Alkaloidy i glikozydy flawonowe widłaków

Alkaloide und Flavonglukoside der Lycopodien

J. MUSZYŃSKI

Liczący około 140 gatunków i podgatunków rodzaj *Lycopodium* wyróżnia się pod względem fitochemicznym z całej grupy paprotników zawartością silnie działających alkaloidów, których nie spotyka się zupełnie w klasie paproci i dość rzadko u skrzypów.

Wszystkie zbadane widłaki europejskie (Muszyński 1934, 1935, 1948) oraz północno-amerykańskie (Manske a. Marion 1942; 1943, 1944, 1946) zawierają alkaloidy o 1 atomie azotu i najczęściej 16—18 atomach węgla w cząsteczce. Wśród znanych dotychczas alkaloidów wykryto w widłakach nikotynę. W literaturze (Henry 1949) spotyka się również wzory alkaloidów widłakowych o mniejszej lub większej ilości węgla w cząsteczce.

Do roku 1934 spotykało się w literaturze krótkie prace tylko o dwóch alkaloidach widłakowych. Mianowicie w roku 1881 Boedeker (1881) wyodrębnił alkaloid z ziela *Lycopodium complanatum*, nazwał go likopodyną i podał jego wzór sumaryczny $C_{32}H_{54}O_3N_2$. Likopodyna Boedekera nie była czystym indywiduum chemicznym lecz zespołem alkaloidów. Achmatowicz i Uziębło (1938) wydzielili z ziela *L. clavatum* czysty związek o wzorze $C_{16}H_{25}ON$ i temp. topn. 115—116° C, który nazwali również likopodyną. Nie należy przeto utożsamiać likopodyny Boedekera z likopodyną Achmatowicza. Jak wykazały późniejsze badania Manske i Marion (1942—1946) likopodyna Achmatowicza występuje obok innych alkaloidów w wielu widłakach.

Drugim gatunkiem widłaka badanym przed 1934 rokiem był spotykany w górach Południowej Ameryki *Lycopodium saururus*, zwany tam „pillijan”. Z tego gatunku Capdeville (1886) wyodrębnił alkaloid pillijaninę. Arata i Canzoneri (1892) w roku 1892 ustalili wzór cząsteczkowy pillijaniny $C_{15}H_{24}ON_2$, stwierdzając jednocześnie, że jest ona bardzo toksyczna i posiada nieprzyjemny mysi zapach przypominający koniinę.

W roku 1934 Muszyński (1934) stwierdził, że wszystkie występujące w Polsce gatunki widłaków zawierają w ziele (nie w zarodnikach!) silnie działające alkaloidy, zwłaszcza *L. selago*, należący do tej samej sekcji co *L. saururus*. Otrzymane alkaloidy nie były jednak czystymi indywiduami chemicznymi lecz zespołem kilku alkaloidów. Zespoły te do czasu aż zostaną rozdzielone oznaczono nazwami od łacińskiej gatunkowej nazwy widłaków:

annotinum	z <i>Lyc. annotinum</i>
clavatinum	„ „ <i>clavatum</i>
complanatinum	„ „ <i>complanatum</i> (likopodyna Boedekera)
inundatinum	„ „ <i>inundatum</i>
selaginum	„ „ <i>selago</i> .

Ilość tych alkaloidów w suchym ziele zależnie od gatunku i pochodzenia widłaków wynosiła od 0,2 do 0,9%. W tymże roku 1934 rosyjski uczony Orzechoff (1934) opisał zespół alkaloidów z ziele *L. annotinum*.

Rozdzielenie zespołu alkaloidów z *L. clavatum* przeprowadzili w roku 1938 Achmatowicz i Uziębło (1938). Wydzielili oni 3 indywidua chemiczne:

likopodynę	— $C_{16}H_{25}ON$, temp. topn. 115—116°
klawatynę	— $C_{16}H_{25}O_2N$, „ „ 212—213°
klawatoksyne	— $C_{17}H_{27}O_2N$, „ „ 185—186°

Wszystkie te alkaloidy — jak podają autorzy — mają charakter amin trzeciorzędowych, są pozbawione grup NCH_3 i OCH_3 i nie wykazują właściwości aldehydów lub ketonów.

