

# L'olio essenziale delle foglie di piante tipiche della flora mediterranea

Nota I. *Bupleurum fruticosum* L. (Apiaceae)

G. Dugo<sup>1</sup>, A. Trozzi<sup>2</sup>, A. Verzera<sup>3</sup>, A. Rapisarda<sup>4</sup>

<sup>1</sup> Dipartimento Farmaco-chimico, Facoltà di Farmacia, Università di Messina, Vill. Annunziata, I-98161, Messina, Italia

<sup>2</sup> Facoltà di Farmacia, Università di Catanzaro, Roccelletta di Borgia, I-88021, Catanzaro, Italia

<sup>3</sup> DOFATA, Facoltà di Agraria, Università di Catania, Via S. Sofia, I-95124, Catania, Italia

<sup>4</sup> Dipartimento Farmaco-biologico, Facoltà di Farmacia, Università di Messina, Vill. Annunziata, I-98161, Messina, Italia

## Riassunto

Nell'ambito di ricerche, che hanno per oggetto lo studio dell'olio essenziale delle foglie di piante tipiche della flora mediterranea, vengono riportati i risultati relativi alla composizione dell'olio delle foglie di *Bupleurum fruticosum* L. (Apiaceae). Le foglie sono state raccolte da piante che crescono spontaneamente in Sicilia, nella provincia di Messina. L'olio essenziale è stato estratto utilizzando un sistema SDE (Simultaneous Distillation Extraction) ed analizzato tramite HRGC/MS e HRGC/FID. Nell'olio sono stati identificati 65 componenti che costituiscono oltre il 98% del totale. L'olio è caratterizzato da un notevole contenuto di idrocarburi monoterpenici, in particolare  $\alpha$ -pinene (21.66%),  $\beta$ -fellandrene (21.29%) e  $\beta$ -pinene (13.21%).

**PAROLE CHIAVE:** *Bupleurum fruticosum* L.; l'olio delle foglie; composizione; HRGC; HRGC/MS; indici di ritenzione lineari.

## Summary

In the context of researches, which aim to the study of the leaf oil composition of typical plants of the Mediterranean areas, here we report the leaf oil composition of *Bupleurum fruticosum* L. (Apiaceae). The leaves were collected in the province of Messina, Sicily. The oil was extracted by SDE (Simultaneous Distillation Extraction) and analysed by HRGC/MS and HRGC/FID. 65 components were identified which constituted more than 98% of the whole oil. The oil was characterised by a high content of monoterpene, mainly  $\alpha$ -pinene (21.66%),  $\beta$ -fellandrene (21.29%) and  $\beta$ -pinene (13.21%).

**KEY WORDS:** *Bupleurum fruticosum* L.; leaf oil composition; HRGC; HRGC/MS; linear retention indices.

## 1. Introduzione

La flora mediterranea è estremamente ricca e tale ricchezza dipende in gran parte dalla grande varietà di zone climatiche e di habitat che si possono riscontrare nelle diverse aree di questa regione.

La maggior parte delle piante tipiche della flora mediterranea sono state poco studiate, malgrado molte di queste siano state largamente usate nella medicina popolare a diversi scopi terapeutici. E', pertanto, di grande interesse uno studio approfondito della loro composizione chimica, al fine di poter verificare la presenza di sostanze farmacologicamente attive e di valutarne, quindi, la possibilità di utilizzo in campo terapeutico. Molte di queste piante, inoltre, contengono preziosi oli essenziali e, razionalmente sfruttate, potrebbero essere utilizzate in profumeria e cosmetica.

Nell'ambito di queste ricerche, è stata studiata la composizione dell'olio essenziale delle foglie di alcune piante spontanee, tipiche della flora siciliana.

Il genere *Bupleurum* comprende circa 200 specie diffuse, principalmente, in Europa ed in Nord Africa.

