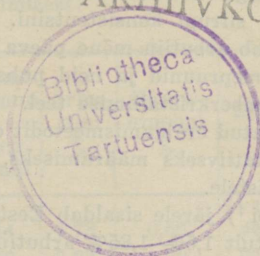


A-93855

Ärtrükk ajakirjast „Eesti Rohuteadlane“ nr. 2, 1940.

Tartu Ülikooli Raamatukogu  
ARHIIVKOGU



## Arbutiini kaalanalüütilisest määramisest leesikalehes.

H. Michelson.

Leesikaleht kuulub droogide hulka, mis on osutunud rahva tähelepanekul samuti ka teadusliku meditsiini uurimustel tunnustatud mõjuga ravimeiks.

Nimetatud droogi peatoimeaine — arbutiin ja metüülarbutiin on glükosiidide rühmast, millede keemiline iseloom on 1881. a. H. Schiff'i <sup>1)</sup> töödega selgitatud. Kawalier <sup>2)</sup>, Bourquelot <sup>3)</sup>, L. Zechner <sup>4)</sup>, C. Grimme <sup>5)</sup> ja teised on tegelnud nimetatud glükosiidide, eriti arbutiini droogist eraldamisega ja kvantitatiivse määramisega.

Nendest katsetest, arbutiini kvantitatiivselt määrata, tuleb L. Zechner — J. Kolthoff'i <sup>6)</sup> määramismeetodit kõige enam kordalainuks lugeda. Nimetatud määramismeetod on kaudne, s. t. arbutiin kui glükosiid lagundatakse lahjendatud soolhappega keetes hüdrohinooniks ja glükosiks ja eraldunud hüdrohinoon tiitritakse 1/10 N kaaliumdikromaadilahusega indikaatoriks tarvitades difenüülamiini.

Käesoleva töö ülesandeks oli selgitada arbutiini määramise võimalust leesikalehes lihtsamal põhimõttel: glükosiid vähesest droogihulgast eraldada ja peale kõrvalainetest puhastamise kaaluda.

Sellel põhimõttel määratakse glükosiide tähtsamates glükosiiddroogides, kus see glükosiidi keemiliste ja füüsikaliste omaduste tõttu võimalik on (g-strofantiin, digitoksiin, kondurangiin, glütsürritsiin).

Kõige paremat tagajärge annab glükosiidi otsene kaalanalüütiline määramine juhul, kui vastav glükosiid mõnest lahustusvahendist hästi kristalliseerub, nagu näiteks g-strofantiin veest ja arbutiin äädikestrist.

Kuni käesoleva ajani kasutati arbutiini isoleerimiseks droogist nn. tinameetodit lühidalt järgmiselt. Peenustatud droogipulbrist valmistatakse veega väljatõmme, millele ülihulgas tinaäädikat kõrvalainete eraldamiseks

38508515

juurde lisatakse. Peale filtrimise sadestatakse tina ülihulk filtraadis väelvelvesinikuga. Saadud juba vesiselgele filtraadile lisatakse tekkinud äädikhappe ülihulga kesendamiseks baariumkarbonaati ja koondatakse vesivannil kuni siirupi konsistentsini. Viimane asetatakse jahedasse kohta, kus kristallub arbutiin mõne päeva kuni nädalate vältel. Eraldunud kristallid on tumepruunid ja neid puhastatakse korduvalt loomasõega valastamise ja ümberkristallimise teel.

Nimetatud eraldamismeetodit on mitmed autorid kasutanud ka arbutiini kvantitatiivseks määramiseks, kusjuures tagajärjed alistasid suurtele kõikumistele.

