

Katedra i Zakład Farmakognozji, Wydział Farmaceutyczny, Akademia Medyczna w Lublinie  
Kierownik: doc. dr Florentyna Biełoszabska

Florentyna Wanda KUDRZYCKA-BIEŁOSZABSKA  
Kazimierz GŁOWNIAK

**Badanie olejku owoców *Chaerophyllum hirsutum* L. ssp. *cicutaria*  
Briq. var. *glabrum*. Cz. I. Chromatografia cienkowarstwowa**

Исследование эфирного масла фруктов *Chaerophyllum hirsutum* L. ssp. *cicutaria*  
Briq. var. *glabrum*. Часть I. Тонкослойная хроматография

Researches into Volatile Oil from Fruits of *Chaerophyllum hirsutum* L.  
ssp. *cicutaria* Briq. var. *glabrum*. Part I. Thin-layer Chromatography

Rodzaj *Chaerophyllum* obejmuje kilka gatunków roślin trujących, z których *Ch. hirsutum* var. *cicutaria* Briquet był dotychczas prawie nie badany (1). Jedynie Parczewski (4) w przeglądzie roślin olejkowych z rodziny *Umbelliferae* podaje procentową zawartość olejku w owocach tego gatunku zebranych w Tatrach Wysokich (0,80%) i Zachodnich (0,88%). Kudrzycka-Biełoszabska i Wołski (2) znaleźli 2,4% olejku w dojrzałych owocach świerzabka występującego w paśmie Jaworzyny Krynickiej.

BADANIA WŁASNE

Celem naszej pracy jest przebadanie zawartości i składu chemicznego olejku z owoców świerzabka w różnym stopniu dojrzewania na drodze chromatografii cienkowarstwowej (Część I), a następnie procentowej zawartości wykrytych składników metodą chromatografii gazowej (część II) (3).

Materiał i metody

Surowiec do badań zbierano w czasie od 25 czerwca do 15 lipca 1968 r. ze stanowisk naturalnych w Zegiestowie Zdroju (Beskid Sądecki) co 10 dni, uzyskując przez pewną selekcję 5 prób o różnym stadium dojrzałości, a więc: a) owoce zielone 3—5 mm długości, b) owoce zielone 5—7 mm długości, c) owoce zielone 7—9 mm długości, d) owoce dojrzewające oraz e) owoce dojrzałe 7—9 mm długości.

## Oznaczanie olejku

Każdą z tych prób podzielono na dwie części. W jednej z nich oznaczono wilgoć tuż po zbiorze metodą destylacji z czterochloroetanem, a następnie zawartość olejku wg FP III. W drugiej zaś wykonano te same oznaczenia po wysuszeniu próbek na wolnym powietrzu w ciągu 3 dni. Otrzymane wyniki procentowej zawartości olejku w owocach świerżabka w zależności od stopnia ich dojrzałości i suszenia przedstawia tab. 1. Z zestawienia wynika, że największą jest zawartość olejku w zielonych, niedojrzałych owocach. Ilość olejku w owocach wraz z ich dojrzewaniem zmniejsza się. Suszenie surowca powoduje nieznaczny wzrost zawartości olejku w owocach zielonych (a, b, c) oraz spadek zawartości w owocach dojrzałych (e).

Tab. 1. Zawartość olejku w owocach  
Contents of volatile oil in fruit

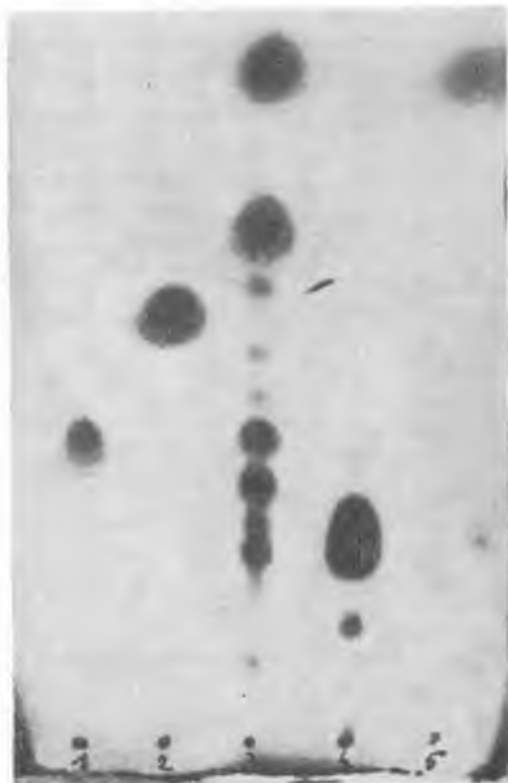
Próbki surowców	Zawartość olejku w % w przeliczeniu na suchą masę				
	a	b	c	d	e
Oznaczono tuż po zbiorze	5,7	5,0	4,4	3,1	2,6
Oznaczono po wysuszeniu (3 dni)	6,1	5,2	4,7	3,2	2,4

