkelyébe is a reszerpin tartalmi meghatározására a perklórsavas titrálás.

Egy japán szerző, Sun-Cheng /80/ térfogatos kémiai meghatározást dolgozott ki kiszerelt készítmények reszerpintartalmának meghatározására, azonban a referáló lap eljárását nem ismertetette.

5./ A teljesség kedvéért meg kell említeni, hogy részben kivonatok, részben kristályos készítmények reszerpintartalmát szokás a farmakológiai hatás alapján is mérni /13,23,83/, azonban ezek az eljárások a $\pm 20\%$ -os hibahatár miatt pontos mérésre nem alkalmasak.

Kromatográfiás és elektroforetikus eljárások. A drog-meghatározással kapcsolatban említetteken kívül ismeretes még néhány közlemény, amelyek azonban nem kifejezetten a reszerpinnel, hanem általában a Rauwolfia alkaloidokkal foglalkoznak /16,26,42,55/.

A reszerpin lúgos hidrolízisét Langejan /52/ követte papirkromatográfiás vizsgálattal. Kar /48/, Dhar /27/ és Srivastava /77/ a reszerpin anyagcseréjének és a szervezetben

történő átalakulásának vizsgálatához használtak papirkromatográfiát. Az utóbbi szerző a reszerpin izomerjét is észlelte, amely azonban nem az anyagcserefolyamat alatt, hanem az extrakció során keletkezik a bomlási reszerpinből. Reichelt /69/ kolorimetriás eljárása mellett a reszerpin mintákat az u.n. Zaffaroni-féle rendszerben kromatografálta. Egyes tételeknél egy lassabban vándorló, erősen fluoreszkáló folt megjelenését észlelte, amely feltételezése szerint oxidatív vagy fotolitikus bomlás terméke. Yamaguchi /93/ a kromatogramokon határozta meg az alkaloidok mennyiségét, megfelelő készülék segítségével.

Saját vizsgálataink szerint /9/ a reszerpin kloroformos oldata néhány napos állás után sötétbarnára színeződik és papirkromatográfiás úton a reszerpin mellett két új folt jelentkezik. Ez a bomlás lejátszódik kisszerelt gyógyszeres készítményekben és hosszabb ideig tárolt alapanyagokban egyaránt. A megjelent foltok 3-izoreszerpintől és 3-dehidroreszerpintől származnak /11,12/.

Osztalpkromatográfiás vizsgálatokat Banos /4/, Bartelt /7/, Chiarlo /19/ és Ljunberg /54/ végeztek.

Az irodalomban ismert elektroforetikus vizsgálatok főleg a Rauwolfia alkaloidok szétválasztását igyekeztek megvalósítani /40,54,65,75/ és csak részben foglalkoztak kimondottan a reszerpinnel /72,93/

II. R É S Z

Saját kísérletek.

1956 második felében Vállalatunk a hazánkban fellelő és nagy mértékben elterjedő magas vérnyomástól származó betegségek egyik gyógyszerének, a svájci Serpasilnak a pótlására, hasonló gyógyszer gyártásának megkezdését határozta el, import alapanyagból.

A farmakológiai és kisserelésstechnológiai vizsgálatok mellett szükség volt mind a reszerpin, mind pedig a belőle készített kisserelt készítmények analitikai ellenőrzésére is. Főleg a felhasználásra kerülő reszerpin alapanyag minőségi kritériumainak megállapítása volt a célunk, annak eldöntése érdekében, hogy tiszta-e a reszerpin? A bomláspon, a forgatóképesség, az alkaloidtartalom és általában a klasszikus analitikai és fizikai-kémiai módszerek azonban nem adtak felvilágosítást arra, hogy tartalmaz-e a megvizsgált minta valamilyen társalkaloid szennyezést? Erre a kérdésre esetleg az ultraibolya spektrum felvétele adhat választ, de az is csak akkor, ha a szennyezés nagy mértékű.

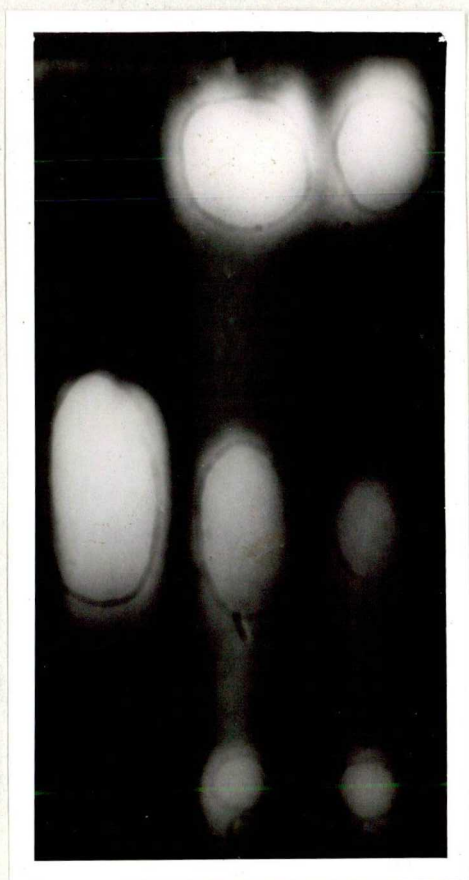
A reszerpin téma előtt - és mellett is - sokat foglalkoztam anyarszalkaloidok analitikájával, ahol a hasonló problémát papirkromatográfiával sikerült megoldani /10/. Azt az eljárást, amit a secalo alkaloidok elkülönítésénél alkalmaztam, némi módosítással fel lehetett használni a reszerpin papirkromatográfiás vizsgálatához is /9/. A reszerpinnek az irodalom-

ban ismeretes fényérzékenysége /31,53/ miatt a kromatografálást sötétben, feketére festett üveghengerben végeztem./Részletes leírást l. kísérleti résznél./

Tekintettel arra, hogy a reszerpin kloroformban oldódik a legjobban, a kb. 50 γ alkaloidot kloroformos oldatból vittem fel a kromatografáló papírra. A frissen készített kloroformos oldatok szintelenek voltak, azonban néhány óras állás után, főleg ha közvetlen fény érte őket, halvány sárga színűvé változtak és fluoreszkálni kezdtek. Az oldatok másnapra már kimondottan sárga, néhány napos állás után pedig sötét barna színűek lettek és erősen fluoreszkáltak.

A CIBA eredetű reszerpin frissen készített, két napos és hat napos állás utáni kloroformos oldatát a fenti módszerrel kromatografáltam és egyrészt azt tapasztaltam, hogy a tárolt oldatok kromatogramján a reszerpin foltján kívül két másik folt is jelentkezett, másrészt pedig, hogy a tárolási idő növekedésével a reszerpin mennyisége fokozatosan csökken, a bomlástermékek mennyisége pedig - elsősorban a "felső" bomlásterméké /X/ - fokozatosan növekszik./3.ábra/ További megfigyelés az volt, hogy a "felső" bomlástermék, a reszerpinhez hasonlóan szintelen és csak az előhívás hatására kezdett fluoreszkálni, ezzel szemben az "alsó" bomlástermék /Y/ alapállapotban is sárga színnel rendelkezett és szűrt ultraibolya fény hatására fluoreszkált; amiből az a következtetés vonható le, hogy a tárolt oldatok színét és fluoreszkálását az "alsó" bomlástermék okozza.

Több hetes tárolás után még több folt megjelenése volt



"FELSŐ" ÁTALAKULÁSTERMÉK
/ X /

RESZERPIN

"ALSO" ÁTALAKULÁSTERMÉK
/ Y /

3. ábra. A reszerpin és bomlástermékeinek papirkromatogramja.

észlelhető, amelyek közül egy kék színnel, a többi a reszerpinhez hasonlóan sárgászöld színnel fluoreszkált.

A reszerpinnek másik jó oldószere a jégecet. Megpróbáltam jégecetes reszerpin oldattal a fenti kísérletet elvégezni és azt tapasztaltam, hogy ebben az oldószerben lényegesen hamarabb következik be a bomlás, mint kloroformban. Amikor kloroformos reszerpin oldathoz alkoholos sósavat öntöttem, a fluoreszkálás néhány perc eltelte után már jelentkezett.

Ezekből a kísérletekből az állapítható meg, hogy sav jelenléte a bomlási folyamatot elősegíti.

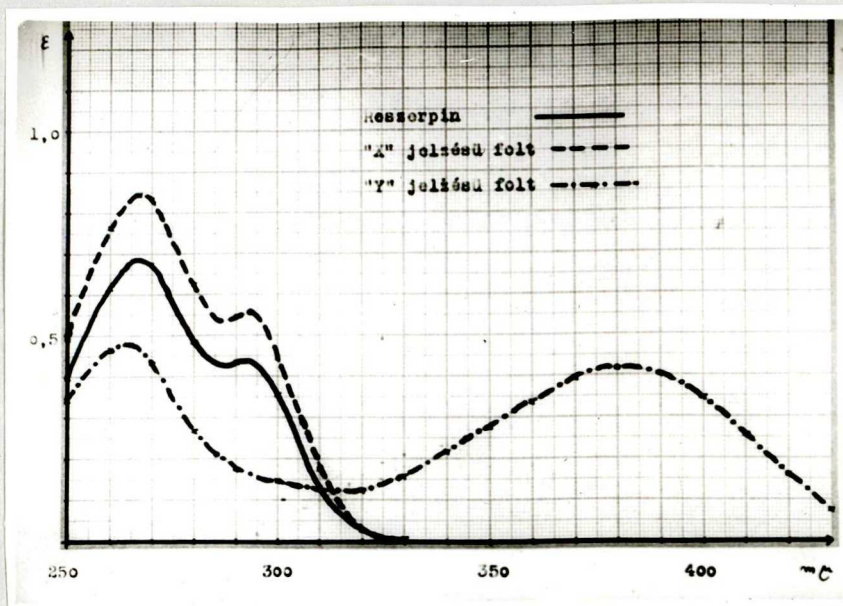
Lug hatására hasonló jelenséget nem észleltem, sőt a bá-

zikussá tett oldatok még a meglévő fluoreszcenciájukat is elvesztették.

