

OCENA ZAWARTOŚCI OLEANOZYDÓW W ORGANACH NADZIEMNYCH I PODZIEMNYCH ROŻNIKA PRZEROŚNIĘTEGO *Silphium perfoliatum* L.

Radosław Kowalski

Streszczenie: Celem badań prezentowanej pracy była ocena ilościowa saponin triterpenowych – oleanozydów, występujących w liściach, kwiatostanach i kłęczach roślin jedno- i dwuletnich *Silphium perfoliatum* L. Potwierdzono, że wszystkie badane organy nadziemne i podziemne *Silphium perfoliatum* L. zawierały saponiny triterpenowe, których aglikonem był kwas oleanolowy. Wykazano, że liście *Silphium perfoliatum* L. zawierały najwięcej oleanozydów w porównaniu do kwiatostanów i kłęczów, i mogłyby być pod tym względem atrakcyjnym surowcem dla przemysłu farmaceutycznego. Stwierdzono, że wraz z rozwojem roślin poziom oleanozydów w liściach malał.

Słowa kluczowe: *Silphium perfoliatum* L., *Asteraceae*, oleanozydy, kwas oleanolowy, TLC, analiza ilościowa

WSTĘP

Rożnik przerośnięty *Silphium perfoliatum* L. (*Asteraceae*) występuje w środowisku naturalnym w środkowej i wschodniej części Stanów Zjednoczonych i Kanady [Podbielkowski 1995]. Gatunek ten charakteryzuje się wartościowymi i wielokierunkowymi cechami użytkowymi i mógłby być uprawiany jako roślina lecznicza, miododajna, paszowa oraz ozdobna [Weymar 1969; Daniel 1984; Syrow i in. 1992; Daniel i Rompf 1994; Dawidjanc i in. 1997; Wróblewska 1997; Han i in. 2000a, 2000b].

Dotychczas przeprowadzone wstępne badania składu chemicznego *Silphium perfoliatum* L. potwierdziły, że gatunek ten jest bardzo interesujący pod tym względem. Rośliny rożnika przerośniętego charakteryzują się korzystną zawartością substancji mineralnych oraz metabolitów pierwotnych, tj.: białka (bogatego w aminokwasy egzogenne), węglowodanów (w tym inuliny w kłęczach), kwasu L-askorbinowego, a także metabolitów wtórnych, tj.: terpenów z olejkami eterycznymi, saponin triterpenowych – oleanozydów, karotenoidów, kwasów fenolowych, związków tanino-garbnikowych oraz flawonoidów [Bohlmann i Jakupovic 1979, 1980; Duranti i in. 1988; Dawidjanc i Abubakirov 1992; Daniel i Rompf 1994; Pcolinski i in. 1994; Wojcińska i Drost-Karbowska 1998; Wolski i Kowalski 2000; Kowalski 2001; El-Sayed i in. 2002].

Saponiny triterpenowe – oleanozydy są grupą związków biologicznie czynnych, których obecność w *Silphium perfoliatum* L. może stanowić o właściwościach leczniczych opisywanej rośliny. Do głównych kierunków działania farmakologicznego saponin triterpenowych można zaliczyć: działanie wykrztuśne, przeciwzapalne, przeciwwysiękowe, przeciwgrzybicze, obniżające poziom cholesterolu. Ponadto saponiny mają zdolność hemolizowania erytrocytów, co jest wykorzystywane do oceny ich biologicznej aktywności na podstawie określenia tzw. indeksu hemolitycznego (HI) [Kohlmünzer 1998; Tan i in. 1999; Lacaille-Dubois 2000]. Saponiny jako związki obniżające napięcie powierzchniowe, ułatwiają tworzenie się roztworów koloidalnych oraz zwiększają rozpuszczalność niektórych trudno rozpuszczalnych w wodzie substancji, jednocześnie umożliwiając ich resorpcję przez ściany komórkowe i błony śluzowe, co jest wykorzystywane w praktyce farmaceutycznej przy zastosowaniu saponin jako emulgatorów [Kohlmünzer 1998].