Le specie più studiate provengono dalla Cina e dal Giappone (*Bupleurum falcatum* L., *Bupleurum chinense* Franch.) e sono state usate nella medicina orientale, per la loro azione stimolante, diuretica, antipiretica ed espettorante. *Bupleurum fruticosum* L. (figura 1), cresce spontaneo nel bacino del Mediterraneo su terreni calcarei (1) ed è un arbusto cespuglioso con forte odore resinoso, con rami rossicci e foglie quasi sessili, obovate-lanceolate sempreverdi, coriacee, di colore glauco sulla pagina inferiore, lunghe 5-8 cm ed ombrelle di fiori gialli. La fioritura si ha nel periodo di aprile-settembre. I frutti oblunghi, delle dimensioni di 7-8 mm, per il loro aroma simile all'anice, sebbene più amaro, sono stati usati come spezie. Le parti aeree di questa pianta sono state impiegate nella medicina popolare per la loro azione antinfiammatoria ed antisettica.

La maggior parte degli studi condotti su *B. fruticosum* riguardano la presenza di saponine triterpeniche nella radice (2-4) e di fenilpropanoidi nelle parti aeree (5,6). L'olio essenziale delle foglie di *B. fruticosum* è stato poco studiato (7,8) ed, inoltre, non esistono



**Fig. 1 - *Bupleurum fruticosum* L.**

informazioni sull'olio delle foglie di *B. fruticosum* siciliano. Peyron and Roubaud (7) identificano nell'olio delle foglie di piante di *B. fruticosum* coltivate in Italia e Francia, 13 componenti, idrocarburi monoterpenici e loro derivati ossigenati, evidenziando notevoli differenze quantitative in relazione alla zona di coltivazione. A. Manunta et al. (8), analizzando l'olio essenziale delle foglie di piante di *B. fruticosum* coltivate in un campo sperimentale dell'Università di Urbino, identificano 14 componenti, tra i quali i più rappresentati sono il sabinene (39.74%) e il  $\beta$ -fellandrene (38.71%).

Nel presente lavoro vengono riportati i risultati relativi alla composizione dell'olio delle foglie di piante siciliane di *Bupleurum fruticosum* L.

## 2. Parte sperimentale

Le foglie di *Bupleurum fruticosum* L. sono state raccolte nel mese di aprile 1999 da piante che crescono spontaneamente in Sicilia, nella provincia di Messina.

L'olio essenziale è stato estratto utilizzando un sistema SDE (9), utilizzando 2 g di foglie, provenienti da piante diverse, opportunamente triturate, e  $\text{CHCl}_3$  come solvente. L'estratto, ridotto a piccolo volume, è stato analizzato tramite HRGC/MS per l'identificazione dei componenti la frazione volatile e tramite HRGC/FID per il dosaggio quantitativo dei componenti identificati.

## HRGC

Gasromatografo, Carlo Erba serie Mega 5160; colonna capillare di silice fusa, 30 m x 0.32 mm d.i., rivestita di Megawax (Mega, Milano, Italia); spessore del film, 0.40-0.45  $\mu\text{m}$ ; temperatura della colonna, 40°C (6 min) a 220°C con un incremento di 2°C/min; sistema di iniezione, split-splitless; rivelatore, FID; temperatura iniettore e rivelatore, 250°C; gas di trasporto, elio 150 kPa; registrazione del cromatogramma, integrazione dei picchi e calcoli quantitativi mediante integratore Shimadzu CR3A.

## HRGC/MS

Strumentazione GC/MS MD 800 (Fisons, Instruments, Milano, Italia); colonna capillare di silice fusa, 30 m x 0.25 mm d.i., rivestita di Megawax; spessore del film, 0.40-0.45  $\mu\text{m}$ ; temperatura della colonna, 40°C (6 min) a 220°C con un incremento di 2°C/min; sistema di iniezione, split; temperatura iniettore, 250°C; gas di trasporto, He 90 kPa; tempe-

ratura all'interfaccia GC/MS, 250°C; temperatura alla sorgente, 200°C; intervallo di acquisizione da 39 a 250 amu; energia di ionizzazione, 70 eV; acquisizione dei dati mediante software Mass-Lab (Fisons, Instruments, Milano, Italia).