Bár ezek a kísérletek nem támasztják alá, mégis kiindulásul feltételeztem, hogy a reszerpin észterképzése hasadtírel és a keletkezett vegyületek /reszerpsav, reszerpsav metilészter,/ okozzák az ismeretlen foltok megjelenését. A Dorfman /31/ leírása alapján kipreparált reszerpsav és ennek metilésztere azonban a papírkromatogramokon nem a bomlástermékek helyén jelentkezett, így az észterképzések hidrolizálásának feltételezését el kellett ejteni.

Ezután az eredménytelen kísérlet után megpróbáltam a papírkromatogramokon elkülönített bomlástermékeket az ultraibolya spektrumok alapján azonosítani. A kromatogramokról - előhívás, megszárítás előtt - kivágtam az egyes foltokat és a felszeletelt papírról az alkaloidokat 2 % alkohol tartalmu kloroformmal eluáltam. A kloroformos oldatokat formamid mentesítés céljából gyengén savanya vízzel észteráztam, Na_2SO_4 sícc.-on megszárítottam és vákuumban szárazra pároltam. A maradékokat gyenge melegítéssel abszolút alkoholban feloldottam és megállapítottam, hogy az ultraibolya elnyelési görbéket. A reszerpin és a "felső" bomlástermék spektruma azonos volt, az "alsó" bomlásterméké ezektől eltért, amennyiben ott egy új maximum kialakulását észleltem 385 m μ -nál. /4. ábra/

Ezen kísérleti eredményekből az a következtetés vonható le, hogy a "felső" bomlástermék a reszerpin valamely isomere, az "alsó" bomlástermékben pedig új, a már meglévővel valószínűleg konjugált helyzetű kettőskötés, vagy kettőskötések



4. ábra. A papirkromatogramról kivágott foltok u.v. spektrumai.

alakultak ki.

A reszerpin hat aszimmetriás szénatomjának izomerizációs képessége között lényegesen^e különbség van. /L.szerkezet kutatás 9. oldal./ Csak a C₃-H képes könnyen izomerizálódni, éppen sav hatására. /2, 22/. McPhillamy /66/ leírta a reszerpin 3-izo^e vegyületének előállítását: reszerpint ecetsavanhidrid-

A McPhillamy által leírt 3-izoreszerpin, ill. a Dhar által 3-epioreszerpinnek nevezett anyag /77/ azonos egymással. Mivel azonban az "epi" megjelölés inkább az OH csoport izomerizációjánál használatos /35/, az itt fellépő térszerkezeti változás jelölésére célszerűbbnek tartottam az "izo" szócska használatát.

ben 18 órán át forralt, majd a 3-izoreszerpin bázist a nitrát sóján keresztül preparálta ki. /Bomláspont $150-155^{\circ}\text{C}$, $[\alpha]_D^{24} = -164^{\circ}$ kloroformban, jól oldódik acetonban. Kitermelés 20 %/

Az eljárást reprodukáltam és a nyert sárgásszínű kristályokat papirkromatografáltam. A legnagyobb területű és a legerősebben fluoresszkáló felt a "felső" bomlástermékkel azonos helyen jelentkezett, azonban ezen kívül még igen nagy mennyiségű "alsó" bomlástermék és reszerpinsav, kevés bomlatlan reszerpin és még néhány kisebb koncentrációjú bomlástermék feltja jelentkezett a kromatogramon.

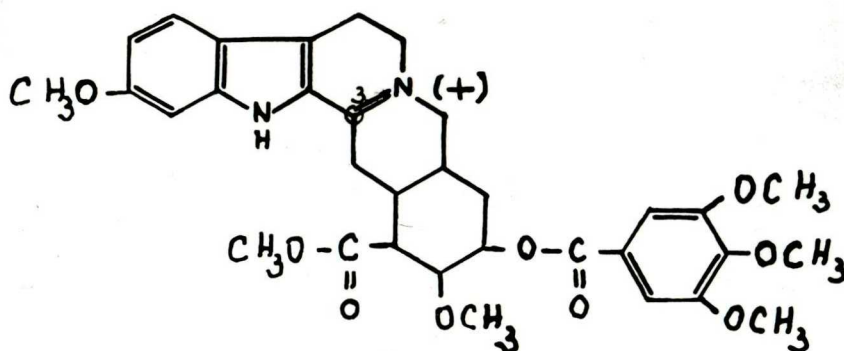
Ez a tény elegendő alapot szolgáltatott arra, hogy munkahipotézisiként feltételezhessem a "felső" bomlástermék 3-izoreszerpinnel való azonosságát.

Az "alsó" bomlástermék u.v. spektrumában $385\text{ m}\mu$ környékén jelentkező új elnyelési maximum a Rauwolfia alkaloidoknál szokatlan. Csak egyetlen olyan alkaloidot sikerült találni, amelynek a spektrumában $370\text{ m}\mu$ környékén található elnyelési maximum. Ez az alkaloid a szerpentin volt. /Szerkezeti képletét l. 3. oldal, u.v. spektrumát (73)./ Eltekintve az oldalláncook hiányától, a szerpentin és a reszerpin molekulája a C gyűrű $\Delta_{5,6}$ és $-\text{C}=\text{N}^+$ kötéseiben, valamint az E gyűrű heterociklusos voltában tér el egymástól. Számos olyan alkaloid ismeretes azonban, amelynek az E gyűrűje heterociklusos /ajmalin, reszerpinin, reszerpilin, stb./, az u.v. spektrumukban mégsem jelentkezik az eltolódott maximum. Ezek után valószínűnek látszik az a feltevés, hogy a C gyűrűben kiala-

kult kettőskötések - vagy azok egyike - okozza az u.v. spektrumban észlelt új maximum megjelenését.

Ezt a feltételezést alátámasztja az a kísérleti tapasztalat is, hogy a szerpentinhez hasonlóan az "alsó" bomlástermék színe is sárga. Ez a sárgas szín és a fluoreszkálás azonban eltűnik, ha nátriumhidrogén hatásának tesszük ki az anyagot, tehát ha a kialakult kettős kötést, vagy kettős kötéseket telítjük.

Időközben /1956 nyarán/ megjelent Weisenborn közleménye /85/, aki a yohimbin vázis, illetőleg a reszerpin-szerű alkaloidok szintézise során előállított 3-iso vegyületeket csak úgy tudta konvertálni, hogy oxidációval a C₃ aszimmetria centrumot megszüntette, majd az így nyert dehidro származékokat redukálta. Weisenborn a 3-isoresszerpin - reszerpin átalakítás közben kialakult 3-dehidroresszerpin /5. ábra./ ultra-



3-DEHIDRO-RESZERPIN

5. ábra. A 3-dehidroresszerpin szerkezeti képlete.

ibolya spektrumában 387 m μ -nál észlelt elnyelési maximumot. Ezt az észlelést később megerősítette Banos /6/ is.

A fenti tény megerősíti az előzőekben leírt elképzölésemet, azaz feltételezhető, hogy az "alsó" bomlástermék 3-dehidroreszerpinnel azonos.

Ezek után kísérleteim fő célja az volt, hogy tisztán és kristályosan állítsam elő a reszerpin bomlás-, illetőleg most már helyesebben átalakulás-termékeit, azok fizikai és kémiai állandóinak, valamint farmakológiai tulajdonságainak megállapítása céljából.

Azt már az előzőekben is említettem, hogy a McPhillamy féle izoreszerpin előállítás nem adott papírkromatográfiánan egységes terméket. Ős szennyezésként reszerpin, reszerpsav és dehidroreszerpin jelentkezett, néhány kisebb koncentrációjú anyag mellett, amelyek valószínűleg a hosszú forralási idő alatt lejátszódott mellékreakciók termékei. Viszont az átalakulás még így sem volt teljes; ezért az egyensúlyra vezető reakciót /66/ p-toluolszulfosavas katalízissel toltam el az izoreszerpin irányába.

Bár az ecetsavanhidrid teljesen vízmentes volt, a forralás hatására mégis hidrolitikus folyamat terméke, reszerpsav keletkezett, amelyet papírkromatográfiás után azonosítottam. Amikor az oldathoz 3,4,5-trimetoxibenzoesavat - a hidrolitikus bomlási folyamat másik termékét - adtam, a reszerpsav mennyisége jelentősen lecsökkent, sőt a kipreparált végtermékben egyáltalán nem jelentkezett.

Dehidroreszerpin valószínűleg oxidáció útján jön létre és ezt az oxidációt az izoreszerpin gyártás során feltételezhetően a levegő oxigénje okozza. Ennek kiküszöbölése érdekében először redukálószerrel tettem az oldathoz, majd amikor ez csak részben javított a helyzeten, az egész műveletet nitrogén atmoszférában végeztem. Így sikerült elérni, hogy a forralás után a dehidroreszerpin csak nyomokban jelentkezett, a kipreparált végtermékben pedig egyáltalán nem volt kimutatható.

Hátra van még a forralási idő kérdése. 20 perctől 480 percig terjedő időközben egyébként ugyanolyan körülmények között, különböző ideig forraltam a reakciós elegyet és az átalakulás mértékét papirkromatográfiás eljárással követtem. Azt tapasztaltam, hogy az izomerizáció katalizátor jelenlétében 180 perc alatt tökéletesen végbemegy és egy ennyi időig tartó forralás után a reszerpint legfeljebb csak nyomokban lehet kimutatni. További hőhatás a reszerpinsav mennyiségének növekedését hozta maga után.

