

Zakład Farmakognozji. Instytut Analizy i Technologii Farmaceutycznej.
Wydział Farmaceutyczny. Akademia Medyczna w Lublinie
Kierownik: doc. dr Bogusław Kamiński

Kazimierz GŁOWNIAK, Antoni GAWRON*
Barbara KWIETNIEWSKA*

**Badanie związków kumarynowych owoców arcydzięgla litworu
(*Archangelica officinalis* Hoffm.)**

Исследование кумариновых соединений плодов *Archangelica officinalis* Hoffm.

Investigations on Coumarins of *Archangelica officinalis* Hoffm. Fruits

Arcydzięgiel litwor, *Archangelica officinalis* Hoffm. (*Umbelliferae*), występuje na stanowiskach naturalnych w półn. części Europy i Azji, zaś w Europie środkowej i zachodniej tylko w górach (12). W Polsce jest spotykany w wyższych partiach Tatr i Sudetów. Korzeń arcydzięgla ze względu na zawartość olejku jest od dawna znany jako surowiec leczniczy o działaniu przeciwfermentacyjnym, moczopędnym i spazmolitycznym. To ostatnie działanie przypisuje się obecności związków kumarynowych (2, 4, 10).

Korzenie arcydzięgla litworu zawierają zarówno pochodne kumaryny, jak i furokumarynowe. Doniesienia piśmiennictwa wskazują na obecność kilkunastu związków z tych grup (7, 8, 10, 11), przy czym frakcja kumarynowa stanowi około 0,5% masy korzenia. Owoce arcydzięgla litworu były badane przez Drianiśynę i wsp. (5), którzy znaleźli w tym surowcu 8 związków kumarynowych, spośród których wyodrębnili 6. Karrier (7) doniósł o izolacji 5 związków kumarynowych z owoców arcydzięgla, są to: bergapten, imperatoryna, ksantotoksol, ksantotoksyna, umbeliprenina. Corcilius (3, 4) badając owoce i korzenie arcydzięgla stwierdził we frakcji kumarynowej obecność 14 związków, z czego zidentyfikował chromatograficznie: angelicynę, bergapten, ksantotoksol, ksantotoksynę, imperatorynę, ostol, osteol, umbelipreninę. Autor nie podał wyraźnie, jakie związki są charakterystyczne dla owoców, a jakie dla korzeni. Te doniesienia literaturowe skłoniły do podjęcia badań nad zawartością związków kumarynowych w tym surowcu oraz do prób wyizolowania i identyfikacji niektórych związków z tej grupy metodą chromatografii kolumnowej i cienkowarstwowej.

* Członkowie Studenckiego Koła Farmakognostów.

CZEŚĆ DOSWIADCZALNA

Materiał do badań

Materiał do badań stanowiły dojrzałe owoce arcydzięgla litworu, *Archangelica officinalis* Hoffm., pochodzące z Ogrodu Farmakognostycznego Akademii Medycznej w Lublinie ze zbioru w r. 1974. Owoce były wysuszone w warunkach normalnych i przechowywane w zamkniętych puszkach metalowych w suchym, chłodnym miejscu.

Ekstrakcja związków kumarynowych

Średnio sproszkowane owoce (1700 g) ekstrahowano eterem naftowym (o temp. wrzenia 35—65°) w aparacie ekstrakcyjnym o kołowym obiegu rozpuszczalnika w ciągu 60 godz. Uzyskany wyciąg zagęszczono do objętości 2 l i pozostawiono w temperaturze pokojowej na 48 godz. Wytrącony pomarańczowożółty osad krystaliczny po przemyciu i wysuszeniu (59 g) stanowił 3,47% masy badanych owoców.

Rozdział chromatograficzny frakcji kumarynowej, izolacja i identyfikacja wydzielonych związków

Chromatografia cienkowarstwowa jednokierunkowa była przeprowadzona na płytkach powleczonych żelazem krzemionkowym G wg Stahla. Dobre wyniki rozdziału uzyskano w układzie: benzen-eter etylowy-metanol-chloroform (20:1:1:1) (8) oraz w układzie własnym benzen-octan etylu (17:3). Rozwinięte chromatogramy oglądano w świetle pozafioletowym, a następnie wywoływano odczynnikami: 1% wodnym roztworem nadmanganianu potasu oraz 0,1% roztworem jodu w jodku potasu.

