

ANNALES
UNIVERSITATIS MARIAE CURIE-SKŁODOWSKA
LUBLIN—POLONIA

VOL. XXVII, 22

SECTIO D

1972

Zakład Farmakognozji. Instytut Analizy i Technologii Farmaceutycznej Akademii Medycznej
w Lublinie.

Kierownik Zakładu: doc. dr hab. Florentyna Biełoszabska

Florentyna KUDRZYCKA-BIEŁOSZABSKA,
Kazimierz GŁOWNIAK

**Dalsze badania nad *Chaerophyllum hirsutum* L. ssp. *cicutaria* Briq.
var. *glabrum*. Cz. III. Olejek z wszystkich organów**

Продолжение исследований *Chaerophyllum hirsutum* L. ssp. *cicutaria* Briq. var.
glabrum. Ч. III. Эфирное масло во всех органах растений

Further Research on *Chaerophyllum hirsutum* L. ssp. *cicutaria* Briq. var. *glabrum*.
Part III. Oil from all Organs

Świerżabek orzęsiony jest mało zbadaną, dziko rosnącą rośliną olejkową. W dwóch poprzednich publikacjach (1, 2) przebadano olejek z owoców. Oznaczono zawartość olejku w różnych fazach rozwoju owoców oraz jego skład chemiczny metodą chromatografii cienkowarstwowej i gazowej. Spośród 23 wykrytych składników zidentyfikowano 9. Obecna praca jest kontynuacją tych badań i obejmuje analizę chemiczną olejku uzyskanego ze wszystkich organów świerżabka orzęsionego (kwiaty, owoce, ziele, kłącza z korzeniami). W badaniach tych uwzględniono wpływ takich czynników jak stanowisko, faza rozwoju rośliny oraz suszenie surowca. Szersze badania świerżabka orzęsionego jako rośliny olejkowej są celowe, ze względu na prowadzone w Polsce poszukiwania krajowych surowców olejkowych, zawierających takie składniki jak cineol (3), eugenol (4) czy kamforę (5).

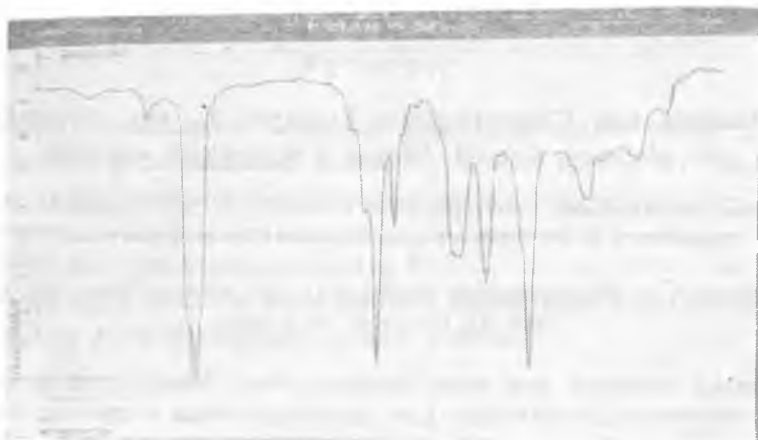
MATERIAL I METODY

Materiał roślinny zebrano ze stanowisk naturalnych głównie w Beskidzie Sądeckim oraz w mniejszej ilości w Bieszczadach, a także w Ogrodzie Farmakognostycznym w Lublinie. Surowiec badano w stanie świeżym jak i po wysuszeniu na wolnym powietrzu. Ziele świerżabka orzęsionego zbierano przez ścięcie na wysokości 20 cm od powierzchni gruntu. Liście przyziemne stanowiły 60—70% masy zielnej. Zbioru dokonano w pięciu kolejnych okresach rozwoju: a) przed kwitnieniem, II dekada maja, b) w czasie kwitnienia, I dekada czerwca, c) początek owocowania, III dekada czerwca, d) po opadnięciu owoców, II dekada lipca i e) pod koniec wegetacji, I dekada października.

