Porównawcze badania nad alkaloidami występującymi w roślinach gorzkiej i pastewnej formy *Lupinus albus* L.

Comparative studies on the alkaloids occurring in the plants of the bitter and fodder
forms of *Lupinus albus* L.

WIESŁAWA SZYMAŃSKA

Opierając się na analizie chromatograficznej długi czas zakładano, że skład alkaloidów form gorzkich łubinów jest identyczny jak form pastewnych w ramach tego samego gatunku. Bardziej szczegółowe badania nad formą pastewną łubinu białego zostały podjęte przez T. Nalborczyk (1964). Jednakże problem, czy alkaloidy mutantów pastewnych są identyczne z alkaloidami roślin gorzkich pozostaje nadal zagadnieniem otwartym. Wiadomo, że obie formy różnią się nie tylko sumaryczną zawartością omawianych zasad, lecz również ilościowymi stosunkami między nimi (Birecka, Wojcieszka 1962; Nowacki 1963; T. Nalborczyk 1964), co wskazywałoby na nieco inny typ ich metabolizmu. Być może zatem, że i skład jakościowy nie jest identyczny. Stąd celem moich badań było porównanie składu jakościowego alkaloidów w biotypach gorzkim i pastewnym, mających wspólne pochodzenie.

METODYKA

Obiektem badań były biotypy szybko rosnące łubinu białego — jeden gorzki i jeden pastewny — wyodrębnione z materiałów mieszańcowych form pastewnych Biały I ♀ × Biały V ♂. Metodą zakładania doświadczeń oraz skład pożywki był analogiczny jak w pracach poprzednich (Birecka, Mazan, Szklarek 1959, Birecka, Sebyła, Nalborczyk 1959).

* Niniejsza praca omawia część ogólnego problemu dotyczącego alkaloidów łubinowych, opracowywanego w Katedrze Fizjologii Roślin SGGW w l. 1956—1965.

Nasiona wysiano dnia 14.VII.1962 r. Rośliny wzeszły dnia 16.VII i tegoż dnia zaszczepiono je *Rhizobium* hodowli Puławskiej. Zbiór dokonano w sześćdziesiątym dniu wegetacji, w fazie kwitnienia pędu głównego, tj. w okresie intensywnej syntezy alkaloidów, tnąc łodygi tuż nad liścieniami. Zebrano 425 roślin pastewnych i 56 gorzkich. Materiał roślinny natychmiast zamrożono i w tym stanie zmielono. Następnie ekstrahowano etanolem, po czym rozpuszczalnik oddestylowano pod zmniejszonym ciśnieniem*. Z pozostałości wymywano barwniki eterem naftowym (roztwór eterowy po podgłoszczeniu sprawdzano na zawartość alkaloidów — znaleziono jedynie ich ślady). Alkaloidy przejęto do 0,1 N HCl, a następnie po zalkalizowaniu do chloroformu. Rozdział poszczególnych frakcji alkaloidów przeprowadzono na kolumnie celulozowej w układzie rozwijającym n-butanol nasycony 0,1 N HCl (Birecka, Nalborczyk 1961). Uzyskane frakcje alkaloidowe poddano szczegółowym badaniom chromatograficznym w układach:

- 1) n-butanol : kwas solny : toluen (Reifer, Przeździecka, Kleczkowska 1959),
- 2) nasycony roztwór $(\text{NH}_4)\text{SO}_4$: etanol — 15 : 1 (M. Wiewiórowski, D. Bratek, 1957),
- 3) aceton : 1N HCl — 8 : 21 (M. Wiewiórowski),
- 4) izobutanol : woda : HCl — 100 : 27 : 15 (Jaminet 1954),
- 5) n-butanol : HCl : woda — 100 : 27 : 15 (Wiewiórowski, Galinovsky, Bratek, 1957).

