

УДК: 633.884:582.998.1:631.577:547.596/.597

**Летучие вещества водно-этанольных экстрактов бессмертника
ИТАЛЬЯНСКОГО****Г.В.Корнильев, А.Е.Палий, Л.А.Хлыпенко, В.Н.Ежов***Никитский ботанический сад – Национальный научный центр НААН Украины (пгм. Нукита,
г.Ялта, Украина)
gurij-kornilev@yandex.ru*

В статье изучен качественный и количественный состав летучих веществ экстрактов *Helichrysum italicum* (Roth.) Guss. сорта ВИМ и *Helichrysum italicum* (Roth.) Guss. ssp. *angustifolium* (DC) E. Ossip. comb. nova сорта Кристалл. Основные компоненты у сорта ВИМ – α-пинен (43,27%) и лимонен (12,15%), у сорта Кристалл – нерилацетат (16,22%), италидион 2 (8,06%) и 2,3-дигидро-3,5-диокси-6-метил-4 Н-пиран-4-он (6,24%). В целом, в экстракте сорта ВИМ преобладают моно- и сесквитерпеновые соединения, в экстракте сорта Кристалл – кислородсодержащие и этерифицированные моно- и сесквитерпеноиды, а также вещества нетерпеновой природы.

Ключевые слова: *Helichrysum italicum* (Roth.) Guss., *Helichrysum italicum* (Roth.) Guss. ssp. *angustifolium* (DC) E. Ossip. comb. nova, водно-этанольные экстракты, летучие вещества, монотерпены, сесквитерпены.

Леткі речовини водно-етанольних екстрактів цмину італійського**Г.В.Корнильєв, А.Є.Палій, Л.А.Хлипенко, В.М.Єжов**

У статті вивчено якісний та кількісний склад летких речовин екстрактів *Helichrysum italicum* (Roth.) Guss. сорту ВІМ і *Helichrysum italicum* (Roth.) Guss. ssp. *angustifolium* (DC) E. Ossip. comb. nova сорту Кристал. Основні компоненти у сорту ВІМ – α-пінен (43,27%) і лімонен (12,15%), у сорту Кристал – нерилацетат (16,22%), італідіон 2 (8,06%) і 2,3-дигідро-3,5-діокси-6-метил-4 Н-піран-4-он (6,24%). Загалом, в екстракті сорту ВІМ переважають моно- й сесквітерпенові сполуки, в екстракті сорту Кристал – оксигеновані та етерифіковані моно- й сесквітерпеноїди, а також речовини нетерпенової природи.

Ключові слова: *Helichrysum italicum* (Roth.) Guss., *Helichrysum italicum* (Roth.) Guss. ssp. *angustifolium* (DC) E. Ossip. comb. nova, водно-етанольні екстракти, леткі речовини, монотерпени, сесквітерпени.

Volatile substances of water-ethanol extracts of *Helichrysum italicum***G.V.Kornil'yev, A.E.Paliy, L.A.Hlypenko, V.M.Ezhov**

In the article the qualitative and quantitative composition of the volatile substances of *Helichrysum italicum* (Roth.) Guss. (variety 'VIM') and *Helichrysum italicum* (Roth.) Guss. ssp. *angustifolium* (DC) E. Ossip. comb. nova (variety 'Crystal') extracts have been studied. The main components of variety 'VIM' are α-pinene (43.27%) and limonene (12.15%). The main components of variety 'Crystal' are neryl acetate (16.22%), italdione 2 (8.06%) and 2,3-dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl-4H-pyran-4-one (6.24%). In general, mono- and sesquiterpene compounds prevail in the extract of 'VIM' whereas oxygenated and etherified mono- and sesquiterpenoides and nonterpeneic substances prevail in the extract of 'Crystal'.

Key words: *Helichrysum italicum* (Roth.) Guss. *Helichrysum italicum* (Roth.) Guss. ssp. *angustifolium* (DC) E. Ossip. comb. nova, water-ethanol extracts, volatile substances, monoterpenes, sesquiterpenes.