Dopiero wyżej wspomniane prace polskie wzbudziły zainteresowanie alkaloidami widłakowymi. Od roku 1942 kanadyjscy uczeni Manske i Marion (1942—1946) zajęli się badaniem widłaków Kanady i Północnej Ameryki (*L. flabelliforme* Frn., *L. lucidulum* Mich., *L. obscurum* L., *L. sabinaefolium* Willd., *L. tristachium* Pursh. itd.) Dotychczas wydzielono z widłaków, zwłaszcza na drodze chromatograficznej, około 40 alkaloidów o różnych wzorach cząsteczkowych i temperaturach topnienia. Spośród otrzymanych dotychczas alkaloidów widłakowych zaledwie 8 posiada nazwy własne, natomiast większość otrzymanych przez Manske i Marion'a alkaloidów oznaczona jest literą L (*Lycopodium*) i numerem porządkowym, a więc L_1 , L_2 , L_3 itd. Dotychczas nie znamy jeszcze ani jednego wzoru strukturalnego alkaloidów widłakowych.

Do alkaloidów widłakowych mających nazwy własne należą:

Annotinina	— $C_{16}H_{25}ON$, temp. topn. 115—116°
Clavatina	— $C_{16}H_{25}O_2N$, „ „ 212—213°
Clavotoxina	— $C_{17}H_{27}O_2N$, „ „ 185—186°
Complanatina	— $C_{18}H_{31}ON$, „ „ 169°
Obscurina	— $C_{18}H_{28}ON_2$, „ „ 282°
Piliijanina	— $C_{15}H_{24}ON_2$, „ „ 64—65°
Saururina	— $C_{10}H_{19}N$, (alk. płynny)
Sauroxina	— $C_{17}H_{26}ON_2$, temp. topn. 198°

Niektóre z tych alkaloidów, np. likopodyna, obskuryna, występują w różnych gatunkach widłaków. Wśród lotnych z parą wodną alkaloidów widłakowych *M a n s k e* i *M a r i o n* znaleźli nikotynę lub związki jej pokrewne. Jeśli wyciąg z ziela *L. selago* lub *L. saururus* zalkalizować i poddać destylacji z parą wodną, otrzymuje się destylat alkaliczny o nieprzyjemnym mysim (koniinowym) zapachu. Po zakwaszeniu destylatu zapach ten znika, a destylat po odparowaniu pozostawia krystaliczny alkaloid o wybitnym działaniu miotycznym (zweżającym żrenicę).

FARMAKODYNAMIKA ALKALOIDÓW WIDŁAKOWYCH

Farmakodynamicznymi właściwościami alkaloidów *L. saururus* zajmowali się już w 1892 roku *A r a t a* i *C a n z o n e r i* (1892), stwierdzając, że są one bardzo toksyczne i wywołują u psów porażenie mięśni i oddechu. Następnie *M u s z y ń s k i* (1949) stwierdził, że wodne odwary 1:5 naszych krajowych widłaków, wstrzyknięte żabom (wagi 30—40 g) w ilości 0,2 do 0,6 ml wywołują w ciągu 10—20 minut całkowite porażenie typu kurarycznego. Najbardziej toksyczne okazały się wyciągi z *L. selago*. Roztwory selaginy (0,5 — 1%) wkroplone do oka wywołują już po upływie 10 minut silne zwięzienie żrenicy.

P. O f i c j a l s k i (1937) badał w 1937 r. toksyczność krajowych widłaków i ustalił następujące dawki śmiertelne alkaloidów w g/kg:

Alkaloid	kot	królik	szczur	żaba
annotyna	0,05 — 0,1	0,15 — 0,4	0,7 — 1,3	0,3 — 0,5
klawatyna	0,05 — 0,1	0,1 — 0,2	0,1 — 0,2	0,1 — 0,5
komplanatyna	0,05 — 0,1	0,08 — 0,2	0,15 — 0,4	0,1 — 0,5
lnundatyna	0,05 — 0,1	—	—	0,3 — 0,5
selagina	0,005	0,02 — 0,05	0,15 — 0,3	0,02 — 0,08
pillijanina	0,005	0,03 — 0,05	—	—

Potwierdził on również charakterystyczną właściwość selaginy wywoływania silnego zwężenia źrenicy, której pozbawione są alkaloidy innych widłaków krajowych.

Wydzielone przez A c h m a t o w i c z a i U z i ę b ł ę (1938) alkaloidy *L. clavatum* badał prof. J. M o d r a k o w s k i w Uniwersytecie Warszawskim, ustalając następujące dawki toksyczne dla myszy:

likopodyna	0,15 g/kg
klawatyna	0,1 g/kg
klawatoksyny	0,125 g/kg

M. J a s i ń s k a w 1938 r. (1952) badała działanie annotyny i selaginy (zespół alkaloidów). Ustaliła ona następujące dawki śmiertelne:

annotyny	dla żab 0,60 — 0,85 g/kg
selaginy	dla żab 0,02 — 0,03 g/kg, dla psa 0,008 g/kg.

