Garbniki w *Geranium macrorrhizum* L.

The tannines in Geranium macrorrhizum L.

O, KOSTECKA-MĄDALSKA, B. DZIURZYCKA, Z. KUDREWICZ-HUBICKA

Geranium macrorrhizum L. (Bodiszek trwały) nie jest składnikiem flory Polski. Roślinę tę przywieziono z Bułgarii i rozmnożono wegetatywnie w Ogrodzie Roślin Leczniczych we Wrocławiu (Bańkowski 1963).

Bodiszek trwały jest rośliną olejkodajną (Ognyanov, Ivanov 1958). Stosowany jest w lecznictwie ludowym Bułgarii, ekstrakty wodne leczą biegunkę u małych dzieci (Stojanov, Kitanov 1960). Ten fakt nasunął przypuszczenie, że roślina powinna zawierać garbniki odpowiedzialne za to działanie.

W literaturze nie znaleziono żadnych danych dotyczących występowania garbników w *G. macrorrhizum* L. Znane jest natomiast występowanie tych związków w innych gatunkach tego rodzaju (Hegi 1924; Mizobuchi 1954; Barbaricz i inni 1961).

Obserwacje histochemiczne wykazały, że we wszystkich organach *G. macrorrhizum* L. znajdują się garbniki, które szczególnie obficie występują w kłęczach (Kostecka-Mądalska, Dziurzycka, Bańkowski 1965).

W pracy tej podjęto badania nad zachowaniem się garbników w trzech stadiach rozwojowych *G. macrorrhizum* L.

CZĘŚĆ DOŚWIADCZALNA

Materiał i metody

Garbniki oznaczano w kłęczach i liściach *G. macrorrhizum* L. Rośliny wyrosły z sadzonek ukorzenionych na wiosnę 1962 r. na grzędzie w miejscu ocienionym drzewami.

Badania przeprowadzano w 1964 r., w 3 okresach rozwoju roślin: w fazie wegetatywnej od 12—14 maja, w czasie kwitnienia od 21 maja do 2 czerwca i w okresie owocowania od 22—24 czerwca.

Do badań brano egzemplarze o podobnym pokroju i dojrzałości. Materiał zbierano zawsze rano, w dzień bezdeszczowy, oczyszczano z ziemi i po umyciu przesuszano 1 godz. na powietrzu, w cieniu.

Analizowano zawsze rośliny świeżo zebrane. Z jednego zbioru wykonywano kilka oznaczeń ilościowych i jakościowych.

Materiał do badań rozdrabniano w młynku nożowym. W rozdrobnionym surowcu oznaczano suchą masę.

Garbniki badano metodami opracowanymi przez Mejbaum-Katzenellenbogen (1958) i Mejbaum-Katzenellenbogen i Kudrewicz-Hubicką (1965). Materiał roślinny ekstrahowano stężonym roztworem mocznika w moderatorze octanowym o pH 4,7. Pochodne galusowe i katechinowe oznaczano kolorymetrycznie przy pomocy odczynnika żelazowego. Czulość metody 20–400 µg w 5 ml próby.

Substancje identyfikowano w elektroforezie bibułowej w moderatorze octanowym o pH 4,7 przez porównanie z równolegle wykonanymi elektroforogramami substancji wzorcowych. W celu oznaczenia ilości substancji garbujących wytrącano je z roztworu sproszkowaną kazeiną i po rozpuszczeniu osadu kazeinowo-taninowego w roztworze mocznika oznaczano garbnik kolorymetrycznie.

Sporządzanie wyciągów: Do oznaczeń ilościowych 100 mg kłączy lub liści ekstrahowano 5-krotnie 5 ml 50% roztworu mocznika w moderatorze octanowym o pH 4,7, wody destylowanej, 40% lub 100% acetonu. Wyciągi wodne i mocznikowe sporządzano w temperaturze 20° i 100°, acetonowe tylko w temperaturze 20°.

Do badań elektroforetycznych sporządzano bardziej stężone wyciągi ekstrahując 100 mg materiału do 1 ml rozpuszczalnika.

WYNIKI

Wyciągi z *G. macrorrhizum* L. barwią się odczynnikiem żelazowym na kolor fioletowy, co świadczy o przewadze pochodnych galusowych.

Ekstrakty z kłączy i z liści identyfikowano kilkakrotnie w 3 okresach rozwojowych roślin.

Na Ryc. 1. przedstawiono elektroforogramy substancji wzorcowych, a mianowicie: *a* — tanina, *b* — kwas galusowy, *c* — pirogalol.

Uzyskane elektroforogramy roztworów badanych (Ryc. 2 *A* i 3*A*) porównano z elektroforogramami substancji wzorcowych (Ryc. 1*a*, *b*, *c*).