Введение

Род бессмертник (*Helichrysum* Mill.) относится к семейству сложноцветных (Compositae), или Астровых (Asteraceae); в естественном виде произрастает в регионе Средиземноморья. Одним из наиболее распространенных видов бессмертника является *Helichrysum italicum* (Roth.) G. Don. (син. *Helichrysum angustifolium* DC) – бессмертник итальянский, в составе вида выделяют ряд подвидов: *H. italicum* ssp. *italicum*, *H. italicum* ssp. *microphyllum*, *H. italicum* ssp. *serotoninum*, *H. italicum* ssp. *angustifolium*, которые отличаются по морфологическим и хемотипическим признакам (Мазнев, 2004; Perrini et al., 2009).

Бессмертник служит сырьём для получения галеновых препаратов, стимулирующих желчеотделение, мягко повышающих тонус желчного пузыря и улучшающих метаболизм печени. Описано антиаллергическое, антибактериальное, антимикробное, антиоксидантное, противовирусное, противовоспалительное, фунгицидное действие эфирного масла и спиртовых экстрактов бессмертника (Roussis et al., 1998; Ярош и др., 2010; Mancini et al., 2011; Angioni et al., 2003; Mastelic et al., 2005; Rosa et al., 2007). Кроме того, установлено, что летучие вещества эфирного масла бессмертника обладают эуфорически-тонизирующим действием, улучшая самочувствие, снижая психологическую напряжённость, повышая степень бодрости и внимательности (Ярош и др., 2010).

Указанное биологическое действие препаратов бессмертника напрямую связано с содержанием в нём биологически активных веществ, в частности терпеновой природы. Так, с наличием ряда терпеновых соединений связано антимикробное действие, спазмолитическое – обусловлено присутствием нерилацетата, противовоспалительные свойства определяются содержанием куркуминов, антибактериальные – смоляных кислот (Mastelic et al., 2005; Rosa et al., 2007; Tucker et al., 1997).

Литературные данные о летучих веществах бессмертника итальянского касаются главным образом его эфирных масел и показывают отличие в компонентном составе не только между его видами и хемотипами (Tucker et al., 1997), но и между образцами различных мест произрастания (экологический фактор). Так, в эфирном масле *Helichrysum italicum* ssp. *italicum*, произрастающего на Корсике, обнаружен нерилацетат (преобладающий компонент), нерилпропионат, нерол, ациклические кетоны и β-дикетоны. Эфирное масло образца, собранного на Сардинии, содержало нерилацетат, нерол, нерилпропионат, линалоол, эвдесм-5-ен-11-ол и γ-куркумен. В эфирном масле *Helichrysum italicum* ssp. *italicum*, выращенного в Таскании, преобладали α-пинен, β-кариофиллен, α- и β-селинен (Biancini et al., 2003).

Известно, что на качественный и количественный состав биологически активных веществ в растении большое влияние оказывают условия произрастания, кроме того, немаловажную роль имеют способы извлечения этих веществ из растительного сырья. Так, нативные экстракты, не подвергшиеся термообработке и воздействию процессов разделения и очистки, имеют, как правило, более высокую биологическую активность за счет действия всего комплекса физиологически активных веществ растения.

В Никитском ботаническом саду – Национальном научном центре ведутся многолетние исследования по интродукции и селекции бессмертника итальянского и его подвидов. В настоящее время выведен ряд новых сортов и форм, среди которых по ряду хозяйственно ценных признаков (урожайность сырья, массовая доля эфирного масла от сырой массы сырья, сбор эфирного масла) выделяются *Helichrysum italicum* (Roth.) Guss. сорт ВИМ, и бессмертник узколистный – *Helichrysum italicum* (Roth.) Guss. ssp. *angustifolium* (DC) E. Ossip. comb. Nova сорт Кристалл (Работягов и др., 2011).

В связи с этим целью работы является сравнительный анализ качественного и количественного состава летучих веществ водно-этанольных экстрактов *H. italicum* “ВИМ” и *H. italicum* ssp. *angustifolium* “Кристалл” селекции НБС–ННЦ для оценки данных сортов как источников биологически активных веществ.

Материалы и методы

Растения *H. italicum* сорта ВИМ представляют собой компактные кусты высотой 60 см, диаметром 90 см. Стебли сильноребристые, древеснеющие; однолетние побеги 20–30 см. Молодые листья сизые, взрослые – почти белые, опушённые густым войлоком одноклеточных и многоклеточных волосков. Листья продолговатые, сидячие, плотные, длиной 2,2–2,8 см и шириной 0,3 см. Соцветие головчатое, плотное, слабоветвистое. В соцветии до 30 крупных корзинок диаметром 7 мм, бочковидной формы в фазе бутонизации и шаровидной – в фазе цветения. Цветки ярко-оранжевые. Массовое цветение отмечается во II декаде июля, плодоношение – в I–II декадах августа. Плод – семянка округлой формы, светло-коричневая, мелкая, с крупными продолговатыми желёзками. От начала вегетации до созревания семян проходит в среднем 130 дней (Работягов и др., 2011).

