

IZOLÁCIA A ANALÝZA ÉTERICKÉHO OLEJA Z ČISTCA ROČNÉHO (STACHYS ANNUA L.)

ERNEST MALÝ

Chemický ústav Prírodovedeckej fakulty Slovenskej univerzity v Bratislave

Predbežné oznámenie

Sušená vňat čistca ročného (*Stachys annua L.*) sa tu a tam používa v ľudovom liečení na Slovensku najmä proti bolestiam hlavy. Spôsob aplikácie je umývanie v čerstvom odvare. Možný terapeutický efekt dal by sa vysvetliť inhaláciou éterického oleja, ktorý rastlina obsahuje. Pretože autor nemohol v svetovej literatúre nájsť zmienku o tejto silici, izoloval ju vodnou parou a zaoberá sa jej analýzou.

Na získanie takého množstva éterického oleja z tejto drogy laboratórnym spôsobom, aby sa dali stanoviť jeho vlastnosti a vykonať analýza, hodí sa dobre zariadenie podľa sovietskeho autora Ginzberga [1], najmä pre svoju jednoduchosť, alebo prístroj podľa britskej farmakopey [2].

Použila sa desaťlitrová varná banka a pretože oddelenej silice bolo malé množstvo, pridal sa etyléter. Éterická vrstva sa spustila cez čerstvo vyžiháňý síran sodný. Po odparení éteru sa odvažovačka vložila do vysušovača. Množstvo silice v dobre vysušenej droge tvorí niečo nad 0,02 jej váhového percenta. Brómbenzénovým prístrojom podľa Fischera [3] sa našlo 0,0219 váhového percenta dobre vysušenej drogy.

Éterický olej z čistca ročného je bledozelenožltej farby, na vzduchu hnedne. Je hustej olejovitej konzistencie, pri teplote pod 20° C sa stáva maslovitým. Má charakteristický zápach a je chuti trpkkej, chladivej. Na papieri zanecháva priesvitnú škvrnu žltej farby, ktorej priesvitnosť sa časom zmenšuje, avšak žltlooranžové sfarbenie ťažko mizne. Kyslosť má asi ako *Ol.thymi*.

Pretože autor mal malé množstvo tejto silice, musel upustiť od stanovenia všetkých jej vlastností. Stanovil len tie, ktoré majú pre analýzu najväčší význam. Upustil napr. od stanovenia intervalu, v ktorom sa dá pri atmosferickom tlaku silica predestilovať.

Pre špecifickú váhu sa našly hodnoty d_4^{21} 0,9125, d_4^{18} 0,9150, pre otáčavosť $[\alpha]_D^{20}$ — 23,3 (v metylalkohole). Čerstvo vydestilovaná silica má zápach skôr nepríjemný, avšak priebehom niekoľkých dní tento nepríjemný odtieň zápachu mizne.

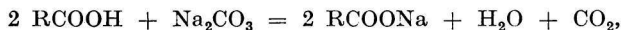
Analýza éterického oleja z čisteťa ročného

(Analýza smesi a individuí)

Negatívna (Lassaigneova) skúška na síru a dusík poukazuje na to, že horčičné oleje, nitrily, zásadité slúčeniny a sulfidy nie sú v silici prítomné.

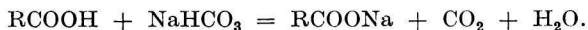
Špecifická váha d_4^{21} 0,9125 poukazuje na to, že v silici by nemaly byť prítomné benzénové deriváty (vyššia špec. váha ako 1,0) alebo väčšie množstvo alifatických alebo cyklických terpenov (nižšia špec. váha ako 0,8 alebo okolo 0,8).

