Garbniki w *Erigeron canadensis* L.

The tannines in Erigeron canadensis L.

O. KOSTECKA-MĄDALSKA, E. BOROWCZAK-NIEMCZEWSKA

Dotychczasowe prace wykazują, że we wszystkich organach *Erigeron canadensis* L. (Przymiotno kanadyjskie) rosnącego na terenie Śląska, występują olejki eteryczne w ilości nadającej się do eksploatacji i że roślina ta może być uprawiana (Kostecka-Mądalska, Polanowski 1964, Kostecka-Mądalska 1964—1965).

W literaturze znaleziono również wzmiankę, że w roślinie tej znajduje się kwas galusowy i garbniki (Hagers 1944; Auster 1954; Stojanow i Kitanow 1960)*. Oznaczeń ilościowych i jakościowych garbników w *E. canadensis* nie spotkaliśmy.

Kontynuując prace nad *Erigeron canadensis* jako rośliną leczniczą i przemysłową podjęto badania składu ilościowego i jakościowego pochodnych garbnikowych występujących w tej roślinie, w trzech fazach jej rozwoju.

MATERIAŁ I METODY

Garbniki oznaczono w łodygach, liściach i kwiatach *Erigeron canadensis*. Badania przeprowadzono w 1967 r. w trzech fazach rozwojowych: w fazie wegetatywnej, w fazie kwitnienia i w fazie owocowania. Do badań brano egzemplarze o podobnym pokroju i dojrzałości. Materiał zbierano rano w dzień bezdeszczowy w Ogrodzie Roślin Leczniczych. Analizowano zawsze rośliny świeżo zebrane, wykonywano kilka oznaczeń ilościowych i jakościowych. Materiał do badań rozdrabniano w młynku nożowym. W rozdrobnionym surowcu oznaczano suchą masę. Dla stwierdzenia występowania garbników w poszczególnych organach posłużono się 1 %-owym roztworem alunu żelazowo-amonowego. Pochodne pirokatechinowe stwierdzano odczynnikami Stiasny'ego, pochodne pirogalolowe zaś 10 %-owym roztworem octanu ołowiu w obecności 10 %-owego kwasu octowego (Krug i Małek 1959).

Ilość garbników oznaczono kolorymetryczną mikrometodą opracowaną przez Mejbaum-Katzenellenbogen i Kudrewicz-Hubicką. Czułość metody

* Na fakt występowania w tej roślinie garbników godnych uwagi wskazuje to, że ludy Ameryki Pn. stosowały ją do tamowania krwi (Potter 1898; Abeé 1946; Auster 1954). Znana jest ona również z medycyny ludowej jako środek stosowany przy leczeniu biegunek, dezenterii, puchliny wodnej (Abeé 1946) oraz różnych form krwotoków (Ziemliński 1958). Stosowana bywa również przy pewnych typach alergii u dzieci (Blue 1955).

20–400 µg. Garbniki identyfikowano w elektroforezie bibułowej (Mejbaum-Katzenellenbogen i inni 1966).

Sporządzenie wyciągów do oznaczeń ilościowych: 500 mg łodygi, 200 mg liści lub kwiatów ekstrahowano 5 ml 50 % roztworu mocznika w moderatorze octanowym o pH 4,7, wody destylowanej i 40 % acetonu. Wyciągi wodne sporządzano w temperaturze 20°C i 100°C, acetonowe i mocznikowe tylko w temp. 20°C.

W celu oznaczenia substancji garbujących, z roztworu wodnego wystrącono je kazeiną, a następnie po rozpuszczeniu osadu kazeinowo-garbnikowego w moczniku oznaczono garbniki właściwe metodą kolorymetryczną przy zastosowaniu odczynnika żelazowego. Ekstynkcję odczytywano na fotokolorymetrze KF I, przy filtrze czerwonym RG I.

Do badań elektroforetycznych sporządzano wyciągi bardziej stężone ekstrahując 500 mg liści czy kwiatów, lub 1 g łodygi do 2 ml wody. Elektroforezę przeprowadzano na paskach bibuły Whatman 1 o wymiarach 3×38 cm. W środku paska nanoszono 0,02 ml roztworu zawierającego fenole wielofunkcyjne. Stosowano 0,1 M moderator octanowy o pH 4,7. Czas trwania rozdzielu 4 godziny przy napięciu 250 V. Elektroforegramy suszono ciepłym powietrzem i wywoływano przez spryskanie odczynnikiem żelazowo-amonowym.