W elektroforezie bibułowej ekstraktów z kłączy (Ryc. 2*A*) stwierdzono obecność trzech frakcji. Pierwsza frakcja (F-1) od strony anody odpowiada ruchliwością kwasowi galusowemu, druga (F-2) taninie chińskiej, trzecia katodowa (F-3) odpowiada pirogalolowi. Zawartość względna tych frakcji wynosi: F-1 26%, F-2 62%, F-3 12%.

W ekstraktach z liści (Ryc. 3*A*) nie znaleziono frakcji o ruchliwości pirogalolu.

Na rycinie 2*A* i 3*B* przedstawiono schematycznie rozdział elektroforetyczny pochodnych garbnikowych ekstrahowanych z kłączy przed i po wytrąceniu kazeiną.

Pierwsza frakcja od strony anody odpowiadająca ruchliwością kwasowi galusowemu nie strąca się kazeiną. Podobnie nie strąca się kazeiną trzecia frakcja katodowa, odpowiadająca pirogalolowi. Druga frakcja najobfitsza pozostaje w miejscu naniesienia (tak jak tanina chińska) i strąca się kazeiną. Jest to frakcja garbująca.

Ryc. 1. Schematy elektroforogramów substancji wzorcowych
The schems of electrophoretic pattern of standard substances

a — Tanina chińska; b — Kwas galusowy; c — Pirogallol

Elektroforezę przeprowadzano na bibule Schleicher-Schüll 2043 a, w 0,1 M moderatorze octanowym o pH 4,7, przy napięciu 200 V w czasie 4 godzin. Elektroforogramy wywoływano odczynnikiem żelazowym

a — Tannic acid; b — Gallic acid; c — Pyrogallol

Electrophoresis on paper of Schleicher-Schüll 2043 a, in 0,1 M acetate buffer pH 4.7. Potential 200 V for 4 hours. Pattern stained by ferric reagent.

Ryc. 2. Schematy elektroforogramów wyciągu z kłączy *Geranium macrorrhizum* L. przed dodaniem kazeiny (A) i po dodaniu kazeiny (B)

The schems of the electrophoretic patterns of the extract from rhizomes *Geranium macrorrhizum* L. before the addition of casein (A) and after addition of casein (B)

Warunki elektroforezy podano przy rysunku 1. Details of electrophoresis as described under Fig. 1.

Rycina 3A i B przedstawia schematy elektroforogramów wyciągów z liści przed i po dodaniu kazeiny. Frakcja F-1 odpowiadająca kwasowi galusowemu wynosi 26% i nie strąca się kazeiną, a frakcja F-2 o ruchliwości taniny chińskiej wytrąca się kazeiną. Jej zawartość względna jest równa 74%.

Obrazy elektroforetyczne pochodnych garbnikowych z kłączy i liści zebranych przed kwitnieniem, w okresie kwitnienia i z osobników owocujących nie różnią się wyraźnie.

Ryc. 3. Schematy elektroforogramów wyciągu z liści *Geranium macrorrhizum* L. przed (A) i po dodaniu kazeiny (B)

The schems of electrophoretic patterns of extract from the leaves of *Geranium macrorrhizum* L. before (A) and after addition of casein (B)

Warunki elektroforezy podano przy rysunku 1. Details of electrophoresis as described under Fig. 1.

Stężenie pochodnych garbnikowych ekstrahowanych z kłączy do poszczególnych rozpuszczalników, w badanych fazach rozwojowych rośliny, zestawiono w Tabeli 1.

Tabela 1 - Table 1

Garbniki w kłączach *Geranium macrorrhizum* L. - w trzech okresach rozwojowych
The tannin in *Geranium macrorrhizum* L. - rhizomes in three development periods

Faza rozwojowa Development phase	Rozpuszczalnik Dissolvent	Data zbioru surowca Data of harvest	Woda water 20° % suchej masy % of dry mass	Woda water 100° % suchej masy % of dry mass	50% mocznik urea 20° % suchej masy % of dry mass	50% mocznik urea 100° % suchej masy % of dry mass	40% acetone 20° % suchej masy % of dry mass	100% acetone 20° % suchej masy % of dry mass
Przed okresem kwitnienia Before blooming		12.V.	8.6	12.6	11.2	16.1	14.1	12.3
			8.6	16.1	15.5	15.5	15.5	18.0
		14.V.	11.8	12.9	15.5	15.8	15.8	12.9
			10.4	12.9	14.1	15.6	15.2	13.5
			11.5	12.8	13.2	16.1	15.5	12.9
Średnia - mean value			10.1	13.5	13.9	15.8	15.2	13.9
W okresie kwitnienia Blooming		21.V.	8.3	8.6	11.9	10.3	12.3	7.7
			8.69	8.69	11.8	11.5	12.9	8.6
		2.VI.	8.6	8.7	12.3	11.2	12.8	8.3
			8.5	8.69	11.5	10.3	12.3	8.3
			8.6	8.6	12.1	11.2	12.6	7.7
Średnia - mean value			8.5	8.6	11.9	10.9	12.5	8.1
W okresie owocowania Fruiting		22.VI.	8.3	11.5	12.9	13.4	18.0	8.69
			8.7	12.2	12.6	13.8	17.5	8.6
		24.VI.	8.6	11.8	13.2	13.8	18.0	9.07
			8.5	11.8	13.1	13.2	18.3	8.6
			8.6	12.1	13.2	13.5	18.1	9.36
Średnia - mean value			8.5	11.9	13.0	13.5	17.98	8.86

Stwierdzono, że najwięcej pochodnych garbnikowych ekstrahuje się mocznikiem i 40% acetonem.