## Chromatografia cienkowarstwowa

Rozdziału chromatograficznego 5 próbek olejku otrzymanego z owoców świerżabka przed ich suszeniem dokonano na płytkach  $10 \times 20$  cm powleczonej 0,3 mm grubości warstwą żelu krzemionkowego Mercka. Płytki suszono na powietrzu, a przed rozwinięciem aktywowano w ciągu 1 godziny w temp.  $110^{\circ}\text{C}$ . Na linię startu nanoszono jednakowe ilości 1  $\mu\text{l}$  olejku kolejno z próbek (a, b, c, d, e). Jako fazy nośnej użyto następujące układy rozpuszczalników:

I układ, benzen — octan etylu (9:10) wg Stahla (6); II układ, cykloheksan — octan etylu (87:13) dotychczas nie był stosowany w chromatografii. Czas rozwijania na drodze 13 cm wynosił 45—60 minut. Po wysuszeniu w temperaturze pokojowej, chromatogramy wywoływano w świetle UV, a następnie przez spryskanie płytek odczynnikami: 1% roztworem waniliny w  $\text{H}_2\text{SO}_4$ , aldehydem anyżowym (5), 5% roztworem kwasu fosfomolibdenowego w alkoholu etylowym, 2,4-dwufenyloaminobenzaldehydem. W pierwszym przypadku uzyskiwano tuż po spryskaniu kolorowo zabarwione plamy, których barwy notowano w 30 minut po wywołaniu. Płytki spryskane pozostałymi odczynnikami ogrzewano celem wywołania zabarwienia się plam w temp.  $110^{\circ}\text{C}$  w czasie 10 minut. Uzyskano jednakową liczbę plam we wszystkich próbkach (a, b, c, d, e) olejku. Zauważono jedynie zmianę intensywności niektórych plam w za-

leżności od stopnia dojrzałości owoców. W tych samych warunkach chromatografowano porównawczo próbki olejku z dostępnymi wzorcami. Otrzymane wartości Rf oraz zabarwienia plam z odczynnikami przedstawia tab. 2 i ryc. 1. Tab. 2 zawiera wartości Rf oraz barwy zidentyfi-



Ryc. 1. Chromatogram cienkowarstwowy wywołany aldehydem anyżowym; 1 — eugenol, 2 — cineol, 3 — olejek z owoców dojrzałych, 4 — terpineol, 5 —  $\beta$ -pinen.

Układ rozpuszczalników II (cykloheksan-octan etylu 87:13)

Thin-layer chromatogram developed with anisaldehyde; 1 — eugenol, 2 — cineole, 3 — volatile oil from the ripe fruit, 4 — terpineol, 5 —  $\beta$ -pinene. Solvent system II (cyclohexane-ethylacetate 87:13)

kowanych i nieznanymi składnikami olejku uzyskanych po spryskaniu odczynnikami (1, 2, 3, 4). W obydwu stosowanych układach (I, II) uzyskano po 11 plam, przy czym na linii startu utrzymywała się brunatno-szara pozostałość. Inne przebadane wzorce dały różne Rf i zabarwienie z odczynnikami niż uzyskane plamy olejku, wskutek czego nie umieszczono ich w tabeli. Natężenie zabarwienia plam zaznaczono znakami + ... +++++. W tej samej rubryce strzałka oznacza intensywność

Tab. 2. Rf i reakcje barwne składników olejku lotnego  
Thin-layer chromatography of the volatile

Składniki olejku i wzorce	Rf	Układ I benzen-octan etylu				
		Barwa plam z odczynników				
		1*)	2**)	3**)	4**)	Nateżenie plam
A $\beta$ -pinen limonen	0,96	n. f.	n. f.	n.	c. n.	++++
B	0,86	róż	r. sz.	—	c.	+
C eugenol	0,80	br. pom.	ż. z.	ż. br.	c. n.	+++
D cineol	0,65	f. br.	z.	ż. br.	c. n.	++
E	0,21	n. z.	j. róż.	—	—	++
F	0,58	róż	róż.	n.	c. n.	++
G	0,53	c. n.	c. z.	—	c. n.	+++
H	0,49	róż	róż. sz.	sz.	c.	++
I terpineol	0,42	f. br.	n.	—	c. n.	++
K	0,30	n. sz.	sz. n.	sz.	c. n.	+
L	0,12	c. n.	c. n.	f.	c. n.	++++

\*) Barwy obserwowano w 30 min. po wywołaniu (Colour appeared 30 min.)