Wartości R_f określono w stosunku do lupaniny. Badane związki po rozdziale poddano destylacji w postaci zasad w próżni 10^{-3}T . Analizę spektralną w podczerwieni wykonano w spektrofotomerze Zeiss'a UR-10 używając czterochlorku węgla jako rozpuszczalnika. Analizę absorpcji w nadfiolecie wykonano na aparacie typu SF produkcji ZSRR w 0,01 N HCl. Niektóre z badanych zasad zredukowano wodorem w środowisku 2 N HCl wobec PtO_2 jako katalizatora (Galinowsky, Pöhm 1949). Hydrolizę frakcji zawierającej estry 13-hydroksylupaniny przeprowadzono w środowisku alkalicznym (Wiewiórowski, Bratek 1962). Własności redukujące badanych związków sprawdzono przy użyciu kwasnego roztworu KMnO_4 . Analizę ilościową alkaloidów wykonano po uprzednim rozdziale przy pomocy chromatografii bibułowej i oznaczono metodą kolorymetryczną (Reifer, Niziołek 1957; Birecka, Rybicka, Ścibor-Marchocka 1959). Poza roślinami w fazie kwitnienia przebadano również nasiona. Ekstrakcję alkaloidów z nasion przeprowadzono używając chloroformu, a oznaczenia ilościowe jak wyżej.

* Warunki ewaporacji we wszystkich niżej opisanych przypadkach były analogiczne.

WYNIKI

Jak już wspomniano, celem pracy było porównanie składu jakościowego alkaloidów w formie gorzkiej i pastewnej — jednej z odmian łubinu białego. Dotychczas niewiele uwagi poświęcono temu zagadnieniu, aczkolwiek niewiadomo, czy niskoalkaloidowe formy zawierają identyczne zasady jak rośliny gorzkie. Dlatego w przedstawionej pracy podjęto próbę wyjaśnienia tego zagadnienia, przy czym jednocześnie poznanie alkaloidów nie przebadanej pod tym względem odmiany łubinu białego, stworzyło dodatkową możliwość porównania ich z alkaloidami innych odmian w analogicznej fazie rozwojowej roślin (Birecka 1963, T. Nalborczyk 1964). W celu uniknięcia ewentualnych różnic filogenetycznych u porównywanych roślin, do doświadczeń użyto rody bliźniacze. Badania przeprowadzono głównie z częściami nadziemnymi roślin w okresie intensywnej syntezy alkaloidów (Birecka, Mazan, Szklarek, 1959; Birecka, Szymańska, Ścibor-Marchocka 1960), natomiast wyjściowy materiał nasienny scharakteryzowano i porównano jedynie na podstawie analiz chromatograficznych i ilościowych.

Przeciętna świeża masa jednej rośliny łubinu gorzkiego (w czasie kwitnienia pędu głównego) wynosiła — 16,1 g, sucha masa — 2,84 g, jednej rośliny łubinu pastewnego odpowiednio — 13,7 g i 2,39 g. Ogólna zawartość alkaloidów w roślinach gorzkich stanowiła 1,10%, w roślinach pastewnych — 0,023% suchej masy.

Chromatograficznie w układzie but : HCl : tol stwierdzono w częściach nadziemnych obu badanych biotypów łubinu analogiczne frakcje alkaloidów: frakcję o R_f sparteiny, lupaniny, 13-hydroksylupaniny, estrów 13-hydroksylupaniny, angustifoliny, a_x i a_y *. Ponadto w śladowych ilościach (ok. 0,3% ogólnej zawartości alkaloidów) występował jeden prążek w przypadku łubinu gorzkiego i dwa w przypadku łubinu pastewnego, układające się między frakcją estrów 13-hydroksylupaniny i frakcją angustifoliny.

Zawartość poszczególnych frakcji alkaloidów w częściach nadziemnych badanych roślin oraz ich procentowy udział w sumie alkaloidów przedstawia tabela 1.

Jak widać z przytoczonych danych, oba biotypy łubinu nie różniły się istotnie między sobą pod względem udziału frakcji 13-hydroksylupaniny (łącznie z jej formą estrową) oraz frakcji lupaniny (wynoszącego ok. 40—44%). Takie wartości dla lupaniny stwierdzono w pastewnej odmianie 'Przebédowski-średniowieczny' w innych badaniach (Birecka,

* Są to frakcje, dla których w poprzednich publikacjach przyjęto symbole a_x i a_y .

