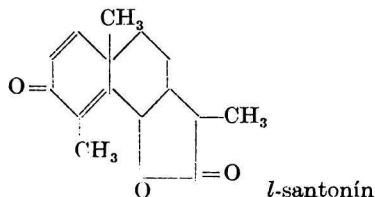


STANOVENIE SANTONÍNU V *ARTEMISIA MARITIMA* L. (PALINA PRÍMORSKÁ) RASTÚCEJ NA SLOVENSKU

G. DUŠINSKÝ, M. TYLLOVÁ

Štátny ústav pre kontrolu liečiv v Bratislave

Santonín je podľa štruktúrneho vzorca, ktorý navrhol Ruzicka a Eichenberger [1], bicyklický seskviterpén s laktonickou väzbou a jednou C=O skupinou konjugovanou s dvojitou väzbou:



Ako hlavný zdroj santonínu slúžia kvety *Artemisia cina* Berg (palina cicvárová), ktorá sa vyskytuje najmä v oblastiach strednej Ázie, patriacich Sovietskemu sväzu, na brehoch rieky Syr-Darja. Santonín sa však nachádza aj v rozličných taxónoch *Artemisia maritima* L. (palina príorská) rastúcej i v Európe. V Nemeckej demokratickej republike sa palina príorská pestuje v kultúre. *Artemisia maritima* L., subspec. *monogyna* (W. K.) Gams — palina príorská jednoosemenná — rastie divoko v Maďarskej nížine a na niektorých slaných a sodných pôdach južného Slovenska.

Dosiaľ sa nikto nezaoberal skúmaním, či palina príorská rastúca na Slovensku obsahuje santonín a predovšetkým koľko ho obsahuje. Preto sme túto rastlinu v dňoch 18. júna a 8. augusta 1957 nazbierali v okolí obce Sládečkovce (kraj Nitra).

Hoci bolo v minulosti vypracovaných mnoho metód na stanovenie santonínu v rastlinnom materiáli, nemožno ani jednu označiť za dokonalú. Tieto metódy dávajú spoľahlivé výsledky len pri stanovení v materiáli s vysokým obsahom santonínu (2—3 %), ako je to napr. v kvetoch stredoázijskej paliny cicvárovej. Známa je aj polarografická metóda, ktorá sa zakladá na redukcii karbonylovej skupiny. Pracovný postup na polarografické stanovenie santonínu v rastlinnom materiáli po jeho extrakcii chloroformom [2] vyhovuje tak isto len pri analýze materiálu s vysokým obsahom santonínu.

Najväčšie ťažkosti pri známych metódach sú spojené s dokonalým odstránením balastných látok (farbív, živíc, silíc), bez toho, že by nenastali straty aj santonínu. Kombináciou klasickej metódy extrakčnej s papierovou chromatografiou a polarografiou vypracovali sme metódu na spoľahlivé zistenie a stanovenie santonínu v rastlinnom materiáli, pri ktorej netreba mať k dispozícii veľké množstvo suroviny.

V prvej fáze nášho postupu sa našiel vhodný spôsob extrakcie santonínu, pričom sa metódy, napr. [3], používajúce ako extrahovadlo benzén, ukázali ako najlepšie. Do benzénových extraktov prechádza menej balastných látok ako napr. pri extrakciách chloroformom. Po prevedení santonínu na bárnatú soľ kyseliny santonínovej, rozpustnú vo vode, a po regenerovaní laktónu okyslením, ktorý sa extrahuje do chloroformu, používali sme v druhej fáze stanovenia papierovú chromatografiu na identifikáciu santonínu a na jeho oddelenie od balastných látok, pričom sme zjednodušili postup M. R. Tulusa



Obr. 1. *Artemisia marítima* L.. subspec. *monogyna* v okolí obce Sládečkovce (kraj Nitra).

a A. Ulebelena [4], ktorí sa dosiaľ jediní zaoberali papierovou chromatografiou santonínu. V tretej fáze sme polarografickou metódou uskutočnili kvantitatívne vyhodnotenie santonínu oddeleného na chromatograme. Zistili sme, že ľadová kyselina octová eluovala veľmi rýchlo a kvantitatívne santonín z chromatogramu. Kyselina octová po zriedení vodou slúžila súčasne ako základný elektrolyt pri polarografickom stanovení (obr. 1).