Dawidjanc i in. [1984a, 1984b, 1984c, 1985, 1986] wyizolowali z nadziemnej części (ziele) *Silphium perfoliatum* L. frakcję saponinową i ustalili budowę 6 triterpenowych glikozydów kwasu oleanolowego. Dotychczasowe badania przeprowadzone nad biologiczną aktywnością ekstraktów etanolowych z *Silphium perfoliatum* L., zawierających frakcje oleanozydowe, wykazały ich działanie regenerujące w procesie gojenia się ran pooparzeniowych u szczurów [Kujancewa i Dawidjanc 1988]. Stwierdzono także, że oleanozydy wyizolowane z liści rożnika przerośniętego – tzw. silphiozydy obniżają poziom cholesterolu. Stężenie cholesterolu we krwi szczurów zmniejszyło się odpowiednio o 12 do 19% w zależności od wielkości dawki i czasu trwania doświadczenia [Syrow i in. 1992]. Ponadto Dawidjanc i in. [1997] stwierdzili, że saponiny liści rożnika przerośniętego wpływały hamująco na rozwój grzybów fitopatogenicznych *Drechslera graminea* (Rabh) Ito, *Rhizopus nodosus* Namysl i *Rhizopus nigricans* Ehr.

Celem prezentowanej pracy było określenie zawartości oleanozydów występujących w liściach, kwiatostanach i kłęczach rożnika przerośniętego, pozyskiwanych w różnych fazach rozwoju badanych roślin.

MATERIAŁ I METODY

Materiał roślinny *Silphium perfoliatum* L. pochodził z uprawy doświadczalnej Katedry Warzywnictwa i Roślin Leczniczych AR w Lublinie [Kowalski i Wolski 2001]. Przedmiotem badań były następujące organy roślin dwuletnich (w latach 1999–2000): liście zbierane w odstępach comiesięcznych (od czerwca do września), kwiatostany (koszyczki) zbierane sukcesywnie w okresie kwitnienia rośliny (lipiec–sierpień) oraz kłęczka (z korzeniami) zbierane jesienią (w październiku). Ponadto do analiz pobierano liście (wrzesień) pozyskiwane z roślin rocznych (w latach 1998–2000). Terminy zbiorów podaje tabela 1. Materiał roślinny suszono w cieniu i przewiewie oraz odpowiednio rozdrabniano.

Wstępne badania chromatograficzne TLC ekstraktów z liści, kwiatostanów i kłączy na obecność oleanozydów

Surowce po odtłuszczeniu eterem naftowym ekstrahowano 50% metanolem, następnie uzyskane wyciągi oczyszczano chromatograficznie na tlenku glinowym (obojętny do chromatografii kolumnowej) eluując 50% metanolem. Oczyszczone frakcje metanole zateżano, rozpuszczano w wodzie i ekstrahowano je butanolem, z którego wytrącano zespoły saponinowe eterem dietylowym i poddawano je analizie chromatograficznej TLC [Strzelecka i in. 1982]. Ponadto wyizolowany zespół saponin hydrolizowano (w obecności kwasu solnego) i oczyszczano wg metody Mrugasiewicz i in. [1979], a następnie analizowano chromatograficznie metodą TLC.

Tabela 1. Terminy zbioru materiału roślinnego do badań fitochemicznych
Table 1. Dates of plant material harvest for phytochemical studies

Nr	Termin zbioru Harvest date			Rośliny roczne The plants in the first year		Rośliny dwuletnie The plants in the second year	
	1998	1999	2000	Pozyskiwany materiał roślinny	Faza rozwoju roślin	Pozyskiwany materiał roślinny	Faza rozwoju roślin
				Plant material achieved	Plant development stage	Plant material achieved	Plant development stage
I	-	07.06.	05.06.	-	-	liście leaves	pączki kwiatowe flower buds
II	-	05.07.	03.07	-	-	liście, kwiatostany leaves, inflorescences	początek kwitnienia beginning of flowering
III	-	02.08	01.08.	-	-	liście, kwiatostany leaves, inflorescences	pełnia kwitnienia i owocowanie full of flowering and fructification
IV	03.09.	01.09.	04.09.	liście leaves	rozeta liściowa leaf rosette	liście leaves	zakończanie kwitnienia i pełnia owocowania end of flowering and full of fructification
V	-	04.10.	02.10.	-	-	kłącza z korzeniami rhizomes with roots	owocowanie fructification

Jakościową analizę chromatograficzną TLC prowadzono na gotowych płytkach (20×20 cm) pokrytych żelazem krzemionkowym G o grubości warstwy 0,25 mm, stosując technikę jednokierunkową wstępującą. Chromatogramy rozwijano na dystansie 16 cm w następujących układach:

- wyciąg niehydrolizowany: octan etylu + kwas octowy lodowaty + woda (3:1:3);
- wyciąg niehydrolizowany: chloroform + metanol + woda (65:35:8);
- wyciąg hydrolizowany: benzen + chloroform + metanol (60:32:8).

