

Рекомендована д. фармац. наук, проф. Д. І. Дмитрієвським

УДК 615.32:633.888.271]-08

## ВПЛИВ КОНЦЕНТРАЦІЇ СПИРТУ ЕТИЛОВОГО НА ЕКСТРАКЦІЮ СЕСКВІТЕРПЕНОВИХ КИСЛОТ ВАЛЕРІАНИ

©Л. В. Вронська

Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського

**Резюме:** досліджено вплив концентрації спирту на екстракцію сесквітерпенових кислот валеріани лікарської. Показано, що витяги, отримані на 80 % спирті етилового, мають найвищий вміст ацетоксивалеренової і валеренової кислот та валереналу. Використання водно-спиртових сумішей з низьким вмістом спирту етилового зумовлює значний гідроліз ацетоксивалеренової кислоти і не забезпечує кількісної екстракції валеренової кислоти та валереналу.

**Ключові слова:** корені валеріани лікарської, екстракція, сесквітерпенові кислоти, валереналь, хроматографія.

**Вступ.** Ефективність лікарських засобів рослинного походження визначається складом отримуваних екстрактів, їхньою стабільністю в процесі зберігання, видом і технологією готових лікарських засобів. Зокрема, дуже важливим в технології фітохімічних препаратів є вибір оптимального екстрагента.

Екстракт валеріани на основі коренів валеріани в Україні виготовляють типово із застосуванням 40 % спирту етилового, настойка валеріани – 70 % спирту [1, 2]. Відомі способи отримання настойки валеріани із застосуванням 70 % спирту і попередньої обробки сировини натрій гідрогенсульфітом або ультразвуковою обробкою під час екстракції, а екстракту валеріани з трави валеріани – із застосуванням 65–75 % спирту [3]. У всіх згаданих випадках якість екстракту або настойки визначалися вмістом валеріанової кислоти. Разом з тим якість коренів валеріани, відповідно до вимог Державної фармакопеї України (ДФУ) [4], визначається вмістом сесквітерпенових кислот, а отже, якість настойки й екстракту повинні визначатись їхнім вмістом. У сьомому виданні Європейської Фармакопеї (EPH) наведено монографію на настойку валеріани, яку отримують за допомогою 60–80 % спирту та відповідного методу екстракції, а її якість контролюють за вмістом суми сесквітерпенових кислот [5]. У цьому ж нормативному документі наведено монографії на сухий водний (отримують з використанням води з температурою не вище 60 °С) і сухий спиртово-водний (отримують за допомогою водно-етанольних розчинів з вмістом етанолу 30–90 % або водно-метанольних розчинів з вмістом метанолу 40–55 %) екстракти, якість яких контролюють за вмістом сесквітерпенових кислот [5]. Відповідно до вимог Фармакопеї Німеччини DAB 2003 настойку й екстракт валеріани отримують за до-

помогою 70 % спирту етилового, хоча готові таблетовані лікарські засоби німецького виробництва вміщують екстракти, отримані за допомогою різних екстрагентів, не вказаних у DAB 2003.

Тому метою нашої роботи було вивчення залежності екстракції сесквітерпенових кислот валеріани від концентрації спирту етилового в екстрагенті.

**Методи дослідження.** Витяги отримували з коренів валеріани виробництва «Віола» класичним методом. Як екстрагентів використовували воду (без нагрівання) і спиртові розчини з вмістом спирту етилового 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90 і 95 %. Таким чином було отримано 11 витягів, з екстракційним співвідношенням (DER) 1:2,2 (з 45 г сировини отримано по 100 мл екстракту).

Отримані витяги досліджували на наявність сесквітерпенових кислот, визначали вміст сухого залишку за методикою ДФУ [6], вміст суми органічних кислот у перерахунку на валеріанову і вміст суми сесквітерпенових кислот у перерахунку на валеренову відповідно до методик [7, 6].

Наявність сесквітерпенових кислот досліджували методом тонкошарової хроматографії (ТШХ) в умовах, описаних у [8] і методом високоефективної рідинної хроматографії (ВЕРХ) відповідно.