Chromatografię cienkowarstwową dwukierunkową uzyskanej frakcji kumarynowej przeprowadzono na żelu krzemionkowym G stosując technikę dwukierunkową w układach benzen-octan etylu (17:3) (kierunek I) oraz benzen-eter etylowy-metanol-chloroform (20:1:1:1) (kierunek II). Uzyskano rozdział badanej frakcji na 17 plam fluoryzujących w świetle pozafioletowym, z których 7 zabarwiło się po spryskaniu roztworem jodu w jodku potasu. Otrzymane wyniki analizy chromatograficznej związków kumarynowych ilustruje tab. 1.

Część otrzymanej frakcji kumarynowej (10 g) poddano rozdziałowi na drodze chromatografii kolumnowej (kolumna I). Kolumnę o średnicy 2 cm i długości 50 cm napełniono 35 g kwaśnego tlenku glinowego Woelm i naniesiono roztwór benzenowy badanej frakcji. Kolumnę przemywano benzenem (350 ml), a następnie mieszaniną benzenu i octanu etylu ze wzrastającą ilością polarnego rozpuszczalnika. Zbierano wycieki objętości po 100 ml i badano je chromatograficznie techniką cienkowarstwową na żelu krzemionkowym w układzie: benzen-octan etylu (17:3).

WYNIKI WŁASNE

Wyciek 1. W wycieku 1 znaleziono związek dający plamę ($R_f=0,88$) o niebieskiej fluorescencji. Chromatograficzne badania porównawcze wykazały tożsamość tego związku z wzorcowym ostolem.

Wycieki 2 i 3 (benzenowe) zawierały związek, który na chromatogramie cienkowarstwowym dawał plamę ($R_f=0,52$) fluoryzującą na kolor

Tab. 1. Charakterystyka plam związków kumarynowych na chromatogramie dwukierunkowym

Character of coumarins spots on a two-dimensional thin-layer chromatogram

L.p. plamy	Wartości Rf		Zabarwienie plamy	
	kierunek I	kierunek II	w świetle pozaświetkowym	po reakcji J w KJ
1	0,06	0,12	niebieskie	—
2	0,09	0,18	żółte	żółte
3	0,12	0,24	żółtobrunatne	brązowe
4	0,14	0,21	żółte	—
5	0,15	0,26	szare	niebieskie
6	0,21	0,30	żółte	niebieskie
7	0,23	0,33	żółte	—
8	0,24	0,25	niebieskie	—
9	0,36	0,35	niebieskie	—
10	0,42	0,43	żółte	—
11	0,52	0,49	żółte	brunatne
12	0,54	0,47	żółtopomarańcz.	fioletowe
13	0,56	0,48	żółte	ciemnopomarańcz.
14	0,59	0,53	żółte	brunatne
15	0,67	0,55	żółte	żółte
16	0,78	0,60	niebieskie	—
17	0,88	0,66	niebieskie	—

żółty w świetle pozaświetkowym i barwiącą się z roztworem jodu w jodku potasu na kolor brunatny (związek A). Temperatura topnienia: 99—100°C. Widmo IR* tego związku zawiera charakterystyczne maksima absorpcji w zakresie 1730 cm⁻¹ (C=O ugrupowania laktonowego), 1620 i 1580 cm⁻¹ (pierścień aromatyczny), 1090 cm⁻¹ (benzofuran), 1280 cm⁻¹ (C-O-C=) i jest zgodne z danymi z literatury dla imperatoryny (9). Analiza elementarna: obliczono C: 71,34%; H 5,22%, uzyskano C: 71,10%; H 5,01%.

Wyciek 4 po odparowaniu rozpuszczalnika stanowił żółtobrunatny krystaliczny osad zawierający największą ilość składników. Osad ten poddano kolejnemu oczyszczeniu metodą chromatografii kolumnowej. Użyty osad naniesiono w roztworze benzynowym na kolumnę wypełnioną żelazem krzemionkowym (Koch-Light Laborat., 325 mesh) — kolumna II. Kolumnę przemyto benzenem (1500 ml) zbierając wycieki objętości po 15 ml, które kontrolowano chromatograficznie. W pierwszej partii wycieków (60ml) znajdował się chromatograficznie jednorodny związek, dający plamę (Rf=0,78) o jasnoniebieskiej fluorescencji. Minimalne ilości tego związku nie pozwoliły na uzyskanie go w postaci krystalicznej, co uniemożliwiło jego identyfikację. Kolejne wycieki (60 ml) zawierały jednorodny związek (Rf=0,52) identyczny ze składnikiem wyizolowanym z kolumny I (związek A). Dalsze wycieki benzenowe (ok. 200 ml) zawierały mieszaninę składników o przewodze związku wykazującego na chromato-

