

**ДОСЛІДЖЕННЯ ЕФІРНОЇ ОЛІЇ ЛИСТЯ, СТЕБЕЛ ТА СУЦВІТЬ ВІТЕХ AGNUS-CASTUS L. ТА V. CANNABIFOLIA SIEB**© **О. В. Ющишена<sup>1</sup>, О. О. Цуркан<sup>1</sup>, О. А. Корабльова<sup>2</sup>, Н. П. Ковальська<sup>3</sup>**<sup>1</sup>ДУ "Інститут фармакології і токсикології НАМНУ", Київ<sup>2</sup>Національний ботанічний сад імені М. М. Гришка НАН України, Київ<sup>3</sup>Національний медичний університет імені О. О. Богомольця, Київ

**Резюме:** у статті наведено результати якісного та кількісного визначення компонентного складу ефірної олії в листках, стеблах та суцвіттях вітексу священного *Vitex agnus-castus* L. та вітексу коноплеподібного *Vitex cannabifolia* Sieb., вирощених на території України, методами тонкошарової хроматографії та хромато-мас-спектрометрії. Виявлено локалізацію ефірних олій за допомогою мікрохімічних реакцій. Встановлено, що основним компонентом ефірної олії різних видів сировини вітексу коноплеподібного є  $\beta$ -каріофілен (до 56,12 %), у суцвіттях та листі вітексу священного домінують  $\beta$ -каріофілен (25,54 % та 18,30 % відповідно) та транс- $\beta$ -фарнезен, у стеблах вітексу священного – транс- $\beta$ -фарнезен (15,39 %), спатуленол (14,33 %) та епі- $\alpha$ -кадінол (10,98 %).

**Ключові слова:** *Vitex agnus-castus* L., *Vitex cannabifolia* Sieb., ефірна олія,  $\beta$ -каріофілен, транс- $\beta$ -фарнезен, хромато-мас-спектрометричний метод.

**Вступ.** Зважаючи на перспективність пошуку нової рослинної сировини для створення лікарських засобів, цікавими для вивчення є рослини вітекс священний (*Vitex agnus-castus* L.) та вітекс коноплеподібний (*V. cannabifolia* Sieb.). Ці рослини здавна використовують у народній медицині різних країн, однак біологічно активні речовини в даній сировині вивчені недостатньо [1, 2]. Мета – роботи дослідити ефіроолійний склад листя, стебел та суцвіть даних рослин, вирощених в умовах Правобережного Лісостепу України, і визначити особливості накопичення окремих сполук у різних видах рослинної сировини.

**Методи дослідження.** Об'єкти дослідження – листя, стебла та суцвіття вітексу священного та вітексу коноплеподібного, зібрані у фазу цвітіння на території Національного ботанічного саду імені М. М. Гришка НАН України влітку 2012 року.

Для проведення мікрохімічних реакцій на поперечний зріз свіжого листка в зоні центральної жилки наносили краплю реактиву (розчин Судану III), витримували 2 хв, промивали зріз водою очищеною і поміщали на предметне скельце в краплину води. Свіжоприготовлений мікропрепарат розглядали в тринокулярному світловому мікроскопі фірми ULAB при збільшенні в 40, 100 і 400 разів. Фотографували зрізи за допомогою цифрової дзеркальної фотокамери Canon EOS 550.

Для ідентифікації терпеноїдів методом тонкошарової хроматографії (ТШХ) як досліджувані розчини використовували спиртові розчини ефірних олій вказаних видів сировини, отриманих методом перегонки з водяною парою.

