

Über die Analyse des ätherischen Öls von *Solidago canadensis* L. (I)

Soon-Hee SHIN
Ducksung Womens College

Solidago canadensis L.의 정유분석(계 1 보)

덕성여자대학
신 순 희

국화과 식물 *Solidago canadensis* L.의 정유성분을 분석하였다. 특히 이 식물의 정유성분은 80% 이상이 C와 H로만 구성된 순수한 탄화수소(Hydrocarbon)화합물들인데 이것은 극성이 거의 같아서 일반적인 분석방법으로는 그 성분들의 분리가 어려운바, 최근 개발된 AgNO₃로 impregnation시킨 TLC 및 preparative gaschromatography와 spinningband를 이용한 micro분획증류등의 방법으로 분석 비교하였다.

Solidago canadensis L.(Compositae), bekannt als kanadische Goldrute, ist die erste amerikanische *Solidago* Art¹⁾, die sich bereits mitte des 17. Jahrhunderts in europäischen Gärten eingebürgert hat. Diese Pflanze ist mittlerweile in vielen Gegenden sehr verbreitet. Die diuretische Wirkung von *Solidago* ist auf Saponine und ätherische Öle zurückzuführen²⁾.

In der folgenden Arbeit wird das ätherische Öl, das durch Wasserdampfdestillation gewonnen wurde, untersucht. Besonders wurden die Komponenten der Kohlenwasserstoff-Fraktion, die fast gleich Polarität haben und daher schwer aufzutrennen sind, durch spezielle Methoden analysiert. Es handelt sich hierbei um mit Silbernitrat imprägnierte DC, präparative gaschromatographie und fraktionierte Destillation durch Drehbandkolonne.

Material und Methoden

Wasserdampfdestillation

Die präparative Gewinnung des ätherischen

Öls erfolgte durch Wasserdampfdestillation^{3,4)}.

Zur Feststellung der Destillationsdauer und Bestimmung des ätherischen Öl-Gehaltes wurden die Destillationsdiagramme(Abb. 1) aufgestellt. Die oberirdischen Teile der Pflanze wurden nach Blütenständen, Blättern und Stengeln sortiert. Die Stengel wurden direkt destilliert. Vom Zeitpunkt des Kondensationsbeginns an wurde in bestimmten Zeitabständen das überdestillierte und in Pentan gelöste Öl aus der Karlsruher-Apparatur in den ätherischen Ölkolben abgelassen und nach Abdampfen des Pentans gravimetrisch bestimmt.

Fraktionierung in den polaren Anteil und den unpolaren Anteil

Für die grobe Fraktionierung des Öls in die Kohlenwasserstoff-Fraktion und die sauerstoffhaltige Terpen-Fraktion wurde eine Säulenchromatographie durchgeführt.

Für die Abtrennung der Terpene wurde als stationäre Phase saures oder neutrales Aluminiumoxid mittlerer Aktivität benutzt, um Isomerisierung und Zersetzungs Vorgänge zu vermei-

den^{5,6}. An dieser stationären Phase wurden Kohlenwasserstoffe nur schwach absorbiert und daher mit sehr unpolaren Elutionsmitteln, wie Hexan oder Petroläther (Siedefraktion 40~60°C), eluiert. Die sauerstoffhaltigen Terpene blieben auf der Säule zurück. Die auf der Säule zurückgebliebenen sauerstoffhaltigen Verbindungen wurden anschließend mit einem polaren Elutionsmittel ausgewaschen.

Dünnschicht-Chromatographie auf mit Silbernitrat imprägnierten Kieselgel-Schichten

Aufgrund der Komplexbildung von Ag⁺-Ionen mit den π -Elektronen einer oder mehrerer Doppel- oder Dreifachbindungen kann man auf Silbernitrat-imprägnierten Schichten die Substanzen in Abhängigkeit von der Zahl ihrer C=C- oder C \equiv C-Bindungen auftrennen⁷.

Um den optimalen Imprägnierungsgrad festzustellen, wurde eine Silbernitrat-Gradient-DC (Abb. 8) durchgeführt^{8,9}.

Herstellung der mit 2% Silbernitrat imprägnierten Schichten: 6g AgNO₃ wurde in 75ml Wasser aufgelöst, anschließend mit 30g Kieselgel suspendiert und mit versilbertem Gerät der Grundausrüstung Nr. 60 (Dessaga, Heidelberg) in bekannter Weise¹⁰ zu 250m dicken Schichten ausgestrichen.