Вміст суми сесквітерпенових кислот визначали за двома ВЕРХ-методиками, застосовуючи різні рухомі фази та режими елюювання: методика 1 – ацетонітрил і 5 г/л фосфорна кислота та градієнтне елюювання, методика 2 – метанол і 0.5 % фосфорна кислота та ізократичне елюювання.

**Результати й обговорення.** Усі отримані витяги мали забарвлення від темно-коричневого до світло-коричневого у міру зростання концентрації спирту у використаному екстрагенті. Результати визначення кількісних показників отриманих витягів валеріани наведено у таб-

лиці 1. Вміст сухого залишку зростає до максимального значення (11,38 %) при застосуванні екстрагенту з вмістом спирту 50 %, після чого стрімко зменшується. Це пояснюється спершу зростанням ступеня екстракції різних класів біологічно активних сполук із зростанням концентрації спирту в екстрагенті, а потім зменшенням її у міру зменшення полярності екстрагенту.

**Таблиця 1.** Результати аналізу витягів валеріани коренів залежно від концентрації спирту етилового у використаному екстрагенті (P = 0,95, n = 5)

Вміст спирту етилового в екстрагенті, %	Вміст сухого залишку, %	Вміст органічних кислот у перерахунку на валеріанову кислоту, %
0	8,19 ± 0,02	0,502 ± 0,002
10	9,88 ± 0,03	0,483 ± 0,003
20	9,84 ± 0,04	0,245 ± 0,002
30	10,72 ± 0,03	0,240 ± 0,003
40	11,25 ± 0,02	0,252 ± 0,002
50	11,38 ± 0,02	0,236 ± 0,003
60	10,81 ± 0,04	0,351 ± 0,002
70	10,65 ± 0,03	0,316 ± 0,002
80	9,29 ± 0,02	0,258 ± 0,003
90	5,93 ± 0,03	0,223 ± 0,002
95	3,27 ± 0,03	0,191 ± 0,003

При ТШХ-дослідженні встановлено, що екстрагенти з низькою концентрацією спирту етилового забезпечують отримання витягів зі значним вмістом водорозчинних поліфенольних сполук. Екстракція водою і екстрагентами низької концентрації сприяють гідролізу ацетоксивалеренової кислоти і внаслідок цього витяги містять значну кількість гідроксивалеренової кислоти. Присутність гідроксивалеренової кислоти у витягах з високим вмістом етанолу

Вміст органічних кислот у витягах, отриманих за допомогою води і 10 % спирту, найбільший і зменшується у міру збільшення вмісту спирту етилового в екстрагенті. Вода і 10 % спирт значно екстрагують водорозчинні органічні кислоти, наприклад щавлеву, винну, яблучну, тоді як екстрагенти з вищим вмістом етанолу вилучають компоненти ефірної олії.

(80–95 %) можна пояснити її присутністю у вихідній сировині. Разом з тим низький вміст спирту етилового в екстрагентах, за даними ТШХ, не дозволяє екстрагувати валереналь, він виявляється лише у витягах з вмістом спирту 80 % і вище. Ацетоксивалеренова і валеренова кислоти суттєво вилучаються екстрагентами з вмістом спирту вищим 50 %. Результати ТШХ-аналізу досліджуваних витягів приведено у таблиці 2.

**Таблиця 2.** Результати ТШХ-дослідження витягів з валеріани коренів

Вміст спирту етилового в екстрагенті, %	Зона гідроксивалеренової кислоти	Зона ацетоксивалеренової кислоти	Зона валеренової кислоти	Зона валереналу
0	інтенсивна	відсутня	відсутня	відсутня
10	інтенсивна	відсутня	відсутня	відсутня
20	дуже інтенсивна	дуже слабка	дуже слабка	відсутня
30	дуже інтенсивна	інтенсивна	слабка	відсутня
40	дуже інтенсивна	дуже інтенсивна	інтенсивна	відсутня
50	інтенсивна	дуже інтенсивна	дуже інтенсивна	відсутня
60	інтенсивна	дуже інтенсивна	дуже інтенсивна	відсутня
70	інтенсивна	дуже інтенсивна	дуже інтенсивна	слабка
80	слабка	дуже інтенсивна	дуже інтенсивна	дуже інтенсивна
90	слабка	дуже інтенсивна	дуже інтенсивна	дуже інтенсивна
95	слабка	дуже інтенсивна	дуже інтенсивна	дуже інтенсивна