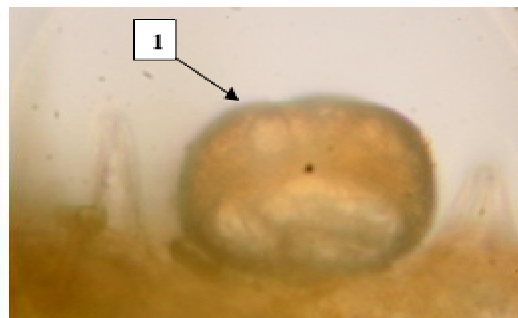
Взірцями слугували спиртові розчини  $\alpha$ -терпінєолу, ліналоолу, 1,8-цинеолу,  $\alpha$ -терпініл-ацетату та  $\alpha$ -пінену. Дослідження проводили на пластинках розміром 10×10 см із силікагелем 60 F<sub>254</sub>. Рухом фаза – толуол, етилацетат (93 : 7). Для проявлення плям пластинку послідовно обприскували 1 % спиртовим розчин ваніліну і рівною кількістю 10 % спиртового розчину кислоти сірчаної, термостатували 5 хв при температурі +110 °C і досліджували при денному світлі.

Якісне та кількісне визначення терпенів проводили методом хромато-мас-спектрометрії з використанням внутрішнього стандарту тридекану. Для цього після відгонки з сировини леткі сполуки змивали пентаном у віали та концентрували продуванням азоту. Хроматографування здійснювали на приладі Agilent Technologies 6890 з мас-спектрометричним детектором 5973, використовуючи капілярну колонку DB-5 з внутрішнім діаметром 0,25 мм і довжиною 30 м. Швидкість газу-носія (гелій) 1,2 мл/хв. Температура нагрівача введення проби + 250 °C, температура термостату змінювалась від +50 до 320 °C зі швидкістю 4 °C/хв. Ідентифікацію компонентів проводили, використовуючи бібліотеки мас-спектрів NIST05 та WILEY 2007 в поєднанні з програмним забезпеченням для ідентифікації AMDIS та NIST.

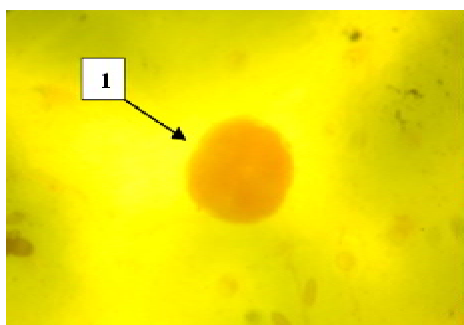
**Результати й обговорення.** За результатами мікрохімічної реакції з розчином Судану III (червоне забарвлення) встановлено, що ефірні олії локалізуються в ефіроолійних залозках, які мають чотири видільні клітини (рис. 1, А – Г), а також в термінальних клітинах головчастих волосків (рис. 1, Д – Ж).



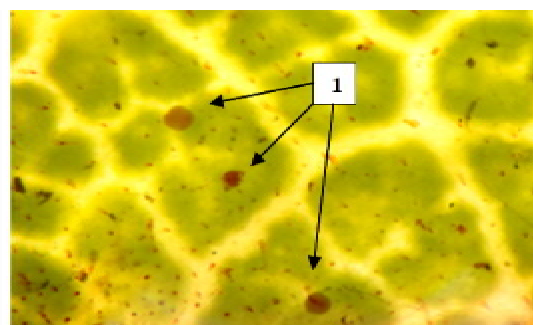
А. Ефіроолійна залозка (вигляд збоку) до проведення мікрохімічної реакції (зб. 1×1000).



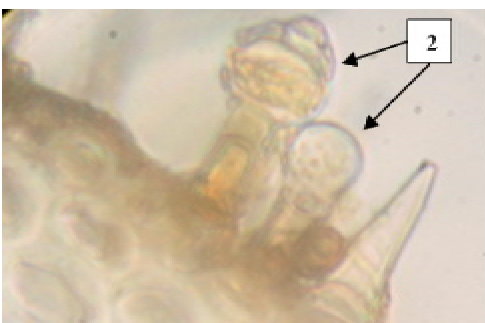
Б. Ефіроолійна залозка (вигляд збоку) після проведення мікрохімічної реакції (червоне забарвлення вмісту) (зб. 1×1000).