Tabela 1 — Table 1

Zawartość alkaloidów w części nadziemnej łubinu białego
Alkaloids content in aerial parts of white lupin

Fracje alkaloidów o R _f Alkaloid fraction with R _f	Biotyp gorzki Bitter biotype		Biotyp pastewny Fodder biotype	
	µg w 1 roślinie µg/plant	udział alka- loidów w % percentual contribution to total al- kaloids	µg w 1 roślinie µg/plant	udział alka- loidów w % percentual contribution to total al- kaloids
sparteiny	4000	12	84	15
lupaniny	13800	44	224	40
13-hydroksylupaniny	2600	8	61	11
estrów 13-hydroksylupaniny	5300	17	70	13
angustifoliny	ślady	ślady	59	11
a _x	5300	17	40	7
a _y	600	2	18	3

Tabela 2 — Table 2

Zawartość alkaloidów w wyjściowym materiale nasiennym łubinu białego
Alkaloid content in seed outset material of white lupin

Fracje alkaloidów o R _f Alkaloid fraction with R _f	Biotyp gorzki Bitter biotype		Biotyp pastewny Fodder biotype	
	µg w 1 nasieniu µg/seed	udział alka- loidów w % percentual contribution to total al- kaloids	µg w 1 nasieniu µg/seed	udział alka- loidów w % percentual contribution to total al- kaloids
sparteiny	—	—	—	—
lupaniny	1592	77	19	40
13-hydroksylupaniny	247	12	13	28
estrów 13-hydroksylupaniny	83	4	11	24
angustifoliny	26	1	—	—
a _x	74	4	4	8
a _y	35	2	—	—

Mazan, Szklarek 1959; T. Nalborczyk 1964), jednakże dobrze poznany łubin biały gorzki 'Czechnicki' odznaczał się znacznie większym udziałem tego alkaloidu, wynoszącym bowiem około 70% ogólnej zawartości badanych zasad. W literaturze (van der Kuy 1956; Leonard 1952, White 1957) również powszechny jest pogląd, iż lupanina w gorzkim białym łubinie jest alkaloidem dominującym. Stwierdzono przy tym znaczny, nie spotykany u innych odmian, szczególnie gorzkich, udział sparteiny, która stanowiła 12—15% ogólnej zawartości alkaloidów. Być

może, występowanie w badanej formie gorzkiej dużej ilości sparteiny przy niskim stosunkowo udziale lupaniny wynika stąd, że forma ta pochodzi od krzyżówki dwóch odmian pastewnych i określone stosunki między poszczególnymi alkaloidami mogą być tu dziedzicznie w jakimś stopniu uwarunkowane. Istotne różnice między badanymi biotypami łubinu wystąpiły w udziale frakcji angustifoliny i a_x .

Podobnie jak u innych odmian *L. albus*, tak i w nasionach obu badanych form (tab. 2) nie wykryto frakcji sparteiny. Jak dotąd, alkaloid ten nie został wyizolowany z nasion ani pastewnej, ani gorzkiej formy łubinu białego. Niekiedy wprawdzie stwierdzano chromatograficznie związek odpowiadający sparteinie (van der Kuy 1956; T. Nalborczyk 1964), jednakże identyfikacja chromatograficzna nie stanowi dowodu jej obecności. Ponadto w formie pastewnej nie wykryto frakcji angustifoliny oraz frakcji a_y , podczas gdy z nasion odmiany 'Przebędowski' wyizolowano angustifolinę (T. Nalborczyk 1964). Być może, w badanym materiale alkaloid ten znajdował się w zbyt małych ilościach aby stwierdzić jego obecność.

Stosunki ilościowe poszczególnych alkaloidów różniły się u obu biotypów łubinu głównie udziałem frakcji lupaniny, która stanowi dominującą alkaloid w nasionach gorzkiej formy oraz frakcji 13-hydroksylupaniny i jej estrów, które z kolei wydają się być dominującym alkaloidem w nasionach łubinu pastewnego (Nowacki 1963; T. Nalborczyk 1964). Podobne różnice w nasionach między gorzką i pastewną formą stwierdzono również w innych badaniach (Birecka, Wójcicka 1962).

Uzyskane z części nadziemnych roślin frakcje alkaloidowe poddano próbom identyfikacji. Stwierdzono, że frakcja o R_f sparteiny (wyizolowana z obu badanych form łubinu) chromatograficznie w pięciu układach rozwijających i spektralnie w podczerwieni odpowiadała sparteinie.