Дані ТШХ-дослідження добре корелюють з результатами ВЕРХ-дослідження отриманих витягів. На рисунках 1–6 наведено хроматограми, отримані за двома ВЕРХ-методиками, з аналізу яких випливає, що гідроксивалеренова кисло-

та присутня у значній кількості у витягах з низьким вмістом спирту етилового і, навпаки, ацетоксивалеренова й валеренова кислоти та валереналь вилучаються екстрагентами з високою концентрацією спирту етилового.



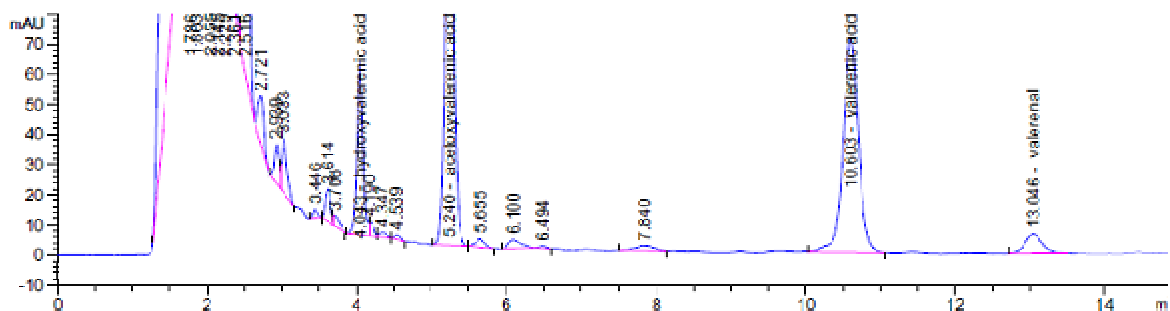


Рис. 5. Хроматограма витягу валеріани коренів, отриманого за допомогою 40 % спирту в умовах ВЕРХ-аналізу за методикою 2.

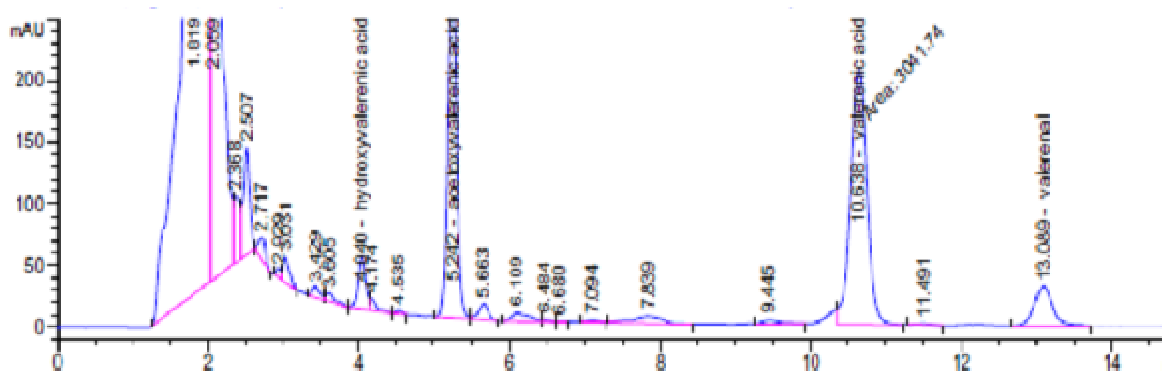


Рис. 6. Хроматограма витягу валеріани коренів, отриманого за допомогою 80 % спирту в умовах ВЕРХ-аналізу за методикою 2.

У таблиці 3 наведено загальні результати виявлення і визначення сесквітерпенових кислот і валереналю методом ВЕРХ за методикою 2. Площі піків вказаних біологічно активних речовин валеріани, виражені в абсолютних значен-

нях і нормалізовані стосовно максимального абсолютного значення, дають змогу представити цілісну картину ефективності екстракції сесквітерпенових кислот і валереналю залежно від концентрації спирту етилового в екстрагенті.