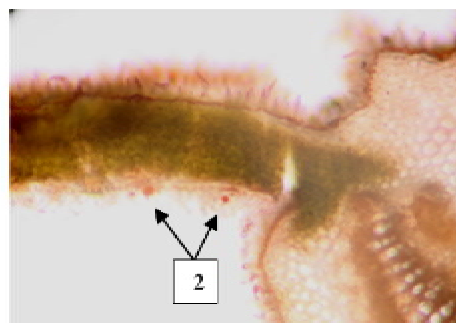
В. Ефіроолійна залозка (вигляд зверху) після проведення мікрохімічної реакції (червоне забарвлення вмісту) (зб. 1×400).



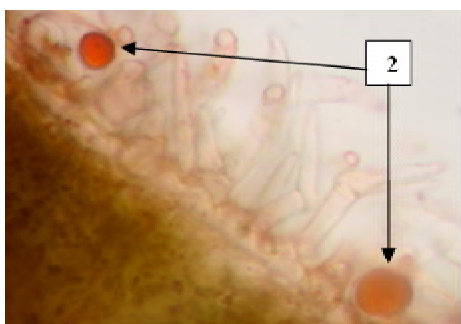
Г. Ефіроолійні залозки на нижньому епідермісі (вигляд зверху) після проведення мікрохімічної реакції (червоне забарвлення вмісту) (зб. 1×100).



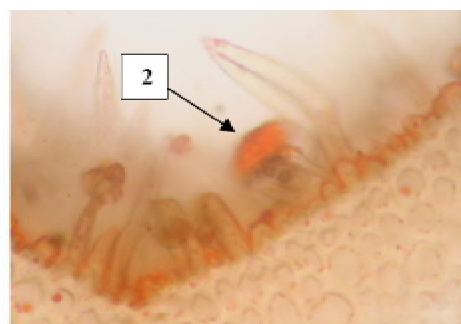
Д. Головчасті волоски (вигляд збоку) до проведення мікрохімічної реакції (зб. 1×1000).



Е. Поперечний переріз листка через центральну жилку після проведення мікрохімічної реакції (зб. 1×100).



Є. Головчасті волоски (вигляд збоку) після проведення мікрохімічної реакції (зб. 1×1000).



Ж. Головчасті волоски (вигляд збоку) після проведення мікрохімічної реакції (зб. 1×1000).

**Рис. 1.** Результати мікрохімічної реакції з Суданом III, проведеної на листках *Vitex agnus-castus* L. (1 – ефіроолійні залозки, 2 – головчасті волоски).

На хроматограмі витягів з листя та суцвіть вітексу священного виявлено плями, що за кольором та величиною Rf відповідають  $\alpha$ -терпінеолу, ліналоолу, 1,8-цинеолу,  $\alpha$ -терпініл-ацетату та  $\alpha$ -пінену, у стеблах же 1,8-цинеол та  $\alpha$ -пінен відсутні або містяться в кількості, яка виходить за межі визначення даною методикою. У суцвіт-

тях та листі вітексу коноплеподібного виявлено  $\alpha$ -терпінеол та ліналоол. У стеблах даним методом виявлено лише  $\alpha$ -терпінеол.

Методом хромато-мас-спектрометрії у досліджуваній сировині визначено 85 сполук, з них ідентифіковано 75 (табл.1).