E. Labi<sup>7)</sup> järele sisaldab Eestis kogutud leesikaleht nimetatud meetodil määratult 1,56—1,85% arbutiini.

Nagu mainitud, koondatavat arbutiini emalahust kesendatakse baarium- või kaltsiumkarbonaadiga, et vältida glükosiidi lagunemist happelises keskkonnas kuumutamisel. Selle tõttu muutub vedelik lõpupoole tõrvataoliseks siirupiks. See on tingitud sellest, et droog sisaldab ühtlasi ka vaba hüdrohinooni, milline leelises keskkonnas õhuhapniku toimel oksüdeerub. Sellest tumedast hüdrohinooni oksüdatsiooniproduktist arbutiini puhastamine on ühenduses viimase kaoga.

Et seda isoleerimismeetodit viimatinimetatud puudustest vabastada ja kvantitatiivsele määramisele kohandada, korraldati mõningaid eelkatseid.

1. Droogi ekstraheerimine. Sellega taheti selgusele jõuda, millise lahustusvahendiga ja millisel temperatuuril tuleks droogi ekstraheerimist toimetada, ning millise peensusastme peaks droog siinjuures omama, et oleks võimalik sellest arbutiini kvantitatiivselt eraldada.

L. Zechner'i<sup>4)</sup> järele on võimalik 5 g leesikalehe peent pulbrit kvantitatiivselt arbutiinist vabastada 48-tunnilisele matseratsioonile järgneva perkolatsiooniga teel 400 sm<sup>3</sup> külma veega. Nimetatud ekstraheerimise läbi viimiseks kulub 3 päeva, mida tuleb pidada pikaldaseks. Nagu vastavast katsest tabelis nr. 1 nähtub, toimub ka selle aja vältel osaline glükosiidi hüdroolüüs fermentide toimel.

Selle küsimuse selgitamiseks valmistati jämedalt (Eesti farmakop. sõel III) ja peenelt (sõel VI) pulbristatud samast droogist alljärgneva tabeli nr. 1 järele vee ja 96% alkoholiga väljatõmbed. Mõlema vedelikuga ekstraheeriti nii keeva vesivanni temperatuuril kui ka perkoleerides toa temperatuuril.

Alkoholsetest väljatõmmetest destilleeriti alkohol ja järelejäänud roheline paksu ekstrakti taolisele jäägile lisati 50 sm<sup>3</sup> vett ning hoiti sagedasti ringi liigutades kolbi keeval vesivannil, kuni kõik kolvi seintelt ühtlase seguna eraldus. Siinjuures sadeneb vaik, vaha ja klorofüll. Saadud segule lisati otsekohe tinaäädikat kõrvalainete sadestamiseks.

Filtraadis sadestatakse tina naatriumsulfaadiga ja tinasulfaadist eraldatud filtraat koondatakse kuni 10 sm<sup>3</sup>-ni.

Vesiväljatõmmetele lisati otsekohe tinaäädikat ja saadud filtraadiga töötati edasi nagu alkoholse ekstrakti juures.

Kontrollmääramiseks kasutati Zechner'i poolt<sup>4)</sup> soovitatud arbutiini kaudset määramist hüdrohinooni tiitrimise teel. Selleks loksutati 10 sm<sup>3</sup>-ni

Tabel nr. 1.

Arbutiini ja hüdrohinooni sisaldus olenevalt leesikalehe pulbri ekstraheerimisest.

Ekstraktimiseks tarvitatud vedelik	Katse nr.	Droogi peensuse aste	Ekstraktimiseks kulunud		Arbutiini %	Hüdrohinooni %	Ekstraktimisviis
			Vedeliku hulk	aeg tundi			
Vesi	1	jäme	450	144	7,73	0,60	24 tundi matseeritud, siis perkoleeritud 5-6 tilka minutis, kuni 1 sm <sup>3</sup> viimast lahust uuriklaasil aurutades kaalutavat jääki ei jäta
	2	peen	350	96	7,23	1,00	
	3	peen	370	6 kuud	1,26	2,45	
Alkohol	4	jäme	280	120	7,20	0,52	
	5	peen	250	72	7,44	0,45	
Vesi	6	jäme	350	3,5	7,45	0,41	Korduvalt välja keedetud $\frac{1}{4}$ tundi keeval vesivannil
	7	peen	300	2,5	7,73	0,41	
Alkohol	8	jäme	230	3	7,59	0,41	Korduvalt välja keedetud 95% alkoholiga tagasivoolujahutil
	9	peen	200	2	7,87	0,45	
	10	peen	215	6 kuud	7,16	0,70	
	11	peen	120	1	7,80	0,47	