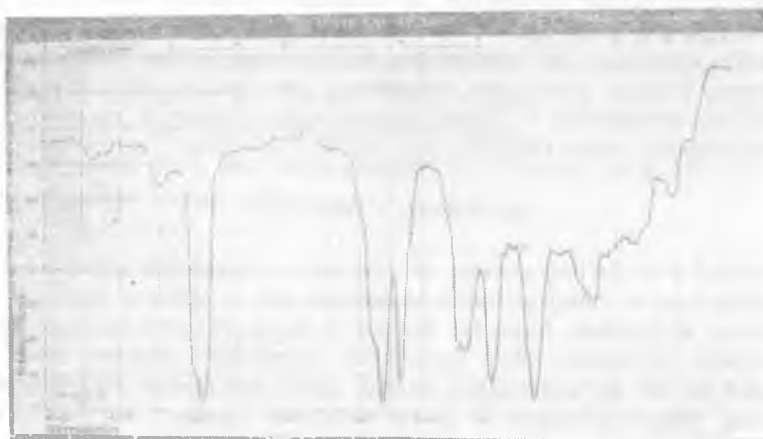
Owoce zbierano w miarę ich stopniowego rozwoju i dojrzewania, dzieląc uzyskany materiał pod względem wielkości owoców oraz stopnia ich dojrzałości: I) owoce niedojrzałe, zielone 3—5 mm dł., II) owoce niedojrzałe, zielone 5—7 mm dł., III) owoce niedojrzałe, zielone 7—9 mm dł., IV) owoce dojrzewające zielono-brunatne 7—9 mm dł. i V) owoce brunatne, dojrzałe — opadające 7—9 mm dł. Ponadto porównano materiał (owoce dojrzałe, ziele kwitnące) zebrany z trzech różnych stanowisk (Beskid Sądecki, Bieszczady, Ogród Farmakognostyczny) oraz materiał (owoce dojrzałe) zebrany w ciągu trzech lat (1967—1969) z tego samego stanowiska (Beskid Sądecki).

Zawartość i własności fizyko-chemiczne olejku

Procentową zawartość olejku oznaczono metodą destylacji z parą wodną wg FP III, zaś wilgoć w surowcu świeżym i po wysuszeniu przez destylację z cztero-



Ryc. 1. Widmo IR olejku z kwiatów
Spectrum IR oil from flowers



Ryc. 2. Widmo IR olejku z owoców
Spectrum IR oil from fruit

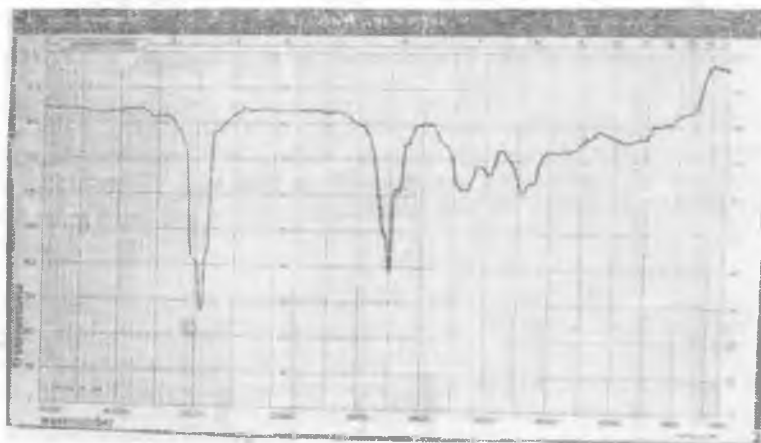
chloroetanem. Uzyskane wyniki stanowią średnią z trzech oznaczeń w przeliczeniu na suchą masę surowca. Oddestylowane próbki olejku, osuszone bezwodnym siarczanem sodu posłużyły do dalszych badań chemicznych. Przechowywano je w zatopionych rurkach szklanych bez dostępu światła.

Ciężar właściwy olejku oznaczono przy pomocy piknometrze szklanego, współczynnik refrakcji w refraktometrze Zeiss-Jena. Analizę widmową wykonano przy pomocy spektrofotometru Unicam SP. 260 w KBr. Liczby: kwasową, zmydlania i estrową oznaczono wg ogólnie przyjętych metod.

Procentową zawartość i własności fizyko-chemiczne olejku uzyskanego z przebadanych próbek surowca przedstawiono w tab. nr 1 i 2. Widmo IR próbek olejku uzyskanego z czterech organów świerzábka orzęsionego (kwiaty, owoce, ziele, kłącza z korzeniami) ilustrującą ryc. 1—4.