L'identificazione dei composti è stata effettuata utilizzando una libreria di spettri di massa commerciale (NIST), una libreria di spettri di massa costruita in laboratorio, utilizzando circa 200 composti standard reperiti in commercio o isolati in laboratorio, e gli indici di ritenzione lineari.

## 3. Risultati

L'olio essenziale estratto dalle foglie di *Bupleurum fruticosum* L. si presenta incolore e di odore fortemente aromatico caratteristico. Nella figura 2 è riportato il cromatogramma HRGC/MS dell'olio estratto e nella tabella 1 è riportata la composizione percentuale.

**Tabella 1**  
Composizione in singoli componenti dell'olio essenziale delle foglie di *Bupleurum fruticosum* L.

	Nome del composto	I.R.	Area %
1)	$\alpha$ -pinene	1014	21,66
2)	$\alpha$ -tuienene	1042	0,02
3)	canfene	1085	0,23
4)	$\beta$ -pinene	1104	13,21
5)	sabinene	1127	6,74
6)	$\delta$ -3-carene*	1142	0,13
7)	$\alpha$ -fellandrene	1151	0,70
8)	mircene	1157	1,98
9)	$\alpha$ -terpinene	1168	0,13
10)	diidro-1,8-cineolo*	1175	tr
11)	limonene	1182	2,00
12)	$\beta$ -fellandrene	1224	21,29
13)	$\gamma$ -terpinene	1237	2,95
14)	(E)- $\beta$ -ocimene	1246	0,02
15)	<i>o</i> -cimene*	1259	1,70
16)	terpinolene*	1284	0,08
17)	amile isovalerato*	1373	tr
18)	2,6-dimetil-5-eptenale*	1374	0,51
19)	nonanale*	1410	tr
20)	2,5-dimetilstirene*	1457	0,02
21)	$\delta$ -elemene*	1461	0,03
22)	$\alpha$ -copaene*	1485	3,43
23)	$\beta$ -bourbonene*	1511	0,17
24)	$\alpha$ -cubebene*	1530	2,41
25)	<i>trans</i> -sabinene idrato*	1539	tr
26)	sesquiterpene*	1554	0,07
27)	calarene*	1559	0,05
28)	$\beta$ -cariofillene*	1563	0,54
29)	$\beta$ -elemene*	1575	0,02
30)	timolo metiletere*	1578	tr
31)	terpinen-4-olo	1583	0,02
32)	carvacrolo metiletere*	1605	2,93
33)	longifolene*	1629	0,19
34)	$\alpha$ -umulene*	1641	0,40
35)	(Z)-anetolo*	1670	0,19
36)	germacrene D*	1677	8,74
37)	$\alpha$ -terpineolo	1683	0,15
38)	valencene*	1695	0,02