Растения *H. italicum* ssp. *angustifolium* сорта Кристалл представляют собой кусты полураскидистой формы высотой 58 см, диаметром 90 см. Стебли сильноребристые, древеснеющие;

однолетние побеги длиной до 20 см. Молодые листья серо-зелёные, сидячие, продолговатые, длиной 2–3 см, шириной 0,15–0,20 см. Соцветие щитковидное, рыхлое. В соцветии 10–11 мелких корзинок диаметром 3 мм, яйцевидной формы в фазе бутонизации и цилиндрической – в фазе цветения. Цветки светло-жёлтые. Массовое цветение отмечается во II–III декаде июля, плодоношение – во II–III декаде августа. Плод – мелкая семянка округлой формы, светло-коричневая, с крупными продолговатыми прозрачными желёзками. От начала вегетации до созревания семян проходит 130 дней (Работягов и др., 2011).

Таким образом, исследуемые сорта отличаются прежде всего характером генеративных органов (размерами, формой и окраской соцветий), а также сроками цветения и плодоношения.

Объектом исследования явились водно-спиртовые экстракты соцветий (воздушно-сухое сырьё) *H. italicum* "ВИМ" и *H. italicum* ssp. *angustifolium* "Кристалл", собранных на коллекционных участках Никитского ботанического сада. Экстракцию проводили 50%-ным этанолом при соотношении сырья и экстрагента – 1 : 10 настаиванием в течение 10 суток при комнатной температуре. Компонентный состав летучих веществ определяли с помощью хроматографа Agilent Technology 6890 с масс-спектрометрическим детектором 5973. Колонка HP-1 длиной 30 м; внутренний диаметр – 0,25 мм. Температура термостата программировалась от 50 до 250°C со скоростью 4°C/мин. Температура инжектора – 250°C. Газ-носитель – гелий, скорость потока 1 см³/мин. Перенос от газового хроматографа к масс-спектрометрическому детектору прогревался до 230°C. Температура источника поддерживалась на уровне 200°C. Электронная ионизация проводилась при 70 eV в ранжировке масс *m/z* от 29 до 450. Регистрируемые интенсивности возникающих при этом ионов пропорциональны количественному содержанию компонентов. Идентификация выполнялась на основе сравнения полученных масс-спектров с данными комбинированной библиотеки NIST05-WILEY2007 (около 500000 масс-спектров).

Результаты и обсуждение

В результате проведенных исследований в спектре летучих веществ сорта ВИМ идентифицировано 23 соединения, в спектре сорта Кристалл – 10 соединений (табл. 1; рис. 1, 2).

Исследуемые образцы отличаются как по качественному, так и по количественному составу компонентов. Экстракт сорта ВИМ обладает более разнообразным спектром летучих веществ. Основными компонентами у *H. italicum* "ВИМ" являются α -пинен (43,27%) и лимонен (12,15%); у *H. italicum* ssp. *angustifolium* "Кристалл" – нерилацетат (16,22%), италидион 2 (8,06%) и производное пирана – 2,3-дигидро-3,5-диокси-6-метил-4 Н-пиран-4-он (6,24%).

При сравнении полученных для экстрактов результатов с данными по составу эфирных масел указанных сортов, известными из литературы (Работягов и др., 2007), видны отличия, связанные с превращением компонентов сырья в процессе настаивания экстрактов. Так, в эфирном масле сорта ВИМ преобладают линалоол (30,5%) и линалилацетат (9,6%) (Работягов и др., 2007). Предположительно, происходит циклизация линалоола (в форме линалилпирофосфата) до пинена, а также образование лимонена из линалоола через цитраль и цитронеллаль. Данные процессы сопровождаются гидролизом линалилацетата, чем объясняется присутствие в обоих экстрактах уксусной кислоты (табл. 1). Вместе с тем, и в эфирном масле (21%) (Работягов и др., 2007), и в экстракте сорта Кристалл (табл. 1) преобладает нерилацетат, что можно объяснить большей устойчивостью данного соединения.