Herstellung der Silbernitrat-Gradient-Schichten: Zur Anfertigung dieser Schichten wurde die Grundausrüstung Nr. 60 mit einem Gradient-Zusatz (Dessaga, Heidelberg) versehen. Zu dem in zwei 100ml Erlenmeyerkolben eingewogenen Kieselgel GF₂₅₄ werden 49ml Wasser und 49ml einer 5 proz. Silbernitrat-Lösung in Wasser gegeben und 10 sec kräftig geschüttelt. Die Suspension wird in je einen Teilerraum des versilberten Dessaga-Gradient-Streichers und in bekannter Weise¹⁰ gestrichen.

Präparative Gaschromatographie

Gerät: Hupe APG 40 I, Hupe und Busch,

Grötzingen

Material: Kohlenwasserstoff-Fraktion, 6ml
Säule: VA-Stahl, 2×1m, paarweise angeordnet
Stat. Phase: 20% Carbowax 20M auf Chromosorb P-AW-DMCS 60~80 mesh
Injektor: 225°C
Detektor: 215°C (FID)
Trägergas: N₂ 100ml/min
Wasserstoff: 30ml/min
Luft: 300ml/min
Säulenvordruck: 1 atm
Temperatur-Programm: T₁: 80°C, T₂: 80~200°C, 30min, T₃: 200°C, 30min
Sammelautomatik Betriebsart: A₁
Kühlfallen: Automatische Kühlfallumschaltung
Dosiermenge: pro Trennzycclus 2ml
Zahl der Trennzycclus: 3

Fraktionierte Destillation mit der Drehbandkolonne

Die Drehbandkolonne ist eine technische Anwendung der Gegenstrom-Stoffaustauschmethode, die durch eine mechanisch bewegte Verteilungseinrichtung minimalen Stoffeinsatz ermöglicht. Anders als bei der Vigreux-Kolonne, die gleichfalls nur einen geringen Stoffeinsatz benötigt, wird bei der Drehbandkolonne durch einen rotierenden Einsatz die Trennstufenzahl einer Kolonne stark erhöht. Als Rotationskörper hat sich ein gedrehtes Band aus dem chemisch inaktiven Teflon bewährt. Das Teflonband rotiert mit einer Geschwindigkeit von etwa 2,500U/min. Die theoretische Bodenzahl der Kolonne liegt durchschnittlich bei 55.

Material: Kohlenwasserstoff-Fraktion des ätherischen Öls 20ml

Vakuum: 13 Torr

Temperatur: 1.5 Stunde Vorheizen

Kopf-Temp.(°C) Bad-Temp.(°C)

1. Fraktion	41	100
2. Fraktion	42~46	100

Zusammensetzung der Fraktionen: 1. Fraktion

war 94.2% α -Pinen, 2. Fraktion bestand aus sonstigen Monoterpenen, und im Sumpf waren 5.5% Monoterpene und 94.5% Sesquiterpene enthalten.

Rücklaufverhältnis: 1 : 10

Destillationsgeschwindigkeit: 0.1ml/min

Destillationsdauer: 5 Stunden

Ergebnisse und Diskussion

Innerhalb von zwei Stunden nach dem Destillationsbeginn werden schon ca. 50% des ätherischen Öls (aus Blütenständen und Stengeln) gewonnen (Abb. 1). Das legt die Vermutung nahe, daß ein großer Teil des Öls aus sehr flüchtigen Substanzen besteht. Nach vier Stunden beträgt die Ölausbeute ca. 80%. Die ersten Fraktionen der Destillation sind farblos, die weiteren werden nach und nach gelb. Die oberirdischen Teile, geerntet von August bis September, erbrachten 0,6~1,1% ätherisches Öl. Während der Blütezeit hatten die Blütenstände den höchsten Gehalt an ätherischem Öl im Vergleich zu den anderen oberirdischen Organen (Tabelle).

Tabelle ätherische Öl-Ausbeute aus den oberirdischen Organen von *Solidago canadensis*

(% in Bezug auf Trockengewicht)

Organe	Gehalt (%)
Blütenstände	1.7
Blätter	0.9
Stengel	0.2

Die unterirdischen Organen zeigen ebenfalls einen hohen Gehalt (1.1%) an ätherischem Öl. Das Wurzel-Öl hat einen spezifischen Geruch.

Zur Detektion wurden die Fraktionen aus der Säule direkt oder eingengt auf DC-Schichten aufgetragen. Werden die Chromatogramme mit Dichlormethan entwickelt, dann sind die Kohlenwasserstoffe deutlich von sauerstoffhaltigen Terpenen zu unterscheiden, da die Zone der Kohlenwasserstoffe mit Abstand oberhalb der sauerstoffhaltigen Verbindungen liegt (Abb. 2). Die Kohlenwasserstoff-Zone hat einen hRF-Bereich zwischen 77~85, und die sauerstoffhaltigen Verbindungen erscheinen zwischen 12~53.