Ezen a helyen kell megjegyezni, hogy 1957 végén jelent meg Srivastava és Dhar közleménye /77/, akik a reszerpin anyagcserejének tanulmányozása közben a reszerpin egyik izomerjének megjelenését észlelték papirkromatogramjaikon. Az általuk 3-epireszerpinnek nevezett anyag előállítására a reszerpinnek triklórecetsavas jégecetben való négy napi tárolását javasolták, amikor a papirkromatográfiával már nem tudták a reszerpin jelenlétét kimutatni. Ezt az előíratot is reprodukáltam és a végtermék tisztaságát a fenti kromatográfiás módszeremmel ellenőriztem, amely azonban még a Weisenborn fé-

le technikával előállított izoreszerpinnél is szennyezettebb volt; főleg sok dehidroreszerpint tartalmazott szennyezősként. Egyébként ebben a kísérleteim befejezése után megjelent közleményben leírt papírkromatográfiás eljárás /hexan:dioxan: 1 % ammóniumhidroxid = 2:1:2/ reprodukálása, illetőleg a "felső" bomlástermékeknek szerzők által megadott 3-epireszerpin R_f értékével való egyezése, az azonosságuk további bizonyítéka.

Az izoreszerpin előállítása során sikeresen alkalmazott nitrogén atmoszféra bizonyítja, hogy a dehidroreszerpin oxidatív hatásra keletkezik. Előállítására kezdetben a fluorimetriás analitikai eljárásoknál /24,60,82/ használatos oxidálószereket / H_2O_2 , HNO_2 , stb/ alkalmaztam, azonban az ilyen módon keletkezett dehidroreszerpin - az erősen savanyú közeg miatt - olyan erősen volt reszerpsavval és dehidroreszerpsavval szennyezve, hogy tisztán elkülöníteni nem tudtam. Weisenborn közleményének megismerése után kísérleteim eredményre vezettek az általa is használt higany/II/acetátos oxidáció alkalmazásával. A hidrolízis visszacszerítésére a trimetoxibenzoecsav használata itt is előnyösnek látszott.

Miután papírkromatográfiás tisztaságban előállítottam a két izomeralkulásterméket, következő lépésként azok fizikai állandóit, kémiai jellemzőit és farmakológiai tulajdonságait igyekeztem megállapítani; első sorban az izoreszerpint a reszerpinhez viszonyítva. Összehasonlításra egy abszolút alkoholból többször átkristályosított, papírkromatográfián

tiszta reszerpin mintát használtam.

Oldékonyság. A 3-izoreszerpin jól oldódik éterben, acetonban, benzolban, etilacetátban és dioxánban, míg a reszerpin ezekben egyáltalán nem, vagy csak alig oldódik. A reszerpinhez hasonlóan oldódik jégecetben, kloroformban, bár az utóbbiban kissé gyengébben mint a reszerpin; kis mértékben oldódik hig ásványi savakban is.

Azonossági színreakció. Ha ferriklorid tartalmu jégecetes izoreszerpin oldathoz cc. kénsavat adunk, kék színű gyűrű jön létre, majdösszerázás után a kék színű oldat zöldessárgává változik /43/. Keletkezett oldat a reszerpinnel teljesen azonos színárnyalatu és intenzitású.

Mikroszkópiai vizsgálat. Az abszolút alkoholból kristályosított reszerpin és 3-izoreszerpin kristály formáit a 6. ábra mutatja. A reszerpin monoklin rendszerben kristályo-

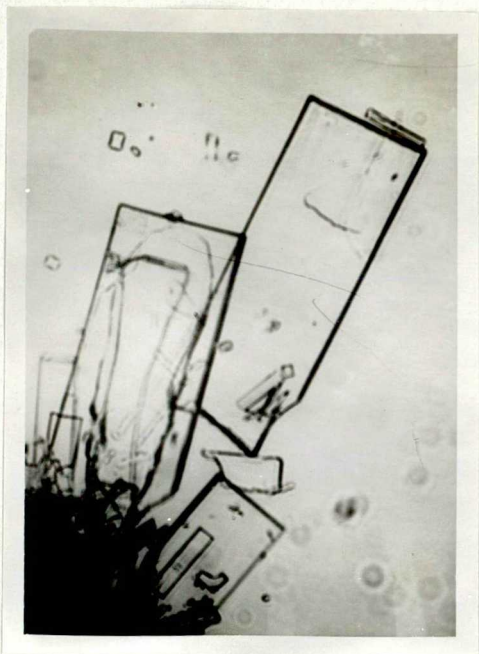


6. ábra. Reszerpin és 3-izoreszerpin kristályformái.

sodó, tiszta kristályformát mutat /70/. A 3-izoreszerpin nyúlt,

egy/kristálylapja szerint lécszerű kristályok alakjában jelentkezik, melyek szimmetrikus, terminális formában fejlődnek be. Fénytörése kb. megegyezik a reszerpin fénytörésével, viszont kristályai mindig sokkal vékonyabb lemezek, így kettős/törése természetesen alacsonyabb, azonban az állandóan elsőrendű szürke interferencia szín némileg kisebb kettős/törésre enged következtetni. Kioltása - kereszttezett nikolok között - mindig párhuzamos; optikai orientációja ellentétes a reszerpinével, azaz hossz irányban addíció, haránt irányban szubtraktív / γ' / mutatkozik. A kristály rendszere, ellentétben a reszerpinével, rombos.

Eltérés mutatkozik a reszerpin és izoreszerpin sók kristályformái között is; pl. a perklorátok esetében l. 7. ábra.



7. ábra. Reszerpin perklorát és izoreszerpin perklorát kristályformái.

Bomláspont vizsgálat. 2° pro pere hőmérséklet emelkedés esetén az izoreszerpin bomláspontja $153-155^{\circ} \text{ C /k/}$, a reszerpiné hasonló hőmérséklet emelkedés mellett $262-263^{\circ} \text{ C /k/}$.

Fajlagos forgatóképesség meghatározása. 1%-os kloroformos oldatban az alábbi értékeket nyertem:

$$\text{reszerpin} \quad [\alpha]_D^{23} = -118 \pm 2^{\circ}$$

$$\text{3-izoreszerpin} \quad [\alpha]_D^{23} = -162 \pm 2^{\circ}.$$

Molekulasúly meghatározás. A 3-izoreszerpin molekulasúlyának meghatározására vizmentes közegben végeztem mikrotitrálásokat /8/. A magas-vakuumban, szobahőmérsékleten súlyállandóságig szárított bázis molekulasúlyára kloroformos közegben p-toluolszulfosavas mérőoldattal 608-t, jégeetes közegben perklórsavas mérőoldattal 609-t kaptam, 5-5 mérés középértékeként.

A 3-izoreszerpinnitrát és klórhidrát molekulasúlyát jégeetes közegben perklórsavas mérőoldattal határoztam meg; az utóbbinál a klorid ion zavaró hatását higany/II/acetát alkalmazásával kizsároltam ki /34/. 5-5 meghatározás középértékeként az elsőbire 671-t, az utóbbira 643-t kaptam eredményül. A 3-izoreszerpinperklorát molekulasúlyának meghatározására a folszabadított és kloroformba átrázott bázist titráltam p-toluolszulfosavval, eredményül 709 adódott.

Mikroanalitikai eredmények. A 3-izoreszerpin bázis kísérleti részben leírt előállítására és többszöri átkristályosítása után nyert termékek mikroanalitikai eredményei a következők voltak: C 57,48-59,97 H 6,02-6,25 N 3,48-4,22 ; szemben a $\text{C}_{33}\text{H}_{40}\text{O}_9\text{N}_2$ összegképletből számítható C 64,95 H 6,63

N 4,60 értékekkel. Molekulasúlyára p-toluolszulfosavas mérőoldattal klóroformos közegben 662-690 adódott, szemben a reszerpin 608,7 molekulasúlyával.

A kristályos termék szobahőmérsékleten, magas vakuumban súlyállandóságig való szárítása után /súlyvesztés 8,7-11,2%/:
C 65,20 H 6,81 N 4,69 molekulasúly 608 ; amely adatok már megegyeznek az elméleti értékekkel.

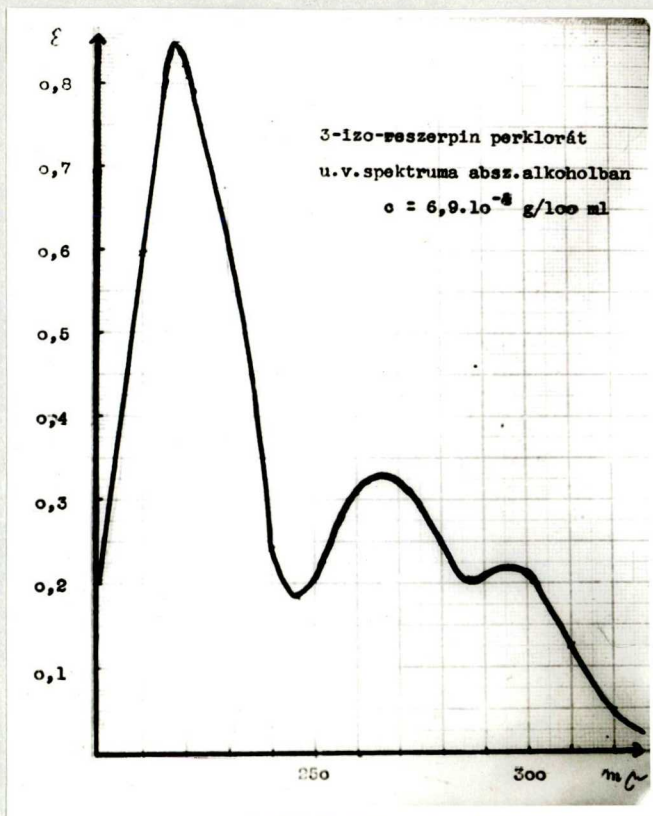
A fenti, a számítottal nem egyező elemantár analízis eredmények és molekulasúlyok csak akkor értelmezhetők, ha feltételezzük, hogy az izoreszerpin bázishoz kristáyszolvensként változó mennyiségű, de kb. 1/2 mol. klóroform kapcsolódik. Az utólag elvégzett klór meghatározások 8,10-10,56 % között mozogtak.

A reszerpin átkristályosításánál hasonló jelenséget nem észleltem.