Chromatogramy obserwowano w świetle dziennym po spryskaniu roztworem kwasu fosforowolframowego, odczynnikami Liebermanna-Burcharda oraz po działaniu par jodu. Równocześnie analizie chromatograficznej poddano wzorcowy kwas oleanolowy (Sigma).

Analiza ilościowa sumy oleanozydów

Przygotowanie wyciągu do badań (hydroliza zespołu saponin i chromatograficzny rozdział jej produktów) oraz określenie zawartości sumy oleanozydów w badanych surowcach wykonano wg metody opracowanej w Instytucie Roślin i Przetworów Zielarskich w Poznaniu [Mrugasiewicz i in. 1979], polegającej na pomiarze kolorymetrycznym barwnego kompleksu aglikonu (kwasu oleanolowego) z waniliną w środowisku kwaśnym, przy długości fali $\lambda = 540$ nm. Wszystkie analizy wykonywano w trzech powtórzeniach. Zawartość saponozydów w surowcu obliczano według wzoru:

$$X = \frac{a \cdot 10^4}{b \cdot c} \cdot K \quad (1)$$

gdzie: X – zawartość oleanozydów, %,

a – zawartość aglikonu (kwasu oleanowego) odczytana z wykreślonej krzywej wzorcowej, g,

b – ilość analizowanego surowca, g,

c – ilość analizowanego wyciągu, cm^3 ,

10^4 – mnożnik uwzględniający rozcieńczenia i przeliczenia na procenty,

K – współczynnik przeliczeniowy saponogeniny (kwas oleanolowy) na saponozydy. Jest to iloraz ze średniej masy cząsteczkowych saponozydów występujących w badanym materiale i masy cząsteczkowej aglikonu, wyznaczony na podstawie danych literaturowych [Dawidjanc i in. 1984a, 1984b, 1984c, 1985, 1986]. Dla oleanozydów występujących w różniku przerośniętym $K = 1,94$.

Otrzymane wyniki opracowano statystycznie za pomocą analizy wariancji. Przedziały ufności określono testem Tukeya przy poziomie istotności 5%.

WYNIKI

Tabela 2 przedstawia wyniki analizy TLC ekstraktów saponinowych z liści, kwiatostanów i kłączy różnika przerośniętego. Stwierdzono, że zastosowane układy rozwijające, tj.: chloroform + metanol + woda (65:35:8), oraz octan etylu + kwas octowy lodowaty + woda (3:1:3), są odpowiednimi w przypadku ekstraktów z badanych surowców, zawierających wolne saponiny. Wizualizacja chromatogramów wykazała różną liczbę plam chromatograficznych odpowiadających związkom saponinowym, która zależała od warunków rozdziału chromatograficznego i użytego odczynnika derywatyzującego: ekstrakty z liści wykazują obecność od 4 do 7 związków saponinowych, natomiast ekstrakty z kwiatostanów i kłączy od 5 do 6 związków. Wolny kwas oleanolowy nie występował w badanych ekstraktach saponinowych. Na podstawie uzyskanych wartości R_F poszczególnych związków oraz barw po spryskaniu odczynnikiem wywołującymi można stwierdzić duże podobieństwo w składzie zespołu saponin między poszczególnymi organami badanych roślin.

Tabela 2. Wykrywanie saponozydów i sapogenin w liściach, kwiatostanach i kłączach roznika przerośniętego *Silphium perfoliatum* L. na chromatogramach cienkowarstwowychTable 2. Detection of saponozides and sapogenins in leaves, inflorescences and rhizomes of *Silphium perfoliatum* L. on thin-layer chromatograms