Die Elutionsmittel wurden mittels eines Rotationsverdampfers im Vakuum abgedampft und der Rückstand gewogen. Das Verhältnis von

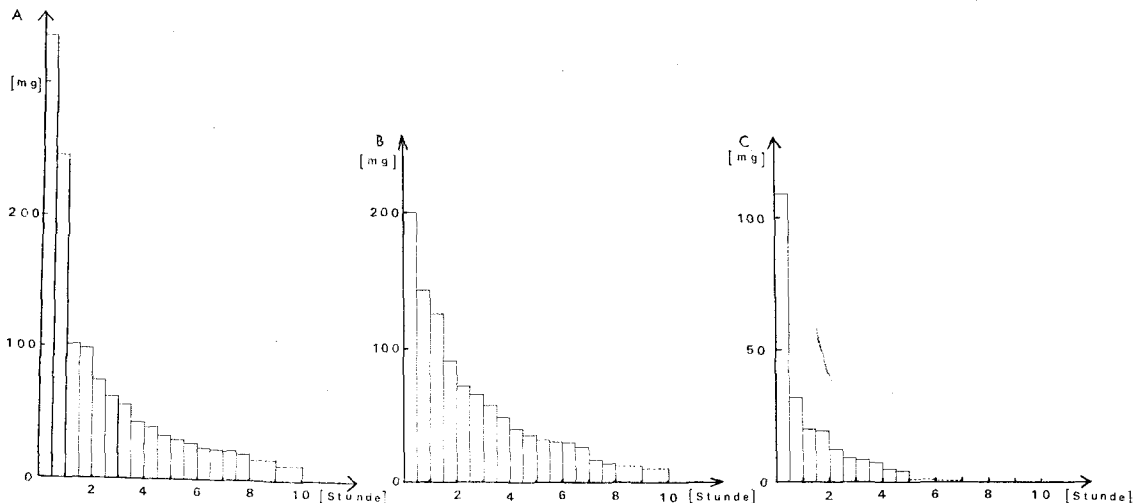


Abb. 1. Destillationsdiagramme der Blütenstände, Blätter und Stengel von *Solidago canadensis*

A : Destillationsdiagramme der Blütenstände

B : Destillationsdiagramm der Blätter

C : Destillationsdiagramm der Stengel

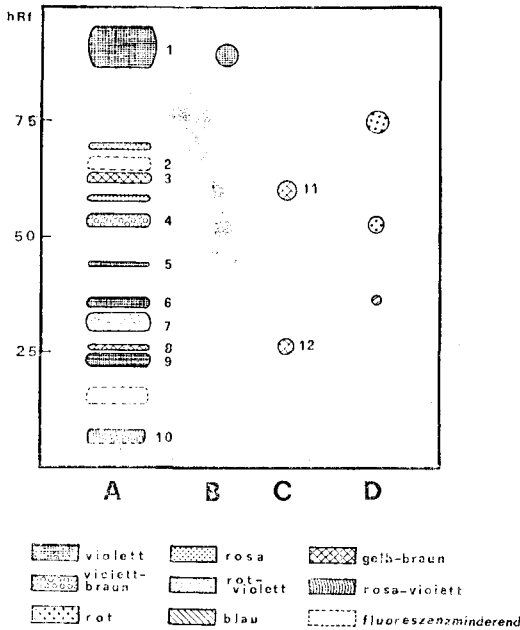


Abb. 2. Dünnschicht-Chromatogramm des ätherischen Öls von *Solidago canadensis*
 A : ätherisches Öl aus oberirdischen Teilen
 B : Limonen
 C : Bornylacetat(a), Borneol(b)
 D : lipophiles 3-Farbstoffgemisch nach Stahl
 Fließmittel: Dichlormethan Schicht: Kieselgel 60F₂₅₄(Merck), 0,25mm Laufstrecke: 2×15cm
 Detektion: Anisaldehyd-Schwefelsäure

Kohlenwasserstoff zu sauerstoffhaltigen Verbindungen betrug 85 zu 15. Die sauerstoffhaltigen Kohlenwasserstoff-Anteile waren etwas gelblich, während die Terpenkohlenwasserstoff-Anteile farblos waren.