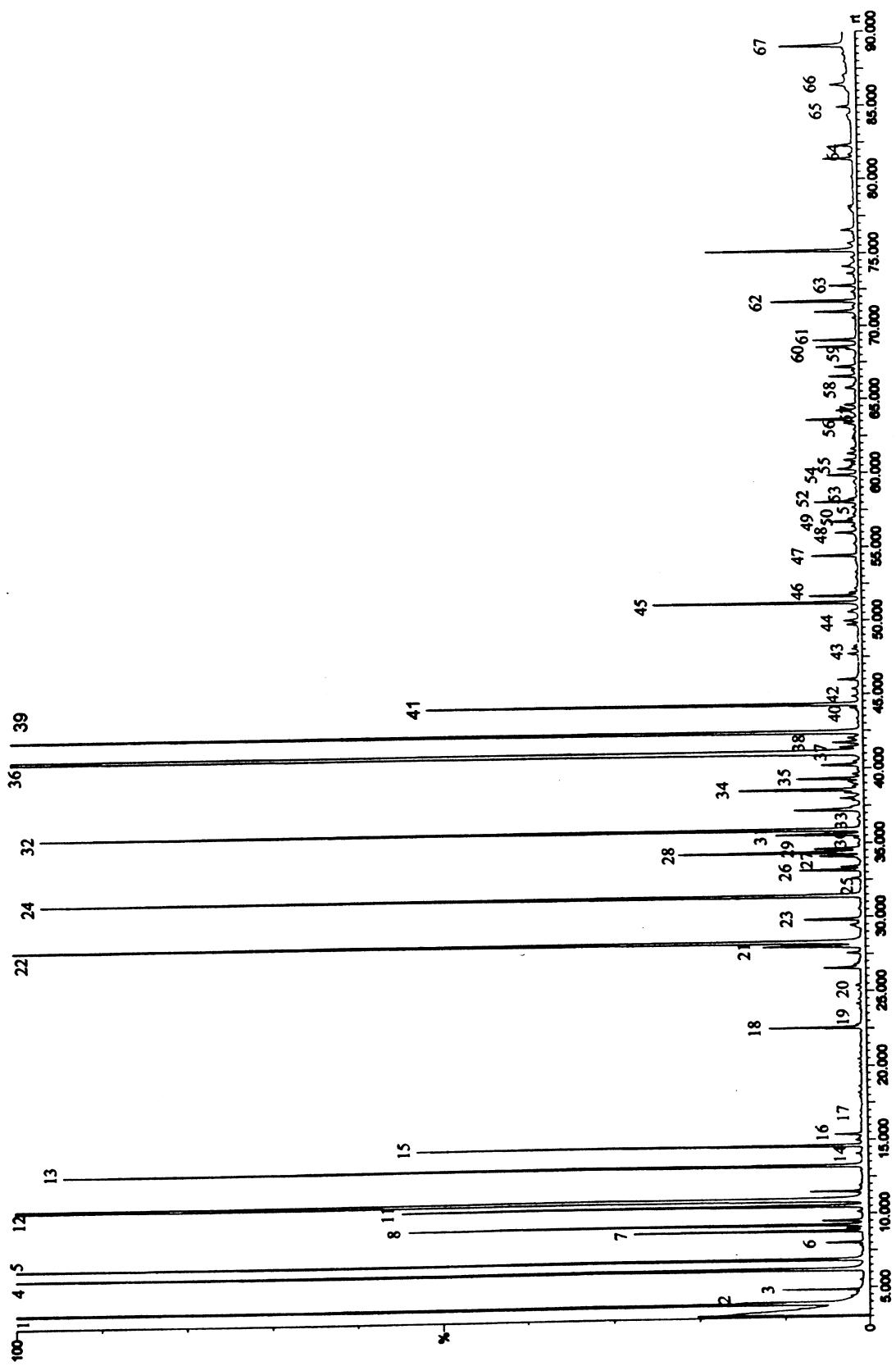


Fig. 2 - Cromatogramma HIRGC/MS dell'olio delle foglie di *Bupleurum fruticosum* L.

39)	biciclogermacrene*	1724	3,03
40)	cis- $\gamma$ -cadinene*	1728	0,01
41)	$\delta$ -cadinene*	1737	1,09
42)	(E,E)- $\alpha$ -farnesene*	1795	0,01
43)	(E)-anetolo*	1831	tr
44)	p-cimen-9-olo*	1855	0,07
45)	2,5-dimetossi-p-cimene*	1864	0,40
46)	cubebolo*	1916	0,11
47)	epi-cubebolo <sup>t</sup>	1947	0,09
48)	fenil,etil-2-metilbutanoato <sup>t</sup>	1962	0,03
49)	fitolo acetato*	1966	0,06
50)	fenil,etil-3-metilbutanoato <sup>t</sup>	1980	tr
51)	p-anisaldeide*	1987	tr
52)	(E)-fitolo acetato*	1991	0,08
53)	ledolo*	2024	tr
54)	cubenolo <sup>t</sup>	2032	0,02
55)	1,10-di,epi-cubenolo*	2095	0,02
56)	spatuleno <sup>t</sup>	2111	0,01
57)	mircenone*	2146	tr
58)	cadinolo*	2202	0,09
59)	carvacrolo*	2206	0,01
60)	$\alpha$ -cadinolo*	2216	0,07
61)	elemicina*	2276	0,05
62)	cinnamile isovalerato*	2300	tr
63)	estere	2508	tr
64)	p-metossi-cinnamaldeide*	2598	0,01
65)	benzoato di benzile*	2609	0,03
66)	fitolo*	2627	0,01
67)	3(metossifenil)-2-propen-1-olo*	2695	0,12