koondatud vesilahusest seal leiduv vaba hüdrohinoon eetriga välja ja järelejäänud vesilahus viidi üle 50 sm<sup>3</sup> mahuga mõõtkolbi ning täideti veega märgini. 10 sm<sup>3</sup>-le sellest lahusest lisati 10 sm<sup>3</sup> 16% väävelhapet ja hüdrolüüsi arbutiin, kuumutades seda kolvikeses 1 tunni vältel keevas vees. Peale naatriumbikarbonaadiga leelistamise tiitriti hüdrolüüsil eraldunud hüdrohinoon  $\frac{1}{10}$  N-joodiga, kusjuures 1 sm<sup>3</sup>-le sellest lahusest vastab 5,502 mg hüdrohinooni ehk 14,055 mg arbutiini.

Iga katse puhul määrati ka vaba hüdrohinooni sisaldus, kuna sellest nähtub, kas glükosiidi eraldamise protsessil on tegemist olnud viimase hüdrolüütilise lagunemisega.

Nagu tabelist nr. 1 nähtub, on perkolatsiooni teel droogi vabastamine arbutiinist aeganõudev, mistõttu tekib vesilahuses ka osaline glükosiidi hüdrolüüs fermentide toimel, eriti peene droogipulbri juures (katse nr. 2), kus esines 1% vaba hüdrohinooni. Katse nr. 3 juures seisis vesine väljatõmme 6 kuud toa temperatuuril, millise aja jooksul on laiaulatuslik arbutiini lagunemine aset leidnud.

Peenemalt pulbristatud droogi puhul toimub ekstraheerimine kiiremini, ja selleks kulub ka vähem vedelikku.

Nimetatud asjaolusid arvesse võttes otsustasin edaspidiste katsete juures ekstraheerida peenelt pulbristatud 5 g droogi 3 korda, igakord

40 sm<sup>3</sup> kange alkoholiga keeval vesivannil tagasivoolujahutit või kondensatsioonitoru tarvitades.

## 2. Arbutiini vesilahuste koondamine.

Siin taheti selgusele jõuda, milline viis on otstarbekohasem arbutiini vesilahuste koondamiseks.

Zechner<sup>4)</sup> soovitab peale tinaäädikaga kõrvalainete eemaldamise ja tina üliulga sadestamise saadud filtraati koondada vaakuumis kuni 10 sm<sup>3</sup>-ni. Kuna Zechner'i järele töötades on vedeliku hulk suur (400 sm<sup>3</sup>), siis on see nõue põhjendatud. Juhul kui arbutiin esineb ainult 100 sm<sup>3</sup> vees, võib koondamist lihtsustada vaakuumaparaadi ärajätmisega.

Korraldades paralleelkatseid, koondamist läbi viies vaakuumaparaadis ja lahtises kausis keeval vesivannil, olid tagajärjed arbutiini sisalduse suhtes praktiliselt samaväärsed.

Vastavad katsed näitasid samuti, et väljaaurutamist keeva vesivanni temperatuuril võib ilma vedeliku kesendamata ette võtta. Orgaanilistest hapetest hüdrolüüsis arbutiini ainult oblikhape tunduvalt. Seda vabalt aga droogis ei esine. Äädikhape ja viinhape olid isegi 20% kontsentratsioonis 1 tunni vältel mõjuta.