Plama chromatograficzna Chromatographic spot		Wartości R _F i zabarwienie plam po wywołaniu Values of R _F and color of spots after developing								
		I			II					
		n = 1			n = 2			n = 3		
		R _F	a	b	R _F	a	b	R _F	b	c
Liście Leaves	A _n	0,05	-	r.f.	0,13	br.	r.f.	0,16	ż.	ż.br.
	B _n	0,11	-	r.f.	0,23	br.	r.f.	0,20	ż.p.	ci.ż.br.
	C _n	0,14	br.	r.f.	0,29	br.	r.f.	0,24	-	ż.br.
	D _n	0,22	br.	r.f.	0,42	br.	r.f.	-	-	-
	E _n	0,28	br.	r.f.	0,52	br.	-	0,31	r.f.	p.ż.br.
	F _n	0,36	-	ż.	0,55	br.	r.f.	0,44	sz.	sł.ż.br.
	G _n	0,42	br.	r.f.	0,67	br.	r.f.	-	-	-
	H _n	-	-	-	-	-	-	0,74	p.r.f.	ż.br.
Kwiatostany Inflorescences	A _n	0,05	-	r.f.	-	-	-	-	-	-
	B _n	0,11	br.	r.f.	0,23	br.	r.f.	0,20	ż.p.	ci.ż.br.
	C _n	0,14	br.	r.f.	0,29	br.	r.f.	-	-	-
	D _n	0,22	br.	r.f.	0,42	br.	r.f.	-	-	-
	E _n	0,28	br.	r.f.	0,52	br.	r.f.	0,31	r.f.	p.ż.br.
	F _n	-	-	-	-	-	-	0,44	-	sł.ż.br.
	G _n	0,42	br.	r.f.	0,67	br.	r.f.	-	-	-
	H _n	-	-	-	-	-	-	0,74	p.r.f.	ż.br.
Kłącza Rhizomes	A _n	0,05	br.	r.f.	-	-	-	-	-	-
	B _n	0,11	-	r.f.	0,23	br.	r.f.	0,20	ż.p.	ci.ż.br.
	C _n	0,14	br.	r.f.	0,29	br.	r.f.	0,24	r.f.	-
	D _n	0,22	br.	-	0,42	br.	r.f.	0,29	f	-
	E _n	0,28	br.	r.f.	-	-	-	0,31	r.f.	p.ż.br.
	F _n	0,36	br.	-	-	-	-	0,44	-	sł.ż.br.
	G _n	0,42	br.	r.f.	0,67	br.	r.f.	0,60	sz.	sł.ż.
	H _n	-	-	-	-	-	-	0,74	p.r.f.	ż.br.
	X _n	-	-	-	0,01	br.	r.f.	-	-	-
	Y _n	-	-	-	0,10	br.	r.f.	-	-	-
Z _n	-	-	-	0,62	br.	r.f.	-	-	-	
W _n (kwas oleanolowy) (oleanolic acid)	-	-	-	-	-	-	0,32	r.f.	p.ż.br.	

I – zespół saponin – saponin group;

II – sapogeniny otrzymane po hydrolizie kwaśnej zespołu saponin – sapogenins achieved after acidic hydrolysis of saponin group;

faza stała: żel krzemionkowy 60 – solid phase: silica-gel 60;

faza ruchoma – mobile phase: n = 1 – octan etylu + kwas octowy lodowaty + woda (3:1:3);

ethyl acetate + absolute acetic acid + water (3:1:3);

n = 2 – chloroform + metanol + woda (65:35:8);

chloroform + methanol + water (65:35:8);

n = 3 – benzen + chloroform + metanol (60:32:8);

benzene + chloroform + methanol (60:32:8);

wykrywanie – detection: a – odczynnik Liebermanna-Burcharda – Liebermann-Burchard's reagent;

b – kwas fosforowolframowy – phosphotungstic acid;

c – pary jodu – iodine vapor;

br. – brunatny, ci. – ciemny, f – fioletowy, p. – pomarańczowy, r. – różowy, sł. – słaby, sz. – szary, ż. – żółty;

br. – brown, ci. – dark, f. – violet, p. – orange, r. – pink, sł. – weak, sz. – grey, ż. – yellow.

W wyniku rozdziału chromatograficznego metodą TLC ekstraktów po hydrolizie kwaśnej saponozydów wyizolowanych z liści, kwiatostanów i kłączy różnika otrzymano dla kwiatostanów od 3 do 4 substancji natomiast dla liści i kłączy od 5 do 6 substancji – różnice w liczbie detektowanych plam chromatograficznych wynikają z zastosowania dwóch odczynników derywatyzujących. Na podstawie intensywności zabarwienia plam chromatograficznych stwierdzono, że wyraźnie dominującym był związek zidentyfikowany jako kwas oleanolowy, który jest głównym aglikonem saponin występujących w surowcach pozyskiwanych z *Silphium perfoliatum* L.

Tabela 3. Zawartość procentowa oleanozydów w liściach, kwiatostanach i kłączach różnika przeliczonego *Silphium perfoliatum* L. (w przeliczeniu na suchą masę)

Table 3. Percentage of oleanosides in leaves, inflorescences and rhizomes of *Silphium perfoliatum* L. (recalculated onto dry matter)