Podobnie frakcja o R_f lupaniny i frakcja o R_f 13-hydroksylupaniny. W przypadku tej ostatniej po jej redukcji (przeprowadzonej przed sublimacją) otrzymano oprócz 13-hydroksysparteiny w śladowych ilościach produkt o R_f sparteiny — podobnie jak u innych odmian łubinu białego (Birecka, Nalborczyk 1961; T. Nalborczyk 1964).

Frakcja estrów 13-hydroksylupaniny w układzie siarczanu amonu wykazywała obecność trzech związków, z których jeden występował w znacznej przewadze. Analiza spektralna w podczerwieni wykazała, podobnie jak w innych badaniach nad łubinem białym (Bratek-Wiewiórowska, Wiewiórowski, Reifer 1963), intensywne maksimum charakterystyczne dla grupy $\text{NC}=\text{O}$ (1650 cm^{-1}), maksimum przy 1720 cm^{-1} (obecność wiązania typu $\text{O}=\text{C}=\text{O}$) oraz przy 1275 i 1150 cm^{-1} charakterystyczne dla wiązań estrowych. W wyniku alkalicznej hydrolizy bada-

nej frakcji otrzymano 13-hydroksylupaninę, zidentyfikowaną spektralnie w podczerwieni oraz przy pomocy redukcji.

Frakcja angustifoliny wyizolowana z łubinu gorzkiego w pięciu stosowanych układach rozwijających zachowywała się jak angustifolina.

Ryc. 1. Widmo absorpcji w podczerwieni związku „A_n” z łubinu białego pastewnego

Fig. 1. IR absorption spectrum of compound A_n from white fodder lupin

Analiza spektralna w podczerwieni wykazała obecność maksimów absorpcji charakterystycznych dla grupy winylowej (Wiewiórowski, Wolińska-Mocydlarz 1961) oraz przy 1650 cm⁻¹ odpowiadającego wiązaniu NC=O. Badany związek odbarwiał KMnO₄ w środowisku kwaśnym. Uzyskane w niniejszej pracy dane wskazują, że była to angustifolina, podobnie jak u nasion innych odmian łubinu gorzkiego i pastewnego (Marion, Wiewiórowski, Bratek 1960; T. Nalborczyk 1964). Natomiast analogiczna frakcja wyizolowana z formy pastewnej badanego łubinu okazała się związkiem różnym od angustifoliny. Chromatograficznie w układzie siarczanu amonu wartość R_f dla badanej frakcji wynosiła 1,24, natomiast dla angustifoliny 1,13. Badany związek nie odbarwiał KMnO₄. Analiza spektralna w podczerwieni (ryc. 1) wykazała obecność grupy karbonylowej w laktamie (maksimum absorpcji przy 1650 cm⁻¹), lecz brak maksimów absorpcji odpowiadających grupie winylowej oraz inny charakter obszaru „finger-print” w porównaniu z widmem podanym dla angustifoliny przez Bohlmana (Bohlman, Winterfeldt 1960). Wyizolowany związek nie odpowiada żadnemu ze znanych dotąd alkaloidów łubinu białego (przyjęto dla niego tymczasową nazwę „A_n”) i stanowi prawdopodobnie ketopochodną sparteiny (z grupą karbonylową w laktamie). Wykluczono przy tym chromatograficznie — możliwość występowania oksylupaniny i spektralnie — oksysparteiny. Należy jednocześnie zaznaczyć, że obecność angustifoliny w pastewnej formie łubinu została dowiedziona jedynie w nasionach. W częściach nadziemnych (w fazie kwitnienia) stwierdzono jej występowanie tylko na podstawie analizy chromatograficznej oraz chromatograficznego oznaczenia produktu jej redukcji (T. Nalborczyk 1964).