* Widma IR zostały wykonane przez Ośrodek Naukowo-Badawczy Akademii Medycznej w Lublinie.

gramie cienkowieściowym plamę ($R_f=0,46$) o zabarwieniu słabożółtym w świetle pozafioletkowym. Po zagęszczeniu uzyskanego wycieku do objętości kilku mililitrów wypadł na zimno krystaliczny osad w postaci igieł (związek B). Temperatura topnienia: $189\text{--}190^\circ\text{C}$, widmo IR tego związku zawiera charakterystyczne dla związku furochromonu piki absorpcji w zakresie 1730 cm^{-1} (grupa $\text{C}=\text{O}$ pierścienia laktonowego), 1620 cm^{-1} , 1580 cm^{-1} (pierścień aromatyczny), 1095 cm^{-1} (benzofuran), 1350 cm^{-1} (grupa CH_3), 1150 cm^{-1} (pierścień aromatyczny $-\text{O}-\text{CH}_3$). Absorpcja badanego związku w IR jest zgodna z danymi literatury dotyczącymi bergaptenu (9). Analiza elementarna: obliczono C: 66,66%; H: 3,73%; uzyskano 66,78%; H: 3,62%.

Wycieki 5—7. Połączone wycieki 5—7 (z kolumny I) zawierające mieszaninę większości składników poddano kolejnemu rozdzielaniu na kolumnie wypełnionej żelalem krzemionkowym (kolumna II) w warunkach poprzednio opisanych. Wycieki zbierano kontrolując w promieniach pozafioletkowych fluorescencję barwnych pasm na kolumnie. W ten sposób wyizolowano krystaliczny związek (igły) dający w świetle pozafioletkowym żółtą plamę o wartości $R_f=0,42$ (związek C). Uzyskano igły o temp. topn. $145\text{--}146^\circ\text{C}$. Wartość R_f wyizolowanego związku C, temperatura topnienia oraz widmo IR odpowiada wzorcowi ksantotoksyny. Niewielka ilość wyizolowanego związku (10 mg) nie pozwoliła na wykonanie analizy elementarnej. Pozostałych składników frakcji nie udało się wyizolować, natomiast wycieki nr 35—38 poddane chromatografii cienkowieściowej wykazały obecność 5 związków, z których związki występujące w przeważającej ilości tworzyły plamy o wartości $R_f=0,42$ i $R_f=0,54$, co odpowiadało równolegle badany wzorcom izopimpininy i pimpininy. Związek dający plamę o wartości $R_f=0,42$ (związek D) odpowiadającą wzorcowi izopimpininy wyizolowano z połączonych frakcji 35—38 metodą preparatywnej chromatografii cienkowieściowej i uzyskano w postaci jednorodnych kryształów (igły) o temperaturze topnienia $148\text{--}149^\circ\text{C}$, co jest zgodne z danymi literaturowymi dla izopimpininy (6, 7).

Wycieki 8—11 (kolumny I) połączono i zagęszczono przez odparowanie uzyskując żółtobrunatny bezpostaciowy osad. Osad ten przekryształizowano dwukrotnie z metanolu, uzyskując krystaliczny związek (puszyste igły) dający na chromatogramie żółtobrunatną plamę widoczną w świetle pozafioletkowym o $R_f=0,12$ (związek E). Po dwukrotnym przekryształizowaniu z metanolu wydzielono drobne kryształy (igły). Uzyskany osad topił się w temp. $248\text{--}249^\circ\text{C}$ zgodnej z danymi literaturowymi dla ksantotoksolu (7). Widmo IR tego związku zawiera charakterystyczne pasma absorpcji dla związków kumarynowych (1,9). Analiza elementarna: obliczono C: 64,85%; H: 2,97%; uzyskano C: 65,17%; H: 2,62%.