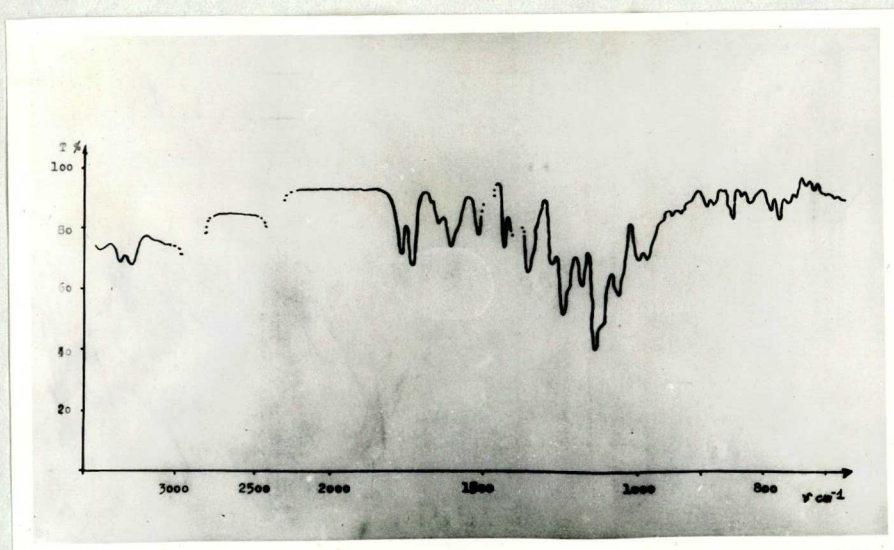
Ultraibolya elnyelési spektrum. A 3-izoreszerpin elnyelési görbéje / 8. ábra / abszolút alkoholban megegyezik az irodalomban közölt ^{reszerpin} spektrum görbéivel. A mért értékek

minimum	244-6 m μ	$\lambda_{\text{lom}}^{\text{max}} = 158$
maximum	267 m μ	277
minimum	285-6 m μ	170
maximum	295 m μ	172

Infravörös elnyelési spektrum. A 3-izoreszerpin infravörös spektruma nujolban / 9. ábra / gyakorlatilag azonos az irodalomban leírt reszerpin spektrumokkal /29,36,63/. Lényeges eltérés csak 1757 cm^{-1} -nél észlelhető, ahol egy új elnye-

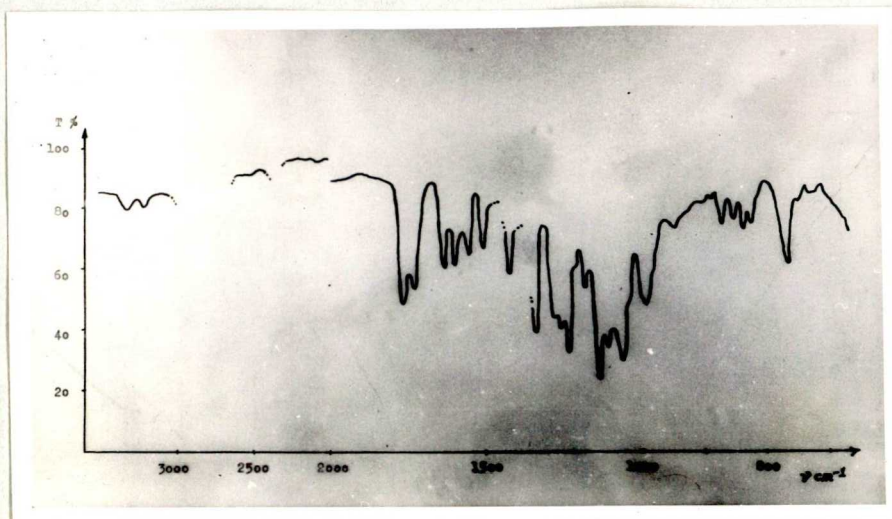


8. ábra. A 3-izoreszerpinperklorát u.v. spektruma.



9. ábra. A 3-izoreszerpinperklorát i.v. spektruma nujolban.

lési sáv alakult ki. Ez feltételezhetően a felvétel közben kis mennyiségben keletkező dehidroresserpin jelenlétének tulajdonítható /1. 10. ábra/, ugyanis a sáv valószínűleg $C=N^+$ kötéstől származik /68/.



10. ábra. A 3-dehidroresserpinperklorát i.v. spektruma nujolban.

Farmakológiai vizsgálatok. McPhillamy /66/ és Dhar /77/ megemlítik, hogy a C_3 atomon történő izomerizáció a jellegzetes resserpin-szerű hatás elvesztésével jár együtt.

Vizsgálataimat 3 főle módszerrel végeztem. Egereken Rubin és Burke módszerével /71/ vizsgáltam ptosis kifejlődést és annak tartamát resserpin és izoresserpin hatására. Azt tapasztaltam, hogy a hatásereőség aránya 4:1 a resserpin javára. Megnéztem a két alkaloid egereken kiváltott alvásiidő megnyújtását is és az előzővel kb. azonos hatásereőség arányt nyertem. Az állatokat Intranarconnal, ill. etanollal altattam, az alvásiidő megnyúlás kiértékelését pedig Cronheim eljárásának /23/ mód-

sított formájával /83/ végeztem.

Chloraloseval altatott nyulakon vizsgáltam a reszerpin és izoreszerpin vérnyomáscsökkentő hatását. Egy mg pro testsúly kg intravénásan adott reszerpin az állatok vérnyomását 2 óra múlva átlagosan a kiindulási érték 60 %-ára csökkentette le. Az izoreszerpin a nyulak vérnyomását még 5 mg pro testsúly kg intravénás adagban sem csökkentette észrevehetően, tehát vérnyomáscsökkentő hatása kisebb, mint a reszerpin hatásának 20%-a.

A dehidroreszerpin fenti módszerekkel mért szedatív és vérnyomáscsökkentő hatása kb. megegyezik a reszerpin hatásával.

A reszerpin és a feltételezett 3-izoreszerpin fenti adataiból az utóbbi azonosításához a következők állapíthatók meg:

- 1./ Molekulasúlya, mikroanalitikai eredményei és ultraibolya spektruma azonos a reszerpinével; ezek az adatok az azonos szerkezet fennállását mutatják.
- 2./ Az azonos konstitúció mellett a fajlagos forgatóképességben észlelt eltérés bizonyítja, hogy valóban a reszerpin egyik izomerje keletkezett. Az alábbi kísérlet pedig azt a feltevést is igazolja, hogy az izomerizáció a C_3 atomon történt. Ha ugyanis a C_3 -H térállása változott meg, akkor a dehidroreszerpin forgatóképessége az izoreszerpin és a reszerpin forgatóképessége közé kell essék, és pedig úgy, hogy értéke

$$\frac{[\alpha]_D^{\text{resz.}} + \frac{[\alpha]_D^{\text{isoresz.}} - [\alpha]_D^{\text{resz.}}}{2}}{2}$$

legyen. Tekintettel arra, hogy a dehidroreszerpin kvaterner nitrogénje csak só formájában állandó, a forgatékosság vizsgálatakat a három vegyület perklorátjával végeztem el, acetón: víz = 4:1 arányú elegyben. Az eredmények a következők voltak:

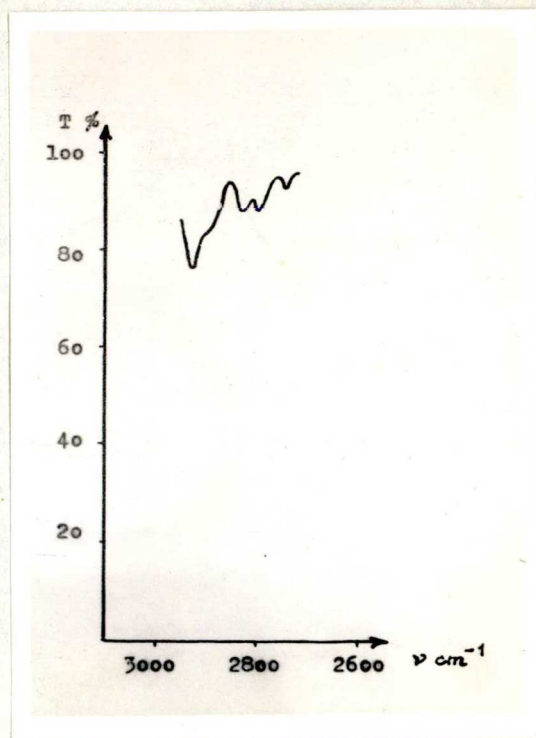
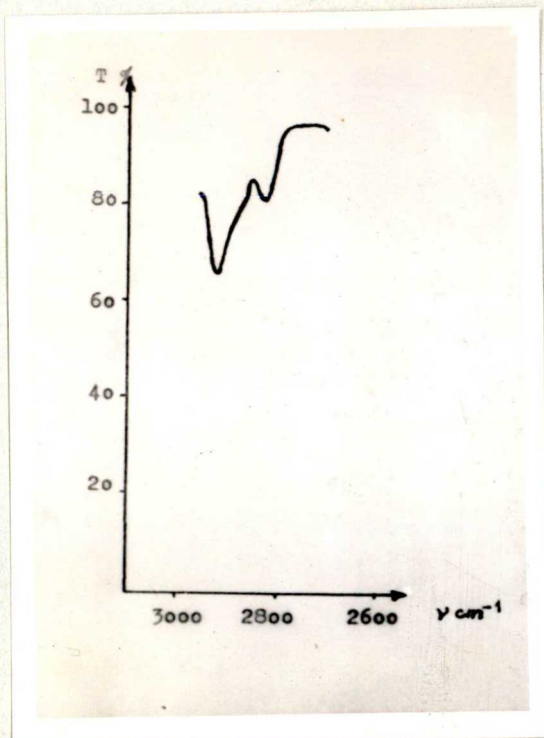
$$\text{reszerpinperklorát} \quad [\alpha]_D^{23} = -101^{\circ}$$

$$\text{dehidroreszerpinperklorát} \quad [\alpha]_D^{23} = -119^{\circ}$$

$$\text{isoreszerpinperklorát} \quad [\alpha]_D^{23} = -141^{\circ}$$

Tehát a $\pm 2^{\circ}$ hibahatárral rendelkező meghatározások alátámasztják a fenti gondolatmenetet.