Таблиця 3. Результати хроматографічного дослідження сесквітерпенових кислот і валереналю у витягах валеріани коренів за методикою 2

Вміст спирту етилового в екстрагенті, %	Площа піку гідроксивалеренової кислоти		Площа піку ацетоксивалеренової кислоти		Площа піку валеренової кислоти		Площа піку валереналю	
	абсолютне значення	нормалізоване значення	абсолютне значення	нормалізоване значення	абсолютне значення	нормалізоване значення	абсолютне значення	нормалізоване значення
0	178,58	43,6	6,96	0,3	-	-	-	-
10	310,59	75,9	10,90	0,5	23,15	0,8	13,87	2,7
20	401,96	98,2	67,16	2,9	40,31	1,3	15,04	2,9
30	409,24	100,0	522,29	22,6	196,57	6,5	16,82	3,2
40	379,93	92,8	1359,78	59,0	1015,93	33,5	100,67	19,3
50	260,29	63,6	1862,27	80,7	2172,24	71,6	321,80	61,6
60	246,91	60,3	1919,10	83,2	2483,46	81,9	410,51	78,6
70	253,08	61,8	1995,40	86,5	2660,75	87,7	462,31	88,5
80	296,50	62,5	2306,22	100,0	3032,53	100,0	522,52	100,0
90	260,20	63,6	2008,14	87,1	2608,74	86,0	436,89	83,6
95	253,86	62,0	1915,33	83,1	2459,98	81,1	398,96	76,4

Представлені у таблиці 3 дані вказують, що застосування екстрагента з вмістом спирту етилового 30 % дозволяє отримувати витяги з най-

вищим вмістом гідроксивалеренової кислоти, тоді як у такому витязі ацетоксивалеренової залишиться (внаслідок гідролізу при екстракції)

близько 22 % від можливого, валеренової про-екстрагується близько 7 % від можливого і валереналю – тільки близько 3 %. Максимальний вміст ацетоксивалеренової і валеренової кислот та валереналю у витязі можна отримати за допомогою 80 % розчину етанолу як екстрагенту.

У таблиці 4 наведено результати кількісного

визначення суми ацетоксивалеренової і валеренової кислот в отриманих витягах. Оцінювали абсолютний вміст тільки цих двох біологічно активних речовин валеріани, оскільки за ними відбувається стандартизація екстрактів, отримуваних за допомогою спиртово-водних сумішей, відповідно до вимог EPh [6].

**Таблиця 4.** Результати хроматографічного визначення суми сесквітерпенових кислот (ацетоксивалеренової і валеренової) у витягах валеріани коренів

Вміст спирту етилового в екстрагенті, %	Вміст сесквітерпенових кислот у перерахунку на валеренову кислоту, мг/мл	
	методика 1	методика 2
0	0,002	0,001
10	0,004	0,004
20	0,013	0,012
30	0,083	0,081
40	0,270	0,268
50	0,455	0,455
60	0,493	0,497
70	0,519	0,525
80	0,596	0,602
90	0,513	0,521
95	0,485	0,494

Результати кількісного визначення ацетоксивалеренової і валеренової кислот, проведеного за двома методиками, між собою корелюють повністю. Найвищий вміст суми цих кислот характерний для витягів з вмістом спирту 80 %. Достатньо висока концентрація цих біологічно активних речовин валеріани визначена у витягах, отриманих з використанням екстрагентів із вмістом етанолу більше 50 %. Як показано у таблиці 3, валереналь за таких умов також добре вилучався – більше 60 % від можливого. У роботі [1] вивчали екстракцію сесквітерпенових кислот за допомогою 40 % спирту етилового як екстрагенту, при застосуванні різних методів екстракції (перколяція і реперколяція), внаслідок чого відзначена наявність значного гідролізу ацетоксивалеренової кислоти і недостатність вилучення валеренової кислоти при застосуванні методу реперколяції. Останнє збігається з отриманими нами результатами, проте необґрунтованим є вивчення динаміки

екстракції сесквітерпенових кислот 40 % спиртовим екстрагентом.