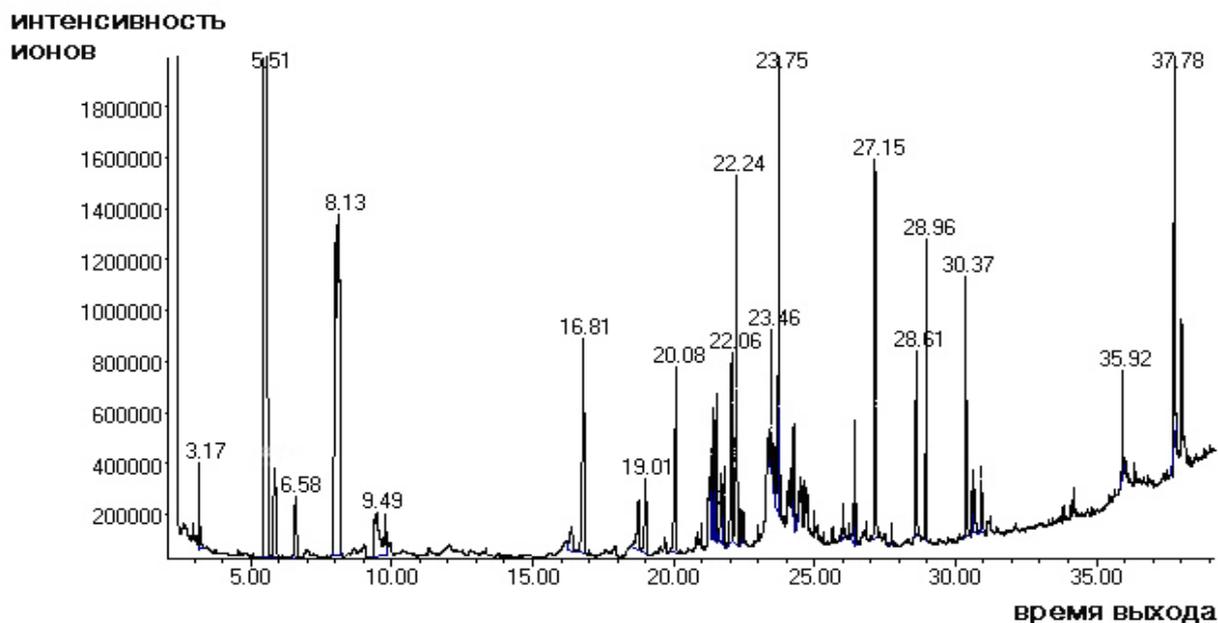
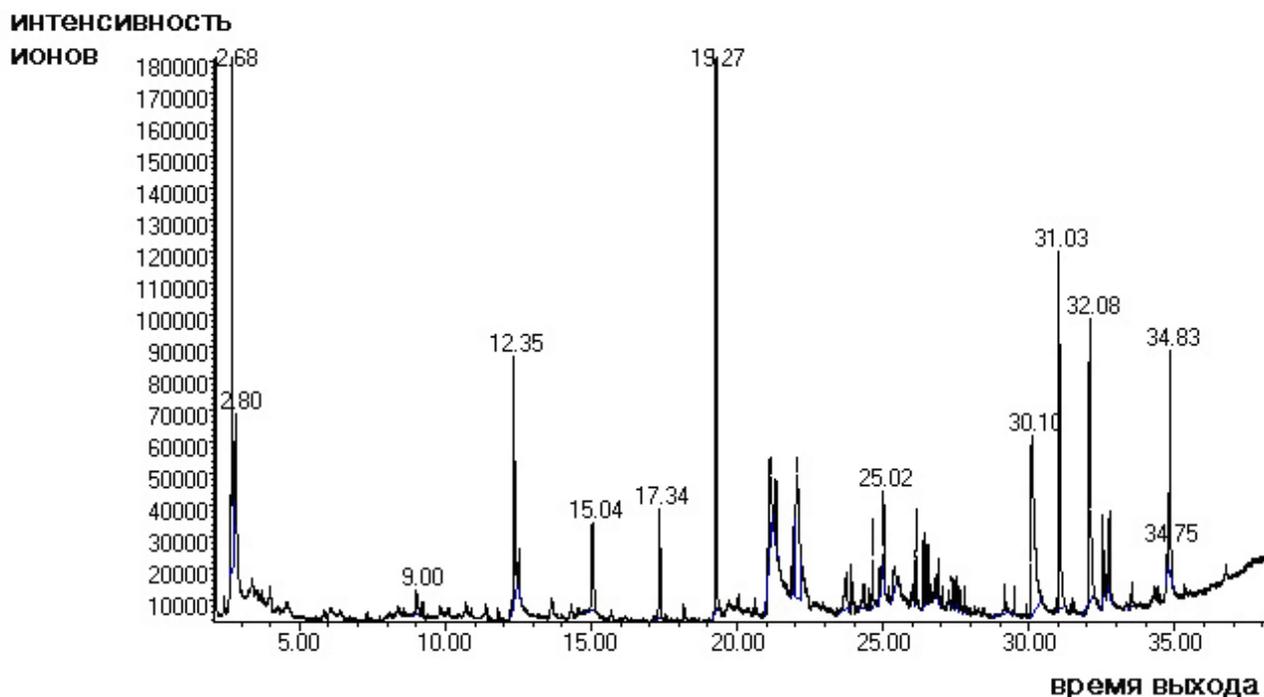
В экстракте сорта ВИМ α -, β -пинены и α -, γ -, δ -кадинены формируют его хвойно-бальзамический аромат. Лимонен вносит в аромат цветочно-фруктовую ноту. Аромат экстракта сорта Кристалл имеет более выраженную цветочную составляющую за счёт нерола и его эфиров, что определяет более высокую ценность данного образца.