- 3./ A C_3 -H izomerizációjához további bizonyítékot szolgáltat az infravörös spektrum tanulmányozása. Wenkert /88/ a yohimbin vázas alkaloidok i.v. spektrumának tanulmányozása közben arra a megállapításra jutott, hogy mindazok az alkaloidok, amelyeknek C_3 -H -je α állásu, az i.v. spektrum 3,4 - 3,7 μ /2941-2703 cm^{-1} / közötti tartományában két, vagy esetleg még több jellegzetes sávot mutatnak. Mivel a nujol saját elnyelése miatt ez a tartomány nem értékelhető ki, kloroformos közegben vettem fel a reszerpin és isoreszerpin elnyelési görbéjét. Mint a 11. ábrán látható, ebben a tartományban az isoreszerpin spektruma valóban két új sávval gyarapodott.



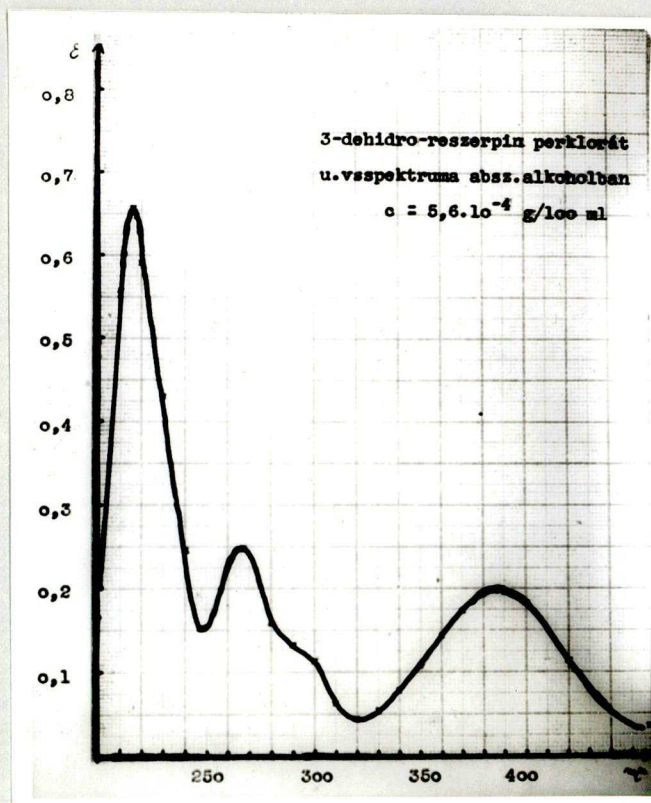
11.Ábra. A reszerpin és 3-izoreszerpin i.v. spektruma kloroformban.

A fenti bizonyítékok alapján el kell fogadni, hogy a "felső" átalakulástermék azonos a 3-izoreszerpinnel.

A dehidroreszerpinnel kapcsolatos vizsgálataim eredménye az alábbiakban foglalható össze:

1./ A kipreparált papirkromatográfián tisztított dehidroreszerpinperklorát olvadáspontja $234-235^{\circ}\text{C}$ /k/. bomláspontja $240-241^{\circ}\text{C}$ /k/. Fajlagos forgatóképessége 1%-os aceton: víz = 4:1 elegyben $[\alpha]_D^{23} = -119^{\circ}$. Mikroszkóp alatt abszolút alkoholból kristályosítva tűs kristályformát mutat.

2./ Ultraibolya spektruma abszolút alkoholban a 12.ábrán látható.



12. ábra. A 3-dehidroreszerpinperklorát u.v. spektruma.

3./ Infravörös spektruma hasonlít a reszerpinéhoz, de van erősen eltérő része is /10. ábra/.

4./ A dehidroreszerpin lényegesen gyorsabban képződik izoreszerpinből, mint reszerpinből. /Annyira, hogy az izoreszerpin csak nitrogén alatt, sötétben, hűvös helyen tárolható! / A papirkromatográfiás vizsgálatok szerint a dehidroreszerpin megjelenése esetén izoreszerpin jelenléte mindig kimutatható volt. Ezekből a tapasztalatokból az a következtetés vonható le, - amelyre már Weisenborn is célzott - hogy a dehidroreszerpin csak az izoreszerpinből képződhet. /Valószínű magyarázatát l. alább/

5./ Amikor ecetsavas közegben a dehidroresserpint fém cinkkel redukáltam, resserpint nyertem, amelyet papirkromatográfián uton azonosítottam. Ez a tapasztalat is összhangban van Weisenborn megállapításaival.

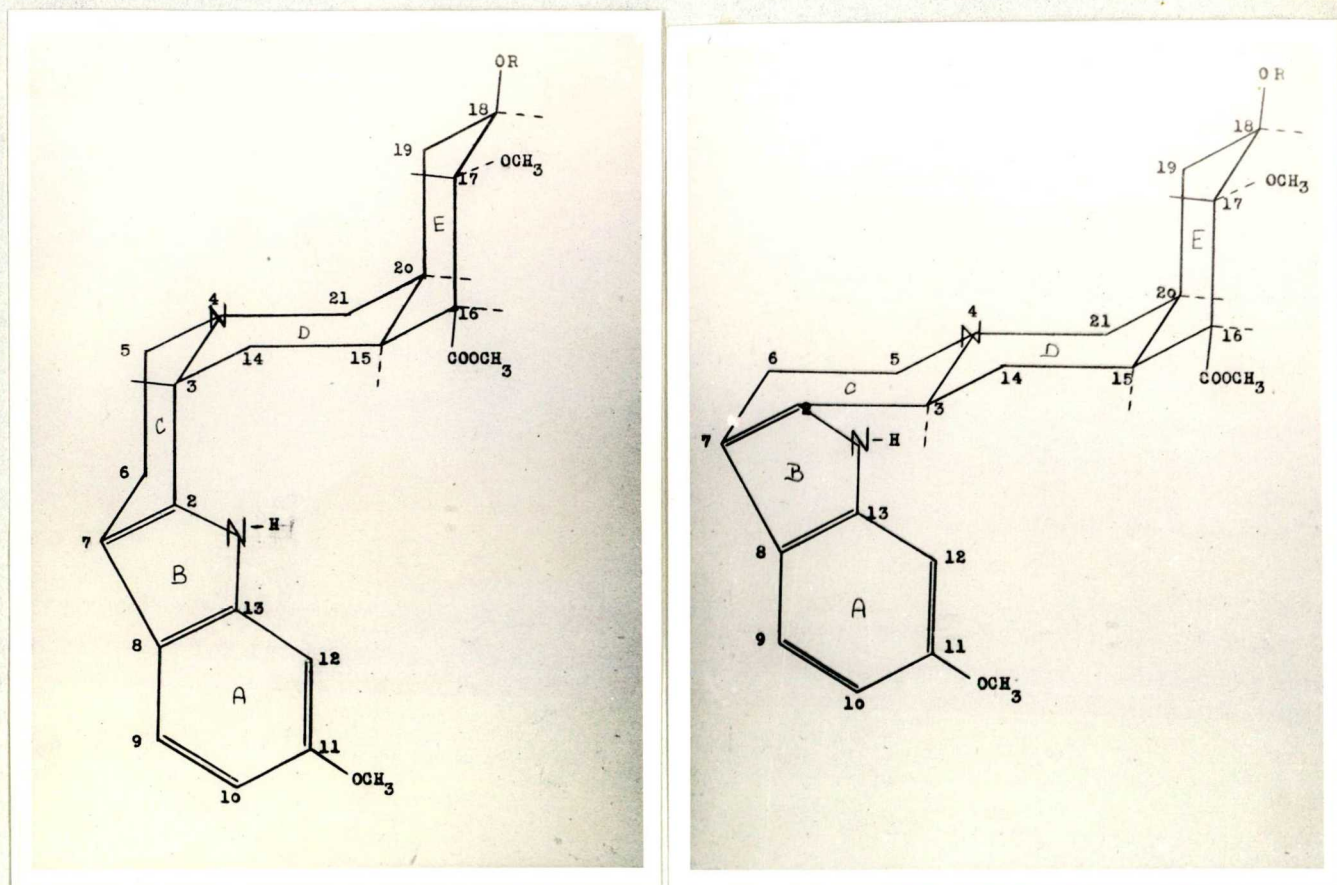
Ha még figyelembe vesszük az előállítási körülmények hasonlóságát is, az "alsó" átalakulásterméknek a 3-dehidroresserpinnel való azonossága bizonyítottnak vehető.

Ezek után beszámolok azokról a következtetésekről, amelyeket az elvégzett kísérletek alapján tudtam megállapítani.

+ resserpin
1./ A C_3 hidrogénjének isomerizációjával együtt kell hogy járjon a C/D gyűrűk anellációjának megváltozása is /13. ábra/. Nyilvánvaló, hogy a fizikai állandókban észlelt nagy mértékű eltérések /pl. bomláspont, oldékonyság, stb./, attól származnak, hogy a térszerkezet megváltozásával egyidejűleg az egyes funkciócsoportok egymástól való távolsága is változást szenvedett.

2./ A dehidroresserpin C_3 és H_4 között kialakult új kettőskötés rögzíti a C/D gyűrűk síkját, és pedig úgy, hogy - mivel a C_2 és C_7 közötti kettőskötéssel konjugált helyzetben van - az A, B, C és D gyűrűknek feltétlenül egy síkban kell elhelyezkedniük. Vagy másképen megfogalmazva, a C/D gyűrűk anellációja transz kell legyen. Ezt a követelményt pedig az izoresserpin elégíti ki, mert a resserpin /ill. a 3-epi- α -yohimbín/ C/D anellációja cisz. Tehát a resserpinből csak úgy képződhet dehidroresserpin, hogy először a C/D gyűrűk cisz kötése transzá alakul /izore-

szerpint/, majd a most már azonos síkban elhelyezkedő két gyűrű között alakul ki a kötéskötés.