\*\*) Barwy obserwowano w 10 min po wywołaniu (Colour appeared 10 min.)

Skróty barw (Colour abbreviation):  
 n. — niebieska (blue)  
 f. — fioletowa (violet) z. — zielona (green)  
 róż. — różowa (pink) c. — ciemna (dark)  
 pom. — pomarańczowa (orange) sz. — szara (gray)  
 br. — brązowa (brown) ż. — żółta (yellow)

zabarwienia plam wzrastającą  $\longrightarrow$  lub malejącą  $\longleftarrow$  w próbkach olejku (a, b, c, d, e) wraz z dojrzewaniem owoców.

Zaobserwowano, że w miarę dojrzewania owoców wzrasta zawartość składnika A (limonen,  $\beta$ -pinen) i L w układzie I oraz składników A ( $\beta$ -pinen, limonen) i K w układzie II, natomiast maleje intensywność plam: K w układzie I oraz G, L. w układzie II. Zawartość eugenolu

z owoców świerzębka w okresie dojrzewania  
oil of *Ch. hirsutum* fruit during ripening

Składniki olejku i wzorce	Rf	Układ II cykloheksan-octan etylu				
		Barwa plam z odczynników				
		1*)	2**)	3**)	4**)	Nateżenie plam
A $\beta$ -pinen limonen	0,92	f. sz.	f.	sz.	c. n.	++++
B	0,70	pom.	ż. br.	sz. ż.	c. n.	+
C cineol	0,63	c. f.	ż.	f. sz.	—	++
D	0,55	f. br.	róż.	f. br.	c. n.	+++
E	0,48	n.	f.	—	c. n.	+
F eugenol	0,42	pom.	ż. br.	ż. sz.	c.	++
G	0,36	n. f.	n. f.	sz.	c.	+++
H terpineol	0,32	f. br.	n. sz.	—	c. n.	++
I	0,25	n. f.	n.	sz.	c. n.	+
K	0,12	c. n.	c. n.	f.	c. n.	++++
L	0,04	br.	n. sz.	—	c. n.	+++

after dev.)

after dev.)

Odczynniki (Reagents):

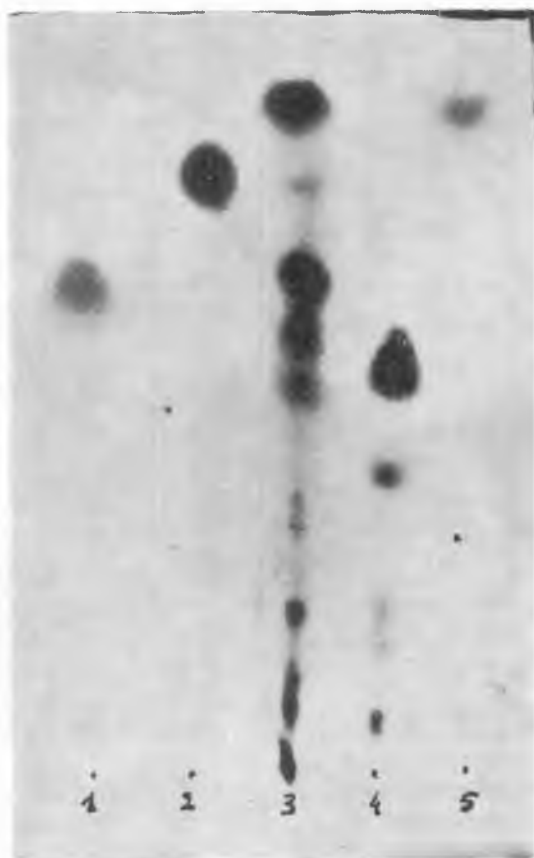
1. Wanilina w  $H_2SO_4$  (vanillin in  $H_2SO_4$ )
2. Aldehyd anyżowy (anisaldehyde)
3. 2,4-dwumetyloaminobenzaldehyd  
(2,4-dimethylaminobenzaldehyde)

4. Kwas fosforomolibdenowy  
(phosphomolybdic acid)

wzrasta (układ I i II) przy wzroście owoców (próbka c), a następnie maleje przy ich dojrzewaniu. Najlepszymi odczynnikami (wywoływaczami) okazały się wanilina oraz aldehyd anyżowy, dając wyraźne, intensywne zabarwienie, dobrze różnicujące plamy. Zabarwienie plam wywołanych waniliną ulega ciągłej zmianie. Najwyraźniejsze plamy uzyskano w 30 minut po spryskaniu. Barwy z pozostałymi odczynnikami

odczytywano po 10 minutowym ogrzaniu w temp. 110°. Benzaldehyd wybarwia tylko 7 składników, zaś kwas fosfomolibdenowy 10, lecz nie różnicuje składników, barwiąc wszystkie na ciemnoniebieski kolor.