Pretože silica vykazovala určitú kyslosť a Millonova skúška bola pozitívna, éterický roztok silice sa niekoľkokrát za studena pretrepal s 2 n KOH. Spojené alkalické lúhy sa potom vytrepaly s čistým éterom, aby sa odstránila nekyslá časť. Éterický roztok oleja, ktorý bol pôvodne tehlovej farby, po oddelení kyslej časti zmenil farbu na žltlooranžovú. Do izolovanej vodnej vrstvy sa potom pridala 2 n kyselina sírová do kyslej reakcie. Tým sa uvoľnila kyslá časť oleja z jej alkalického soli. Čirý roztok zelenavožltej farby sa mliečne skalil. Pridaný éter a vodná vrstva sa dvakrát vytrepala s éterom. Do éteru prešla uvoľnená kyslá časť. Éterická vrstva sa sfarbila do tehlovooranžova. Vodná vrstva sa potom spustila a do izolovanej éterickej vrstvy sa pridala 2 n roztok uhličitanu sodného. Celá éterická vrstva sa po pretrepaní v roztoku sódy rozpustila, avšak nebolo pozorovať nijaké penenie. Po čase sa éterická vrstva ostro oddelila a bola rovnako intenzívne tehlovooranžovo sfarbená ako pred pretrepaním s roztokom sódy. Na rozhraní vodnej a éterickej vrstvy nebolo pozorovať nijaké klky. (Tie sa tvorily pri pretrepaní éterického roztoku silice s KOH.) To svedčí jednak o tom, že nenastala reakcia podľa rovnice:



jednak o tom, že izolovaná kyslá časť je menej kyslá ako kyselina uhličitá v klesajúcom poradí čo do kyslosti: minerálne kyseliny okrem uhličitej, organické kyseliny, kyselina uhličitá, fenoly.

Vodná vrstva sa potom spustila a do izolovanej éterickej vrstvy sa pridala 2 n roztok kyslého uhličitanu sodného a pretrepalo sa. Éterická vrstva nebola odfarbená, ani na rozhraní vrstiev nevznikli nijaké klky, čo nasvedčuje, že nenastala reakcia podľa rovnice:



Z izolovanej vodnej vrstvy sa po okyslení nepodarilo prakticky nič s éterom vytrepať. To nasvedčuje, že izolovaná kyslá časť je fenol a nie kyselina.

Autor mal na mysli, že zvyšok silice po oddelení fenolu by mohol ešte obsahovať aldehydy, ketóny, estery, laktóny, alkoholy, fenolétery bez voľnej hydroxylovej skupiny, vnútorné étery a uhľovodíky (azulény, terpény, seskvi-

terpény a polyterpény). Vo zvyšku sa po oddelení fenolu pátralo po aldehydoch a ketónoch hydroxylamínom s negatívnym výsledkom a po primárnych a sekundárnych alkoholoch a esteroch mikroxantogénovou reakciou rovnako s negatívnym výsledkom. Pretože zvyšok po oddelení fenolu bol v alkohole prakticky nerozpustný (nerozpúšťal sa ani v metylalkohole), bolo veľmi pravdepodobné, že neobsahuje nijakú kyslíkatú slúčeninu a je tvorený seskviterpénom, resp. seskviterpénmi.

Či izolované časti sú jednotné alebo ide o smesi, mohlo rozhodnúť už len fyzikálne oddelovanie. Od frakčnej destilácie chemicky izolovaných častí silice sa muselo upustiť pre nedostatok vhodného mikrodestilačného aparátu. Naopak vhodnou sa pre tieto látky ukázala chromatografická adsorpčná analýza premývacia, pretože sú to látky za určitých okolností farebné, takže analýzu možno vykonať najjednoduchším spôsobom. Pre seskviterpénovú časť ako adsorbodadlo je vhodný kysličník hlinitý a ako eluodadlo petroléter alebo etyléter; pre fenolickú časť ako adsorbodadlo je vhodný čerstvo vyžíhaný síran sodný a ako eluodadlo etyléter. Homogénne kolónky sa pripravili tak, že sa do rúrky so zatvoreným kohútikom nalial éter a adsorbodadlo za pomalého pridávania postupne sedimentovalo ku dnu. Potom sa kohútik otvoril, prebytočný éter odtiekol a ostala zmočená homogénna kolónka adsorbenta, na ktorú sa nalial éterický roztok skúšanej látky a pridávalo sa eluodadlo. Chemicky oddelené časti počas celého zostupu kolónkou tvorili jednotné hnedé pásy a nedelily sa. Týmto spôsobom bola analyzovaná i silica (na vyžíhanom sírane sodnom), pričom sa vytvorili dva pásy jasne od seba oddelené. To nasvedčuje, že chemicky oddelené časti sú látky prakticky jednotné. Hydroxydom draselným nepohltený zvyšok silice tvoril 53 objemových percent. Zisťovalo sa vlastnou mikrometódou [4].