Annotyna wkroplona do worka spojówkowego kota nie ma wpływu na szerokość źrenicy, natomiast selagina działa wyraźnie zwężająco na źrenicę kota. Zwężenie to ustępuje pod wpływem atropiny.

Pierwsze próby stosowania alkaloidów widłakowych w leczeniu zostały dokonane w Polsce. Mianowicie dr E. M i r a t y ń s k a - E r n e s t o w a (1948) stosowała 1‰ roztwory selaginy w różnych postaciach jaskry jako środek zastępczy zamiast alkaloidów pilokarpiny i ezeryny. Autorka stwierdziła w Klinice Ocznej w Łodzi (kierownik prof. J. S o b a ń s k i), że selagina doskonale obniża ciśnienie w gałce ocznej, nie wywołuje miejscowych podrażnień i może zastępować pilokarpinę i ezerynę.

Działanie farmakodynamiczne alkaloidów widłakowych otrzymanych przez M a n s k e i M a r i o n ' a badali w 1945 r. L e o i C h e n (1945) i ustalili jako dawki śmiertelne dla myszy:

LD ₅₀	likopodyny	0,02758 g/kg
	komplanatyny	0,01487 g/kg
	obskuryny	0,09917 g/kg
	annotyny	0,1146 g/kg

Porównawcze badania nad działaniem fizjologicznym annotyny i likopodyny przeprowadzali w 1948 r. M a r i e r i B e r n a r d (1948).

Z przeglądu tego widzimy, że większość obserwacji nad farmakodynamiką alkaloidów widłakowych została dokonana w Polsce.

Inne alkaloidy poza selaginą nie znalazły dotychczas zastosowania w leczeniu.

GLIKOZYDY WIDŁAKOWE

Dotychczas w literaturze nie było wzmianek o występowaniu glikozydów w ziele widłaków. Tymczasem niektóre widłaki, np. *L. selago* i *L. inundatum*, zawierają — podobnie jak niektóre skrzypy — glikozydy flawonowe w ilości 1 — 2%.

Przy wytrawieniu ziela *L. selago* 90% alkoholem w aparacie Soxhleta wydziela się z zagęszczonego do połowy i oziębionego wyciągu dość obfity, zielonawo-szary, galaretowaty osad, składający się z glikozydu, wosków, chlorofilu i substancji żywicowych.

Odsączony osad wytrawia się kilkakrotnie wrzącym chloroformem w celu usunięcia chlorofilu, wosków i substancji żywicowych. Nierozpuszczalny w chloroformie glikozyd rozpuszcza się we wrzącym 90% alkoholu, sączy i wlewa do 10-krotnej ilości wody destylowanej, zakwaszonej kwasem solnym do $\text{pH} = 2$ (ok. 0,036%). Glikozyd wypada w postaci puszystego, kłaczkowatego osadu, barwy jasnokremowej. Odsączony osad suszy się w temperaturze 50—60° i proszkuje. Selaginozyd można również oczyszczać przez rozpuszczenie go w gorącym kwasie octowym i strącenie podwójną ilością wody. Tak otrzymany selaginozyd ma wygląd lekiego, bezkształtnego proszku barwy jasnokremowej, bez smaku i zapachu. Prawie się nie rozpuszcza w wodzie, eterze, chloroformie, benzenie i benzynie; łatwo rozpuszcza się w pirydynie, wrzącym alkoholu, acetonie, kwasie octowym i z takich roztworów przy rozcieńczeniu ich wodą może być z powrotem wytrącony. Dotychczas nie udało się otrzymać go w stanie krystalicznym. Przy odparowaniu na szkiełkach roztworów selaginozydu w alkoholu, acetonie lub kwasie octowym wydziela się on w postaci drobniutkich sferokryształów, o temp. topn. 193—196°.

Selaginozyd bardzo łatwo rozpuszcza się w amoniaku lub roztworach ługów, dając intensywnie żółto zabarwione roztwory (charakterystyczna cecha glikozydów flawonowych). Przy zakwaszeniu takich roztworów żółte zabarwienie znika, płyn mętnieje i wydziela się rozpuszczony glikozyd.

Selaginozyd z α -naftolem i kwasem siarkowym (reakcja Molischa) daje typowe dla cukrów i glikozydów fioletowe zabarwienie.

Alkaliczny roztwór selaginozydu redukuje przy ogrzaniu amoniakalny roztwór azotanu srebra. Jednak roztworu Fehlinga nie redukuje nawet przy dłuższym ogrzewaniu.