Ryc. 3. Widmo IR olejku z ziele
Spectrum IR oil from greenery



Ryc. 4. Widmo IR olejku z kłączy i korzeni
Spectrum IR oil from rhizome and roots

Tab. 1. Procentowa zawartość i własności fizyko-chemiczne oleju ze świeżych i suchych organów świerżabka (w przeliczeniu na suchą masę)
 The percentage of contents and property of physico-chemical oil from fresh and dry organs of a chervil (calculated on a dry mass)

Lp.	Próbki surowca	% oleju	d_{20}	n_D^{20}	Liczba zmydl.	Liczba kwas.	Liczba estr.	Barwa
1	Kwiaty	x 2,25 xx 0,70	0,9680 0,9748	1,4778 1,4816	— 131,45	— 7,15	— 124,3	j. żółta żółta
2	Owoce dojrzałe	x 2,60 xx 2,40	0,9767 0,9761	1,4845 1,4940	— 141,63	— 5,63	— 136,0	j. żółta j. żółta
3	Ziele kwitnące	x 0,62 xx 0,59	0,9692 0,9757	1,4809 1,4933	— 135,04	— 4,44	— 130,6	ż.-ziel. ż.-ziel.
4	Kłącza z korzeniami	x 0,08 xx 0,07	0,9378 0,9414	1,4948 1,4936	— 28,47	— 0,87	— 27,6	żółta żół.-pom.

x — olejek z organów świeżych, xx — olejek z organów suchych

Tab. 2. Procentowa zawartość i własności fizyczne olejku z owoców i ziela świeżych zebranych w różnych okresach rozwoju rośliny i z różnych stanowisk (surowiec wysuszony)

The percentage of physical contents and property of oil in fruit and chervil greenery, collected during different growth periods of the plant and from different locations (dried raw material)

Próbki surowca		% olejku	d ₂₀	n _D ²⁰	Barwa olejku
Owoce	I	6,13	0,9512	1,4806	zielono-żółta
	II	5,22	0,9549	1,4879	zielono-żółta
	III	4,78	0,9583	1,4852	zielono-żółta
	IV	3,21	0,9747	1,4961	zielono-żółta
	V	2,40	0,9761	1,4940	jasnożółta
Ziele	a	0,35	0,9824	1,4964	zielono-żółta
	b	0,59	0,9757	1,4933	żółto-zielona
	c	0,49	0,9768	1,4847	żółto-zielona
	d	0,33	0,9807	1,4864	jasnożółta
	e	0,30	0,9831	1,4905	żółto-pomarańcz.
Owoce dojrzale	Beskid Sądecki	2,40	0,9761	1,4940	jasnożółta
	Bieszczady	2,62	0,9738	1,4912	jasnożółta
	Ogród Farmakognostyczny	2,45	0,9744	1,4978	jasnożółta
Ziele kwitnące	Beskid Sądecki	0,59	0,9757	1,4933	żółto-zielona
	Bieszczady	0,61	0,9744	1,4770	żółta
	Ogród Farmakognostyczny	0,57	0,9766	1,4978	żółta

I — Owoce niedojrzałe 3—5 mm, II — owoce niedojrzałe 5—7 mm, III — owoce niedojrzałe 7—9 mm, IV — owoce dojrzewające 7—9 mm, V — owoce dojrzale 7—9 mm, a — przed kwitnieniem, b — podczas kwitnienia, c — początek owocowania, d — po opadnięciu owoców, e — przed końcem okresu wegetacji (połowa października).

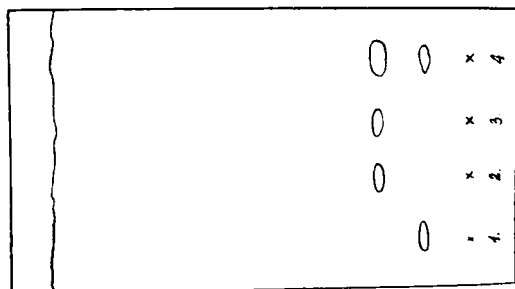
Chromatografia kolumnowa

Olejek z owoców (5g) chromatografowano na kolumnie o średnicy 2 cm, wypełnionej żelem krzemionkowym 100—200 mesh, do wys. 40 cm. Do wymywania kolumny użyto mieszaniny benzen-octan etylu 99:1. Zbierano frakcje 10 ml, które analizowano na płytkach w układzie benzen-octan etylu 9:1.

Frakcje 1—6. Kontrolowane na płytkach wycieki stanowiły nierozdzieloną mieszaninę węglowodorów terpenowych. Ze względu na małą ilość frakcji tych nie badano.