A. Rośliny roczne – The plants in the first year					
Organy Organs	Termin zbioru* Harvest date*	Zawartość oleanozydów – Percentage of oleanosides, %			
		1998	1999	2000	Średnio Mean
Liście Leaves	IV	2,81	2,62	1,94	2,46
NIR _{0,05} – LSD _{0,05} lata – years					0,298
B. Rośliny dwuletnie – The plants in the second year					
Organy Organs	Termin zbioru* Harvest date*	Zawartość oleanozydów – Percentage of oleanosides, %			Średnio Mean
		1999	2000		
Liście Leaves	I	5,65	5,98		5,82
	II	2,97	3,12		3,04
	III	3,33	3,62		3,48
	IV	2,95	3,27		3,11
	Średnio – Mean	3,73	4,00		3,86
NIR _{0,05} – LSD _{0,05} termin zbioru – harvest date(b) lata – years (c) współdziałania – interaction (bc)					0,351 0,184 ni. – ns.
Kwiatostany Inflorescences	II III Średnio – Mean	3,60 3,64 3,62	3,75 3,82 3,78		3,68 3,73 3,70
NIR _{0,05} – LSD _{0,05} organy (liście, kwiatostany) – organs (leaves, inflorescences) (a) termin zbioru – harvest date (b) lata – years (c) współdziałania – interaction (ab) (ac) (bc) (abc)					0,186 0,186 0,186 0,355 ni. – ns. ni. – ns. ni. – ns.
Kłącza Rhizomes	V	1,67	1,75		1,71
NIR _{0,05} – LSD _{0,05} organy (liście, kwiatostany, kłącza) – organs (leaves, inflorescences, rhizomes) (a) lata – years (c) współdziałania – interaction (ac)					0,175 0,117 ni. – ns.

*oznaczenia zgodne z tab. 1 – as in table 1.

Wyniki oznaczeń procentowej zawartości oleanozydów w liściach, kwiatostanach i kłączach roznika przerośniętego w przeliczeniu na suchą masę przedstawia tabela 3.

Liście rocznych roślin *Silphium perfoliatum* L. zbierane we wrześniu (IV) zawierały średnio 2,46% oleanozydów (lata 1998–2000). Analiza statystyczna wykazała istotne różnice w zawartości tej grupy związków między latami badań. Najwięcej oleanozydów zawierały liście zbierane w 1998 r. – 2,81%, natomiast najmniej liście zebrane w 2000 r. – 1,94%. Zawartości te można powiązać z warunkami pogodowymi. Okres poprzedzający zbiór wrześniowy roślin w 1998 r. charakteryzował się najniższą temperaturą i najwyższymi opadami w porównaniu do lat 1999 i 2000. Natomiast w roku 2000 okres przed zbiorem liści był najcieplejszy i najsuchszy w porównaniu do lat wcześniejszych.

Liście dwuletних roślin, w porównaniu do tych organów zebranych z rocznych roślin, zawierały znacznie więcej oleanozydów. Najbogatszym w tę grupę związków surowcem były liście zbierane na początku czerwca (I) tj. z roślin w stadium pączków kwiatowych – średnio 5,82% oleanozydów. Na początku kwitnienia (II) zawartość ta obniżyła się do poziomu 3,04%, a następnie wzrosła do wartości 3,48% w fazie pełni kwitnienia i owocowania (III) i ponownie zmalała do 3,11% w fazie owocowania roślin (IV). Analiza statystyczna wykazała istotne różnice w zawartości oleanozydów w liściach pozyskiwanych w drugim roku uprawy roznika w zależności od terminu zbioru i między latami badań. Wyższe temperatury powietrza w marcu, kwietniu i maju 2000 r., w stosunku do 1999 r., stymulowały intensywny wzrost roślin oraz syntezę oleanozydów, dlatego też w liściach ze zbioru czerwcowego 2000 r. stwierdzono większą zawartość tych związków w stosunku do roku 1999. Być może zawartości te byłyby jeszcze wyższe, ale czynnikiem niekorzystnym mógł być niedobór opadów w trzeciej dekadzie kwietnia i w pierwszej dekadzie maja 2000 r. W miarę rozwoju roślin zawartość oleanozydów malała.

Kwiatostany roznika zawierały średnio 3,70% oleanozydów, natomiast kłącza 1,71%.

Analiza statystyczna otrzymanych wyników wykazała istotne różnice w zawartości oleanozydów między poszczególnymi organami roślin i latami badań. Porównując zawartość oleanozydów w poszczególnych częściach badanych roślin, można stwierdzić, że najwięcej tych związków zawierały liście roznika w drugim roku uprawy, natomiast kłącza zgromadziły najmniej oleanozydów.