Sch r a t z i G e d a n (5) podają, iż w klasycznym układzie benzen-octan etylu (90:10) potwierdzono na ponad tysiącu chromatogramach, następujący rozkład składników olejków eterycznych (Rf): alkohole (0,30—0,55), aldehydy (ok. 0,60), tlenki (ok. 0,66), fenole (0,75—0,80) estry (0,82—0,94), terpeny węglowodorowe (0,90—0,99). Nasze badania porównawcze potwierdziły tę zasadę stwierdzając obecność: limonenu,



Ryc. 2. Chromatogram cienkowarstwowy wywołany waniliną; 1 — eugenol, 2 — cineol, 3 — olejek z owoców dojrzałych, 4 — terpineol, 5 —  $\beta$ -pinen. Układ rozpuszczalników III (cykloheksan-octan etylu 2:1)

Thin-layer chromatogram developed with vanillin; 1 — eugenol, 2 — cineole, 3 — volatile oil from the ripe fruit, 4 — terpineol, 5 —  $\beta$ -pinene. Solvent system III (cyclohexane-ethylacetate 2:1)

$\beta$ -pinenu oraz cineolu, terpineolu i prawdopodobnie eugenolu. Należałoby również spodziewać się jeszcze trzech składników o charakterze alkoholi. Wykluczono jednak takie składniki jak: anetol, izoeugenol, tymol, safrol, anizol, cineol, citral. Niektóre z otrzymanych na chromatogramach plam były dwubarwne, co wskazywało na nakładanie się na siebie związków, a tym samym bogatszy skład olejku. Poza tym w badanych układach na starcie pozostawała brunatno-szara plama. Zastosowano więc nowy nie stosowany dotąd układ cykloheksan-octan etylu (2:1) uzyskując przesunięcie plam uprzednio uzyskanych (układ I i II) w kierunku czoła rozpuszczalnika oraz rozwinięcie pozostałości utrzymującej się przedtem na starcie. Pozostałość ta rozdzieliła się na 6 składników barwiących się z waniliną po 0,5 godz. w świetle dziennym na ciemnoniebiesko, bądź żółtoszaro, a w świetle UV szaroniebiesko lub żółtobrunatno, przy czym zabarwienie plam było wyraźniejsze. Otrzymane wyniki  $R_f$  zidentyfikowanych i nieznanymi składników olejku z owoców dojrzałych (e) barwiących się z waniliną w świetle dziennym i UV zestawiono w tab. 3 i ryc. 2. Zarówno w świetle dziennym, jak i UV uwidacznia się 17 plam, jednak związek o  $R_f$  0,21 daje żółtobrunatne zabarwienie tylko w świetle UV, zaś związek o  $R_f$  0,33 uwidacznia się jako ciemnofioletowa plama

Tab. 3. Wartość  $R_f$  i zabarwienie składników olejku  
 $R_f$  values and the colour of the spots

Lp	Składniki	Wartość $R_f$	Barwa plam z waniliną	
			światło dzienne	UV
1	limonen	0,89	n. f.	f.
2	$\beta$ -pinen	0,84	f. br.	róż.
3	nieznany	0,77	f. br.	br.
4	cineol	0,70	róż. f.	c. sz.
5	nieznany	0,65	pom.	br. pom.
6	eugenol	0,59	n. sz.	f.
7	nieznany	0,55	m. f.	j. n.
8	nieznany	0,50	f. br.	n.
9	terpineol	0,46	n.	j. n.
10	nieznany	0,42	n. sz.	z. br.
11	nieznany	0,33	c. n.	—
12	nieznany	0,29	n. sz.	z. br.
13	nieznany	0,25	z. sz.	c. n.
14	nieznany	0,21	—	z. br.
15	nieznany	0,17	n. sz.	n. sz.
16	nieznany	0,13	z. sz.	n. sz.
17	nieznany	0,08	c. n.	z. br.
18	nieznany	0,04	c. n.	n. sz.

tylko w świetle dziennym. Można więc przypuszczać, iż olejek z owoców dojrzałych zawiera co najmniej 18 składników, z których część zidentyfikowano.