Выявленные в экстрактах компоненты отличаются по характеру описанного физиологического действия (Мишарина и др., 2009; Мишарина, Самусенко, 2008; Николаевский, 2000; Tucker et al., 1997). Так, экстракт сорта ВИМ содержит лимонен, обладающий антиоксидантным, желчегонным, диуретическим действием; α -пинен – диуретическим, муколитическим; β -кариофиллен – противоопухолевым; куркумины – противовоспалительным действием. В экстракте сорта Кристалл содержится нерол, для которого описано спазмолитическое действие. Таким образом, по содержанию веществ с выраженной биологической активностью выделяется экстракт сорта ВИМ.

Таблица 1.
 Компонентный состав летучих веществ в водно-этанольных экстрактах *H. italicum* "ВИМ"
 и *H. italicum ssp. angustifolium* "Кристалл"

№ п/п	Время выхода	Компоненты	Массовая доля, %	
			"ВИМ"	"Кристалл"
1	2,68	уксусная кислота	0,49	7,24
2	2,80	ацетол	–	1,98
3	5,5	α-пинен	43,27	–
4	5,85	камфен	1,67	–
5	6,58	β-пинен	0,93	–
6	8,12	лимонен	12,15	–
7	9,48	3-оксо-2-метилвалерат	2,32	–
8	12,34	2,3-дигидро-3,5-диокси-6-метил-4 Н-пиран-4-он	–	6,24
9	12,52	изоамилангелат	–	0,78
10	15,04	нерол	–	3,37
11	16,36	гексилсенеционат	0,57	–
12	19,01	α-копаен	1,03	–
13	19,26	нерилацетат	–	16,22
14	20,08	β-кариофиллен	2,28	–
15	21,09	италидион 1	–	2,84
16	21,33	нерилпропионат	–	1,06
17	21,38	γ-куркумен	1,11	–
18	21,45	α-куркумен	0,79	–
19	21,51	β-селинен	1,20	–
20	21,69	α-селинен	0,74	–
21	21,79	α-мууролен	0,82	–
22	21,86	α-кедрен	–	0,40
23	22,05	италидион 2	–	8,06
24	22,06	γ-кадинен	1,75	–
25	22,24	δ-кадинен	3,42	–
26	22,39	кадина-1,4-диен	0,28	–
27	22,48	α-кадинен	0,20	–
28	23,45	этиллауринат	0,96	–
29	23,57	гвайол	0,32	–
30	23,75	розифолиол	4,49	–
31	24,26	эпи-α-кадинол	0,65	–
32	24,42	β-эвдесмол	0,15	–

В целом, в составе летучих веществ *H. italicum* "ВИМ" преобладают монотерпены (в основном за счёт α-пинена и лимонена) (табл. 1, 2). Также данный образец отличается от *H. italicum ssp. angustifolium* "Кристалл" присутствием большего количества сесквитерпеновых соединений.