13. ábra. A reszerpin és 3-isoreszerpin térszerkezete.

3./ A fluorimetriás analitikai eljárások, a papírkromatográfiás kimutatási módok és általában a nem fluoresszkáló reszerpin fluoresszkáló állapotba hozása, isoreszerpinen keresztül dehidroreszerpin kialakulását eredményezi./ Brősen savanyu közegben esetleg hidrolízis után dehidroreszerpinsav is keletkezik./ Éppen az isomerizáció elősegítésére szükséges a kromatogramokat savas reagensszel lefújni /4,16,17,26,93/, vagy 100-120°C-on szá-

ritani /9.42,69/, valamint a fluorimetriás eljárásoknál a savas közeget biztosítani /24.60,82/.

Az izomerizáció és oxidáció mechanizmusával nem foglalkoztam. Az irodalomban található néhány feltevés, azonban ezek sincsenek kellőképpen megalapozva. /Az izomerizációra l. 91, az oxidációra 87/

A megvizsgált problémának gyakorlati eredménye - tekintve az átalakulástermékek tulajdonságainak meghatározásától és az elméleti vonatkozása megállapításoktól - abban adható meg, hogy a kidolgozott papirkromatográfiás eljárás segítségével megállapítható a resserpin tartalmu készítmények /Serpasil, Rausedyl, Rivasin, stb./ bomlott, vagy bomlatlanná vált; követhető a különböző tárolási körülmények közé kitett, vagy a gyorsított tárolási vizsgálat alá vett készítmények stabilitásának változása; és végül annak megállapítása, hogy az elsődleges átalakulástermék, az izo-resserpin keletkezése a készítmény hatásosságának rovására megy, tehát feltétlenül megakadályozandó.

Mindezek elősegítették a forgalombahozott Rausedyl gyógyszererek összetételének legalkalmasabb megválasztását és állandóságának biztosítását.

KISÉRLETI RÉSZ.

A felhasznált vegyszerek és oldószerek.

- 1./ Reszerpin. CIBA eredtű, gyengén sárga színű, kristályos por. Bomlásponjtja $263-4^{\circ}$ C/k/, fajlagos forgatóképessége kloroformban $[\alpha]_D^{23} = -117^{\circ}$, alkaloidtartalom p-toluolszulfosavas mérőoldattal titrálva 99,8% /molekulasúly 608,67 /, specifikus extinkciója $\frac{1\%}{1\text{cm}} / 268 \text{ m}\mu / = 281$.
- 2./ Kloroform és benzol. Mind a Chinoin gyártmányu "analitikai tisztaságu" benzolt, mind pedig a Finomvegyszer Készítő KTSz "kloroform p.a." jelzésű áruját többször egymásután kb. 1/5 térfogatú cc. kénsavval annyiszor rástam ki, hogy a kénsavas fázis már ne legyen szénes. Ezután vízzel, majd luggal, majd ismét többször egymás után desztillált vízzel sav és lugmentosítottam; végül Na_2SO_4 sícc.-on való szárítás után üvegekészülékben le-desztilláltam. A kloroformot 1% petroléterrel tartósítottam, a benzolt pedig fém nátrium fölött tároltam.
- 3./ Jégecet. A Chinoin gyártmányu "tömény ecetsav" CH_3COOH tartalma csak kb. 96%. Ezért számított mennyiségű ecetsavanhidridet adtam hozzá és CrO_3 katalizátor jelenlétében visszafolyós hűtővel 2-3 órán át forraltam. Időnként a víztartalmat Karl Fischer módszerrel, az ecetsav tartalmat alkalimetriás úton ellenőriztem. Végül is $100,0 \pm 0,1\%$ tisztaságu jégecetot nyertem.

- 4./ Abszolút alkohol. A Chinoin gyártmányú "Alkohol absolutus, Ph.Hg.V" árut szilárd NaOH-dal 3-4 napig állni hagytam. Az állás során megbarnult oldatot fém nátriummal vízmentesítettem, majd üvegedényben ledesztilláltam. Az így kezelt alkohol aldehidet még nyomokban sem tartalmazott.
- 5./ Formamid. Technikai minőségű ammóniumformiátot ammónia gőztérben kb. 180°C -on szárazdesztillációnak vetettem alá, amelynek során nyert nyers formamidot vakuumban kétszer ledesztilláltam. A desztillációk előtt NaOH-dal, ill. HCl-val brómfenolkék indikátor jelenlétében semlegesítettem a formamidot. A másodszori desztilláció után nyert termék fizikai állandói megegyeztek az irodalomban közöltekkel / Beilstein 2 36 /.
- 6./ A kísérletek során felhasznált higany/II/acetát Merck eredetű, a metanol, petroléter, aceton, éter, ecetsavanhidrid stb. Chinoin eredetű pro anal. készítmények voltak.

Papirkromatográfiás eljárás. Kb. 6x28 cm méretű Schleicher-Schüll 2043/b vagy Macherey-Nagel 214 jelzésű papírosíkot 30 % formamid tartalmú alkoholban 1 percig áztattam /impregnálta m/ , majd két szűrőpapír között leittattam. Ezután 10-15 percig levegőn hagytam állni, míg az alkohol teljesen elpárolgott, majd a vizsgálandó minta frissen készített kloroformos /ill. alkaloidsók vizsgálata esetén vízes-acetonos/ oldatából kb. 20-100 γ alkaloidot vittem fel az előre megjelölt starthelyre, kb. 0,6 cm átmérőjű foltban. Kifejlesztőszerként formamiddal telített benzolt alkalmaztam; 5 ml

formamidot 50 ml benzollal 2 percig összekevertem és az elkülönülés után a felső fázist a kromatografáló hengerbe öntöttem. A reszerpin fényérzékenysége miatt sötétben, kb. 3 órán keresztül felfelé szálló kromatografálást végeztem, majd a kromatogramot kb. 120°C hőmérsékleten levegő áramban megszáritottam. A reszerpin és átalakulástermékei szűrt a.v. fény alatt sárgászöld színnel fluoreszkáló foltokként jelentkeznek. Nagy mennyiségű reszerpin esetén "farok" képződését észleltem. Az alkaloidok kimutatásának határa kb. $1\ \mu\text{g}$.

3.4.5-trimetoxibenzoésav. 5 g reszerpint 13,2 g KOH-dal 200 ml metanolban 2 órán keresztül nitrogén alatt visszafolyós hűtővel forraltam. A lehűlt folyadékot 7 n metanolos sósavval megsavanyítottam, a kicsapódó KCl-t kiszűrtem és kloroform:metanol = 4:1 eleggyel átmostam. A szűrletet és a kloroform-metanol mosófolyadékot egyesítés után vakuumban szárásra pároltam. A maradékot gyenge melegítéssel éterrel kezeltem és a fel nem oldódott részt /reszerpinsavklórhidrát/ kiszűrtem, majd az éteres oldatot bepároltam. Az így kapott nyers terméket kb. pH 9-nél vízben feloldottam, majd 25%-os sósavval kicsaptam. A hófehér kristályokat szűrés után kloridmentesre mostam és vakuumban 80°C -on megszáritottam. Kitermelés 91%.

Olvadáspont $172,5-173,0^{\circ}\text{C}$ /k/, ultraibolya abszorpciós spektrum abszolút alkoholban $\lambda_{\text{min.}} 235\text{ m}\mu / \epsilon_{1\%}^{1\text{cm}} = 115 /$
 $\lambda_{\text{max.}} 260\text{ m}\mu / 402 /$.

Reszerpinsav. Az előző pontban leírt éterben oldhatatlan maradékot 150 ml kloroform:metanol = 4:3 eleggyel extraháltam,

vakuumban majdnem szárazra pároltam és 50 ml éterrel hígítottam. A kikristályosodott 2,5 g reszerpsavklórhidrátot 2,5 g ezüstkarbonát segítségével bontottam el, 100 ml metanolban. Szűrés után az oldatban maradt Ag^+ ionokat kénhidrogénnel csaptam le és ismételt szűrés után a metanol nagy részét elpároltam, majd a nyers reszerpshavat abszolút alkoholból átkristályosítottam /1,8 g/. Bomláspont: $243-244^\circ\text{C}$ /k/.

Metilreszerpát. 0,5 g reszerpsav metanolos oldatát /25 ml/ azonos térfogatu, kb. 2%-os diazometán éteres oldatával elegyítettem. Egy éjszakán át állni hagytam az elegyet, majd szárazra pároltam, kevés metanolban feloldottam és kb. kétszeres térfogatu étert öntöttem az oldathoz. A csapadékot kiszűrtem, a szűrletet szárazra pároltam és abszolút alkoholból átkristályosítottam /0,4 g/. Bomláspont: $238-239^\circ\text{C}$ /k/.

3-izoreszerpin. 500 mg reszerpint kis darabka p-toluolsulfosav kristály és 200 mg trimetoxibenzoesav jelenlétében N_2 atmoszférában 10 ml ecetsavanhidridben feloldottam és visszafolyós hűtővel 3 órán át forraltam. A lehűlés után a kissé barnás színű oldathoz 25 ml vizet és annyi ammóniumhidroxidot adtam, hogy az oldat pH-ja kb. 8 legyen és 3x10 ml kloroformmal kiráztam. Az egyesített kloroformos oldatot 2x30 ml 5 %-os nátriumhidrokarbonát oldattal savmentesítettem, majd Na_2SO_4 szóc.-on átszűrve vakuumban majdnem szárazra pároltam. A maradékot 10 ml abszolút alkohollal elegyítettem és cseppenkint annyi 70 %-os perklórsavat adtam az oldathoz, hogy annak pH-ja kb. 5,5 legyen. Jégszekrényben állni hagy-



tam, majd a gyengén sárgás árnyalatú kristályokat leszűrtem és abszolút alkohollal átmostam /460 mg/. Az anyalagot kb. kétszeres térfogatú petroléterrel elegyítettem és az amorf, sárga színű csapadékot leszűrtem /160 mg/

Átkristályosítás céljából a nyers terméket acetonban elszuszpendáltam és néhány csepp vízzel oldatba vittem. Az aceton nagy részét vakuumban elpároltam és a maradékot abszolút alkohollal hígítottam. A jégszekrényben kivált kristályokat leszűrtem és vakuumban megszárítottam. Bomláspon: $252-253^{\circ} \text{C} / \text{k} /$, mely további átkristályosítás hatására sem változott.