WYNIKI

Wyciągi z *Erigeron canadensis* dają zielonkawoniebieskie zabarwienie z alu-nem żelazowo-amonowym; kazeina i antypiryna powodują zmętnienie ekstraktu. Reakcje te świadczą o występowaniu garbników we wszystkich organach rośliny. Tworzenie się osadu wobec octanu ołowiu (Janicki i inni 1951) świadczy o obecności w ekstrakcie z tej rośliny pochodnych pirogalolowych. Odczynnik Stiasny'ego nie wytrąca osadu, wskazuje to na brak pochodnych pirokatechinowych.

Wyniki oznaczeń ilościowych pochodnych garbnikowych ekstrahujących się do poszczególnych rozpuszczalników, w badanych fazach rozwojowych rośliny podaje tabela 1. Z każdej fazy rozwojowej wykonano po kilka powtórzeń. W tabeli 1 są podane średnie z kilku zbieżnych wyników.

Zawartość garbników ekstrahujących się z liści do wody w okresie wegetatywnym wynosi około 0,2 %. Ilość pochodnych garbnikowych spada wyraźnie w okresie kwitnienia do rzędu setnych % i ponownie wzrasta w okresie owocowania.

We wszystkich fazach rozwoju rośliny najwięcej garbników ekstrahuje się z liści mocznikiem, co świadczy o tym, że znaczny procent pochodnych garbnikowych jest związany z innymi związkami organicznymi, w tym i z białkami. W fazie owocowania wzrasta znacznie ilość garbników ekstrahujących się z liści do acetonu, co wskazuje na powstawanie w tym okresie kompleksów z innymi związkami, niebiałkowymi.

W łodygach ilość garbników jest mała, rzędu setnych %, nieco więcej bo 0,1 % przechodzi do mocznika.

Poprzez wytrącenie kazeiną wykazano, że w wyciągach wodnych z liści i kwiatów około 50 % substancji posiada właściwości garbujące. W łodygach ilość substancji garbujących wynosi około 39 %.

Tabela 1 — Table 1

Zawartość garbników (na 1 g suchej masy) w organach *Erigeron canadensis* L. w trzech okresach rozwojowych

Tannins concentration (per 1 g dry mass) in organs *Erigeron canadensis* L. — in three development periods

Rozpuszczalnik Dissolvent Faza rozwojowa Development phase	Data zbioru surowca Data of harvest	Liście Leaves				Łodygi Stems				Kwiaty Flowers			
		Woda water 20°C	Woda water 100°C	Mocznik urea 20°C	Aceton acetone 20°C	Woda water 20°C	Woda water 100°C	Mocznik urea 20°C	Aceton acetone 20°C	Woda water 20°C	Woda water 100°C	Mocznik urea 20°C	Aceton acetone 20°C
Przed okresem kwitnienia Before blooming	5.V.67	0,12	0,29	0,39	0,04	0,02	0,03	0,07	0,03				
W okresie kwitnienia Blooming period	7.VII.67	0,04	0,02	0,10	0,02	0,04	0,04	0,08	0,07	0,20	0,38	0,28	0,25
W okresie owocowania Fruiting period	17.IX.67	0,21	0,25	0,31	0,34	0,09	0,10	0,11	0,09				

Elektroforogramy otrzymane z wyciągów z liści, łodyg, kwiatów i korzeni identyfikowano z elektroforogramami substancji wzorcowych, a to z taniną, kwasem galusowym i pirogaleolem (ryc. 1).

Ryc. 1. Schematy elektroforogramów substancji wzorcowych

a — tanina chińska; *b* — kwas galusowy; *c* — pirogalol

Elektroforezę przeprowadzano na bibule Wathman 1 w 0,1 M moderatorze octanowym o pH 4,7, przy napięciu 250 V w czasie 4 godz. Elektroforogramy wywoływano odczynikiem żelazowym. Linie pionowe — niebieskofioletowy

Schemes of electrophoresis of standard substances

a — Tannic acid, *b* — Gallic acid, *c* — Pyrogallol

Electrophoresis on Wathman 1 paper in 0,1 M acetate buffer pH 4.7. Potential 250 V for 4 hours. Electropherogram sprayed by ferric reagent; vertical lines — blue violet

Ryc. 2. Schematy electrophoresis wyciągu z liści *Erigeron canadensis* L. (przed okresem kwitnienia)

a — przed dodaniem kazeiny; *b* — po dodaniu kazeiny

Linie pionowe — niebieskofioletowy; poziome — zielony, kropkowane — żółtozielony

Warunki elektroforezy podano przy ryc. 1

Schemes of electrophoresis of extract from leaves *Erigeron canadensis* L. (before blooming)

a — before the addition of casein, *b* — after addition of casein

Vertical lines — blue-violet, horizontal lines — green, dotted — yellow-green

Details of electrophoresis as described under fig. 1

Identyfikację pochodnych garbnikowych liści z okresu wegetatywnego przedstawia ryc. 2a, z okresu owocowania ryc. 3a. Elektroforogramy supernatanów, po wytrąceniu kazeiną substancji garbujących, przedstawiają odpowiednie ryc. 2b i 3b.