Fracje 7—8. Uzyskane wycieki zawierające ten sam związek połączono i odpędzono rozpuszczalnik, uzyskując 0,15 g oleistej pozostałości. Oznaczony współczynnik załamania światła badanej substancji wynosił $n_D^{20} = 1,4620$. Położenie plamy na chromatogramie ($R_f = 0,78$) sugerowało estrowy charakter tego związku (6). Absorpcja światła w zakresie 1730 cm^{-1} (widmo IR) mogła wskazywać na obecność ugrupowania estrowego.

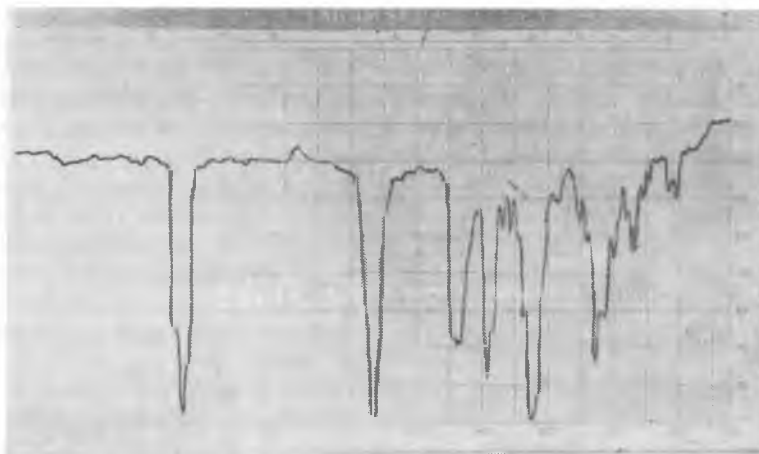
Hydroliza frakcji 7—8. 0,1 g frakcji hydrolizowano 0,5 n etanolem w roztworze NaOH (5 ml) przez ogrzewanie pod chłodnicą zwrotną w ciągu 2 godz. Roztwór po hydrolizie rozcieńczono wodą a produkt hydrolizy oddestylowano z parą wodną. Odzyskany destylat chromatografowano na płytkach w układzie benzen-octan etylu 9 : 1 i wywoływano waniliną (1). Uzyskano plamę badanego produktu hydrolizy zgodną co do wartości R_f i zabarwienia z chromatografowanym równocześnie wzorcem borneolu. Wyodrębniony komponent kwasowy (7) zidentyfikowano chromatograficznie jako kwas octowy (ryc. 5).



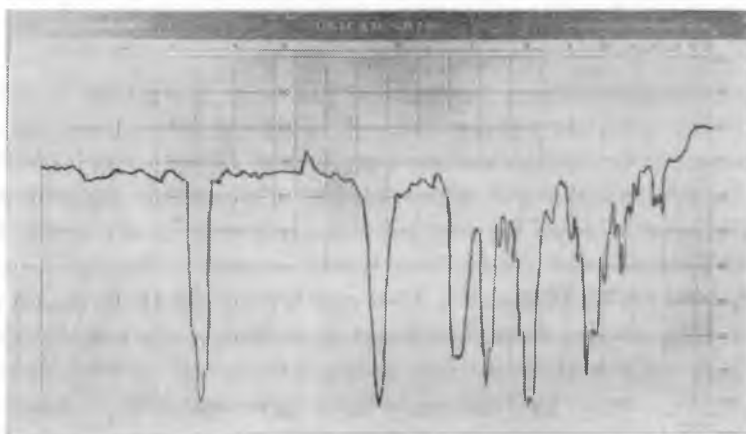
Ryc. 5. Chromatogram cienkowarstwowy komponentów kwasowych frakcji 7—8 i 10—11. Układ: heptan-pirydyna 9 : 11, wywoływacz — fuksyna; 1 — kwas mrówkowy, 2 — kwas octowy, 3 — kwas z frakcji 7—8, 4 — kwasy z frakcji 10—11
A thin layered chromatogram of acid fraction components 7—8 and 10—11, system: heptane-pyridine 9 : 11, developer fuchsin; 1 — formic acid, 2 — acetic acid, 3 — acid from the fraction 7—8, acids from the fraction 10—11

Fracje 10—11. Po skontrolowaniu na płytkach ($R_f = 0,74$) frakcje połączono i odparowano rozpuszczalnik, uzyskano 2,1 g płynnej substancji o charakterystycznym zapachu ($n_D^{20} = 1,4673$, $[\alpha]_D^{20} = -10^\circ 30'$). Wielkość frakcji wskazywała, iż jest to główny składnik olejku. Widmo w podczerwieni wykazało pasma absorpcji w zakresie: 1100 cm^{-1} , 1250 cm^{-1} , 1380 cm^{-1} , 1460 cm^{-1} , 1730 cm^{-1} ($C=O$) 2950 cm^{-1} ($-CH_3$) (ryc. 6). Absorpcja światła w zakresie 1750 cm^{-1} oraz wartość $R_f = 0,74$, pozwoliły wnosić o obecności ugrupowania estrowego.