Рис. 1. Хроматограмма летучих веществ *H. italicum* "ВИМ"Рис. 2. Хроматограмма летучих веществ *H. italicum* ssp. *angustifolium* "Кристалл"

Спектр летучих веществ *H. italicum* ssp. *angustifolium* "Кристалл" отличается преобладанием кислородсодержащих и этерифицированных монотерпеноидов, кислородсодержащих сесквитерпеноидов, также большей долей нетерпеновых веществ.

Таблица 2.
Классы летучих веществ водно-этанольных экстрактов *H. italicum* "ВИМ" и *H. italicum* ssp. *angustifolium* "Кристалл"

Класс веществ	Концентрация, %	
	ВИМ	Кристалл
Монотерпены	58,0	—
Кислородсодержащие монотерпеноиды	—	3,37
Этерифицированные кислородсодержащие монотерпеноиды	—	17,3
Сесквитерпены	13,6	0,40
Кислородсодержащие сесквитерпеноиды	5,61	10,9
Нетерпеновые соединения	4,34	16,2

Таким образом, водно-этанольные экстракты *H. italicum* "ВИМ" и *H. italicum* ssp. *angustifolium* "Кристалл" отличаются по качественному и количественному составу летучих веществ. Экстракт сорта ВИМ выделяется по содержанию веществ с выраженным физиологическим действием (в частности, лимонена, α -пинена, β -кариофиллена); экстракт сорта Кристалл является перспективным для использования в парфюмерии (за счёт содержания нерола и нерилацетата).

Выводы

Определён качественный и количественный состав летучих веществ экстрактов *H. italicum* "ВИМ" и *H. italicum* ssp. *angustifolium* "Кристалл".

1. Основные компоненты у сорта ВИМ – α -пинен (43,27%) и лимонен (12,15%), у сорта Кристалл – нерилацетат (16,22%), италидион 2 (8,06%) и 2,3-дигидро-3,5-диокси-6-метил-4 Н-пиран-4-он (6,24%).

2. В экстракте сорта ВИМ преобладают моно- и сесквитерпеновые соединения, в экстракте сорта Кристалл – кислородсодержащие и этерифицированные моно- и сесквитерпеноиды, а также вещества нетерпеновой природы.

3. По причине большего содержания таких монотерпеновых соединений, как нерол и нерилацетат, экстракт *H. italicum* ssp. *angustifolium* "Кристалл" обладает более высокой ценностью с точки зрения аромата, несмотря на меньшее разнообразие летучих веществ.

4. Экстракт *H. italicum* "ВИМ" является ценным в связи с содержанием веществ с выраженным физиологическим действием, в частности лимонена и α -пинена.

5. Проведённые исследования свидетельствуют о перспективности экстрактов *H. italicum* "ВИМ" и *H. italicum* ssp. *angustifolium* "Кристалл" в качестве источников биологически активных веществ.

Список литературы

- Мазнев Н.И. Энциклопедия лекарственных растений. – М.: Мартин, 2004. – 496с. /Maznev N.I. Entsiklopediya lekarstvennykh rasteniy. – М.: Martin, 2004. – 496s./
- Мишарина Т.А., Самусенко А.Л. Антиоксидантные свойства эфирных масел лимона, грейпфрута, кориандра, гвоздики и их смесей // Прикладная биохимия и микробиология. – 2008. – №4. – С. 482–486. /Misharina T.A., Samusenko A.L. Antioksidantnyye svoystva efirnykh masel limona, greypfruta, koriandra, гвоздики i ikh smesey // Prikladnaya biokhimiya i mikrobiologiya. – 2008. – №4. – S. 482–486./
- Мишарина Т.А., Теренина М.Б., Крикунова Н.И. Антиоксидантные свойства эфирных масел // Прикладная биохимия и микробиология. – 2009. – №6. – С. 710–716. /Misharina T.A., Terenina M.B., Krikunova N.I. Antioksidantnyye svoystva efirnykh masel // Prikladnaya biokhimiya i mikrobiologiya. – 2009. – №6. – S. 710–716./
- Николаевский В.В. Ароматерапия. Справочник. – М.: Медицина, 2000. – 292с. /Nikolayevskiy V.V. Aromaterapiya. Spravochnik. – М.: Meditsina, 2000. – 292s./
- Работягов В.Д., Хлыпенко Л.А., Бакова Н.Н., Машанов В.И. Аннотированный каталог видов и сортов эфирномасличных, пряно-ароматических и пищевых растений коллекции Никитского ботанического сада. – Ялта, 2007. – 48с. /Rabotyagov V.D., Khlypenko L.A., Bakova N.N., Mashanov V.I. Annotirovanny katalog vidov i sortov efirnomaslichnykh, pryano-aromaticheskikh i pishchevykh rasteniy kolleksii Nikitskogo botanicheskogo sada. – Yalta, 2007. – 48s./