Niemniej interesująca okazała się frakcja a_x , chociaż należy zaznaczyć, że uległa ona dość znacznym ilościowym stratom w procesie izolacji i oczyszczania, co dowodziłoby labilnego charakteru związków w niej występujących (lub tylko niektórych z nich). W przypadku łubinu gorzkiego frakcja a_x w układzie $\text{but}:\text{HCl}:\text{tol}$ wykazała obecność jednego, szeroko ukladającego się prążka o R_f bliskim multiflorynie, Δ^5 -dehydrosparteinie i 13-hydroksysparteinie (ryc. 2). Analiza spektralna w podczerwieni wy-

Ryc. 2. Względne położenie chromatograficzne frakcji a_x wyizolowanej z gorzkiego łubinu białego w układzie $\text{but}:\text{HCl}:\text{tol}$ (La — lupanina, S — sparteina, $13-HI$ — 13 hydroksylupanina, MI — multifloryna, $\Delta^5 dHS$ — Δ^5 -dehydrosparteina, $13-HS$ — 13 hydroksysparteina)

Fig. 2. Relative chromatographic position of fraction a_x isolated from white bitter lupin in the system but-HCl-tol (La — lupanine, S — sparteine, $13-HI$ — 13-hydroxylupanine, MI — multiflorine, $\Delta^5 dHS$ — Δ^5 dehydrosparteine, $13-HS$ — 13-hydroxysparteine)

kazała obecność absorpcji przy 1600 cm^{-1} i 1650 cm^{-1} wskazujących na obecność sprzężonego układu $\text{O}=\text{C}-\text{C}=\text{C}$ (Crow 1959; Marion, Wiewiórowski, Bratek 1960), przy czym pochłanianie przy 1650 cm^{-1} było znacznie intensywniejsze aniżeli przy 1600 cm^{-1} . Charakter pozostałego obszaru widma wskazywał na mieszaninę związków. Przy zastosowaniu układu siarczan amonu : etanol stwierdzono, że istotnie badana frakcja zawiera dwa komponenty, których względne położenie chromatograficzne przedstawia ryc. 3. Obydwa komponenty rozdzielono na bibule, stosując wyżej wymieniony układ rozwijający i poddano dalszym badaniom identyfikacyjnym. Komponent — 1 w każdym z zastosowanych układów rozwijających ($\text{but}:\text{HCl}:\text{tol}$, $\text{aceton}:\text{HCl}$, $\text{izobut}:\text{HCl}$, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4:\text{etanol}$) zachowywał się jak multifloryna. W kwaśnym środowisku odbarwiał KMnO_4 . Intensywna absorpcja w ultrafiolecie przy $320\text{ m}\mu$ (ryc. 4) wskazywała na obecność sprzężonego układu chromoforów $\text{O}=\text{C}-\text{C}=\text{C}-\text{N}$ (Guiliam, Stern 1958; Wiewiórowski, Wolińska-Mocydlarz 1961). W wyniku redukcji (w 2 N HCl wobec PtO_2) otrzymano związek, który chromatograficznie zachowywał

się jak sparteina. Jeśli wziąć pod uwagę wyniki analizy w podczerwieni przed rozdzieleniem frakcji a_x na dwa komponenty, które wykazywały obecność sprzężonego układu $O=C-C=C$ nie wykrywanego później

Ryc. 3. Względne położenie chromatograficzne frakcji a_x wyizolowanej z gorzkiego łubinu białego w układzie siarczan amonu : etanol (K1 — komponent 1, K2 — komponent 2, pozostałe symbole patrz ryc. 2)

Fig. 3. Relative chromatographic position of fraction a_x isolated from white bitter lupin in the system ammonium sulphate-ethanol (K1 — component 1, K2 — component 2, remaining symbols as in fig. 2)

w komponencie drugim podczas odrębnego zdjęcia widma jego w podczerwieni oraz wyniki wyżej przytoczne, komponent — 1 frakcji a_x można uważać za multiflorynę wykrytą uprzednio w nasionach i organach wegetatywnych innej odmiany łubinu białego gorzkiego (Birecka, Nalborczyk 1961; Wiewiórowski, Wolińska-Mocydlarz 1961). Komponent — 2 w układzie siarczan amonu : etanol i aceton : etanol zachowywał się jak 13-hydroksylupanina, w pozostałych trzech układach wykazywał R_f mniejsze od tego alkaloidu, a mianowicie: w ukła-

Ryc. 4. Widmo absorpcji w ultrafiolecie komponentu 1 frakcji a_x z łubinu białego gorzkiego

Fig. 4. UV absorption spectrum of component 1 of fraction a_x from white bitter lupin