Hydroliza frakcji 10—11. Po hydrolizie przeprowadzonej w sposób opisany wyżej uzyskano płynny produkt o charakterystycznym zapachu kamfory i pleśni. Własności fizyczne ($n_D^{20} = 1,4703$, $[\alpha]_D^{20} = +21$) były zgodne z własnościami d-β-fencholu. Uzyskana wartość $R_f = 0,31$. Widmo IR badanego produktu hydrolizy wskazywało na obecność wolnej grupy $-OH$ (1150 cm^{-1} , 3500 cm^{-1}). Analiza chromatograficzna komponentów kwasowych frakcji 10—11 wykazywała obecność dwóch składników. Jeden z nich (plama duża) odpowiadał wartością $R_f = 0,23$ wzorcowi kwasu octowego, zaś drugi (plama mała) wzorcowi kwasu mrówkowego ($R_f = 0,11$) (Ryc. 5).



Ryc. 6. Widmo IR frakcji 10—11
Spectrum IR fraction 10—11



Ryc. 7. Widmo IR wzorcowego octanu fenchylu
Spectrum IR standardised acetate fenchyl

Analiza produktów rozpadu frakcji 10—11 wskazywała na obecność octanu fenchylu jako głównego składnika olejku oraz ewentualną obecność mniejszych ilości mrówczanu fenchylu.

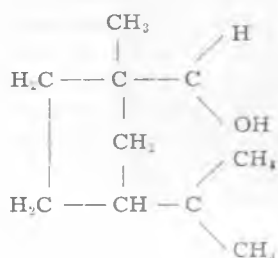
W celu chromatograficznego porównania frakcji 10—11 z wzorcem, sporządzono octan fenchylu z dostępnego wzorca fenchonu. Fenchon redukowano przy pomocy metalicznego sodu i alkoholu etylowego (8) do fencholu, który z kolei poddano acetylacji bezwodnikiem octowym. Uzyskany octan fenchylu ($n_D^{20} = 1,4673$, $[\alpha]_D^{20} = -11^{\circ}30'$) absorbował światło IR w zakresach zgodnych z widmem uzyskanym przy badaniu frakcji 10—11 (ryc. 7).

Analiza chromatograficzna cienkowarstwowa potwierdziła identyczność badanej frakcji z uzyskanym wzorcem.

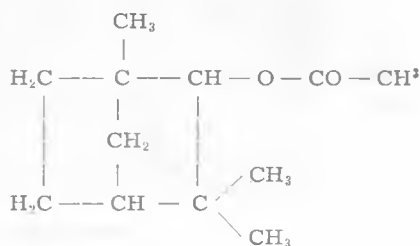
Kolejne frakcje 12—21 kontrolowane na płytkach zawierały mieszaniny co najmniej dwóch związków w ilościach, które nie pozwalały na ich wyodrębnienie.

Frakcja 22. Po odparowaniu uzyskano jednorodne kryształy w formie długich igieł o t.t. 37—38° zgodnej z temperaturą topnienia dl- α -fencholu (9). Analiza chromatograficzna cienkowarstwowa wykazała zgodność zabarwienia i wielkość Rf plam krystalicznego produktu i wzorcowego fencholu.

Końcowe frakcje 21—30 ze względu na minimalne ilości zawartych składników nie były badane.