DYSKUSJA

Wszystkie badane surowce (liście, kwiatostany i kłącza) pozyskane z roślin *Silphium perfoliatum* L. uprawianych na Lubelszczyźnie charakteryzowały się obecnością związków saponinowych. Analiza chromatograficzna TLC frakcji uzyskanej po hydrolizie zespołów saponinowych wykazała, że kwas oleanolowy jest głównym aglikonem glikozydów saponinowych *Silphium perfoliatum* L. Na podstawie rozdziału chromatograficznego TLC można stwierdzić podobieństwo w składzie zespołu glikozydów saponinowych wyizolowanych z poszczególnych organów badanej rośliny. Dawidjanc i Abubakirov [1992] podają, że obraz frakcji saponinowej ziela i kłączy *Silphium perfoliatum* L., uzyskany metodą TLC, jest identyczny dla obu badanych surowców. Ponadto wyżej

wymienieni autorzy stwierdzili, że jakościowy skład glikozydów triterpenowych wyizolowanych z roślin uprawianych w różnych miejscach jest jednakowy – warunki uprawy nie wykazały istotnego wpływu na biosyntezę glikozydów triterpenowych w rodzaju *Silphium* L.

Na podstawie przeprowadzonych badań można stwierdzić, że liście roznika najbardziej obfitują w oleanozydy i mogłyby być pod tym względem atrakcyjnym surowcem dla przemysłu farmaceutycznego. Najkorzystniejszym terminem zbioru liści jest okres przed kwitnieniem roślin, tj. na początku czerwca. Doświadczenia uprawowe wykazały, że średni plon świeżej masy ziela zebranego z roślin dwuletnich w fazie przed kwitnieniem (pierwsza dekada czerwca 1999–2000 r.) wynosił ok. 1080,6 dt·ha⁻¹ (125,2 dt·ha⁻¹ suchej masy), z czego liście stanowiły 41,61% pozyskanej zielonej masy [Kowalski 2001].

Jak podają Borkowski i Kamiński [1959] termin zbioru surowców saponinowych ma bardzo duże znaczenie dla ich jakości, tj. zawartości związków saponinowych. Badania prowadzone przez wyżej wymienionych autorów wykazały, że surowce saponinowe zbierane wiosną zawierały więcej związków saponinowych w porównaniu do zbiorów letnich i jesiennych. Należy tutaj też brać pod uwagę, czy zbiory wiosenne będą bardziej ekonomicznie uzasadnione. Na zawartość związków saponinowych mają wpływ także warunki meteorologiczne. Badania Dedio i Kozłowskiego [1998] wykazały, że wyższe zawartości oleanozydów w kwiatostanach nagietka lekarskiego uzyskano w roku charakteryzującym się dużą ilością opadów, natomiast najniższe zawartości tych związków stwierdzono w roku, w którym było najwięcej godzin usłonecznienia i najniższe opady. W niniejszej pracy stwierdzono, że liście i kwiatostany roznika przerośniętego zbierane w roku 2000 zawierały więcej oleanozydów w porównaniu z rokiem 1999. Wyższe temperatury powietrza w marcu, kwietniu i maju 2000 r. w stosunku do roku 1999 były bodźcem stymulującym intensywny rozwój roślin i syntezę związków saponinowych, dlatego też w liściach ze zbioru czerwcowego (rośliny w fazie pączków kwiatowych) stwierdzono większą ilość tych związków w porównaniu do liści z tego samego zbioru w roku 1999, tj. odpowiednio 5,98% oraz 5,65% w przeliczeniu na suchą masę. Dawidjanc i Abubakirov [1992] podają, że zawartość sumaryczna frakcji oleanozydowej ziela roznika przerośniętego wynosi ok. 6% suchej masy.

Interesującym i powszechnie znanym surowcem saponinowym jest nagietek lekarski *Calendula officinalis* L., który podobnie jak *Silphium perfoliatum* L. zawiera saponiny kwasu oleanolowego, tzw. oleanozydy [Mrugasiewicz i in. 1979; Dedio i Kozłowski 1998]. Według badań Mrugasiewicz i in. [1979] oraz Dedio i Kozłowskiego [1998] poszczególne organy nagietka lekarskiego zawierają następujące ilości oleanozydów: kwiatostany – 2,24–5,24%, liście – 5,27%, łodygi – 0,55%, ziele – 5,10%, korzeń – 2,55% (w przeliczeniu na suchą masę). Porównując wyniki badań niniejszej pracy na temat zawartości oleanozydów w rozniku do ilości tych związków w nagietku, można stwierdzić, że rośliny *Silphium perfoliatum* L. mogłyby być wykorzystywane jako atrakcyjny surowiec oleanozydowy.

WNIOSKI

1. Badania chromatograficzne metodą TLC wykazały, że liście, kwiatostany i kłącza *Silphium perfoliatum* L. zawierają w zespole saponinowym m.in. glikozydy, których aglikonem jest kwas oleanolowy.