## 3. Arbutiini väljakristallimine.

Koondatud siirupitaolisest jäägist osutus arbutiini ekstraheerimine kõige otstarbekohasemaks veega küllastatud äädikeetriga. Selleks otstarbeks tuleb jääk samas kausis, kus toimus koondamine, segada umbes 20—30 g jämedama liivaga. Kausist viiakse liiva segu üle vähemasse Soxhleti aparraadi ekstraktsioonikestasse (20 mm läbim., 80 mm pikk), puhastades kausist viimased jäljed niiske puuvillatükiga, millega liiva segu pärast Soxhleti aparraadis kinni kaetakse.

Segu ekstraheerimiseks kulub 1—1½ tundi. Et kogujas äädikeeter kogu aja tugevasti keeks, tuleb kasutada keedukivikesi, millistega koguja koos tareeritakse.

Äädikeetrit tuleb niipalju tarvitada ja Soxhleti aparraadi suurus nii valida, et äädikeetrit jääks arbutiini väljakristalliseerumiseks umbes 50 sm<sup>3</sup> ümber.

Peale ekstraheerimise asetatakse kolb jahedasse kohta umbes 10 tunniks kristalliseeruma.

Vastavalt neile eelkatsetele sai välja töötatud arbutiini määramismeetod.

Hästi läbiseगतud ja sõel nr. VI peensusastmeni peenustatud droogipulbrist kaaluti 5 g 100 sm<sup>3</sup> mahuga kolbi, valati üle 40 sm<sup>3</sup> 95% alkoholiga ja asetati ¼ tunniks tagasivoolujahutiga varustatult keevale vesivannile. Sellejärele lasti pulbril vähe sadeneda ja filtreeriti pealasuv vedelik läbi sileda filtri 200 sm<sup>3</sup> mahuga kolbi, viies võimalikult vähe droogipulbrist filtrile. Seda operatsiooni korrati veel 2 korda sama alkoholi hulga. Väljatõmbed filtreeriti kõik läbi sama filtri ja ühendati.

Saadud alkoholisele väljatõmbele lisati mõned keedukivid ja alkohol eemaldati destilleerimisel kuni paksu ekstraktitaolise jäägini.

Jäägile lisati 50 sm<sup>3</sup> vett ja asetati kolviga keevale vesivannile, vahetevahel ringi liigutades, kuni tumeroheline jääk kolvi seintelt üht-

lase suspensioonina eraldus. Saadud kuumale segule lisati segades 10 sm<sup>3</sup> tinaäädikat.

Tekkinud kollakasroheline segu valati imemisfiltrile, kolbi veega loputades. Sadet filtril pesti vähehaaval umbes 60 sm<sup>3</sup> veega. Pesemisvesi lisati filtraadile.

Filtraadis sadestati tina ülihulk naatriumsulfaadiga. Tinasulfaadist saadud filtraat oli selge või vähe kollakas. See koondati keeval vesivannil siirupi konsistentsini ja jääk segati samas kausis ühtlaselt umbes 25 g keskmise jämedusega (söel III) klaas- või hariliku liivaga.

Segu viidi kvantitatiivselt üle Soxhleti aparaaadi kestasse, mille läbimõõt oli 20 mm ja pikkus 80 mm. Kaussi pühitati vähese veega niisutatud puuvillatopiga, millega liiva segu kinni kaeti.

Soxhleti aparaat varustati keedukivikesega tareeritud umbes 100 sm<sup>3</sup> mahuga kogujaga. Ekstrakti umbes 70 sm<sup>3</sup> äädikeetriga keeval vesivannil 1 tunni vältel. Peale ekstraheerimise asetati kolb jahedasse kohta (9—12°), kus arbutiin kristalliseerub vähimalt 10 tunni vältel.

Emalahus valati ettevaatlikult kristallidelt ära ja mõõdeti selle hulk sm<sup>3</sup>-tes.

Kolbi ühes kristallidega kuivatati 100° juures 1 tund ja peale eksik-kaatoris jahtumise kaaluti.

