

Хромато-масс-спектрометрическая идентификация и расчет относительного содержания компонентов эфирного масла официального сырья и листьев валерианы холмовой

П.Ю.Шкроботько, А.В.Ткачев, М.С.Юсубов, М.В.Белоусов, С.Н.Соленникова,
Н.С.Фурса

Запорожский государственный медицинский университет, Новосибирский институт органической химии
им. Н.Н.Ворожцова СОРАН, Сибирский государственный медицинский университет,
Ярославская государственная медицинская академия
Запорожье, Украина, Новосибирск, Ярославль, Россия

В результате исследования идентифицировано хромато-масс-спектрофотометрией в эфирном масле корневищ с корнями и листьям валерианы холмовой (*Valeriana collina Wallr.*) по 41 веществу.

Ключевые слова: валериана холмовая, эфирное масло, хромато-масс-спектрометрия.

ВВЕДЕНИЕ

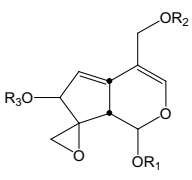
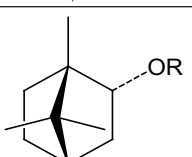
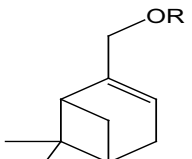
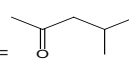
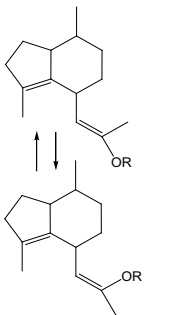
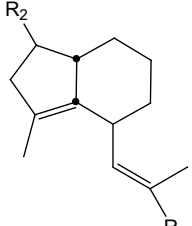
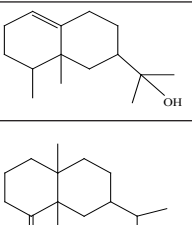


Виды рода Валериана (*Valeriana L.*) флоры Украины, в том числе валериана лекарственная (*V.officinalis L.s.l.*), недостаточно изучены в отношении количественного содержания и компонентного состава эфирного масла, несмотря на то, что в течение продолжительного времени они являлись предметом углубленных исследований [13]. Из украинских валериан наиболее распространенной в центральных и южных областях Украины является валериана холмовая (*V.collina Wallr.*). Ее тип ареала — европейско-средиземноморский. Она заходит далеко на юг и часто растет на склонах балок поблизости г. Запорожье. Валериана холмовая — растение кистекорневое, со столонами (в условиях Запорожья всегда со столонами) или без них, с толстыми (2,0-2,5 мм в сухом состоянии) корнями. Стебель 45-95 см высотой, в нижних междоузлиях опушен длинными отстоящими волосками, реже голый, все листья

непарноперистые, с 5-13 парами линейных или линейно-ланцетных цельнокрайних боковых долей. Соцветие — плейотирс, с сильно разветвленными нижними паракладиями (3-4 порядка ветвления до парциальных соцветий), разрастающихся при плодах; прицветнички яйцевидно-ланцетные, 3-4 мм длиной, опушенные длинными простыми волосками; венчики белые, бледно-розовые или лиловые, 4,5-6 мм длиной. Плод 2,3 (2,0-2,7) мм длиной, с хохолком 3,7 (2,5-4,5) мм длиной, с 9-11 лучами и узкой (0,1 мм) каймой по краю, опушен короткими, мягкими, прямыми волосками 0,1-0,2 мм длиной. Корона 0,6 (0,5-0,8) мм длиной. Плод яйцевидный или яйцевидно-продолговатый, в основании округлый, с тонкими (0,05 мм толщиной), на верхней стороне дуговидно изогнутыми жилками, гладкий, коричневатый, иногда рыжеватый, матовый. Рубчик 0,1-0,2 мм, овальный, беловатый. У валерианы холмовой тетраплоидный набор хромосом ($2n=28$). Средняя длина замыкающих клеток устьиц равна $28,30 \pm 1,32$ мкм, средний максимальный диаметр пыльцевых зерен — $50,58 \pm 1,43$ мкм [2].