t = tentativo

\* = composto identificato per la prima volta nell'olio di *Bupleurum fruticosum* L.

tr = tracce (< 0.01)

le in singoli componenti e gli indici di ritenzione lineare dei componenti identificati.

Nell'olio essenziale ottenuto dalle foglie di *B. fruticosum* sono stati identificati 65 componenti:

- Idrocarburi monoterprenici: i più rappresentati sono  $\alpha$ -pinene (21.66%),  $\beta$ -fellandrene (21.29%),  $\beta$ -pinene (13.21%) e sabinene (6.74%).
- Idrocarburi sesquiterprenici: i più rappresentati sono germacrene D (8.74%),  $\alpha$ -copaene (3.43%), biciclogermacrene (3.03%) e  $\alpha$ -cubebene (2.41%).
- Composti ossigenati alifatici ed aromatici (eteri, alcoli, esteri, aldeidi e chetoni): il più rappresentato

è il carvacrolo metil etere (2.93%).

La maggior parte dei composti identificati vengono riportati per la prima volta nell'olio di *B. fruticosum* e i risultati ottenuti non sono paragonabili con quelli riportati in precedenza da altri autori (7,8) e relativi ad un numero molto limitato di componenti.

Dai risultati ottenuti è possibile affermare che l'olio di *B. fruticosum* è caratterizzato da un elevato contenuto di idrocarburi mono (72.84%) e sesquiterprenici (20.21%) e dalla presenza di numerosi composti ossigenati aromatici che costituiscono complessivamente il 3.64% del totale.

#### Bibliografia:

- 1) Pignatti, S. Flora d'Italia vol. II Edagricole, Bologna, 1982.
- 2) Pistelli, L., Bertoli, A., Bilia, A.R., and Morelli, I. Minor constituents from *Bupleurum fruticosum* roots. *Phytochem.*, **41** (6), 1579-1582, 1986.
- 3) Pistelli, L., Bilia, A.R., Marsili, A., De Tomasi N., and Manunta, A. Triterpenoids saponins from *Bupleurum fruticosum*. *J. Nat. Prod.*, **56** (2), 240-244, 1993.
- 4) Guinea, M.C., Parellada, J., Lacaille-Dubois, M.A., and Wagner, H. Biologically active triterpene saponins from *Bupleurum fruticosum*. *Planta medica*, **60**, 163-167, 1994.
- 5) Pistelli, L., Bilia, A.R., Bertoli, A., Morelli, I., and Marsili, A. Phenylpropanoids from *Bupleurum fruticosum*. *J. Nat. Prod.*, **58** (1), 112-116, 1995.
- 6) Massanet, G.M., Guerra, F.M., Jorge, Z.D., and Caslavazquez, L.G. Phenylpropanoids from *Bupleurum fruticosum*. *Phytochem.*, **44** (1), 173-177, 1997.
- 7) Peyron L. and Roubaud, M. Sur une essence de *Bupleurum fruticosum* L. *Plante Médicin. Phytoth.*, **4**, 172-175, 1970.
- 8) Manunta, A., Tirillini B., and Fraternali, D. Secretory tissues and essential oil composition of *Bupleurum fruticosum*. *J. Essent. Oil Res.*, **4**, 461-466, 1992.
- 9) Godefroot, M., Sandra P., and Verzele, M. New method for quantitative essential oil analysis. *J. Chromatogr.*, **203**, 323-335, 1981.