- Работягов В.Д., Хлыпенко Л.А., Свиденко Л.В. и др. Новые сорта ароматических и лекарственных растений селекции Никитского ботанического сада // Труды Никит. ботан. сада. – 2011. – Т.133. – С. 5–17. /Rabotyagov V.D., Khlypenko L.A., Svidenko L.V. i dr. Novyye sorta aromatischeskikh i lekarstvennykh rasteniy selektsii Nikitskogo botanicheskogo sada // Trudy Nikit. botan. sada. – 2011. – Т.133. – С. 5–17./
- Ярош А.М., Тонковцева В.В., Сойко В.В., Любарский А.В. Особенности влияния различных эфирных масел на умственную работоспособность // Психотерапия. Клиническая психология. Психоанализ. – 2010. – Т.14, №3 (52). – С. 79–83. /Yarosh A.M., Tonkovtseva V.V., Soyko V.V., Lyubarskij A.V. Osobennosti vliyaniya razlichnykh efirnykh masel na umstvennuyu rabotosposobnost' // Psikhoterapiya. Klinicheskaya psikhologiya. Psikhooliz. – 2010. – Т.14, №3 (52). – С. 79–83./
- Angioni A., Barra A., Arlorio M. et al. Chemical composition, plant genetic differences and antifungal activity of the essential oil of *Helichrysum italicum* G. Don ssp. *Microphyllum* (Willd Nym // J. Agric. Food Chem. – 2003. – Vol.51 (4). – P. 1030–1034.
- Biancini A., Tomi P., Bernardini A.F. et al. A comparative study of volatile constituents of two *Helichrysum italicum* (Roth) Guss. Don Fil subspecies growing in Corsica (France), Tuscany and Sardinia (Italy) // Flavour Fragr. J. – 2003. – №18. – P. 487–491.
- Mancini E., De Martino L., Scognamiglio M.R., De Feo V. Chemical composition and possible *in vitro* phytotoxic activity of *Helichrysum italicum* (Roth) Guss. Don ssp. *italicum* // Molecules. – 2011. – №16. – P. 7725–7735.
- Mastelic J., Politeo O., Jerkovic I., Radosevic N. Composition and antimicrobial activity of *Helichrysum italicum* essential oil and its terpene and terpenoid fractions // Chemistry of Natural Compounds. – 2005. – Vol.41, №1. – P. 35–40.
- Perrini R., Morone-Fortunato I., Lorusso E., Avatob P. Glands, essential oils and *in vitro* establishment of *Helichrysum italicum* (Roth)G. Don ssp. *microphyllum* (Willd.) Nyman // Industrial Crops and Products. – 2009. – №29. – P. 395–403.
- Rosa A., Deiana M., Atzeri A. et al. Evaluation of the antioxidant and cytotoxic activity of arzanol, a prenylated α -pyrone-phloroglucinol etherodimer from *Helichrysum italicum* subsp. *microphyllum* // Chem. Biol. Interact. – 2007. – №165. – P. 117–126.
- Roussis V., Tsoukatou M., Chinou I.B., Ortiz A. Chemical and antibacterial studies of the essential oil of *Helichrysum rupestre* and *H. ambiguum* growing in the Balearic islands (Part III) // Planta Med. – 1998. – Vol.64. – P. 675–676.
- Tucker A.O., Maciarelo M.J., Charles D.J., Simon J.E. Volatile leaf oil of the curry plant [*Helichrysum italicum* (Roth) G. Don subsp. *italicum*] and dwarf curry plant [subsp. *microphyllum* (Willd.) Nyman] in the North American herb trade // J. Essent. Oil. Res. – 1997. – №9. – P. 583–585.

Представлено: **І.В.Митрофанова** / Presented by: **I.V.Mitrofanova**

Рецензент: **Н.І.Буланкіна** / Reviewer: **N.I.Bulankina**

Подано до редакції / Received: 20.02.2013