A bázis feliszabadtására 100 mg perklorát só aceton-vizes oldatához 10 ml vízben oldott 15 mg NaHCO_3 -t adtam és 3x5 ml kloroformmal kirástam. Az egyesített kloroformos extraktumot Na_2SO_4 -on megszárítottam, majd vakuumban majdnem szárazra pároltam. A maradékot 3 ml abszolút alkohollal elegyítettem, a fehér kristályokat leszűrtem és vakuumban megszárítottam. Kitermelés : 37 %.

A 3-izoreszerpin bázis jól oldódik éterben, acetonban, benzolban, etilacetátban, dioxánban, kloroformban és jégecetben. Bomláspon: $153-155^{\circ} \text{C} / \text{k} /$. A magas-vakuumban súlyállandóságig szárított minta molekulaszálya 608, mikroanalitikai eredménye C 65,20 / számított 64,95 / H 6,81 / 6,63 / N 4,69 / 4,60 / %. Fajlagos forgatóképesség kloroformban $[\alpha]_D^{23} = -162 \pm 2^{\circ}$. Ultraibolya elnyelési spektruma azonos a reszerpinével.

3-dehidroreszerpinperklorát. 500 mg reszerpint feloldottam 10 ml jégecetben, 300 mg higany/II/acetátot, 200 mg trime-

toxibenzoesavat és 10 ml vizet adtam az oldathoz, majd 3 órán át visszafolyós hűtővel forraltam. A higany/II/acetát csak a melegítés hatására oldódott fel és kb. 30 perc eltelte után a redukálódott higany/I/acetát az oldatból már csapadék formájában kezdett kiválni. Ammoniumhidroxiddal a lehűtött oldat pH-ját kb. 8-ra állítottam be, majd 3x10 ml kloroformmal kirstam. Az egyesített kloroformos oldatot 2x30 ml 5 %-os nátriumhidrokarbonáttal savmentesítettem, majd Ba_2SO_4 -on megszáritottam és vakuumban majdnem szárazra pároltam. A maradékot 10 ml abszolút alkohollal higitottam és cseppenként annyi 70 %-os perklórsavat adtam az oldathoz, hogy annak pH-ja kb. 5,5 legyen. A kikristályosodott sárga színű terméket le-nuccsoltam és abszolút alkohollal átmostam. /440 mg/. Az anyagból kétszeres térfogatú petroléterrel barna színű másod-terméket nyertem /110 mg/.

A dehidroreszerpinperklorát átkristályosítására az izo-reszerpinperklorátnál leírt eljárást alkalmaztam.

Reszerpin és izoreszerpin sók. A reszerpin ill. izoreszerpin bázist néhány ml kloroformban feloldottam, az oldatot vakuumban majdnem szárazra pároltam és a maradékot néhány ml abszolút alkohollal higitottam. Ehhez az oldathoz - még mielőtt a bázis kristályosodni kezdett volna - a kívánt sav tömény vizes oldatából annyit csepegtettem, hogy az oldat pH-ja kb. 5,5 legyen. A kicsapódó kristályokat leszűrtem és vakuumban megszáritottam.

Az alábbi táblázatban a fenti módon elkészített sók ki-termelési adatait és bomláspontjait közlöm:

Az elkészített só	Áltermelés %	Bomláspon t °C /k/
3-izoreszerpinkerklórát	94	252-253
3-izoreszerpinnitrát	82	196-197
3-izoreszerpinklórhidrát	92	216-218 /amorf !/
reszerpinkerklórát	94	242-244
reszerpinnitrát	88	239-240
reszerpinklórhidrát	94	228-229

Az olvadáspont ill. bomláspon meghatározásához Thiele-féle készüléket használtam. A várt bomláspon előtt 15°-kal helyestem be a kis kapilláris csövet a kénsavas fürdőbe, amelynek felfűtési sebességét úgy szabályoztam, hogy a hőmérő higany szála percenként 2 fokot emelkedjék. A megadott összes olvadás és bomláspon ilyen körülmények közötti meghatározásokra vonatkozik.

Molekulasúly meghatározás. Az alkaloid bázisokból 10-40 mg-ot analitikai mérlegen 50 ml-es normállombikban mértem és 10-15 ml víz és alkoholmentes - 1% petroléterrel konzervált - kloroformban feloldottam, majd a normállombikot kloroformmal jelleg töltöttem. 5 ml-es részleteket 25 vagy 50 ml-es Erlenmeyer lombikban 1 csepp 0,1 %-os kloroformos dimetilsárga /p-dimetilaminoazobenzol/ indikátor hozzáadása után 0,005 N kloroformos p-toluolszulfosavval székfűpiros szín megjelenéséig titráltam.

Az alkaloid sókból 10-40 mg-ot analitikai mérlegen 100 ml-

es eszikkolt dugós Erlenmeyer lombikba mértem és 25 ml víz és anhidridmentes jégecetben - fénytől védve - feloldottam. 1 csepp 1 %-os jégecetes kristályibolya indikátor hozzáadása után 0,02 n jégecetes perklórsavval az első átcsapásig /ibolya - kék/ titráltam.

Mindkét mérőoldat faktorát mindig azonos körülmények között vegytiszta szimmetrikus-difenilguanidinre állítottam be.

Az ultraibolya spektrumokat Optica Milano CF4 típusú készüléken, 1 cm-es kvarc küvettában vettem fel, 5 m^μ-onként, ill. a maximum és minimum helyek környékén 1 m^μ-onként.

Az infravörös spektrumokat a Műszaki Egyetem Fizikai-Kémiai Tanszékén dr. Varsányi György, Holly Sándor és Szabó József vették fel és értékeltek ki.

Az elementár analízis eredményeket a Gyógyszeripari Kutató Intézet Mikroanalitikai Laboratóriumában dr. Szabó Lenke és a Műszaki Egyetem Általános Kémiai Tanszékén Kucsera János-né adták meg.

A kristallográfiai megállapításokat az ELTE Ásványtani Tanszékén dr. Sztrókey Kálmán egyetemi tanár tette.

A farmakológiai vizsgálatokat Vállalatunk biológiai osztályán dr. Szporny László végezte.

ÖSSZEFOGLALÁS.

Tekintettel arra, hogy a resserpin meglehetősen új és éppen ezért még kevésbé ismert alkaloid, a disszertáció elején aránylag részletesen ismertettem felfedezésének történetét, szerkezet felderítését, térszerkezetének megállapítását, szintézisét és analitikáját.

Az értekezés második részében saját kísérleteimről és eredményeimről számoltam be, melyeket röviden az alábbiakban lehet összefoglalni:

- 1./ Papirkromatográfiás eljárást dolgoztam ki a resserpin és kiszereit készítményeinek analitikai vizsgálatára.
- 2./ Észrevettem, hogy tárolás alatt a resserpin bomlik és papirkromatogramján két új folt jelenik meg.
- 3./ Előállítottam kristályosan, papirkromatográfiás tisztaságban az átalakulástermékeket.
- 4./ Megállapítottam az átalakulástermékek fizikai, kémiai és farmakológiai tulajdonságait.
- 5./ Azonosítottam a két átalakulásterméket, amelyek közül az egyik 3-izoresserpinnek, a másik pedig 3-dehidroresserpinnek bizonyult.

A dolgozat harmadik részében a kísérletek kivitelezését, negyedik részében pedig részben a saját kísérleteimhez, részben az első rész ismertetéséhez felhasznált irodalmat közltem.

I R O D A L O M.

- 1./ André, A.F.St.-et al.: J.Org.Chem. 21, 480 /1956/.
- 2./ Bader, F.E.-et al.: J.Amer.Chem.Soc. 77, 3547 /1955/.
- 3./ Banes, D.: J.Amer.Pharm.Ass.Sci.Ed. 44, 408 /1955/.
- 4./ Banes, D.-et al.: J.Amer.Pharm.Ass.Sci.Ed. 44, 640 /1955/.
- 5./ Banes, D.-et al.: J.Amer.Pharm.Ass.Sci.Ed. 45, 708 /1956/.
- 6./ Banes, D.-et al.: J.Amer.Pharm.Ass.Sci.Ed. 45, 710 /1956/.
- 7./ Bartelt, W.F.-et al.: J.Amer.Pharm.Ass.Sci.Ed. 44, 660 /1955/.
- 8./ Bayer, J.: Magyar Kémiai Folyóirat 62, 355 /1956/.
- 9./ Bayer, J.: Magyar Kémiai Folyóirat 63, 327 /1957/.
- 10./ Bayer, J.: Gyógyszerészet 1, 210 /1957/.
- 11./ Bayer, J.: Pharmazie 13, /1958/ megjelenés alatt.
- 12./ Bayer, J.-Szporny L.: Magyar Kémiai Folyóirat 64, /1958/
megjelenés alatt.
- 13./ Bein, H.J.: Exper. 9, 107 /1953/.
- 14./ Bonino, R.C.: Rev.asoc.bioquim.arg. 20, 229 /1955/; 21, 207 /1956/.
- 15./ Booth, R.E.: J.Amer.Pharm.Ass.Sci.Ed. 44, 568 /1955/.
- 16./ Boscott, R.J.-A.B.Kar : Nature 176, 1077 /1955/.
- 17./ Carol, J.-et al.: J.Amer.Pharm.Ass.Sci.Ed. 45, 200 /1956/.
- 18./ Chatterjee, A.-et al.: Science & Culture /India/ 19, 109 /1953/.
- 19./ Chiarlo, B.-et al.: Farmaco /Pavia/ Ed.pract. 12, 379 /1957/.
- 20./ Chopra, R.N.-et al.: Ind.J.Med.Res. 21, 261 /1933/.
- 21./ Clarke, E.G.C.: J.Pharm.Pharmacol. 9, 187 /1957/.
- 22./ Cookson, R.C.: Chem.Ind. 1953, 337
- 23./ Cronheim, G.-et al.: Proc.Soc.Exp.Biol.Med. 89, 21 /1955/.
- 24./ Dechene, E.B.: J.Amer.Pharm.Ass.Sci.Ed. 44, 657 /1955/.