Experimentálna časť

Používané chemikálie a zariadenia

Santonín o b. t. 169,5 °C (nekor.).

Všetky použité chemikálie boli čistoty p. a. alebo chemicky najčistejšie.

V papierovej chromatografii sa používal filtračný papier Whatman 1. Roztok sa nanášal na papier pomocou mikropipiet značky „Schellbach“, delených na 0,001 ml. Vzostupná papierová chromatografia sa uskutočňovala v sklených valcoch uzavretých sklenou zábrusovou zátkou, zostupná chromatografia v obvyklých sklených komorách so sklenenými žlabmi na sklených stojanoch.

Polarogramy sa zhotovili bežným polarografickým zariadením. Konštanty kapiláry boli $m = 3,25 \text{ mg/s}$, $t = 2,60 \text{ s}$, $h = 50 \text{ cm}$.

Citlivosť galvanometra bola $1,8 \cdot 10^{-8} \text{ A}$. Pracovalo sa v nádobkách podľa Kalouska s oddelenou nasýtenou kalomelovou elektródou ako vzťažnou.

Chromatografické a polarografické práce sa robili pri teplote 22,5 °C ($\pm 0,5$ °C).

Extrakcia

Z rastliny zbieranej za suchého počasia, vysušenej za laboratórnej teploty a jemne rozpráškovanej sa navážilo 5 g, navlhčilo sa 4 ml 10 % amoniaku a extrahovalo sa v Soxhletovom prístroji 90 ml benzénu po dobu 12 hodín. Po oddestilovaní benzénu a vysušení odparku prúdom suchého vzduchu sa odparok 25 minút zahrieval s 55 ml 5 % hydroxydu bárnateho na vodnom kúpeli pri teplote 70 °C. Zmes sa po vychladnutí prefiltrovala cez dvojité papierový filter, premývala sa destilovanou vodou a filtrát sa okyslil 10 % kyselinou chlorovodíkovou do kyslej reakcie papierového indikátora kongočervene. Okyslený filtrát sa 25 minút zahrieval na vodnom kúpeli pri 60—70 °C a po vychladnutí sa vytrepával chloroformom, a to 25 ml, 3 $\times$ 20 ml, 15 a 10 ml. Spojené chloroformové výtrepky sa zahustili a doplnili na presný objem 10 ml.

Oddelovanie santonínu od balastných látok a jeho identifikácia

Z chloroformového roztoku sa nanášali objemové množstvá odpovedajúce 50—200 μg santonínu na pásy papiera Whatman 1 o rozmeroch 2 $\times$ 30 cm. Podľa akosti drogy boli to objemy 0,02—0,1 ml. Používali sme rozpúšťadlovú sústavu petroléter-benzén-chloroform (5 : 4 : 1 obj. dielu), nasýtenú konc. amoniakom. Po oddelení amoniakálnej vrstvy sme pridali ešte 2 objemové diely metanolu. Osvedčilo sa nám vyvíjanie vzostupne. Doba vyvíjania bola 45—60 minút, za ktorú čelo sústavy urazilo dráhu 12 cm. Súčasne sme robili kontrolné pásiky na kvalitatívne zistenie santonínu. Chromatogramy sme sušili pri laboratórnej teplote.

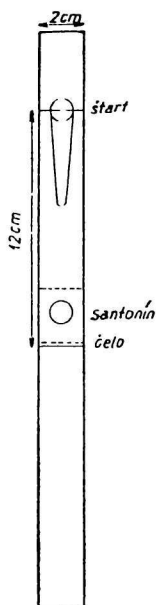
Detekcia santonínu

Vysušené kontrolné chromatogramy sa postriekali reagentom metylátu sodného v metanole, pripraveným rozpustením 12,7 g čerstvo odrezaného kovového sodíka v 87 g metanolu pod spätným chladičom. Santonín sa uvedeným reagentom farbí najmä za zahrievania papiera prúdom teplého vzduchu červeno. Hodnota R_F santonínu je za uvedených podmienok 0,90 a balastné látky zostávajú ako žlté sfarbené podlhovasté škvrny blízko štartu (obr. 2).