#### OMÓWIENIE WYNIKÓW I WNIOSKI

Owoce świerzębka zebrane z naturalnych stanowisk Beskidu Sądeckiego w różnym okresie rozwoju, zawierają różne ilości olejku od 6,1% w owocach zielonych o długości 3,5 mm do 2,4% w owocach dojrzałych. Dzięki chromatografii cienkowarstwowej można było rozróżnić od 11 składników w układzie benzen-octan etylu (90:10) do 18 w układzie cykloheksan octan etylu (2:1), przy czym zawartość ilościowa niektórych składników olejku (sądząc z intensywności zabarwienia) zmienia się wraz z dojrzewaniem owoców. Powtórne oglądanie chromatogramów wywołanych wymienionymi odczynnikami w świetle UV pozwala na lepsze zróżnicowanie zabarwienia plam i dokładniejsze pomiary R<sub>f</sub>. Wanilina i aldehyd anyżowy okazały się lepszymi wywoływaczami niż 2,4-dwumetyloamino-benzaldehyd i kwas fosforomolibdenowy. Chromatografia porównawcza z dostępnymi wzorcami pozwoliła stwierdzić w olejku z owoców obecność takich składników, jak limonen, β-pinen, cineol, terpineol i prawdopodobnie eugenol oraz sugeruje obecność niezidentyfikowanych przez nas alkoholi, aldehydów i fenoli. Wyklucza się obecność anetolu, anizolu, izoeugenolu, tymolu, safrolu i citralu.

#### PIŚMIENNICTWO

1. Gessner O.: Die Gift- und Arzneipflanzen von Mitteleuropa, Carl Winter — Universitätsverlag, Heidelberg, 457, 1953.
2. Kudrzycka-Biełoszabska F. W., Wolski B.: Farm. Pol., 8, 643, 1969.
3. Kudrzycka-Biełoszabska F. W., Głowniak K.: Ann. Univ. M. Curie-Skłodowska, Lublin, sec. D, 25, 333—342, 1970.
4. Parczewski A.: Dissert. Pharm., 12, 57, 1960.
5. Schratz E., Quedan S.: Die Pharmazie, 11, 710, 1965.
6. Stahl E.: Dünnschicht-Chromatographie. Springer-Verlag, Berlin—Göttingen—Heidelberg, 208, 1962.

Otrzymano 15 VII 1969.

#### РЕЗЮМЕ

Свежие и сушеные плоды *Chaerophyllum hirsutum* L. ssp. *cicutaria* Briq. var. *glabrum*, сорта, растущие в Жегестове-Здрюю, содержат в зависимости от степени их зрелости эфирного масла от 2,4% до



6,1%. Наибольшее количество масла содержат завязи плодов длиной от 3 до 5 мм. Эфирное масло исследовали по трем хроматографическим системам. При этом констатировали, что наилучшие результаты были получены при применении новой, до этого времени неиспользованной, подвижной фазы: циклогексан с уксусноэтиловым эфиром (2:1). Масло состоит из 18 компонентов, из которых идентифицировали: лимонен,  $\beta$ -пинен, цинеол, терпинеол и, правдоподобно, эвгенол, а также малоизвестные спирты, альдегиды и фенолы. Не обнаружено присутствия анетола, анизола, изоэвгенола, тимола, сафрола и цитрала. Во время созревания плодов замечен рост содержания лимонена и  $\beta$ -пинена и уменьшение неизвестных компонентов G, K и L (табл. 2).

Авторы рекомендуют просматривание проявленных хроматограмм в UV, потому что в этих условиях лучше видны пятна.

## S U M M A R Y

Volatile oil from fresh and dried *Chaerophyllum hirsutum* L. ssp. *cicutaria* Briq. var. *glabrum* fruit was obtained at the amount from 2.4% to 6.1% depending on the degree of development of the fruit. The greatest amount of oil was found in the green fruit of a length from 3—5 mm.

Chromatographic separation of the oil was performed in three solvent systems and it was shown that the best results were obtained using a new phase introduced by the authors i.e. cyclohexane with ethylacetate (2:1). Among 18 components detected in the oil there were identified the following: limone,  $\beta$ -pinene, cineole, terpineol and probably eugenol, and not closely defined alcohols, aldehydes and phenols. The presence of anethole, anisole, isoeugenol, thymol, safrol and citral was excluded. During the period of fruit ripening an increase in the limone and  $\beta$ -pinene content was observed and, at the same time, a decrease in the unknown components G, K and L was stated (Table 2).

The authors propose the reading of chromatograms in UV light which will give better differentiation of the spots.