Mit Silbernitrat imprägnierte DC

Bei der Silbernitrat-Gradient-Dc hat sich eine 2 prozentige Imprägnierung als optimal für das vorliegende Trennproblem erwiesen. Auf dem Chromatogramm (Abb. 3) war die Kohlenwasserstoff-Fraktion in 8 Zonen getrennt. Diese wurden im Laufe der Arbeit zum Teil säulenchromatographisch und zum Teil durch Kopplungsverfahren identifiziert. Wie bei den Standardsubstanzen zu sehen waren, lagen die Zonen der Verbindungen, die eine Doppelbindung ha-

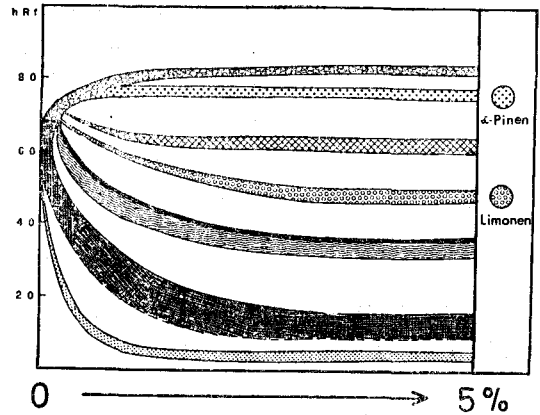


Abb. 3. Silbernitrat-T-Gradient DC
 Schicht: Kieselgel G-Silbernitrat imprägniert 0~5%
 Fließmittel: Dichlormethan-Essigsäureäthylester (90+10)
 Entwicklung: 15cm
 Detektion: Anisaldehyd-Schwefelsäure

ben, z.B. α -Pinen, im oberen Rf-Bereich. Dann traten die Zonen der Verbindungen wie Limonen (zwei Doppelbindungen) im mittleren Rf-Bereich auf. Im untersten Rf-Bereich waren die Substanzen, die mit Silberionen starke Komplexbildung zeigten.

Präparative Gaschromatographie (Abb. 4)

In den ersten 25 Minuten (80~200°C) werden die Monoterpene, in den nächsten 25 Minuten (200°C) die Sesquiterpene abgetrennt. Die abgetrennten Fraktionen werden durch Abkühlung mit flüssigem Stickstoff in die Kühlfalle kondensiert. Die abgetrennten Fraktionen werden durch analytische GC kontrolliert. Hierbei konnte keine Zersetzung der Substanzen während der Chromatographie festgestellt werden. Im Dünnschicht-Chromatogramm (Abb. 5) gab es jedoch bei einigen Sesquiterpenen-Fraktionen Hinweise auf Zersetzungs Vorgänge.

Fraktionierte Destillation mit der Drehbandkolonne

Als Vorversuch für die fraktionierte Destillation des ätherischen Öls wurde eine Destillation mit einem Modellgemisch aus Limonen,

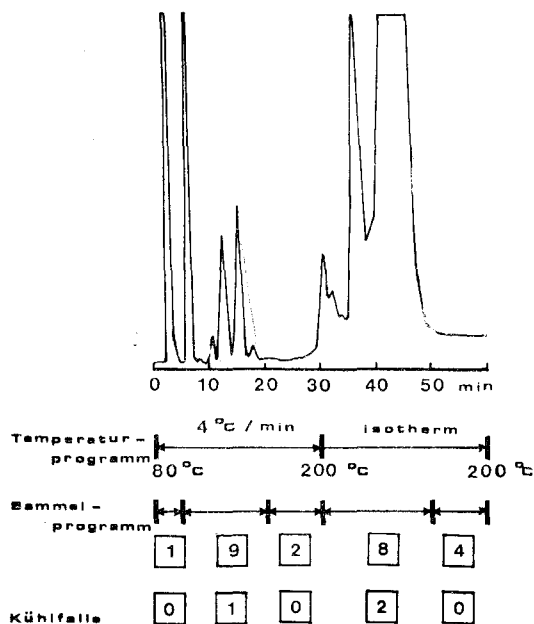


Abb. 4. Präparative GC der Kohlenwasserstoff-Fraktion des ätherischen Öls von *Solidago canadensis*

Carvon und Caryophyllen durchgeführt.

Die Fraktionen der Destillation wurden dünn-schichtchromatographisch untersucht. Die erste Fraktion bestand aus reinem Limonen, die zweite Fraktion war ein Gemisch aus Carvon und Limonen. Die dritte Fraktion war reines Carvon, und auch die vierte Fraktion enthielt hauptsächlich Carvon, mit etwas Caryophyllen. Die fünfte Fraktion war dann reines Caryophyllen. Im Destillationssumpf blieben Caryophyllenepoxid sowie Polymerisationsprodukte zurück.