Jako związek flawonowy selaginozyd daje charakterystyczną dla flawonów reakcję Willstätter-Shibata (redukcja flawonów do antocyjandyn). Wykonanie reakcji: 0,01 — 0,02 związku flawonowego rozpuścić

w 10 ml alkoholu, dodać 1,5 ml mocnego kwasu solnego i wsypać 0,1 metalicznego magnezu; zaczyna się gwałtowne wydzielanie wodoru i ciecz natychmiast lub w ciągu paru minut zabarwia się na kolor od pomarańczowo-czerwonego do czerwono-malinowego; reakcja ta polega na redukcji pierścienia pyronowego flawonów do związku pyryliowego, występującego w antocyjanidynach. Glikozydy i aglikony flawonowe o mniejszej zawartości grup hydroksylowych w cząsteczce, np. apiina lub apigenina (trójoeksyflawon) dają zabarwienie pomarańczowo-czerwone, a związki bogatsze w grupy OH, np. rutyna (rutozyd) lub jej aglikon kwercetol (piećcioeksyflawon) barwią się na kolor malinowo-czerwony, utrzymujący się bez zmiany w ciągu wielu tygodni, a nawet miesięcy. Selaginozyd przy redukcji magnezem metalicznym barwi się natychmiast na kolor czerwono-malinowy, podobnie jak rutyna, a więc posiada prawdopodobnie aglikon podobny do kwercetolu.

Roztwór alkoholowy selaginozydu 1 : 1000 zabarwia się od FeCl_3 na kolor brunatny (jak apiina).

Przy mikrosublimacji w temperaturze $260\text{--}280^\circ$ sublimują żółte igielkowate i sierpowate kryształki (dł. 15 do $140\ \mu$) o temp. topn. $240\text{--}255^\circ$, a przy mikrosublimacji w temperaturze $280\text{--}320^\circ$ — miotłkowate kryształy o temp. topn. $270\text{--}275^\circ$.

Pod lampą kwarcową suchy selaginozyd wykazuje intensywną barwę czerwono-brunatną. Jeśli rozcieńczonym 1 : 1000 spirytusowym roztworem selaginozydu zrobimy płamę na pasku bibuły, to po wysuszeniu będzie ona niedostrzegalna, ale pod lampą kwarcową jest wyraźnie czerwono-brunatna. Rozcieńczone roztwory spirytusowo-wodne selaginozydu wykazują pod lampą kwarcową fioletową fluorescencję. W przeciwieństwie do alkaloidów widłakowych selaginozyd nie jest toksyczny, albowiem dawki 0,03 selaginozydu wstrzykiwane żabom i myszom nie wywoływały jakichkolwiek objawów toksycznych i zwierzęta pozostawały przy życiu.

Ze 100 g suchego zielea *L. selago* otrzymuje się 1,2 do 1,8 selaginozydu o temp. topn. $191\text{--}193^\circ$.

Podobny, a nawet może identyczny z selaginozydem glikozyd otrzymał mój współpracownik mgr Wiktor P a n a s e w i c z z zielea *Lycopodium inundatum* L.

Przeprowadzone przeze mnie badania wstępne zielea *L. clavatum* i *L. annotinum* wykazały, że nie zawierają one glikozydów flawonowych.

Dawniej lud stosował ziele *L. selago* do barwienia wełny na kolor żółty (G e r a l d - W y ż y c k i J. — Zielnik ekonomiczno-techniczny, Wilno, 1845, t. II, p. 292).

STRESZCZENIE

Autor podaje dotychczasowe dzieje badań i obecny stan naszych wiadomości o alkaloidach widłakowych. Są to alkaloidy o nieznannej jeszcze budowie, zawierające przeważnie (wyjątki są rzadkie) 15 do 18 węgli i jeden (rzadko 2) azot w cząsteczce. Wszystkie alkaloidy widłaków europejskich są bardzo trujące i porażają centralny układ nerwowy. Najbardziej toksycznym jest zespół alkaloidów *Lycopodium selago*, nazwany selaginą. Selagina — podobnie jak alkaloid pillijanina z *L. saururus* — posiada wybitne działanie miotyczne, podobne do działania pilokarpiny, co zostało stwierdzone w Klinice Ocznej Akademii Medycznej w Łodzi. Inne alkaloidy widłaków europejskich nie posiadają działania miotycznego.

Następnie autor opisuje nie wspomniane dotychczas w literaturze i otrzymane przez niego glikozydy flawonowe w ziele *Lycopodium selago* i *L. inundatum*. Glikozyd ten, nazwany selaginozydem — podobnie jak glikozydy kwercetolowe — daje czerwono-malinowe zabarwienie przy reakcji Willstätter-Shibata (redukcja metalicznym $Mg + HCl$). Selaginozyd (w przeciwieństwie do alkaloidów) nie jest trujący. Dawniej lud stosował ziele *L. selago* do barwienia wełny na piękny kolor żółty.