W kłączach *G. macrorrhizum* L., w okresie wegetatywnym, znaleziono około 16% garbników. W czasie kwitnienia zaobserwowano wyraźny spadek pochodnych garbnikowych, natomiast w okresie owocowania ponowny ich wzrost (zwłaszcza ekstrahujących się do 40% acetonu).

Poprzez wytrącanie kazeiną wykazano, że w wyciągach z kłączy średnio 62% substancji, oznaczanych odczynnikiem żelazowym, posiada własności garbujące. W liściach oznaczane pochodne garbnikowe wynoszą średnio 4%, a substancje garbujące 3% suchej masy.

WNIOSKI

1. Najwięcej pochodnych garbnikowych (około 16% suchej masy) stwierdzono w kłączach *Geranium macrorrhizum* L. z późnego okresu wegetatywnego, a około 62% tych substancji posiada własności garbujące.

2. W okresie kwitnienia zawartość pochodnych garbnikowych w kłączach zmniejsza się o około 25%, a w okresie owocowania ilość ich ponownie się zwiększa.

3. Obraz elektroforetyczny wykazuje, że w *Geranium macrorrhizum* L. występują głównie pochodne galusowe. W kłączach prócz frakcji garbującej (o ruchliwości taniny chińskiej), występuje prawdopodobnie pirogalol i kwas galusowy — w liściach prócz frakcji o ruchliwości taniny chińskiej występuje kwas galusowy.

4. W trzech okresach rozwojowych *Geranium macrorrhizum* L. nie stwierdzono wyraźnych różnic w obrazie elektroforetycznym pochodnych garbnikowych.

Pani Prof. dr W. Mejbaum-Katzenellenbogen dziękujemy za udostępnienie nam metody i cenne uwagi.

Katedra Botaniki Farmaceutycznej
Akademii Medycznej we Wrocławiu
oraz Katedra Biochemii Uniwersytetu Wrocławskiego

(Wpłynęło dn. 13.3.1965)

SUMMARY

Investigations were carried out on tannin derivatives of the rhizomes and leaves of *Geranium macrorrhizum* L. in three development periods.

Tannins were determined by using the method of W. Mejbaum-Katzenellenbogen and Z. Kudrewicz-Hubicka. Most of the tannin derivatives can be extracted by 50% urea solution or by 40% acetone.

In paper electrophoresis was found that rhizomes and leaves of that plant are rich in gallic derivatives. In rhizomes fractions with mobility similar to china tannin, pyrogallol and gallic acid were found. Pyrogallol was not found in leaves.

No differences in three periods of development of *Geranium macrorrhizum* L. in electrophoretic fractions of tannin derivatives were found.

It was been shown that tannin derivatives in rhizomes are most abundant in the late vegetative period and about 62%, of these substances have tanning properties.

In the time of blooming the content of tannin derivatives in rhizomes decreased about 25% and it increased again in the time of fruiting.

Department of Pharmaceutical Botanic
Medical Academy in Wrocław
and Department of Biochemistry of University,
Wrocław.

LITERATURA

- Bańkowski Cz., 1963, *Farmacja Polska* 19 (13—14): 282.
- Barbarycz A. I., Gonczarow S. W., Katina Z. F., Sopryko O. O., 1961, *Dikorostuczni dubilni rosliny Ukrainy*, Kijów, Akad. Nauk Ukr. SSSR.
- Hegi G., 1924, *Illustrierte Flora von Mittel-Europa*, IV, 3 München.
- Kostecka-Mądalska O., Dziurzycka B., Bańkowski Cz., 1965, *Acta Polon. Pharm.* (w druku).
- Mejbaum-Katzenellenbogen W., Kudrewicz-Hubicka Z., 1965 *Acta Bioch. Pol.* (w druku).
- Mizobuchi K. 1964, *J. Pharm. Soc. Japan* 74, 1216.
- Ognyanov J., Ivanov D., 1958, *Perfumery and essential Oil Record*, 10, 245.
- Ognyanov J., Ivanov D., 1958, *Comptes rendu de l'Academie Bulgare des Sciences* 11 (5): 379.
- Stojanov N., Kitanov B., 1960, *Diwi polezni rastenja w Bułgarija*, Sofia , Buł. A.N.