Fenchol



octan fenchylu

OMÓWIENIE WYNIKÓW I WNIOSKI

Przeprowadzone badania wykazały zmienną zawartość i własności fizyczne olejku pochodzącego z różnych organów. Najwięcej olejku zawierają owoce, a następnie kwiaty i ziele, zaś najmniej kłącza z korzeniami. Własności fizyko-chemiczne olejku z organów nadziemnych są zbliżone. Olejek z kłączy i korzeni różni się znacznie niższą liczbą estrową oraz obrazem widma IR (słabo zarysowane pasma absorpcji w zakresie 1250 cm⁻¹, 1460 cm⁻¹, 1670 cm⁻¹, 1740 cm⁻¹) (ryc. 1—4). W czasie rozwoju owoców oraz ich dojrzewania zawartość olejku spada z 6,13% do 2,4%. Ziele zawiera najmniej olejku w czasie końcowego okresu wegetacji, a najwięcej w czasie kwitnienia (0,59%) i w początkach owocowania (0,49%). Suszenie powoduje gwałtowny spadek zawartości olejków w kwiatach (z 2,25% do 0,7%), zaś nieznaczny w pozostałych organach. Świerząbek orzęsiony wyhodowany w Ogrodzie Farmakognostycznym w Lublinie nie różni się istotnie pod względem zawartości i własności fizycznych olejku uzyskanego z owoców i ziela od surowca zebranego ze stanowisk naturalnych w Beskidzie Sądeckim i Bieszczadach.

We wcześniejszych badaniach chromatograficznych (1, 2) zidentyfikowano w olejku z owoców świerżabka orzęsionego α -pinen, β -pinen, kamfen, limonen, cineol, fenchon, metylochawikol, terpineol i eugenol. W wyniku przeprowadzonej w niniejszej pracy chromatografii kolumnowej wyodrębniono octan bornylu, fenchol oraz główny składnik olejku octan fenchylu, występujący w ilości ok. 50%. Owoce i ziele świerżabka orzęsionego zawierają olejek w ilościach umożliwiającą jego pozyski-

wanie. Wysoka zawartość octanu fenchylu, a także eugenolu i cineolu w oleju stwarza możliwość wykorzystania go jako naturalnego źródła do otrzymywania tych związków.

PIŚMIENNICTWO

1. Kudrzycka-Biełoszabska F. W., Głowniak K.: Ann. Univ. M. Curie-Skłodowska, sec. D, 25, 323—331, Lublin, 1970.
2. Kudrzycka-Biełoszabska F. W., Głowniak K.: Ann. Univ. M. Curie-Skłodowska, sec. D, 25, 333—342, Lublin, 1970.
3. Kohlmunzer S.: Diss. Pharm., 12, 143—163, 1960.
4. Krupińska A.: Ann. Pharm., 8, 93—102, 1970.
5. Zielińska-Sowicka R., Wolbiś M.: Herba Pol., 3, 286—295, 1970.
6. Schratz E., Quedan S.: Die Pharmazie, 11, 710—714, 1965.
7. Głowniak K.: Badania fitochemiczne nad *Chaerophyllum hirsutum* L. Praca doktorska, Lublin 1972.
8. Walloch O.: Liebiegs Ann., 263, 143—147, 1891.
9. Guenther E.: The Essential Oils. T. 2, 257, New York 1949.

Otrzymano 12.VI.1972.

РЕЗЮМЕ

Определялось содержание и физико-химические свойства эфирного масла в цветах, траве, фруктах, корнях и корневищах. Свежие цветы содержали 2,25% (сушеные — 0,7%), трава 0,62% (сушеная — 0,59%), фрукты 2,6% (сушеные — 2,4%), корневища с корнями 0,08% (сушеные — 0,07%) эфирного масла.

Физико-химические свойства масла во всех органах были приблизительно одинаковыми, кроме корневищ с корнями, в которых содержится масло с небольшим эфирным числом.

При помощи хроматографии на колонне установлено присутствие в эфирном масле борнилацетата, фенхолацетата и фенхола. Самый главный компонент масла — это фенхолацетат.

Авторы обнаружили несущественные различия в содержании и физических свойствах масла во время развития органов, связанные с фазой развития растения, его местообитанием и сушением.

SUMMARY

The authors determined the contents and property of physico-chemical oil in flowers, fruit, greenery and rhizome with roots. Fresh flowers contained 2,25% of oil (dried 0,7%), greenery 0,62% (dried 0,59%), fruit 2,6% (dried 2,4%), rhizome with roots 0,08% (dried 0,07%).

The physico-chemical property of oil from all the organs was similar, with the exception of rhizome with roots, which contained oil with a significantly low ester count.

The chromatographical columnary analysis, revealed the presence of bornyl acetate, fenchyl acetate and fenchone. The main ingredient of the oil is fenchyl acetate (about 50%). An insignificant difference was found in the physical contents and property of the oil which is connected with the development phase of the organ, locality and the desiccation of the raw material.