Tu si autor postavil pracovnú hypotézu, že má v ruke niektorý zo seskviterpénov, a v práci pokračoval pod týmto zorným uhlom. Nálezy potom plauzibilne potvrdily pôvodný predpoklad.

Seskviterpén je hustý olej, na vzduchu žltlooranžovej farby, zápachu podobného ako fenol, ale drsnejšieho, prakticky nerozpustný ani v metylalkohole, dobre rozpustný v etyléteri a petroléteri. Našly sa tieto fyzikálne konštanty:

$$\begin{aligned} d_4^{18} & 0,9050 \\ d_4^{24} & 0,9000 \\ n_D^{24} & 1,4951 \\ [\alpha]_D^{20} & - 24^\circ \text{ (v benzéne)} \end{aligned}$$

Molárna refrakcia:

Pre $C_{15}H_{24}$ a dve dvojité väzby

vypočítané
nájdene

66,13,
66,23.

Molekulová váha, určená kryoskopicky podľa Rasta, kolíše okolo 204,3. Skutočne nájdená hodnota (touto metódou) bola 202,15.

Pri dehydrogenácii sírou dáva tento seskviterpén kadalén. Bicyklický seskviterpén s takýmito fyzikálnymi konštantami dosiaľ známy nebol.

Fenol vystupuje v rozličných formách, od hustého oleja po polotuhú látku. Našly sa tieto dáta a vlastnosti:

$$d_4^{21} \quad 0,9892$$

$$n_D^{21} \quad 1,4931$$

Molárna refrakcia:

Pre $C_{15}H_{24}O$ (z OH) a dve dvojité väzby

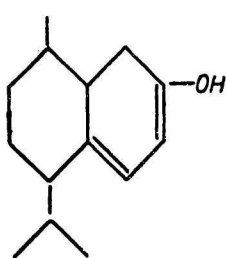
vypočítané	67,65,
nájdené	67,19.

Millonova reakcia bola pozitívna, Liebermannova negatívna. Fenol rozpustený v metanole dáva s chloridom železitým bledozelené sfarbenie. Molekulová váha, určená kryoskopicky podľa Rasta, kolíše okolo 220,34. Skutočne nájdená hodnota bola 221,2.

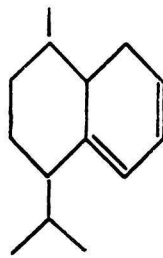
Pre $[\alpha]_D^{20}$ sa našla hodnota -22° . Túto hodnotu nepovažuje autor za presne zistenú. Ide len o orientačný údaj, pretože pre nedostatok látky sa dosiahla len nízka koncentrácia. Autor sa doteraz nedočkal kryštalizácie tohto izolátu.

Na základe nájdených dát (i dosiaľ neuvverejnených) núka sa myšlienka, že máme pred sebou nový fenol (enol), ktorý je derivátom seskviterpénu.

Za predpokladu, že prítomný fenol je derivátom prítomného seskviterpénu, nie je zatiaľ vylúčené, že pravdepodobný štruktúrny vzorec fenolu je I a seskviterpénu II. Hydroxylová skupina je umiestená na základe pozitívnej Millonovej a negatívnej Liebermannovej skúšky.