Ryc. 5. Widmo absorpcji w podczerwieni komponentu 2 frakcji a_x z łubinu białego gorzkiego

Fig. 5. IR absorption spectrum of component 2 of fraction a_x from white bitter lupin

dzie but : HCl : tol — 0,53 (13-hydroksylupanina — 0,65), w układzie but : HCl : H_2O — 0,61 (13-hydroksylupanina — 0,74) i w układzie izo-butanol : HCl : H_2O — 0,92 (13-hydroksylupanina — 0,96). We wszystkich pięciu układach komponent — 2 zachowywał się jak 13-epihydroksylupanina. Badany alkaloid nie odbarwiał roztworu $KMnO_4$ i w ultrafiolecie nie wykazywał maksimów absorpcji w zakresie 240—380 m μ . Charakter widma spektralnego w podczerwieni (ryc. 5) był podobny do widma 13-hydroksylupaniny (ryc. 6), jednak w odróżnieniu od niej komponent — 2 wykazywał dodatkowe pochłanianie przy 1070 cm^{-1} oraz przy 1155 cm^{-1} .

Uzyskane dane, w szczególności analiza chromatograficzna i w podczerwieni nasunęły przypuszczenie, iż badany związek jest — być może — 13-epihydroksylupaniną. Porównanie widma absorpcji wyizolowanego komponentu — 2 z widmem 13-epihydroksylupaniny wykazało analogiczne maksima absorpcji przy 1070 i 1115 cm^{-1} , których brak w widmie

Ryc. 6. Widmo absorpcji w podczerwieni 13-hydroksylupaniny z łubinu białego gorzkiego

Fig. 6. IR absorption spectrum of 13-hydroksylupanine from white bitter lupin

13-hydroksylupaniny, natomiast kilka innych maksimów absorpcji różniło się intensywnością.

Frakcję a_x z łubinu pastewnego uzyskano w dwóch eluatach. Jeden z nich był mieszaniną dwóch komponentów, których zachowanie chromatograficzne w stosowanych układach rozwijających było analogiczne jak komponentów frakcji a_x uzyskanej z łubinu gorzkiego. Badana frakcja

Ryc. 7. Widmo absorpcji w ultrafiolecie komponentu 2 frakcji a_y z łubinu białego gorzkiego

Fig. 7. UV absorption spectrum of component 2 of fraction a_y from white bitter lupin

odbarwiała $KMnO_4$ i w ultrafiolecie dawała mało intensywne maksimum absorpcji przy 320 $m\mu$. Być może słabe pochłanianie wynikało stąd, iż w mieszaninie tylko jeden z komponentów wykazywał obecność sprzężonego układu chromoforów typu $O=C-C=C-N$. Drugi eluat frakcji a_x zawierał trzy (chromatograficznie wyodrębnione) komponenty, których wartości R_f różniły się od poprzednio omówionych. Uzyskane wyniki wskazują, iż obie frakcje a_x różnią się ilością związków w nich występujących, przy czym forma pastewna wydaje się być bogatsza pod tym względem aniżeli forma gorzka.

Ryc. 8. Widmo absorpcji w ultrafiolecie frakcji a_y z pastewnego łubinu białego

Fig. 8. UV absorption spectrum of fraction a_y from white fodder lupin

Również mało dotąd zbadana frakcja a_y może świadczyć o różnym składzie jakościowym alkaloidów w łubinie pastewnym i gorzkim. Wyizolowana z łubinu gorzkiego (w układzie but : HCl : tol) posiadała wartość R_f równą 0,57, w przypadku łubinu pastewnego — 0,43. Obydwa wydzielone alkaloidy wykazywały charakter nienasycony (odbarwiały nadmanganian potasu). W nadfiolecie zasada pochodząc z formy gorzkiej wykazywała pochłanianie przy 320 m μ (ryc. 7) świadczące o obecności wiązania typu $O=C-C=C-N$. Ten typ wiązań występuje poza multifloryną również w 13-hydroksymultiflorynie, w N-metyloalbuminie oraz w dehydroalbuminie (Wiewiórowski, Bartz, Wysocka 1961; Wiewiórowski, Wolińska-Mocydlarz 1961; Wiewiórowski, Wolińska-Mocydlarz 1964). Chromatograficzne rozmieszczenie frakcji a_y (w układzie siarczanu amonu) wyklucza możliwość jego identyczności z multifloryną oraz z N-metyloalbuminą. W przypadku formy pastewnej związek wykazywał obecność chromoforu (ryc. 8) typu jaki występuje w Δ^5 -dehydro-13-hydroksymultiflorynie (Wiewiórowski, Bartz, Wysocka 1961).