**Таблиця 1.** Компонентний склад ефірної олії вітексів залежно від ботанічного виду та типу сировини, мг/кг

Компоненти	<i>Vitex agnus-castus</i>			<i>Vitex cannabifolia</i>		
	суцвіття	листки	стебла	суцвіття	листки	стебла
1	2	3	4	5	6	7
цис-3-гексен-1-ол	-	-	-	-	2,1	-
$\alpha$ -пінен	1,5	0,8	-	-	3,4	0,2
гептаналь	-	-	2,8	-	-	-
сабінен	5,5	3,1	-	-	57,4	0,2
$\beta$ -пінен	-	-	3,4	-	-	-
1-октен-3-ол	-	-	-	-	-	1,4
фенол	-	-	-	1,7	-	-
мірцен	4,1	2,7	8,3	-	0,9	-
$\alpha$ -феландрен	2,6	5,2	10,7	-	-	0,5
$\alpha$ -терпінен	-	-	9,5	-	3,3	0,5
1,3,8-пара-ментатрієн	3,8	6,2	6,8	-	-	-
фенілацетальдегід	-	-	-	2,1	-	-
$\beta$ -феландрен	-	-	22,6	-	13,0	0,9
лімонен	-	-	19,9	2,2	21,4	2,2
1,8-цинеол	94,1	136,5	-	-	-	-
$\gamma$ -терпінен	3,5	8,1	4,3	-	16,4	0,5
транс-сабіненгідрат	2,9	8,7	5,1	-	4,8	1,8
пара-, $\alpha$ -диметилстирен	-	-	5,5	-	-	-
терпінолен	1,4	4,1	4,3	-	-	-
цис-сабіненгідрат	-	-	20,0	-	9,0	3,0
ліналоол	11,5	21,1	14,6	14,5	3,8	3,3
пара-мент-2-ен-1-ол	-	-	-	-	3,0	0,7
2-етилкапронова кислота	-	-	-	7,9	-	1,4
пінокарвон	3,2	-	-	-	-	-
вербенол	-	-	10,9	-	-	-
2-метилбензофуран	15,3	27,0	-	9,3	6,3	-
криптон	-	-	9,7	-	-	-
$\delta$ -терпінеол	-	20,0	56,3	-	-	1,9
терпінен-4-ол	21,1	76,5	72,9	4,3	67,9	18,2
$\alpha$ -терпінеол	50,5	181,9	240,8	7,0	9,2	7,1
деканаль	-	-	-	-	-	0,8
цитронелол	6,9	21,6	42,3	-	-	-
$\alpha$ -іонон	-	-	-	6,6	9,3	2,0
дигідроедулан II	-	5,5	-	5,1	-	2,3
$\delta$ -елемен	-	-	161,2	86,2	64,1	28,3
$\alpha$ -терпінілацетат	126,2	213,1	79,4	-	-	3,7
цитронелілацетат	8,8	-	9,9	-	-	-
$\beta$ -бурбонен	-	-	-	-	-	5,6
$\beta$ -елемен	13,8	16,2	43,1	188,4	92,7	41,5
$\alpha$ -гур'юнен	-	-	24,5	-	-	-
$\beta$ -каріофілен	420,3	386,8	388,5	3367,0	1089,9	563,8

Продовження табл. 1

1	2	3	4	5	6	7
γ-елемен	-	-	-	54,3	-	10,3
транс-α-бергамотен	16,1	9,2	-	-	-	-
цис-β-фарнезен	20,9	11,5	52,0	-	-	-
гумулен	24,4	12,4	55,3	266,3	108,1	41,5
аромадендрен	-	-	-	70,4	13,6	-
β-фарнезен	-	-	-	-	-	18,9
транс-β-фарнезен	208,9	338,1	952,3	-	-	-
α-аморфен	13,1	19,0	-	-	-	-
гермакрен D	9,1	12,5	62,6	136,6	75,7	32,3
α-фарнезен	-	-	54,3	-	-	-
β-селінен	-	-	-	212,7	20,0	11,1
α-селінен	-	-	-	312,1	54,1	24,5
гермакрен A	-	-	-	-	-	3,0
біциклогермакрен	102,5	112,5	199,7	-	-	-
α-аморфен	-	-	-	-	-	2,6
γ-кадінен	17,5	13,4	47,1	-	-	2,6
7-епі-α-селінен	-	-	-	13,3	-	-
δ-кадінен	9,1	7,5	19,2	15,1	5,5	3,2
елемол	-	-	-	71,5	-	5,6
каріофіла-2(12),6(13)-дієн-5-он	-	-	-	93,1	7,7	7,3
палюстрол	19,1	22,2	90,2	-	-	-
спатуленол	99,9	111,6	886,6	235,1	34,0	38,7
каріофіленоксид	11,2	16,6	143,4	135,5	112,4	33,5
гумуленоксид	-	-	-	-	15,9	7,9
глобулол	5,4	4,7	16,2	-	-	-
віридіфлорол	79,9	72,1	419,9	-	-	-
каріофіла-4(12),8(13)-дієн-5-ол	-	-	-	452,0	84,3	29,0
каріофіла-3,8(13)-дієн-5-ол	-	-	-	-	-	7,2
епі-α-кадінол	83,7	75,9	679,6	-	-	-
α-кадінол	7,8	10,2	58,1	-	-	-
α-бісаболол	18,7	12,4	74,9	-	-	-
α-циперон	-	-	-	22,5	-	-
міристинова кислота	-	-	248,1	-	-	20,7
ВСЬОГО	1645,4	2114	6187,5	6454,3	2058,7	1004,7