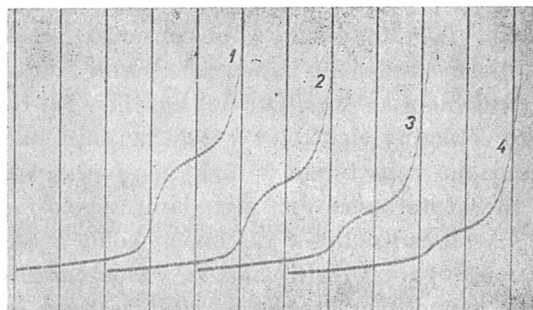
Dolná hranica koncentrácie je 50 μg santonínu, ktorý sa dá takto detegovať. Ďalej opísané polarografické stanovenie dovoľuje zistiť aj menšie množstvá santonínu (20 μg).

Eluácia a polarografické stanovenie santonínu

Plocha suchého nedetegovaného chromatogramu, ohraničená čelom a čiarou vzdialenou 2,5 cm od čela, sa vystrihne a rozstrihne na malé štvorčeky veľkosti asi 2×2 mm, ktoré sa vnesú do skúmaviek. Do skúmaviek sa naleje 1,5 ml ľadovej kyseliny octovej. Eluácia prebieha kvantitatívne už za 20 minút pri laboratórnej teplote. Po pridaní 10,5 ml destilovanej vody a premiešaní sa roztok vpraví bez rozstrihaného papiera do polarografickej



Obr. 2. Papierový chromatogram santonínu po extrakcii. Podlhovastá škvrna blízko štartu sa tvorí balastnými látkami. Plocha ohraničená prerušovanou čiarou sa po chromatografovaní eluuje.



Obr. 3. Polarogram eluátov santonínu po chromatografovaní. Krivka 1. 300 μg , 2. 200 μg , 3. 100 μg , 4. 50 μg santonínu eluovaného 20 minút 1,5 ml ľadovej kyseliny octovej a potom polarografovaného po pridaní 10,5 ml destilovanej vody. Krivky od $-0,4$ V (voči SKE), citlivosť galvanometra 1/20.

nádobky. Po odstránení vzdušného kyslíka 15 minútovým prebublaním dusíkom polarografuje sa pri vhodnej citlivosti od $-0,4$ V (voči SKE). Koncentrácia santonínu sa zisťuje z kalibračného grafu zhotoveného polarografovaním štandardných roztokov santonínu. Štandardné roztoky santonínu netreba chromatografovať, pretože eluácia santonínu pomocou kyseliny octovej je úplná. Pri polarografovaní sa k 1,5 ml štandardného roztoku santonínu v ľadovej kyseliny octovej pridá 10,5 ml destilovanej vody a polarografuje sa, ako je uvedené pri polarografovaní eluátov.

Najlepšie výsledky sa dosiahli pri chromatografovaní a polarografovaní roztokov obsahujúcich 50–300 μg santonínu (obr. 3).

Výsledky

V rastline zbieranej 18. júna 1957 sme zistili obsah santonínu, počítaný na vysušenú rastlinu, ako priemer 10 stanovení

v kvetoch 0,61 % ($\pm 0,05$ %) santonínu,

v celej nadzemnej časti rastliny 0,32 % ($\pm 0,05$ %) santonínu.

V rastline zbieranej 8. augusta 1957 na tej istej lokalite bol obsah santonínu ako priemer 10 stanovení

v kvetoch pred rozkvitnutím 0,75 % ($\pm 0,05$ %) santonínu,

v kvetoch po odkvitnutí 0,30 % ($\pm 0,05$ %) santonínu,

v celej nadzemnej časti rastliny pred rozkvitnutím 0,40 % ($\pm 0,05$ %) santonínu.

Diskusia

Na zistenie obsahu santonínu v rastlinnom materiáli slovenského pôvodu sme vypracovali metódu, ktorá sa zakladá na kombinácii klasickej extrakčnej metódy s papierovou chromatografiou na oddelenie balastných látok. V poslednej fáze stanovenia sa obsah santonínu stanovuje polarograficky. Na rozdiel od polarografického stanovenia podľa F. Šantavého [2] sme účelne využívali extrakčné vlastnosti ľadovej kyseliny octovej, ktorá po zriedení vodou slúžila ako základný elektrolyt v polarografii. Naším postupom bolo možné stanoviť santonín v materiáli s nízkym obsahom santonínu (0,2—0,3 %), čo inými v literatúre opísanými metódami nebolo možné.