Ponadto należy przypomnieć, że prócz wyizolowanych frakcji alkaloidów obserwowano występowanie w śladowych ilościach w łubinie gorzkim — jednego związku, pastewnym — dwóch, co raz jeszcze (łącznie z wynikami dotyczącymi frakcji a_x) wskazywałoby na bogatszy skład alkaloidów w łubinie pastewnym.

Porównując uzyskane dane z analogicznymi doświadczeniami dotyczącymi innych odmian *L. albus* (T. Nalborczyk 1964), w których organy roślin i faza rozwojowa była ta sama, można przypuszczać, że również między odmianami (wewnątrz tego samego gatunku) istnieją — być może — różnice w składzie jakościowym alkaloidów. Należałoby stwierdzić, czy różnice te wynikają rzeczywiście z odmiennego metabolizmu w badanych roślinach, czy też są to tylko różnice ilościowych stosunków między poszczególnymi zasadami (a więc różnej szybkości przemiany poszczególnych związków), a zatem niemożności wykrycia tych, które występują w minimalnych ilościach. To samo tyczyłoby stwierdzonych różnic (w badanej fazie rozwojowej biotypów) między formą gorzką i pastewną. Wydaje się, że celowe są dalsze badania w tym kierunku, które pozwoliłyby na wyciągnięcie bardziej ogólnych wniosków.

Pragnę serdecznie podziękować Panu Profesorowi M. Wiewiórowskiemu za cenne uwagi odnośnie związku „An” oraz za przesłane widmo 13-epihydroksylupaniny, Pani Docent M. Toczko za wzorec 13-epihydroksylupaniny oraz Panu Docentowi J. Mikołajczykowi za dostarczanie nasion biotypów szybko rosnących łubinu białego.

STRESZCZENIE

Przeprowadzone badania miały na celu porównanie składu jakościowego alkaloidów w biotypach gorzkim i pastewnym łubinu białego (wyodrębnionych z materiałów mieszańcowych form pastewnych Biały I $\times$ Biały V). Uzyskane wyniki wykazały, że badane biotypy, podobnie jak analogiczne formy innych odmian łubinu białego, zawierają szereg jednakowych alkaloidów, a mianowicie: sparteinę, lupaninę, 13-hydroksylupaninę oraz estry 13-hydroksylupaniny, jednakże różnią się niektórymi pozostałymi zasadami. I tak w przypadku biotypu gorzkiego uzyskano angustifolinę, natomiast w przypadku biotypu pastewnego alkaloid o podobnym położeniu chromatograficznym do angustifoliny, jednak wykazujący odmienny charakter widma spektralnego w podczerwieni. Związek ten posiada charakter nasycony i stanowi prawdopodobnie ketopochodną sparteiny (wykluczono przy tym: chromatograficznie możliwość występowania oksylupaniny i spektralnie — oksysparteiny). U obu form badanego łubinu stwierdzono, że tzw. frakcja a_x stanowi mieszaninę związków. W łubinie gorzkim były nimi multiflorina oraz prawdopodobnie 13-epi-hydroksylupanina nie wykryta dotychczas w żadnej z odmian łubinu białego. W łubinie pastewnym obserwowano pięć komponentów, wśród nich dwa chromatograficznie odpowiadały wyizolowanemu z badanego łubinu gorzkiego, pozostałe różniły się rozmieszczeniem w stosowanych układach rozwijających. Również komponenty tzw. frakcji a_y występujące w śladowych ilościach, wydają się być różne u obu biotypów badanego łubinu.

(Wpłynęło dn. 20.5.1968 r.)