Obrazy elektroforetyczne pochodnych garbnikowych z liści, kwiatów i łodyg we wszystkich okresach wegetacji nie różnią się wyraźnie, z wyjątkiem liści z okresu

owocowania. W liściach w fazie wegetatywnej i w fazie kwitnienia stwierdzono występowanie 4-ch frakcji. Frakcja F-1 nie wędrująca w tych warunkach, podobnie jak pentadwugaloiloglukoza; wytrąca się z kazeiną tylko w 10 %. Frakcja F-3, anodowa, o ruchliwości kwasu galusowego, nie wytrąca się kazeiną.

Pozostałe frakcje anodowe F-2 i F-4 nie odpowiadające ruchliwością żadnemu z podanych wzorców są frakcjami garbującymi (strącają się kazeiną).

Ryc. 3. Schematy elektroforogramów wyciągu z liści *Erigeron canadensis* L. (faza owocowania)

a — przed dodaniem kazeiny, *b* — po dodaniu kazeiny

Linie pionowe — niebieskofioletowy, poziome — zielony, kropkowane — żółtozielony

Schemes of electrophorograms of extract from leaves of *Erigeron canadensis* L. (fruiting)

a — before the addition of casein, *b* — after addition of casein

Vertical lines — blue-violet, horizontal lines — green, dotted — yellow-green

W elektroforezie bibułowej ekstraktów liści z okresu owocowania (ryc. 3) stwierdzono poza znanymi czterema frakcjami, występowanie nowej frakcji (F-5) o ruchliwości katodowej, nie strącającej się kazeiną. Frakcja ta odpowiada ruchliwością pirogalolowi (ryc. 1c).

W korzeniach w fazie kwitnienia (ryc. 4) występują dwie frakcje: frakcja F-1 o ruchliwości taniny i frakcja anodowa o ruchliwości kwasu galusowego.

Ryc. 4. Schemat elektroforogramów wyciągu z korzenia *Erigeron canadensis* L. (faza kwitnienia)

przed dodaniem kazeiny

Linie pionowe — niebieskofioletowy

Schemes of electrophorograms of extract from roots of *Erigeron canadensis* L. (blooming) before the addition of casein

Vertical lines — blue-violet

Elektroforezę wykonywano na podwójnej ilości pasków. Jedne barwiono, a drugie cięto na poszczególne frakcje, eluowano mocznikiem z bibuły i oznaczano kolorymetrycznie przy zastosowaniu odczynnika żelazo-amonowego.

Zawartość względną frakcji przedstawiono w tabeli 2.

Z tabeli 2 widać, że skład procentowy polihydroksyfenoli zmienia się w czasie rozwoju rośliny.

Tabela 2 — Table 2

Zawartość poszczególnych frakcji wyrażona jako % ich sumy
Content of particular fractions as % of total

Organy Organs	Przed kwitnieniem Before blooming period				W okresie kwitnienia Blooming period				W okresie owocowania Fruiting period				
	F-1	F-2	F-3	F-4	F-1	F-2	F-3	F-4	F-1	F-2	F-3	F-4	F-5
Liście Leaves	30%	26%	18%	26%	27,8%	11,1%	27,8%	33,3%	11,8%	23,6%	31,5%	23,6%	9,5%
Łodygi Stems	19,2%	23,1%	34,6%	23,1%	54,5%	18,2%	9,1%	18,2%	44,4%	22,25%	22,25%	11,1%	
Kwiaty Flowers					38,5%	48,1%	9,6%	3,8%					

WNIOSKI

1. Obrazy elektroforetyczne pochodnych garbnikowych z łodyg, kwiatów i liści (z wyjątkiem liści z okresu owocowania) we wszystkich okresach rozwoju nie różnią się wyraźnie. Na elektroforogramach występują 4 frakcje. Jedna z nich, frakcja F-1 (o ruchliwości taniny) w małym procencie wytrąca się kazeiną, frakcja F-3 (o ruchliwości kwasu galusowego) jest frakcją niegarbującą, dwie pozostałe frakcje F-2 i F-4 wytrącają się w zupełności kazeiną, są więc frakcjami garbującymi.