Obsah santonínu v rastlinách kolíše v závislosti od lokality a vegetačného stupňa vývoja. Zistili sme, že v kvetoch rastliny *Artemisia maritima* L., *subspec. monogyna*, ktorú sme nazbierali na južnom Slovensku, tesne pred rozkvitnutím (začiatkom augusta) je dostatočne vysoký (0,75 %) na to, aby sa mohlo uvažovať o priemyselnom zužitkovaní tejto rastliny. Na Slovensku divoko rastúca palina príorská vyrovná sa čo do obsahu santonínu kultúre pestovanej v NDR, v ktorej obsah santonínu sa udáva asi 0,5 %.

Ďakujeme doc. RNDr. J. Májovskému a RNDr. Záborskému z Botanického ústavu Univerzity Komenského v Bratislave za cennú pomoc pri zbere a presnej botanickej identifikácii rastlín.

Súhrn

Na zistenie obsahu santonínu v rastline *Artemisia maritima* L., *subspec. monogyna* (W. K.) Gams — palina príorská jednosemenná — rastúcej na južnom Slovensku sme vypracovali metódu, ktorá sa zakladá na kombinácii extrakčnej metódy benzénom s papierovou chromatografiou a polarografickým vyhodnotením. Ľadová kyselina octová slúžila ako extrahovadlo z chromatogramov a po zriedení vodou ako elektrolyt v polarografii. Stanovovali sa množstvá 50—300 μ g santonínu.

Maximálny obsah santonínu (0,75 %) sa zistil v kvetoch rastliny zbieranej začiatkom augusta pred rozkvitnutím.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ САНТОНИНА В *ARTEMISIA MARITIMA* L. (ПОЛЫНЬ ПРИМОРСКАЯ), РАСТУЩЕЙ В СЛОВАКИИ

Г. ДУШИНСКИЙ, М. ТЫЛЛОВА

Государственный институт для контроля медикаментов в Братиславе

Выводы

Для определения содержания сantonина в односемянном растении *Artemisia maritima* L., *subspec. monogyna* (W. K.) Gams — полынь приморская, растущем в южной Словакии, мы выработали способ, который основан на комбинации экстракции бензолом с бумажной хроматографией и полирографической оценкой. Ледяная уксусная кислота служила как средство для экстракции хроматограмм, а по разбавлении водой как электролит в полирографии. При помощи этого способа можно определять сantonин в количествах 50—300 μ г сantonина.

Максимальное содержание сantonина было найдено в цветах растения, собранного в начале августа перед тем, как растение начинало цвести и было около 0,75 %.

Поступило в редакцию 25. 8. 1957 г.

BESTIMMUNG DES SANTONINS IN DER PFLANZE *ARTEMISIA MARITIMA* L. (SEESTRANDBEIFUSS), DIE IN DER SLOWAKEI WÄCHST

G. DUŠINSKÝ, M. TYLLOVÁ

Staatliches Institut für Heilmittelkontrolle in Bratislava

Zusammenfassung

Für die Feststellung des Santonin-Gehalts in der Pflanze *Artemisia maritima* L., *subspec. monogyna* (W. K.) Gams — Seestrandbeifuss, einsamig, die in der Südslowakei wächst, arbeiteten die Verfasser ein Bestimmungsverfahren aus, welches auf einer Kombination der Extraktionsmethode mittels Benzol mit der Papierchromatographie und der polarographischen Auswertung gegründet ist. Dabei dient Eisessig als Extraktionsmittel der Chromatogramme und zugleich nach dem Verdünnen mit Wasser als Elektrolyt beim Polarographieren. Es werden Mengen von 50 μ g bis zu 300 μ g Santonin bestimmt.

Der Maximalgehalt von Santonin wurde in den Blüten einer anfangs August vor dem Aufblühen gesammelten Pflanze gefunden, u. zw. 0,75 %.

In die Redaktion eingelangt den 25. 8. 1957

LITERATÚRA

1. Ruzicka L., Eichenberger R., Helv. Chim. Acta 13, 1117 (1930). — 2. Šantavý F., Chem. listy 38, 233 (1944); Collection 12, 422 (1947). — 3. Quazilbash N. A., J. Pharm. Pharmacol. 3, 105 (1951). — 4. Tulus M. R., Ulebelen A., Archive der Pharmazie 289/61, 293 (1956).

Došlo do redakcie 25. 8. 1957