- 25./ Dhar, M.M.-et al.: J.Sci.Ind.Res. 14B, 276 /1955/.
- 26./ Dhar, M.M.-et al.: J.Sci.Ind.Res. 14B, 672 /1955/.
- 27./ Dhar, M.M.-et al.: J.Sci.Ind.Res. 14C, 179 /1955/.
- 28./ Diassi, F.A.-et al.: J.Amer.Chem.Soc. 77, 2028 /1955/.
- 29./ Djerassi, C.-et al.: J.Amer.Chem.Soc. 75, 5446 /1953/.
- 30./ Dorfman, L.-et al.: Exper. 9, 368 /1953/.
- 31./ Dorfman, L.-et al.: Helv.Chim.Acta 37, 59 /1954/.
- 32./ Dutt, A.-et al.: Ind.J.Pharmacol. 9, 54 /1947/.
- 33./ Eder, H.: Pharmazie 10, 236 /1955/.
- 34./ Ekeblad, P.: J.Pharm.Pharmacol. 4, 636 /1952/.
- 35./ Fieser, L.F.-H.Fieser : Natural Products Related to Phenanthrene,
New York, Reinhold Publ.Corp. 1949.
- 36./ Furlenmeier, A.-et al.: Exper. 9, 331 /1953/.
- 37./ Greshoff, M.: Chem.Ber. 23, 3543 /1890/.
- 38./ Götirner, F.-et al.: Galenica Acta /Madrid/ 9, 7 /1956/.
- 39./ Gyenes, I.-Németh M.-Bayer J.: Acta Pharm.Hung. 27, 23 /1957/.
- 40./ Hamied, K.A.-et al.: Ind.J.Pharmacol. 18, 190 /1956/.
- 41./ Haycock, R.F.-et al.: J.Amer.Pharm.Ass.Sci.Ed. 46, 744 /1957/.
- 42./ Hochstein, F.A.-et al.: J.Amer.Chem.Soc. 77, 3551 /1955/.
- 43./ Hofmann, A.: Helv.Chim.Acta 37, 314 /1954/.
- 44./ Holt, W.L.-et al.: J.Amer.Pharm.Ass.Sci.Ed. 43, 144 /1954/.
- 45./ Hörhammer, L.-et al.: Arch.Pharm. 287, 75 /1954/.
- 46./ Huebner, C.F.-et al.: Exper. 11, 303 /1955/.
- 47./ Jung, Z.: Ceskosl.Farm. 6, 299 /1957/.
- 48./ Kar, A.B.-R.J.Boscott : Ind.J.Pharmacol. 18, 204 /1956/.
- 49./ Kidd, D.A.A.-et al.: J.Pharm.Pharmacol. 9, 176 /1957/.
- 50./ Klohs, M.W.-et al.: J.Amer.Chem.Soc. 75, 4867 /1953/.

- 51./ Kozsun,B.P.-et al.: J.Amer.Pharm.Ass.Sci.Ed. 46, 720 /1957/.
- 52./ Langejan,M.-et al.: Pharm.Weekblad 91, 847 /1956/.
- 53./ Leyden,A.F.-et al.: J.Amer.Pharm.Ass.Sci.Ed. 45, 771 /1956/.
- 54./ Ljunberg,S.: Svensk Farm.Tidskr. 61, 305 /1957/.
- 55./ Machovicova,P.: Ceskosl.Farm. 6, 310, 584 /1957/.
- 56./ Mannel,W.A.-et al.: Drug Standards 24, 6 /1956/.
- 57./ Magyar Szabadalom 144.187 /1955 szept. 16/.
- 58./ Mattu,F.: Boll.chim.farm. 96, 99 /1957/.
- 59./ Monseur,X.: J.Pharm.Belgique 39, 39 /1957/.
- 60./ McMullen,W.H.-et al.: J.Amer.Pharm.Ass.Sci.Ed. 44, 446 /1955/.
- 61./ Müller,J.M.-E.Schlittler-H.J.Bein : Exper. 8, 336 /1952/.
- 62./ Neuss,E.-et al.: J.Amer.Chem.Soc. 75, 4870 /1953/.
- 63./ Neuss,E.-et al.: J.Amer.Chem.Soc. 76, 2463 /1954/.
- 64./ Neuwald,F.-W.Loges : Arch.Pharm. 289, 226 /1956/.
- 65./ Paris,R.A.-et al.: Ann.pharm.franc. 14, 505 /1956/ ; 15, 310 /1957/.
- 66./ McPhillamy,H.B.-et al.: J.Amer.Chem.Soc. 77, 4335 /1955/.
- 67./ Pillay,P.P.-et al.: Ind.J.Pharmacol. 17, 95 /1955/.
- 68./ Randall,H.M.-et al.: Infrared Determination of Organic Structures. Princeton,New Jersey, 1956.
- 69./ Reichelt,J.: Ceskosl.Farm. 5, 516 /1956/.
- 70./ Rose,H.A.: Anal.Chem. 26, 1245 /1954/.
- 71./ Rubin,B.-J.C.Burke : J.Pharm.Exp.Ther. 110, 44 /1954/.
- 72./ Sakal,E.H.-et al.: J.Amer.Pharm.Ass.Sci.Ed. 43, 709 /1954/.
- 73./ Schlittler,E.-et al.: Helv.Chim.Acta 37, 1912 /1954/.
- 74./ Sen,G.-K.C.Bose : Ind.Med.World 2, 194 /1931/.
- 75./ Shali,M.: Pharm.Acta Helv. 33, 1 /1958/.

- 76./ Siddiqui, S.-R.H. Siddiqui : J. Ind. Chem. Soc. 8, 667 /1931/.
- 77./ Srivastava, S.K.-M.M. Dhar : J. Sci. Ind. Res. 16C, 73 /1957/.
- 78./ Steenhauer, A.J.-et al.: Pharm. Weekblad 69, 334 /1932/.
- 79./ Steenhauer, A.J.: Pharm. Weekblad 89, 161, 617 /1954/.
- 80./ Sun-Cheng : Chemistry /Formosa/ 1957 213 : Curr. Chem. Papers
1958 186.
- 81./ Svájci Szabadalom 315.086 /1952 szept. 26/
- 82./ Szalkowski, C.R.-et al.: J. Amer. Pharm. Ass. Sci. Ed. 45, 613 /1956/
- 83./ Szporny, L.-Fekete Gy.: Exper. 14, /1958/ megjelenés alatt.
- 84./ van Tamelen, E.E.-et al.: J. Amer. Chem. Soc. 77, 4692 /1955/.
- 85./ Weisenborn, F.L.-P.A. Diassi : J. Amer. Chem. Soc. 78, 2022 /1956/.
- 86./ Wenkert, E.-L.H. Liu : Exper. 11, 302 /1955/.
- 87./ Wenkert, E.: J. Org. Chem. 21, 1315 /1956/.
- 88./ Wenkert, E.-et al.: J. Amer. Chem. Soc. 78, 6417 /1956/.
- 89./ Witkop, B.: Liebigs Ann. Chem. 554, 83 /1943/.
- 90./ Woodward, R.B.-et al.: J. Amer. Chem. Soc. 78, 2023, 2657 /1956/.
- 91./ Woodward, R.B.-et al.: Tetrahedron 2, 1 /1956/.
- 92./ Wunderlich, H.: Pharm. Zentr. 96, 68 /1957/.
- 93./ Yamaguchi, K.: Yakugaku Zasshi 77, 337, 341 /1957/.

Összefoglaló közlemények:

- 94./ Chatterjee, A.-et al.: Fortschr. Chem. Org. Naturstoffe /Wien/
13, 346 /1956/ 398 irodalmi hivatkozással.
- 95./ Feuill, A.J.: Colonial Plant Animals Products 5, 1 /1955/
238 irodalmi hivatkozással.
- 96./ Phillips, D.D.-et al.: J. Amer. Pharm. Ass. Sci. Ed. 44, 553 /1955/
274 irodalmi hivatkozással.

- 97./ Schlittler, E-et al.: Angew.Chem. 66, 386 /1954/
74 irodalmi hivatkozással.
- 98./ Schneider, W.: Arzneim.Forsch. 5, 666 /1955/
64 irodalmi hivatkozással.
- 99./ Vejdelok, Z.J.: Ceskosl.Farm. 4, 136 /1955/
107 irodalmi hivatkozással.
- 100./ Woodson, R.E.-H.W.Youngken-E.Schlittler-J.A.Schneider :
Rauwolfia, /Botany, Pharmacognosy, Chemistry and Pharmacology/ Boston, Toronto 1957.
- 101./ Yakhontov, L.N.: Uspekhi Khim. 26, 239 /1957/
159 irodalmi hivatkozással.
- 102./ Zechmeister, L./Chatterjee, A.: Fortschr.Chem.Org.Naturstoffe
/Wien/ 10 390 /1953/
107 irodalmi hivatkozással.

TARTALOMJEGYZÉK.

I.rész.		Oldalszám
1.1	Bevezetés	1
1.2	A reszerpin izolálása	3
1.3	A reszerpin szerkezet felderítése	4
1.4	A reszerpin sztereokémiája	8
1.5	A reszerpin szintézise	11
1.6	A reszerpin analitikája	14
1.61	A reszerpin azonossági színreakciói	14
1.62	Fajlagos forgatóképesség	15
1.63	Bomláspont	15
1.64	Ultraibolya és infravörös spektrumok	17
1.65	Mennyiségi meghatározások	18
II.rész.		
	Saját kísérletek	23
	Kísérleti rész	46
	Összefoglalás	54
	Irodalmi hivatkozások	55
	Tartalomjegyzék	60