I



II

Pokusná časť

Zistenie percenta silice v droge

Z 2,0 ml brómbenzénu predestilovalo 1,73 ml brómbenzénu. Z 250,0 g drogy a 2,0 ml brómbenzénu predestilovalo 1,79 ml smesi silice s brómbenzénom, t. j. z 250,0 g drogy vydestilovalo 0,06 ml silice.

Otáčavosť silice

Do 0,0471 g silice sa pridal 1 ml metylalkoholu. Nameraný priemerný uhol otočenia bol $\alpha = 0,22^\circ$. Meralo sa v rúrke 2 cm dlhej.

Chromatografia fenolu

0,2613 g fenolu sa rozpustilo v malom množstve etyléteru a nalialo sa na kolónku síranu sodného (110 mm vysokú a 12 mm priemeru), pripravenú podľa predtým uvedeného spôsobu. Farebný pás sa zachytil a éter sa odparil. Zvyšok vážil 0,1872 g (straty pri odparovaní).

Dehydrogenácia seskviterpénu

0,0744 g seskviterpénu sa zahrievalo 2 hod. na 180° — 190° C s 0,0349 g síry. Vznikol sírovodík a nový produkt, ktorý sa chromatograficky prečistil. Obvyklým spôsobom sa pripravil pikrát, ktorý sa topil pri 114 — 115° C.

Kryoskopia seskviterpénu podľa Rasta

0,0242 g seskviterpénu sa kvantitatívne stavilo s 0,2752 g gáfru. B. t. gáfru 180° C, b. t. taveniny (priemerný zo šiestich odčítaní) $162,6^\circ$ C.

Kryoskopia fenolu podľa Rasta

0,00655 g fenolu sa stavilo kvantitatívne s 0,09795 g gáfru. B. t. gáfru 180° C, priemerný b. t. taveniny (z desať odčítaní) 168° C.

Otáčavosť seskviterpénu

0,0416 g seskviterpénu sa rozpustilo v 1 ml benzénu. Meralo sa v 2 cm dlhej rúrke. Nameral sa uhol otočenia $\alpha = 0,1^\circ$.

Otáčavosť fenolu

Navážilo sa 0,0226 g fenolu. Rozpustilo sa v 1 ml benzénu. Nameral sa uhol otočenia α okolo $-0,1^\circ$.

Súhrn

Izolovala sa (vodou) nová silica z čistej ročného (*Stachys annua* L.) d_4^{21} 0,9125, d_4^{18} 0,9150, $[\alpha]_D^{20}$ —23,3 (v metylalkohole).

Chemická analýza doplnená chromatografickou analýzou ukazuje, že silicu tvoria dve látky: bicyklický seskviterpén kadalénového typu a fenol (enol), ktorý, zdá sa, je derivátom seskviterpénu.

Seskviterpén je žltý olej d_4^{18} 0,9050, d_4^{24} 0,9000, n_D^{24} 1,4951, $[\alpha]_D^{20}$ —24 (v benzéne). $[R]_D^{18}$ pre $C_{15}H_{24}$ a dve dvojité väzby sa vypočítalo 66,13, našlo sa 66,23.

Fenol je červenooranžový hustý olej d_4^{21} 0,9892, ktorý prechádza v maslovitú žltú látku. Molekulová váha 220,43. $[R]_D^{18}$ pre $C_{15}H_{24}O$ a dve dvojité

väzby sa našlo 67,19, vypočítalo sa 67,65. Konštitúcia $C_{15}H_{24}O$, zdá sa, je potvrdená elementárnou analýzou.

Za predpokladu, že fenol je derivátom seskviterpénu, navrhly sa pravdepodobné štruktúrne vzorce.

Pre nedostatok materiálu sa použily polomikrochemické metódy. V práci autor hodlá pokračovať.

ВЫДЕЛЕНИЕ И АНАЛИЗ ЭФИРНОГО МАСЛА ИЗ STACHYS ANNUA L.