OMÓWIENIE WYNIKÓW

Na podstawie przeprowadzonych badań należy uznać owoce arcydzięgla litworu za bogate źródło związków kumarynowych (3,47% masy owoców). Wykrycie drogą analizy chromatograficznej cienkowarstwowej 17 związków we frakcji kumarynowej wskazuje na obecność większej ilości tych związków, niż wskazują na to doniesienia Corciliusa (3, 4).

Spśród związków występujących w dużych ilościach wyizolowano imperatorynę, bergapten, ksantotoksol, ksantotoksynę i izopimpinelinę w jednorodnej formie krystalicznej. Tożsamość trzech pierwszych związków ustalono na zasadzie badań spektrofotometrycznych i analizy elementarnej, a także zgodności temperatur topnienia i wartości Rf z posiadanymi wzorcami. Tożsamość ksantotoksyny ustalono w wyniku badania chromatograficznego, temperatury topnienia i widma w podczerwieni, zaś dla izopimpineliny uzyskano zgodność danych chromatograficznych i temperatury topnienia. W toku badań chromatograficznych związków występujących w małych ilościach stwierdzono obecność dwóch substancji, których wartości Rf i zabarwienie plam odpowiadają wzorcom pimpineliny i ostolu. Mała ilość omawianych związków nie pozwoliła na izolację i przeprowadzenie dalszych badań, które potwierdziłyby ich obecność. Zarówno wyizolowana izopimpinelina, jak i wykryta chromatograficznie pimpinelina zostały znalezione w owocach arcydzięgla po raz pierwszy. Dobre wyniki rozdziału chromatograficznego związków kumarynowych na żelu krzemionkowym uzyskano stosując do rozwijania chromatogramów fazę ruchomą (benzen-octan etylu 17 : 3) nie opisaną dotychczas w literaturze.

PIŚMIENICTWO

1. Adityachaudhury N., Gnosh D., Choudhuri A.: *Phytochem.* **13**, 235—238, 1974.
2. Borkowski B.: *Zarys Farmakognozji*. PZWL, Warszawa 1974.
3. Corcilius F.: *Arch. Pharmaz.* **289**, 81—86, 1956.
4. Corcilius F.: *Deutsche Apoth. Ztg.* **100**, 643—647, 1960.
5. Drianitsyna A., Bigulerskij G., Bukreewa T.: *Prikl. Biochim. i Mikrobiol.* **5**, 549—599, 1965, wg *C. A.* **54**, 4170, 1960.
6. Orłow Yu. E., Prokopienko A. P.: *Chim. Prir. Sojed.* **4**, 216—225, 1969.
7. Karrer W.: *Konstitution und Vorkommen der organischen Pflanzenstoffe*. Stuttgart 1958.
8. Kowalska M., Skrzypczakowa L.: *Dissert. Pharm.* **16**, 255—260, 1964.
9. Kuźniecowa G. A., Mamatow G. Z.: *Chim. Prir. Sojed.* **5**, 355—359, 1969.
10. Mowszowicz J.: *Farm. Pol.* **31**, 519—525, 1975.
11. Nielsen B. E., Kofod H.: *Acta Chem. Scand.* **17**, 1161—1163, 1963.
12. Szafer Wł., Kulczyński S., Pawłowski B.: *Rośliny Polskie*, PWN, Warszawa 1967.

Otrzymano 10 XII 1975.

РЕЗЮМЕ

В результате исследований при помощи тонкослойной хроматографии ку-
мариновой фракции плодов лекарственного дягиля *Archangelica officinalis* Hoffm.,
Umbelliferae, установлено присутствие 17 соединений. Были выделены и иден-
тифицированы следующие 5 компонентов: императорин, бергаптен, ксантото-
ксол, ксантотоксин и изопимпинеллин. Среди компонентов, выступающих в не-
большом количестве, в результате хроматографических исследований устано-
влено присутствие двух соединений, значения Rf и цвет пятен которых соответ-
ствовали образцам пимпинеллина и остхола.

SUMMARY

In a coumàrin fraction, obtained from *Archangelica officinalis* Hoffm. fruits,
17 compounds have been found by thin-layer chromatography. Five of them have
been isolated and identified as imperatorin, bergaptene, xanthotoxol, xanthotoxin
and isopimpinellin. Among compound being present in smaller quantities, two
substances have been characterized chromatographically; their Rf values and colours
of spots correspond to standard pimpinellin and osthol.