На протяжении длительного времени валериана холмовая — объект углубленных исследований запорожских ученых [1, 3-11, 13-16], в результате которых получены многочисленные экспериментальные данные. Вместе с тем не представлялось возможным провести сравнительный анализ компонентного состава эфирного масла подземных и надземных органов, а также найти объяснение седативного эффекта сока и настоек, полученных из травы валерианы [9, 13]. Успокаивающие свойства

ТАБЛИЦА 1

Валтрат, бициклические монотерпеноиды, сесквитерпеноиды и их производные

Структурная формула	Вещество
I. Валтрат и его производные	
	Валепотриат (валтрат) $R_1=R_3$ — остаток изовалериановой кислоты R_2 — остаток уксусной кислоты Изовалтрат $R_1=R_2$ — остаток изовалериановой кислоты R_3 — остаток уксусной кислоты Ацетоксивалепотриат (ацевалтрат) R_1 — остаток изовалериановой кислоты R_2 — остаток уксусной кислоты R_3 — остаток ацетоксиизовалериановой кислоты
II. Бициклические монотерпеноиды и их производные	
	Борнеол $R=OH$ Борнилацетат $R=OCOCH_3$ Борнил-3-метилбутаноат
	Миртенол $R=OH$ Миртенилацетат $R=OCOCH_3$ Миртенил-3-метилбутаноат $R=$ 
III. Бициклические сесквитерпеноиды и их производные	
	Валеренол $R=H$ Валеренилвалерат $R=CO-C_4H_9$ Валеренилгексоат $R=CO-C_6H_{13}$
	Е-валеренилацетат $R=COCH_3$ Е-валеренилизовалерат $R=CO-CH_2CH(CH_3)_2$ Z-валеренилацетат $R=COCH_3$ Z-валеренилизовалерат $R=CO-CH_2CH(CH_3)_2$
	Валеренал (валеренон) $R_1=CHO$ $R_2=H$ Валереновая кислота $R_1=COOH$ $R_2=H$ Гидроксивалереновая кислота $R_1=COOH$ $R_2=OH$ Ацетоксивалереновая кислота $R_1=COOH$ $R_2=OCOCH_3$
	Валерианол
	Валеранон (ятмансон)

различных лекарственных форм из подземных органов этого растения обусловлены синергизмом действия нелетучих валепотриатов, среди которых доминирует валтрат и его производные (табл. 1), и летучих веществ эфирного масла, представленных алифатическими (мирцен, линалоол, гераниол, цитронеллол и их производные), моноциклическими (лимонен, фелландрен, карвеол, пиперитон, β -ионон, элемен, терпенен и их производные) и бициклическими (пинен, камфен, камфора, борнеол, фенхон, сабинен, туйен, миртенол и их производные) монотерпеноидами, ациклическими (неролидол), моноциклическими (бисаболен, куркумен), бициклическими (валеренол, валеренал, селинен, валерианол, конгол, эудесмол, криптофауронол, валеранон, каноконол, кадинен и их производные), трициклическими (аристолен, коларен, малиол, кариофиллен, ледол, аромадендрен, кессан и их производные) сесквитерпеноидами и ароматическими веществами нетерпеновой природы (эвгенол, метилтимол, метилкарвакрол, метилхавикол).

В эфирном масле европейской валерианы доминируют сложные эфиры бициклических монотерпеноидов (борнеола, миртенола) и сесквитерпеноидов (валеренала, валерианола, валеранона, валеренола), являющихся одними из наиболее активных седативных компонентов. Та же тенденция отмечена нами в эфирном масле валерианы холмовой (табл. 2). С аналитической точки зрения для стандартизации сырья пристальный интерес вызывают производные валеренала как стабильные вещества (табл. 1).

Валепотриаты в надземных органах валерианы холмовой не содержатся, а летучие соединения не исследовались.