ЭРНСТ МАЛИ

Факультет естественных наук Словацкого университета, Братислава, Кафедра химии

Выводы

Из *Stachys annua* L. выделено новое эфирное масло: $d_4^{21} - 0,9125$, $\alpha_4^{18} - 0,9150$, $[\alpha]_D^{20} - 23,3$ (в метиловом спирте).

Химический анализ, дополненный хроматографическим анализом показал, что эфирное масло составляют два вещества: бициклический сесквитерпен типа кадалена и фенол (энол), который кажется быть производным сесквитерпена.

Сесквитерпен является желтым маслом: $d_4^{18} - 0,9050$, $d_4^{24} - 0,9000$, $n_D^{24} - 1,4951$, $[\alpha]_D^{20} - 24$ (в бензоле), $[R]_D^L$ для $C_{15}H_{24}O$ и две двойные связи вычислено 66,13, найдено 66,23.

Фенол — краснооранжевое густое масло, $d_4^{18} - 0,9205$, которое превращается в маслянистое желтое вещество, независимо от температуры. Молекулярный вес — 220,43. $[R]_D^L$ для $C_{15}H_{24}O$ и две двойные связи — вычислено 67,65, найдено 67,23. Строение $C_{15}H_{24}O$ подтверждено элементарным анализом.

Предполагая, что фенол является производным сесквитерпена, предложены вероятные структурные формулы.

Из-за недостатка материала применялись полумикрохимические методы. Автор намеревается продолжать работу.

Получено в редакции 5-го марта 1953 г.

ISOLIERUNG UND ANALYSE DES ÄTHERISCHEN ÖLES DES EINJÄHRIGEN BESCHREIKRAUTES (ZIESTES) STACHYS ANNUA L.

ERNEST MALÝ

Chemisches Institut der Naturwissenschaftlichen Fakultät der Slowakischen Universität in Bratislava

Zusammenfassung

Aus dem Einjährigen Beschreikraut (Ziest) *Stachys annua* L. wurde (mit Wasserdampf) ein neues ätherisches Öl $d_4^{21} 0,9125$, $d_4^{18} 0,9150$, $[\alpha]_D^{20} - 23,3$ (in Methylalkohol) isoliert.

Durch Chromatographie ergänzte chemische Analysen weisen darauf hin, dass das ätherische Öl von zwei Substanzen gebildet wird: aus einem bicyklischem Sesquiterpen des Kadalentypes und einem Phenol (Enol), welches ein Sesquiterpenderivat zu sein scheint.

Das Sesquiterpen ist ein gelbes Öl $d_4^{18} 0,9050$, $d_4^{24} 0,9000$, $n_D^{24} 1,4951$, $[\alpha]_D^{20} - 24$ (in Benzen), $[R]_D^L$ für $C_{15}H_{24}$ und zwei Doppelbindungen berechnet 66,13, gefunden 66,23

Das Phenol ist ein rotorangefarbiges dickes Öl d_4^{21} 0,9892, welches in eine butterartige gelbe Masse übergeht. Molekulargewicht 220,43. $[\text{R}]_D^L$ für $\text{C}_{15}\text{H}_{24}\text{O}$ und zwei Doppelbindungen berechnet 67,15, gefunden 67,65. Die Konstitution von $\text{C}_{15}\text{H}_{24}\text{O}$ erscheint durch die Elementaranalyse bestätigt.

In der Voraussetzung, dass das Phenol ein Sesquiterpenderivat ist, werden die wahrscheinlichen Strukturformeln vorgeschlagen.

Wegen Materialmangel wurden semimikrochemische Methoden angewendet. Der Autor beabsichtigt in dieser Arbeit fortzufahren.

In die Redaktion eingelangt den 5. III. 1953

LITERATÚRA

1. Ginsberg A. S., *Ž. chim.-farm. prom.*, No. 8—9, 1932.
2. *The british Pharmacopoeia VIII*, London 1948, 768.
3. Blažek Z., *Československá farmacie I*, 50 (1952).
4. Malý E., dosiaľ nepublikované.

Došlo do redakcie 5. III. 1953