2. Stwierdzono, że wolny kwas oleanolowy nie występuje w organach nadziemnych i podziemnych *Silphium perfoliatum* L.

3. Wykazano, że liście *Silphium perfoliatum* L. zawierały najwięcej oleanozydów (średnio ok. 3,86% – ze zbiorów od czerwca do września) w porównaniu do kwiatostanów (3,70%) i kłączy (1,71%).

4. Stwierdzono, że wraz z rozwojem roślin poziom oleanozydów w liściach maleje i dlatego najbardziej optymalnym terminem zbioru liści jest okres przed kwitnieniem roślin (5,82%).

PIŚMIENNICTWO

- Bohlmann F., Jakupovic J., 1979. Neue Labdan-Derivate und Sesquiterpene aus *Silphium*-arten. *Phytochemistry* 18, 1987–1992.
- Bohlmann F., Jakupovic J., 1980. Neue Sesquiterpen-Kohlenwasserstoffe mit anomalen Kohlenstoffgerüst aus *Silphium*-arten. *Phytochemistry* 19, 259–265.
- Borkowski B., Kamiński A., 1959. Zależność miana biologicznego surowców saponinowych od terminu ich zbioru. *Biul. Inst. Rośl. Leczn.* 5 (suplement), 97–104.
- Daniel P., 1984. *Silphium perfoliatum* „Durchwachsene Silphie” – eine neue Bienenweidepflanze. *Biene* 120 (5), 196–199.
- Daniel P., Rompf R., 1994. Möglichkeiten und Grenzen der Nutzung der Durchwachsenen Silphie (*Silphium perfoliatum* L.) als Futter-, nachwachsende Rohstoff- und Landschaftspflegepflanze. *Agribiological Research* 47 (3-4), 345–353.
- Dawidjanc E. S., Abubakirov N. K., 1992. Chimičeskij sostav i perspektivy ispol'zowanija rastenij r. *Silphium* L. *Rast. Resursy* 28 (2), 118–128.
- Dawidjanc E. S., Kartašewa I. A., Nešin I. W., 1997. Wlijanie triterpenowych glikozidow *Silphium perfoliatum* L. na fitopatogenne gryby. *Rast. Resursy* 4, 93–98.
- Dawidjanc E. S., Putiewa Ž. M., Bandjukowa W. A., Abubakirov N. K., 1984a. Triterpenowe glikozidy *Silphium perfoliatum*. *Chim. prirod. soed.* 1, 120–121.
- Dawidjanc E. S., Putiewa Ž. M., Bandjukowa W. A., Abubakirov N. K., 1984b. Triterpenowe glikozidy *Silphium perfoliatum* II. *Chim. prirod. soed.* 5, 666–667.
- Dawidjanc E. S., Putiewa Ž. M., Bandjukowa W. A., Abubakirov N. K., 1984c. Triterpenowe glikozidy *Silphium perfoliatum* III. Strojenie sil'fiozida E. *Chim. prirod. soed.* 6, 750–753.
- Dawidjanc E. S., Putiewa Ž. M., Šaškov A. S., Bandjukowa W. A., Abubakirov N. K., 1985. Triterpenowe glikozidy *Silphium perfoliatum* IV. Stroenie sil'fiozida C. *Chim. prirod. soed.* 4, 519–522.
- Dawidjanc E. S., Putiewa Ž. M., Bandjukowa W. A., Abubakirov N. K., 1986. Triterpenowe glikozidy *Silphium perfoliatum perfoliatum* V. Stroenie sil'fiozida A. *Chim. prirod. soed.* 1, 63–66.
- Dedio I., Kozłowski J., 1998. Wpływ warunków klimatycznych i nawożenia na zawartość kwasu oleanolowego w kwiatostanach nagietka lekarskiego *Calendula officinalis* L. *Herba. Pol.* 44 (2), 103–107.