Целью исследования было проведение хромато-масс-спектрометрической идентификации и расчет относительного содержания летучих веществ эфирного масла подземных и надземных органов холмовой валерианы.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Для исследования нами заготовлены в конце апреля 2007 г. корневища с корнями и листья популяции валерианы холмовой, произрастающей на верхней части склона Канцеровской балки в окр. г. Запорожье. Определение содержания смеси летучих компонентов в них проводили в аппарате Клевенджера. Отгонка эфирного масла из подземных

органов продолжалась 15 часов. Его выход составлял примерно 0,37%. Масло светло-желтого цвета. Отгонку летучих веществ из листьев проводили на протяжении 4 часов. Они обнаруживались в виде следовых количеств, которые отделяли от флоренты гексаном. Их анализ проводили хромато-масс-спектрометрией, широко используемой для разделения и идентификации природных соединений. Хромато-масс-спектрометрические данные получены на газовом хроматографе HP 6890, оборудованном масс-селективным детектором HP, работающим под управлением программы ChemStation HP 1701 AA.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Компонентный состав эфирного масла (%) вычисляли по площадям газохроматографических пиков. Идентификация веществ по хромато-масс-спектрограммам осуществлялась сравнением индексов удерживания и полных масс-спектров анализируемых веществ с данными специализированной библиотеки, составленной в Лаборатории терпеновых соединений НИОХ СОРАН им. Н.Н.Ворожцова под руководством А.В.Ткачева [12]. Индексы удерживания рассчитывались программой AMDIS с использованием n -алканов C8-24 в качестве внутренних стандартов (табл. 2).

В результате проведенного исследования нами обнаружено, что доминирующими летучими компонентами официального сырья и листьев валерианы холмовой являлись производные миртенола, борнеола, особенно валеранон, валеренал, и в значительно меньших количествах содержались кессан, валерианол. Это те вещества, которые вместе с валепотриатами главным образом обуславливают успокаивающие свойства различных лекарственных форм валерианы, в том числе сока и настоек надземных органов, хотя их эффект менее выраженный, чем из подземных органов, так как в них отсутствуют валепотриаты — основные седативные вещества валерианы. В связи с чем сок листьев в традиционной медицине принимают по 1/4-1/3 стакана, а сок корневищ с корнями — по 1 чайной ложке. Он оказывает успокаивающее действие на ЦНС, снижает умственное напряжение, улучшает сон, снимает головные боли, обеспечивает устойчивость организма к стрессовым ситуациям [13].

ТАБЛИЦА 2

Идентифицированные вещества эфирного масла корневищ с корнями и листьев валерианы холмовой