Zakład Farmakognozji
i Uprawy Roślin Leczniczych
Akademii Medycznej w Łodzi

(Wpłynęło 20.IX.1954 r.)

ZUSAMMENFASSUNG

Der Verfasser gibt einen kurzen historischen Ueberblick und die Charakteristik der Lycopodiumalkaloide, die in der bisherigen Literatur beschrieben worden sind. Die genauen Strukturformeln der bis jetzt bekannten Alkaloide sind noch unbekannt. Die Mehrzahl von ihnen (mit wenigen Ausnahmen) hat 15—18 Kohlenstoffatome und 1, selten 2 Stickstoffatome im Molekül.

Alle Alkaloide der europäischen Lycopodiumarten sind sehr toxisch, besonders das Selagin aus *Lycopodium selago* L.

Selagin — so wie auch Pillijanin aus *Lycopodium saururus* L a m. — besitzt eine ausgesprochene myotische und den intraokulären Druck herabsetzende Wirkung gleich Pilokarpin oder Eserin. Daher wird Selagin seit einigen Jahren in der Augenklinik in Lodz an Stelle des Pilokarpins zur Glaukombehandlung mit gutem Erfolg verwendet.

Beim Menschen ruft Selagin schon in Gaben von 0,01 bei peroraler sowie subkutaner Anwendung heftiges Erbrechen und Pupillenverengung hervor. Die Alkaloide der anderen europäischen Lycopodiumarten besitzen diese Wirkung nicht.

In vegetativen Teilen von *Lycopodium selago* fand der Verfasser ein Flavonglukosid (vorläufig Selaginosid genannt), das typische Reaktionen der Quercetolglukoside gibt. Dieses Glukosid ist ungiftig.

Abkochungen von *Lyc. selago* wurden von der Bevölkerung Polens zum Gelbfärben der Wolle benutzt.

L I T E R A T U R A

- Achmatowicz O., Uziębło W., 1938, Alkaloidy widłaka babimoru (*Lycopodium clavatum* L.) — „Roczn. Chemii“, t. XVIII, p. 88.
- Arata P. N., Canzoneri F., 1892, Contributo allo studio del Pillijan (*Lycopodium saururus* Lam.) — „Gaz. Chim. Italiana“, t. 22, p. 146.
- Bödeker K., 1881, Lycopodin, das erste Alkaloid der Gefässkryptogamen — „Liebig's Annal. Chem.“, t. 208, p. 363.
- Capdeville Ch., 1886, Etudes botaniques, chimiques et physiologiques sur pillijan (*Lycopodium saururus* Lam.), Diss, Paris.
- Henry T. A., 1949, The Plant Alkaloids, London, p. 752.
- Jasińska M., 1952, Farmakologiczne działanie annotyny i selaginy — „Act. Polon. Pharmaceut.“, t. 9, p. 113.
- Lee a. Chen, 1945, „Journ. Amer. Pharmac. Assoc.“, t. 34, p. 197.
- Manske a. Marion, 1942, „Canad. Journ. Res.“, t. 20 B, p. 87.
- Manske a. Marion, 1943, „Canad. Journ. Res.“, t. 21 B, p. 92.
- Manske a. Marion, 1944, „Canad. Journ. Res.“, t. 22 B, p. 53.
- Manske a. Marion, 1946, „Canad. Journ. Res.“, t. 24 B, p. 63.
- Marier et Bernard, 1948, „Canad. Journ. Res.“, t. 26, p. 174.
- Miratyńska-Ernestowa E., 1948, Selagina jako środek zastępczy pilokarpiny i ezeryny — „Klinika Oczna“, Łódź, t. 18, p. 435.
- Muszyński J., 1934, Alkaloidy europejskich gatunków *Lycopodium*, „Acta Soc. Botan. Poloniae“, t. 11, p. 277.
- Muszyński J., 1935, Alkaloide der europäischen Lycopodiumarten, „Arch. Pharm. u. Ber. dtsch. pharm. Ges.“, p. 452.
- Muszyński J., 1948, The Alkaloids of Clubmosses, „Quart. Journ. Pharmacy a. Pharmacol.“, t. 21, p. 34.
- Oficjański P., 1937, Contribution a l'étude de la toxicité des alcaloïdes des lycopodes — „Bull. Sc. Pharmacologiques“, t. 44, p. 470.
- Orechoff A., 1934, „Arch. Pharm. u. Ber. dtsch. pharm. Ges.“, t. 272, p. 673.