*Katedra Fizjologii Roślin S.S.G.W.
w Warszawie*

SUMMARY

Studies were undertaken to compare the qualitative composition of the alkaloids in the bitter and fodder biotypes of white lupin (isolated from hybrid material from fodder forms white I $\times$ white V). The results proved that the biotypes studied, like analogous forms of other white lupin varieties, contain a number of identical alkaloids: sparteine, lupanine, 13-hydroxylupanine and 13-hydroxylupanine esters, they differ however in the content of some of the remaining alkaloids. In case of the bitter biotype angustifoline was obtained, while in case of the fodder biotype — an alkaloid that has a similar chromatographic position however differs in the character of the IR — spectrum. The latter compound is of saturated type and is probably a keto-derivative of sparteine (the possibility of oxylupanine occurrence was chromatographically and that of oxysparteine spectrally excluded). In both forms the so called a_x fraction was found to be a mixture of several compounds. In bitter lupin it consisted among other substances of multiflorine and probably 13-epihydroxylupanine never found so far in any white lupin variety. In fodder lupin five components were observed, two of which corresponded chromatographically to those isolated from bitter lupin. The remaining ones differed in the developing systems applied. Similarly the components of the so called a_y fraction occurring in trace amounts seem to be different in both the biotypes of lupin.

LITERATURA

- Birecka H., 1963, *Acta Soc. Bot. Pol.* 32: 131.
- Birecka H., Mazan A., Szklarek D., 1959, *Acta Soc. Bot. Pol.* 28: 285.
- Birecka H., Nalborczyk E., 1961, *Bull. Acad. Polon. Sci. Ser. sci. biol.* 9: 401.
- Birecka H., Rybicka H., Ścibor-Marchocka A., 1959, *Acta Bioch. Polon.* 6: 25.
- Birecka H., Sebyła T., Nalborczyk E., 1959, *Acta Soc. Bot. Pol.* 28: 285.
- Birecka H., Szymańska W., Ścibor-Marchocka A., 1960, *Acta Soc. Bot. Pol.* 29: 269.
- Birecka H., Wojcieszka U., 1962, *Acta Soc. Bot. Pol.* 31: 337.
- Bohlman F., Winterfeldt E., 1960, *Chem. Ber.* 93: 1956.
- Bratek-Wiewiórowska M. D., Wiewiórowski M., Reifer I., 1963, *Bull. Acad. Polon. Sci. Sér. sci. chim.* 11: 629.
- Crow W. D., 1959, *Austr. J. Chem.* 3: 474.
- Galinovsky F., Pöhm M., 1949, *Mh. Chem.* 80: 864.
- Gilliam A. E., Stern E. S., 1958, *An introduction to electric spectroscopy in organic chemistry*, London.
- Jamiet F., 1954, *Jour. Pharm. Belgique* 9: 36.
- Kuy van der A., 1956, *Bijdrage tot de Kennis van Alkaloidevorming bij enkele species van het genus Lupinus* (dysertacja) Gravenhage.
- Leonard N. J., 1960, *Lupin alkaloids* (In:) *The alkaloids*, VII Manske R. H. F., Holmes H. L., N. York—London.
- Marion L., Wiewiórowski M., Bratek M. D., 1960, *Tetrahedron Letters* 19: 1.
- Nalborczyk T., 1964, *Praca doktorska*, SGGW, Warszawa.
- Nowacki E., 1963, *Gen. Polon.* 4: 161.
- Reifer I., Przeździecka J., Kleczkowska D., 1959, *Acta Bioch. Polon.* 6: 17.
- White E. P., 1957, *New Zeland J. Sci. Techn. B* 38: 718.
- Wiewiórowski J., Bartz J., Wysocka W., 1961, *Bull. Acad. Polon. Sci. Sér. sci. chim.* 9: 715.
- Wiewiórowski M., Bratek M. D., 1957, *Acta Soc. Bot. Pol.* 26: 129.
- Wiewiórowski M., Bratek M. D., 1962, *Bull. Acad. Polon. Sér. sci. biol.* 9: 349.
- Wiewiórowski M., Galinovsky F., Bratek M. D., 1957, *Mh. Chem.* 88: 663.
- Wiewiórowski M., Wolińska-Mocydlarz J., 1961, *Bull. Acad. Polon. Sci. Sér. sci. chim.* 9: 709.
- Wiewiórowski M., Wolińska-Mocydlarz J., 1964, *Bull. Acad. Polon. Sci. Sér. chim.* 12: 217.