Вещество	Корневища с корнями		Листья	
	Содержание, отн. %	Время удерживания, мин.	Содержание, отн. %	Время удерживания, мин.
Изовалериановая кислота	0,3	4,715	13,9	5,408
α -фенхен	0,1	7,513	-	-
Борнеол	0,2	15,047	-	-
Миртенол	0,1	16,159	-	-
Не идентифицировано	-	-	1,0	16,775
Борнилацетат	1,5	19,202	0,9	19,202
Миртенилацетат	0,2	20,524	-	-
α -терпенилацетат	0,2	21,308	0,2	21,308
R ₁ = 1390 M = 204	-	-	4,1	22,574
Пацифигоргия-1(9),10-диен	0,1	22,539	-	-
Пацифигоргия-1(6),10-диен	0,3	23,399	0,2	23,400
Кариофиллен	0,2	23,546	0,5	23,547
Тимогидрохинона диметилвый эфир	0,4	23,693	0,4	23,686
α -гвайен	0,1	24,148	0,1	24,148
Гумулен	-	-	0,3	24,603
Валерена-4,7(11)-диен	1,2	24,798	2,6	24,799
γ -мууролен	-	-	0,2	25,316
γ -куркумен	0,1	25,428	0,1	25,419
Гермакрен D	-	-	0,2	25,465
$\alpha\gamma$ -куркумен	0,4	25,519	0,8	25,519
β -Е-ионон	0,7	25,610	0,9	25,610
Валенсен	-	-	0,1	25,854
Z,E- α -фарнезен	0,4	25,897	-	-
α -цингиберен	-	-	0,3	25,897
Бициклогермакрен	-	-	0,2	25,942
α -мууролен	-	-	0,1	26,023
α -бульнезен	0,2	26,219	-	-
β -бизаболен	0,2	26,302	0,4	26,303
β -куркумен	0,1	26,400	-	-
Борнил-3-метилбутаноат	0,1	26,542	0,7	26,547
7-эпи- α -селинен	0,3	26,554	-	-
α -кадинен	0,3	26,743	0,3	26,743
Кессан	1,1	26,862	1,8	26,855
E- α -бизаболен	0,1	27,342	0,3	27,325
Пацифигоргиол	1,6	27,352	1,8	27,345
Гермакрен B	-	-	0,2	27,729
Миртенил-3-метилбутаноат	6,4	27,799	4,7	27,779
Спатуленол	4,0	28,352	3,7	27,338
Окись кариофиллена	0,7	28,506	0,7	28,492
R ₁ = 1590 M = 222	2,7	28,849	-	-
Ледол	0,8	29,066	0,4	29,066
Гумулен-6,7-эпоксид	0,3	29,241	-	-
10-эпи- γ -эвдесмол	0,2	29,534	-	-
Ализмол	4,5	29,814	3,0	29,814
Изоспатуленол	1,3	30,073	0,2	30,066
T-кадинол	-	-	0,3	30,175
T-мууролол	-	-	0,3	30,185
Эремолигенол	2,1	30,220	-	-
β -эвдесмол	-	-	0,2	30,395
Валерианол	2,8	30,486	0,6	30,469
α -кадинол	0,9	30,510	1,2	30,521
β -бизаболол	0,8	30,933	-	-
Валеранон	10,4	31,059	10,6	31,032
α -бизаболол	1,0	31,381	0,1	33,536
R ₁ = 1714 M = 220	1,4	32,088	-	-
Валеренал	20,4	32,353	6,9	32,291
R ₁ = 1869 M = 280	10,4	36,138	-	-
R ₁ = 1907 M = 262	3,7	37,054	-	-
Неофитодиен I	-	-	1,6	35,383
Гексагидрофарнезилацетон	-	-	1,7	35,543
C21	-	-	1,4	41,650
C23	-	-	1,5	45,959
C25	-	-	7,3	49,933
C26	-	-	2,2	52,059
C27	-	-	1,3	54,095
Идентифицировано		41		41

ВИВОДИ

1. При хромато-масс-спектрометричному дослідженні ефірного масла підземних органів і суміси летучих речовин листів валеріани холмової (*Valeriana collina Wallr.*) виявлено 65 компонентів, вміст кожного з яких перевищував 0,1% від загальної суми речовин.

2. З використанням бібліотеки даних, складеної в НІОХ СОРАН, ідентифіковано в кореневих частинках з коренями і в листях по 41 речовину.

3. Вперше виявлені в листях валеріани холмової первинні біциклічні монотерпеноїди (борнеол, миртенол), біциклічні (валеранон, валеренал, валеріанол) і трициклічні (кессан) сесквітерпеноїди, саме наявність яких обумовлюється седативний ефект лікарських форм, отриманих з них.