**Висновки.** У результаті дослідження впливу концентрації спирту на екстракцію сесквітерпенових кислот валеріани лікарської встановлено, що:

1. 80 % розчин спирту етилового забезпечує кількісну екстракцію ацетоксивалеренової і валеренової кислот та валереналю.

2. Застосування екстрагентів з низьким вмістом спирту етилового (менше 50 %) призводить до появи у витязі значної кількості гідроксивалеренової кислоти і не забезпечує вичерпної екстракції валеренової і ацетоксивалеренової кислот та валереналю.

З метою розробки технології рідкого екстракту валеріани з високим вмістом сесквітерпенових кислот, необхідні подальші дослідження з вивчення впливу способу підготовки і подрібнення сировини, часу і методу екстрагування на їх вихід.

#### Література

1. Середя А. В. Сесквітерпеновые кислоты в сырье и препаратах валерианы лекарственной / А. В. Середя, Л. А. Середя // Фармація. – 2009. – № 4. – С. 14–17.
2. Державний формуляр лікарських засобів. Випуск третій. МОЗ України. Центральний формулярний комітет МОЗ України. ДП «Державний експертний центр МОЗ України». – К. – 2011. – 1259 с. – Електронна версія.
3. Пат. 2098115 Россия. А61К35/78. Способ получения экстракта валерианы, обладающего седативным

действием / Талашова С. В., Фурса Н. С., Литвиненко В. И., Попова Т. П., Амосов А. С., Дегай А. М.; заявл. 30.06.1995; опубл. 10.12.1997.

4. Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». – 1-ше вид. – Харків: PIPEГ, 2001. – Доповнення 2. – 2008. – С. 383.

5. European Pharmacopoeia 7-ed. Electronic version – 3357 p.

6. Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». – 1-ше вид. – Харків: РІРЕГ, 2001. – Доповнення 1. – 2004. – С. 63.  
7. Вронська Л. В. Розробка і валідація потенціометричної методики кількісного визначення суми орга-

нічних кислот у настійці валеріани / Л. В. Вронська / Фарм. часопис. – 2011. – № 3. – С. 69–74.

8. Вронська Л. В. Застосування хроматографічних методів для ідентифікації настійки валеріани / Л. В. Вронська // Фарм. часопис. – 2012. – № 1. – С. 53–59.

## **ВЛИЯНИЕ КОНЦЕНТРАЦИИ СПИРТА ЭТИЛОВОГО НА ЭКСТРАКЦИЮ СЕСКВИТЕРПЕНОВЫХ КИСЛОТ ВАЛЕРИАНЫ**

**Л. В. Вронска**

*Тернопольский государственный медицинский университет имени И. Я. Горбачевского*

**Резюме:** исследовано влияние концентрации спирта на экстракцию сесквитерпеновых кислот валерианы лекарственной. Показано, что вытяжки, полученные на 80 % спирте этиловом, имеют высокое содержание ацетоксивалереновой и валереновой кислот и валеренала. Использование водно-спиртовых смесей с низким содержанием спирта этилового приводит к значительному гидролизу ацетоксивалереновой кислоты и не обеспечивает количественной экстракции валереновой кислоты и валеренала.

**Ключевые слова:** корни валерианы лекарственной, экстракция, сесквитерпеновые кислоты, валереналь, хроматография.

## **INFLUENCE OF ETHYL ALCOHOL CONCENTRATION ON VALERIAN SESQUITERPENIC ACIDS EXTRACTION**

**L. V. Vronska**

*Teropil State Medical University by I. Ya. Horbachevsky*

**Summary:** the ethyl alcohol concentration effect on the valerian sesquiterpenic acids extraction has been investigated. It is shown that the extracts obtained on 80 % ethyl alcohol, are high in acetoxy-valerenic and valerenic acids and valeranal. The use of water-alcohol mixtures with low ethyl alcohol leads to a significant acetoxy-valerenic acid hydrolysis and does not provide a quantitative extraction of valerenic acid and valeranal.

**Key words:** valerian roots, extraction, sesquiterpenic acids, valeranal, chromatography.