- Duranti E., Santilocchi R., Casoli C., 1988. Composizione chimica e valore nutritivo di *Silphium perfoliatum* L. conservato mediante insilamento. Zoot. Nutr. Anim. 14, 349–356.
- El-Sayed N. H., Wojcińska M., Drost-Karbowska K., Matławska I., Williams J., Mabry T. J., 2002. Kaempferol triosides from *Silphium perfoliatum*. Phytochemistry 60, 835–838.
- Han K. J., Albrecht K. A., Mertens D. R., Kim D. A., 2000a. Comparison of *in vitro* digestion kinetics of cup-plant and alfalfa. Asian-Australasian J. of Anim. Sciences 13 (5), 641–644.
- Han K. J., Albrecht K. A., Muck R. E., Kim D. A., 2000b. Moisture effect on fermentation characteristics of cup-plant silage. Asian-Australasian J. of Anim. Sciences 13 (5), 636–640.
- Kohlmünzer S., 1998. Farmakognozja. PZWŁ Warszawa.
- Kowalski R., 2001. Analiza składu chemicznego organów nadziemnych i podziemnych roznika przerośniętego *Silphium perfoliatum* L. Rozprawa doktorska. AR Lublin, 1–220.
- Kowalski R., Wolski T., 2001. Charakterystyka wzrostu i rozwoju roznika przerośniętego *Silphium perfoliatum* L. w pierwszych latach uprawy. Ann. Univ. Mariae Curie-Skłodowska sec. EEE, 9 (suplement), 311–317.
- Lacaille-Dubois M. A., 2000. Biologically and pharmacologically active saponins from plants: recent advances. Oleszek W., Marston A. (red.), Saponins in food, feedstuffs and medicinal plants. Kluwer Academic Publishers. Proceedings of the Phytochemical Society of Europe, 45, 205–215.
- Kujancewa A. M., Dawidjanc E. S., 1988. Regenerirujuščaja aktiwnost' ekstrakta *Silphium perfoliatum*. Farmacija, Moskwa, 6, 36–37.
- Mrugasiewicz K., Lutomski J., Mścisz A., 1979. Metoda oznaczania zawartości oleanolozydów w nagietku lekarskim (*Calendula officinalis* L.). Herba. Pol., 25 (2), 107–112.
- Pcolinski M. J., Doskotch R. W., Lee A. Y., Clardy J., 1994. Chlorosilphanol A and silphane-poxol, labdane diterpenes from *Silphium perfoliatum*. J. Nat. Prod. 57 (6), 776–783.
- Podbielkowski Z., 1995. Fitogeografia części świata 2. PWN Warszawa, 90–91.
- Strzelecka H., Kamińska J., Kowalski J., Walewska E., 1982. Chemiczne metody badań roślinnych surowców leczniczych. PZWŁ Warszawa, 131–132.
- Syrow W. N., Chušbaktowa Z. A., Dawidjanc E. S., 1992. Triterpenowye glikozidy *Silphium perfoliatum* L. Gipolipidemičeskaja aktiwnost' sil'fiozida. Chim. Farm. Žurnal 26, 66–69.
- Tan N., Zhou J., Zhao S., 1999. Advances in structural elucidation of glucuronide oleanane-type triterpene carboxylic acid 3,28-*O*-bisdesmosides (1962–1997). Phytochemistry 52, 153–192.
- Weymar H., 1969. Buch der Korbblüter. Neumann Verlag Leipzig, 292.
- Wojcińska M., Drost-Karbowska K., 1998. Phenolic Acids in *Silphium perfoliatum* L. flowers (*Asteraceae/Compositae*). Acta Pol. Pharm. 55 (5), 413–416.
- Wolski T., Kowalski R., 2000. Biologia wzrostu i rozwoju roznika przerośniętego (*Silphium perfoliatum* L.). Roczn. AR Pozn. 323, Ogrodn. 31, Cz. 1, 555–560.
- Wróblewska A., 1997. Badania wartości pszczelarskiej *Silphium perfoliatum* L. Mat. Konf. „Biologia kwitnienia, nektarowania i zapylania roślin”. Lublin 13-14 listopada, 59–65.

EVALUATION OF OLEANOSIDES CONTENT IN ABOVE AND UNDERGROUND ORGANS OF *Silphium perfoliatum* L.

Abstract: The aim of present paper was quantitative evaluation of triterpenoid saponins – oleanosides occurring in leaves, inflorescences and rhizomes of annual and biennial *Silphium perfoliatum* L. plants. It was found that all studied above and underground organs contained triterpene saponins whose aglycone was oleanolic acid. It was proven that leaves

of *Silphium perfoliatum* L. contained the highest amount of oleanosides as compared to inflorescences and rhizomes and thus they could be an attractive source for pharmaceutical industry. It was also found that oleanoside level in leaves decreased along with the plant's development.

Key words: *Silphium perfoliatum* L., *Asteraceae*, triterpenoid saponins, oleanolic acid, TLC, quantitative analysis

Radosław Kowalski, Centralne Laboratorium Aparaturowe, Zakład Instrumentalnej Analizy Żywności, Akademia Rolnicza w Lublinie, 20-950 Lublin, tel. (0-81) 445-69-16, e-mail: radko@ursus.ar.lublin.pl