ЛИТЕРАТУРА

1. Доля В.С. Исследование липидного комплекса семян некоторых лекарственных растений: Дис. ... д.фарм.н. — Запорожье, 1991. — 328 с.
2. Горбунов Ю.Н. Валерианы флоры России и сопредельных государств. — М.: Наука, 2002. — 208 с.
3. Корещук К.Е. Динамика накопления эфирного масла в корнях валерианы побегоносной (*V.stolonifera*) // Тр. Ленингр. хим.-фарм. ин-та. — 1961. — Вып. 1. — С. 209-212.
4. Корнієвська В. Г. Порівняльне фармакогностичне дослідження валеріани пагоносною та валеріани високої: Автореф. дис. ... к.фарм.н. — Львів, 2002. — 20 с.
5. Корнієвська В.Г., Фурса М.С. Порівняльне вивчення вмісту валепотриатів та складних ефірів валеріани пагоносною і валеріани високої протягом доби // Запоріжський мед. журнал. — 2001. — №1. — С. 16-17.
6. Корниевский Ю.И. Фармакогностическое изучение валерианы побегоносной: Автореф. дис. ... к.фарм.н. — Ставрополь, 1973. — 15 с.
7. Корнієвський Ю.І., Корнієвська В.Г., Фурса М.С., Шкроботько П.Ю. Біологія росту, розвитку та морфолого-анатомічне дослідження валеріани пагоносною та високої / Актуальні питання фармацевтичної та медичної науки та практики: Збірник наукових статей. — Запоріжжя: ЗДМУ, 2003. — С. 62-63.
8. Корнієвський Ю.І., Фурса М.С., Рибальченко А.С., Корещук К.Е. Склад флавоноїдів валеріани лікарської південних і центральних областей України // Фармац. журнал. — 1979. — №4. — С. 71-72.
9. Линенко В.І., Стець В.Р., Корнієвський Ю.І. До фармакологічного дослідження валеріани пагоносною // Фармац. журнал. — 1975. — №2. — С. 51-53.
10. Рыбальченко А.С., Корниевский Ю.И., Корещук К.Е. Количественное определение эфирного масла в корнях валерианы // Растит. ресурсы, 1973. — Вып. 4, Т. 9. — С. 610-618.
11. Талашова С.В., Шкроботько П.Ю., Цуркан А.А., Бородин Л.И. Количественное определение углеводов в листьях и корневищах с корнями двух видов валерианы / Современные вопросы теории и практики лекарствоведения: Сборник материалов научно-практ. конф. с междунар. участием, посв. 25-летию фармац. факультета ЯГМА / Гл. ред. Н.С.Фурса. — Ярославль: Найс, 2007. — С. 321-324.
12. Ткачев А.А. Исследование летучих веществ растений. — Новосибирск: Издательско-полиграфическое предприятие «Офсет», 2008. — 969 с.
13. Фурса Н.С. и соавт. Валерианотерапия нервно-психических болезней. — Запорожье: ИВЦ с/х, 2000. — 348 с.
14. Фурса Н.С., Доля В.С., Шкроботько П.Ю. Изучение элементного состава подземных органов разных видов валерианы флоры СНГ / Актуальные проблемы экологии Ярославской области: Материалы IV науч.-практ. конф. — Ярославль, 2008. — Вып. 4, Т. 2. — С. 111-115.
15. Фурса М.С., Корнієвська В.Г., Корнієвський Ю.І. До фармакології надземної частини валеріани лікарської / Тез. доп. II нац. з'їзду фармакологів України. — Дніпропетровськ, 2001. — С. 260.
16. Шкроботько П.Ю., Парфенов А.А., Исаханов А.Л. и др. Рентгенофлуоресцентный анализ элементного состава различных органов валерианы побегоносной и валерианы русской / Достижения, проблемы, перспективы фармацевтической науки и практики: Материалы регион. научно-практ. конф. с междунар. участием, посв. 40-летию фармац. ф-та КГМУ. — Курск: КГМУ, 2006. — С. 327-329.

П.Ю.Шкроботько, А.В.Ткачев, М.С.Юсубов, М.В.Білоусов, С.М.Соленнікова, Н.С.Фурса. *Хромато-мас-спектрометрична ідентифікація і розрахунок відносного вмісту компонентів ефірної олії офіційної сировини і листя валеріани горбкової. Запоріжжя, Україна, Новосибірськ, Ярославль, Росія.*

Ключові слова: валеріана горбкова, ефірна олія, хромато-мас-спектрометрія.

*У результаті дослідження ідентифіковано хромато-мас-спектрометриєю в ефірній олії кореневих частин з коренями та листя валеріани горбкової (*Valeriana collina Wallr.*) по 41 речовині.*

P.Yu.Shkrobotko, A.V.Tkachev, M.S.Yusubov, M.V.Belousov, S.N.Solennikova, N.S.Fursa. *Chromatography-mass spectrometric identification and calculation of the relative content of essential oil components officinal raw leaves of Valeriana collina. Zaporizhzhya, Ukraine, Novosibirsk, Yaroslavl, Russia.*

Key words: Valeriana collina, essential oil, chromatography-mass-spectrometry.

Forty-one compounds were identified by chromatography-mass-spectrometry in the essential oil of Valeriana collina Wallr. roots and 41 compound in the essential oil of its leaves.

Надійшла до редакції 02.08.2010 р.