Nach dem Modellversuch wurden die Kohlenwasserstoffe des ätherischen Öls von *S. canadensis* destilliert. Da die Siedepunkte einzelner Komponenten der Kohlenwasserstoffe keine großen Unterschiede aufwiesen, wurde hierbei auf die Feintrennung einzelner Komponenten verzichtet und nur die Vortrennung der Kohlenwasserstoffe in die Mono- und Sesquiterpenfraktion durchgeführt.

Die theoretisch geforderte Feintrennung ist

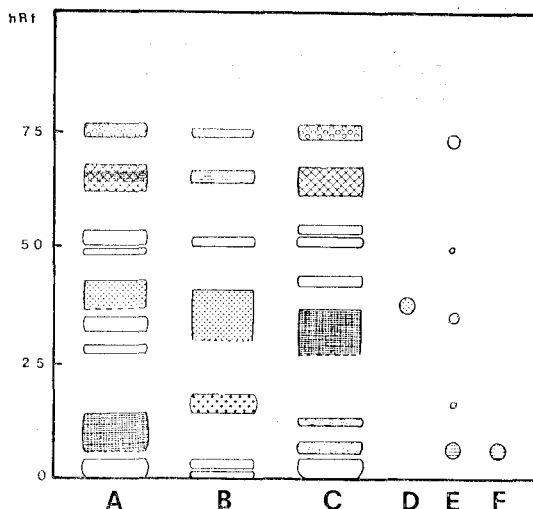


Abb. 5. Dünnschicht-Chromatogramm der Fraktionen aus der präparativen Gaschromatographie

- A : Kohlenwasserstoffe von *Solidago canadensis* (Ausgangsmaterial)
 - B : Monoterpenfraktion
 - C : Sesquiterpenfraktion
 - D : Limonenfraktion
 - E : Caryophyllenfraktion
 - F : Standard-Caryophyllen
- Schicht: mit 2% Silbernitrat imprägniertes Kieselgel
 Fließmittel: Dichlormethan+Essigsäureäthylester (95+5)
 Laufstrecke: 15cm
 Detektion: Anisaldehyd-Schwefelsäure

nämlich nur mit temperaturstabilen Substanzen zu erreichen, da wegen des großen Rücklaufverhältnisses sehr lange Destillationszeiten erforderlich sind, im vorliegenden Fall aber konnten wegen Zersetzung der sehr empfindlichen Naturstoffe die Versuchsbedingungen für solche Feintrennungen nicht eingehalten werden.

Bei der Destillation wurde der Temperaturanstieg des Ölbad am Kopf der Kolonne durch einen angeschlossenen Zweikanal-Schreiber laufend registriert. Einige Schwierigkeiten ließen sich experimentell nicht beseitigen. Die niedrig siedenden Monoterpene gingen während der Destillation zum Teil verloren, da die Wasserkühlung nicht für die rasche Kondensation sol-

cher Substanzen ausreichte. Eine weitere Schwierigkeit bei der Destillation ergab sich durch die Neigung der Sesquiterpen-Fraktion zu Siedeverzügen. Die Siedeverzüge entstanden, weil der Sesquiterpenanteil im Sumpf zur Polymerisation neigte und so eine viskose Masse entstand. Die Destillation konnte nur mit Hilfe einer Siedekapillare fortgesetzt werden, die an eine Stickstoff-Flasche angeschlossen war.

Die Monoterpene destillierten alle bei 100°C (Ölbad-Temperatur), und die Sesquiterpene blieben im Sumpf zurück.

Literaturverzeichnis

1. Huber, H.: *Hegi*, Bd. IV, Carl Hanser, München 1963, S. 16.
2. Mayer, R.A. und M. Mayer: *Pharmazie* 5, 82 (1950)
3. Gildermeister, E. und F. Hoffmann: *Die ätherische Öle*, Bd. 1, Akademie-Verlag, Berlin 1956
4. Guenther, E.: *Essential Oils*, Vol. 1, Van Nostrand Comp., New York, 1948, S. 178
5. Adihikari, V.M.: *Diss.*, Univ. d. Saarlandes 1965
6. Kirchner, J.G. und J.M. Miller: *Ind. Eng. Chem.* 44(2), 318 (1966)
7. Vollmann, H.: *Diss.*, Univ. d. Saarlandes (1967)
8. Kunde, R.: *Diss.*, Univ. d. Saarlandes (1974)
9. Stahl, E. und W. Schilz: *Chem. Eng. Techn.* 48 (9), 773 (1976)
10. Stahl, E.: *Chromatographische und mikroskopische Analyse von Drogen*, Gustav Fischer, Stuttgart 1970, S. 181

<Received December 12, 1981>