Korrektuurina arvati juurde saadud hulgal 0,001 g arbutiini iga sm<sup>3</sup> emalahuse kohta, milline hulk jääb viimasesse.

Saadud arvu 20 korrutades saadakse arbutiini sisaldus protsentides droogis.

Järgnevas tabelis nr. 2 on esitatud mõnedel korduvatel määramistel saadud tagajärjed kirjeldatud meetodiga. Samas leiduvad ka andmed kaalumisele tulnud kristallproduktide puhta arbutiini sisalduse ja sulamistäpi kohta.

Nagu tabelist nähtub, kõikus puhta arbutiini sisaldus 90,6—92,3% vahel ja sulamistäpp 190—196° piirides. Müügilolev „Arbutinum album Merck“ sisaldas puhast ainet 96,6—99,2%, mille sulamistäpp oli 199—200° juures.

Vastavalt E. Bourquelot-Fichtenholz'i <sup>3)</sup> andmeile sulas pirnipuu lehtedest eraldatud metüülarbutiini mittedisaldav arbutiin 195° juures. Käesolevas töös kirjeldatud meetodil saadud arbutiin sisaldab kaasa-kristallunud metüülarbutiini, mis sulamistäpi madalamaks muudab.

Arbutiini terapeutilist toimet seletatakse asjaoluga, et viimase lagunemisel organismis, eriti neerudes eraldub antiseptiliselt mõjuv hüdrohioon, mis mitmete urogenitaalorganite haiguste puhul mõjub soodsalt tervenemisele.

E. Klarmann'i <sup>9)</sup> andmeist selgub, et metüülarbutiini laguproduktil metüülhüdrohioonil on mõnede bakterite suhtes veel suurem desinfitseeriv toime, kui seda on arbutiini laguproduktil hüdrohioonil.

Kuna kirjeldatud kvantitatiivsel määramismeetodil määramisele alis-tub ka metüülarbutiin, peaks võimalik olema seda meetodit droogi väärtuse määramiseks kasutada, kuna kaalumisele tulnud produkti tuleb vaadelda kui droogi kogumõjuainet.

Tabel nr. 2.

Andmed korduval määram. saadud arbutiini sisalduse ja viimase puhtuse kohta.

Droog	Arbutiini sisaldus korduval määram. %	Arbutiini sisaldus keskmine %	Differents keskmisest määram. %	Puhta arbutiini sisaldus %	Sulamistäpp
Aprill 1933	7,16 7,38	7,27	- 1,5 + 1,5	90,6	190—191 <sup>o</sup>
Mai 1936	6,40 6,50 6,50	6,47	- 1,1 + 0,4 + 0,4	91,8	195—196 <sup>o</sup>
Juuli 1936	8,10 7,58	7,84	+ 3,3 - 3,3	90,0	189—190 <sup>o</sup>
Sept. 1936	10,08 10,04 9,90	10,00	+ 0,8 + 0,4 - 1,0	92,3	192—193 <sup>o</sup>

## Kasutatud kirjandus:

- 1) H. Schiff, „Liebig's Annalen“ 1881 a., köide 206, lk. 159.
- 2) Kawalier „Liebig's Annalen“ 1852 a., köide 84, lk. 356.
- 3) E. Bourquelot-Fichtenholz „Chem. Zentralblatt“ 1910 a. II lk. 1064.
- 4) L. Zechner, „Pharmazeutische Monatshefte“ 1929. a. nr. 9 ja 10.
- 5) C. Grimme, „Chemisches Zentralblatt“ 1934. a. I lk. 580.
- 6) L. Zechner — M. J. Kolthoff „Scientia Pharmazeutica“ juuli—aug. 1937. a.
- 7) E. Labi, „Pharmacia“ 1924. a. nr. 4.
- 8) E. Klarmann, „Journ. Americ. Chem. Soc.“ 54, 298 (1932).