2. W liściach *Erigeron canadensis* w fazie wegetatywnej występuje około 0,2 % garbników, w fazie kwitnienia ilość ich spada do 0,02 %, w fazie owocowania ilość garbników w liściach wzrasta do 0,3 %. Kwiaty *Erigeron canadensis* zawierają około 0,3 % garbników. W łodydze ilość garbników kształtuje się podobnie we wszystkich fazach i jest rzędu setnych %.

3. W liściach i kwiatach *Erigeron canadensis* we wszystkich okresach rozwoju stwierdzono około 50 % substancji garbujących, w łodygach zaś około 39 % tych substancji.

4. W okresie owocowania występuje w liściach nowa frakcja niegarbująca odpowiadająca pirogalolowi.

5. Oprócz garbników ekstrahujących się wodą, we wszystkich okresach rozwoju rośliny występują garbniki ekstrahujące się mocznikiem. W fazie owocowania zaś, w liściach występują garbniki ekstrahujące się acetonem.

6. W czasie rozwoju rośliny zmienia się również skład procentowy polihydroksy-fenoli.

STRESZCZENIE

Kontynuując prace nad *Erigeron canadensis* L. jako rośliną leczniczą i przemysłową, podjęto badania składu ilościowego i jakościowego pochodnych garbnikowych występujących w tej roślinie, w trzech fazach rozwojowych. Ilość garbników oznaczano kolorymetryczną mikrometodą opracowaną przez Mejbaum-Katzenellenbogen i Kudrewicz-Hubicką (czułość metody 20—400 μg w 5 ml próby). Garbniki identyfikowano w elektroforezie bibulowej przez porównanie z elektroforogramami substancji wzorcowych (ryc. 1).

W liściach (z wyjątkiem fazy owocowania), kwiatach i łodydze występują 4 frakcje (ryc. 2 i 3), dwie z nich F-2, F-4 są frakcjami garbującymi (frakcja F-1 tylko w 10% wytrąca się kazeiną). W fazie owocowania pojawia się w liściach nowa frakcja, pochodna pirogalolu (niegarbująca).

Najwięcej garbników zawierają liście; faza wegetatywna — 0,2%, faza owocowania — 0,3% i kwiaty — 0,3%.

Zakład Roślin Leczniczych z Ogrodem
Akademii Medycznej we Wrocławiu
ul. Kochanowskiego 10.

(Wpłynęło dn. 10.4.1968.)

SUMMARY

Investigations were carried out on tannin derivatives of the stems, leaves, flowers of *Erigeron canadensis* L. in three development periods. Tannins were determined by the method of W. Meybaum-Katzenellenbogen and Z. Kudrewicz-Hubicka.

The tannins were also identified by paper electrophoresis. On the electrophorograms of extracts from leaves, stems and flowers (with the exception of leaves in fruiting period) four fractions were obtained. Two of them were tannin substances (F-2, F-4) in F-1 about 10% were tannin substances. In leaves in the fruiting period a new fraction (F-5) was detected (not a tannin substance). The highest levels of tannins were found in leaves (during the vegetative period 0,2%, fruiting period 0,3%) and in flowers 0,3%.

LITERATURA

- Abeé A. A. 1946, Manuel Pratique des Plantes Médicinales indigenes et exotiques, Montreal, 138.
Auster F., Schafer J., 1954, *Erigeron canadensis* L., Veb Georg Thieme, Leipzig.
Blue J. A., 1955., J. Allergy 26:425.
Hagers Handbuch der Pharmazeutischen Praxis, Ergänzungsband, Berlin, 1944, 549.
Janicki J., Żurkowski M., Filipek Z., 1951, Garbniki roślinne, Warszawa, 384.
Kostecka-Mądalska O., Polanowski A. 1964., Acta Pol. Pharm. 21 (3):275.
Kostecka-Mądalska O., 1964, Zeszyty przyrodnicze OTPN 4:161.
Kostecka-Mądalska O., 1965, Zeszyty Przyrodnicze OTPN 5:97.
Krug M., Małek B., 1959, Biuletyn Inst. Roślin Leczniczych V.
Mejbaum-Katzenellenbogen W., Kudrewicz-Hubicka Z., 1966, Acta Biochimica Polon. 1:57.
Potter H., 1898, Handbook of materia medica.
Stojanow N., Kitanow B., 1960, Diwi polezni rastenija w Bylgaria, Sofia.
Ziemliński S. E., 1958, Lekarstwiennyje rastienia SSSR, Moskwa, 470.