Встановлено, що головним чином до складу ефірної олії вказаних об'єктів входять сесквітерпеноїди. Найбільшу кількість сполук виявлено у стеблах вітексу священного та суцвіттях вітексу коноплеподібного. Спільними для усіх досліджуваних зразків виявились 11 речовин. У суцвіттях та листі вітексу священного домінують β-каріофілен та транс-β-фарнезен, у стеблах вітексу священного – транс-β-фарнезен, спатуленол та епі-β-кадінол, у всіх видах сировини вітексу коноплеподібного значно переважає β-каріофілен при повній відсутності транс-β-фарнезену. Характерною ознакою вітексу священного є наявність епі-β-кадінолу (до 679,6 мг/кг).

Незважаючи на те, що β-каріофілен характерний для усіх досліджуваних видів сировини, лише

у сировині вітексу коноплеподібного встановлено у велику кількість (до 452 мг/кг) таких його оксопохідних, як каріофіла-2(12),6(13)-дієн-5-он, каріофіла-4(12),8(13)-дієн-5-ол та каріофіла-3,8(13)-дієн-5-ол. Також відмінністю сировини вітексу коноплеподібного є наявність α-іонону, α- та β-селінену. Всупереч даним літератури [3], 1,8-цинеол у сировині вітексу коноплеподібного не виявлено. Результати якісного виявлення терпенів методом ТШХ не суперечать даним хромато-маспектрометричного визначення.

**Висновки.** У результаті проведених мікрохімічних реакцій встановлено, що ефірні олії локалізуються в ефіроолійних залозках та в термінальних клітинах головчастих волосків.

Найвищий вміст ефірної олії встановлено в стеблах вітексу священного (6187,5 мг/кг) та

суцвіттях вітексу коноплеподібного (6454,3 мг/кг). Серед ідентифікованих сполук кількісно переважають сесквітерпени.

Основним компонентом ефірної олії вітексу коноплеподібного є  $\beta$ -каріофілен, вміст якого коливається від 52,17 % у суцвіттях до 56,12 % у стеблах.

Для стебел вітексу священного характерним

є переважання транс- $\beta$ -фарнезену (15,39 %), спатуленолу (14,33 %) та епі- $\alpha$ -кадінолу (10,98 %). У листі та суцвіттях домінує  $\beta$ -каріофілен (25,54 та 18,30 % відповідно).

Видоспецифічними компонентами можна назвати  $\alpha$ - та  $\beta$ -селінен у сировині вітексу коноплеподібного та транс- $\beta$ -фарнезен - у надземних органах вітексу священного.

### Література

1. Chantaronthai P. A Revision of the Genus Vitex (Lamiaceae) in Thailand / P. Chantaronthai // Tropical Natural History. – 2011. – Vol. 11(2). – P. 91–118.
2. Ganapaty S. Phytoconstituens and biological activities of Vitex – a review / S. Ganapaty, K.N. Vidyadhar // Journal

of Natural Remedies. – 2005. – Vol. 5(2). – P. 75–95.

3. Galletti G. C. Essential Oil Composition of Vitex agnus-castus L. from Calabria, Southern Italy / G.C. Galletti, M.T. Russo, P. Bocchini // Rapid Communications in Mass Spectrometry. – 1996. – Vol. 10 (11). – P. 1345–1350.

## ИССЛЕДОВАНИЕ ЭФИРНОГО МАСЛА ЛИСТЬЕВ, СТЕБЛЕЙ И СОЦВЕТИЙ VITEX AGNUS-CASTUS L. И V. CANNABIFOLIA SIEB

О. В. Ющишена<sup>1</sup>, А. А. Цуркан<sup>1</sup>, О. А. Кораблева<sup>2</sup>, Н. П. Ковальская<sup>3</sup>

<sup>1</sup>ГУ "Институт фармакологии и токсикологии НАМНУ", Киев

<sup>2</sup>Национальный ботанический сад имени Н. Н. Гришко НАН Украины, Киев

<sup>3</sup>Национальный медицинский университет имени А. А. Богомольца, Киев

**Резюме:** в статье приведены результаты качественного и количественного определения компонентного состава эфирного масла листьев, стеблей и соцветий витекса священного и витекса коноплевидного, собранных на территории Украины, методами тонкослойной хроматографии и хромато-масс-спектрометрии. Установлено, что главным компонентом эфирного масла разных видов сырья витекса коноплевидного является  $\beta$ -кариофиллен (до 56,12 %), в соцветиях и листьях витекса священного доминируют  $\beta$ -кариофиллен (25,54 % и 18,30 % соответственно) и транс- $\beta$ -фарнезен, в стеблях витекса священного – транс- $\beta$ -фарнезен (15,39 %), спатуленол (14,33 %) и эпи- $\beta$ -кадинол (10,98 %).

**Ключевые слова:** Vitex agnus-castus L., Vitex cannabifolia Sieb., эфирное масло,  $\beta$ -кариофиллен, транс- $\beta$ -фарнезен, хромато-масс-спектрометрический метод.

## INVESTIGATION OF ESSENTIAL OILS FROM LEAVES, STEMS AND INFLORESCENCES OF VITEX AGNUS-CASTUS L. AND V. CANNABIFOLIA SIEB

О. В. Yushchysheha<sup>1</sup>, О. О. Tsurkan<sup>1</sup>, О. А. Korablyova<sup>2</sup>, N. P. Kovalska<sup>3</sup>

<sup>1</sup>SI 'Institute of Pharmacology and Toxicology of NAMSU', Kyiv

<sup>2</sup>National Botanical Garden by M. M. Hryshko of NAS of Ukraine, Kyiv

<sup>3</sup>National Medical University by O. O. Bohomolets, Kyiv

**Summary:** the results of quantitative and qualitative analysis of chaste tree and chinese chaste tree (plants were grown in Ukraine) essential oils' components were presented. The analysis was acted by methods of thin-layer chromatography and gas chromatography - mass spectrometry. It was found, that the main component in essential oil of different V. cannabifolia Sieb. raw materials is  $\beta$ -caryophyllene (up to 56,12 %). The major compounds in leaves and stems of V. agnus-castus L. are  $\beta$ -caryophyllene (according 25,54 % and 18,30 %) and trans- $\beta$ -farnesene. The main terpenes in chaste tree' stems are trans- $\beta$ -farnesene (15,39 %), spatulenol (14,33 %) and epi- $\beta$ -cadinole (10,98 %).

**Key words:** Vitex agnus-castus L., Vitex cannabifolia Sieb., essential oils,  $\beta$ -caryophyllene, trans- $\beta$ -farnesene, chromatography-mass spectrometry method.