

УДК 615.322

Features of the Essential oil Accumulation in the *Angelica Decurrens* (Ledeb.) B. Fedtsch. Roots in Comparison with *Angelica Archangelica* L.

Olga S. Shchipitsyna and Alexander A. Efremov*
*Siberian Federal University
79 Svobodny, Krasnoyarsk, 660041 Russia*

Received 17.10.2014, received in revised form 20.11.2014, accepted 02.12.2014

*Essential oil from the roots of the Siberian specie *Angelica decurrens* (Ledeb.) B. Fedtsch. was obtained by hydro-steam-distillation method. Its component composition was studied in comparison with the European Medicines specie *Angelica archangelica* L. The similarity of the essential oils compositions was confirmed. The major components of both species are terpenes: α -pinene and β -phellandrene. Essential oils in the *A. decurrens* and *A. archangelica* roots are accumulated in the secondary secretory ducts. The identity of the essential structures of rhizomes of the Siberian *A. decurrens* and the European *A. archangelica* was confirmed.*

*Keywords: *Angelica decurrens* (Ledeb.) B. Fedtsch., *Angelica archangelica* L., essential oil, α -pinene, β -phellandrene, secretory ducts.*

Особенности накопления эфирного масла в корнях *Angelica decurrens* (Ledeb.) B. Fedtsch в сравнении с *Angelica archangelica* L.

О.С. Щипицына, А.А. Ефремов*
*Сибирский федеральный университет
Россия, 660041, Красноярск, пр. Свободный, 79*

*Методом гидропародистилляции получено эфирное масло из корней вида *Angelica decurrens* (Ledeb.) B. Fedtsch. Исследован его компонентный состав в сравнении с лекарственным видом *Angelica archangelica* L. и определено сходство компонентного состава. Показано, что*

© Siberian Federal University. All rights reserved

* Corresponding author E-mail address: aefremov@sfu-kras.ru

основными компонентами обоих видов являются монотерпены: α -пинен и β -фелландрен. Также определены эфирно-масличные структуры корневищ вида *Angelica decurrens* – секреторные каналы и доказана их идентичность структурам корневищ и корней *Angelica archangelica*.

Ключевые слова: *Angelica decurrens* (Ledeb.) B. Fedtsch., *Angelica archangelica* L., эфирное масло, α -пинен, β -фелландрен, секреторные каналы.

Введение

Во всем мире корни растений рода *Angelica* (дудник) известны в основном как сырье для получения эфирного масла с характерным мускусным запахом и ярко выраженными антиоксидантными, противоопухолевыми, противовоспалительными, седативными и спазмолитическими свойствами [1, 2]. Оно широко используется в пищевой, парфюмерной и фармацевтической промышленности [2, 3].

В Сибирском регионе, являющимся одним из самых обширных районов заготовки растительного сырья в России, наиболее перспективен для получения эфирного масла в промышленных масштабах *Angelica decurrens* (Ledeb.) B. Fedtsch (дудник низбегающий) [4-6].

Известно, что данный вид таксонометрически наиболее близок к виду *Angelica archangelica* L. (дуднику лекарственному) или *Angelica officinalis* (Moench.) Hoffm. (дягилю лекарственному) [7, 8]. Эти данные позволили предположить, что эфирное масло из корней двух видов обладает схожим химическим составом и что аккумулируется в аналогичных эфирно-маслических структурах.

В связи с этим в работе методом гидропародистилляции из корней сибирского вида *Angelica decurrens* получено эфирное масло, исследован его компонентный состав и особенности эфирно-маслических структур в сравнении с европейским лекарственным видом *Angelica archangelica*.

Материалы и методы

Исследованные в работе корни *Angelica decurrens* от растений первого года заготавливали в 2012 г. в Сибирском регионе на юго-западе Кемеровской области вдали от населенных пунктов в конце августа в соответствии с максимальным накоплением в них эфирного масла и максимальной выраженностью вкусоароматических свойств [9, 10].

Все операции по сушке и отбору проб для анализа, определению влажности сырья проводили в соответствии с фармакопейными и фармакогнозийными статьями и рядом нормативно-технической документации [10-13].

Эфирное масло из корней *Angelica decurrens* выделяли при помощи метода гидропародистилляции с использованием перегонного куба из нержавеющей стали, нагревавшегося на электрической плитке. К кубу присоединяли обратный холодильник и насадку Клевенджера, в которую вели приемку эфирного масла. Внутри перегонного куба помещали каркас, сверху – решетку с мелкими ячейками и уже на нее насыпали исследуемое сырье. На дно куба до решетки заливали дистиллированную воду. В верхнее отверстие куба вставляли насадку для сбора эфирного масла и на нее – обратный холодильник. Куб постепенно нагревали. Выделение

эфирного масла осуществляли в течение 16 ч до полного его выделения, что контролировалось экспериментально. Количественно собранное в насадке Клевенджера эфирное масло отстаивали, высушивали над Na_2SO_4 [13, 14].

Хромато-масс-спектрометрический анализ компонентного состава эфирного масла проводили на газовом хромато-масс-спектрометре «Agilent Technologies» 7890A с селективным масс-спектрометром «Agilent Technologies» 5975C inert MSD в качестве детектора. Колонка кварцевая HP-5MS (сополимер 5%-дифенил-95%-диметилсилоксана) с внутренним диаметром 0,25 мм и толщиной пленки неподвижной фазы 0,25 мкм. Газ-носитель – гелий (1,0 мл/мин). Задавали изотермический режим при 50 °С в течение 3 мин, затем программированный подъем температуры со скоростью 4 °С/мин до 280 °С с выдержкой при конечной температуре 3 мин. Температура испарителя 280 °С, температура ионизационной камеры 170 °С, энергия ионизации: 70 эВ. Содержание компонентов вычисляли по площадям пиков, идентификацию отдельных компонентов проводили сравнением времен удерживания и полных масс-спектров с соответствующими данными компонентов эталонных масел и чистых соединений библиотеки данных Wiley.7n и NIST-08, а также с использованием линейных индексов удерживания и библиотеки масс-спектров [15]. При полном совпадении масс-спектров и линейных индексов удерживания идентификация считалась окончательной.

Для проведения гистологического анализа предварительно подготавливали срезы вторичных корней *Angelica decurrens*. Для приготовления препаратов небольшие фрагменты корней диаметром 1 см разваривали в дистиллированной воде, затем скальпелем делали поперечные срезы толщиной не более 2 мм. Помещали на предметное стекло и окрашивали срезы прочным фиолетовым. Препараты рассматривали при увеличении в 100-200 раз на световом микроскопе МБИ-3 [11, 16].

Результаты и обсуждение

Выделенное в ходе исследовательской работы эфирное масло из корней *Angelica decurrens* представляет собой жидкость темно-синего цвета с ярким ароматом специй. Средний выход эфирного масла, полученного методом гидропародистилляции, по результатам пяти отгонов составил $(0,38 \pm 0,04)$ %. Методом хромато-масс-спектрометрии в нем было установлено более 50 компонентов, основные из которых представлены в табл. 1. Преобладающими компонентами являются монотерпеновые соединения: α -пинен (21,8 %) и β -фелландрен (16,3 %), сабинен (4,0 %), δ -3-карен (3,3 %) и п-цимен (3,7 %), из сесквитерпеновых компонентов максимально содержание гермакрена-D (6,8 %), остальных – не превышает 3 %, обнаружен кумарин остол. Сравнение этих данных с ранее опубликованными по компонентному составу эфирного масла из корней сибирского *Angelica archangelica* [17] и европейского вида [18], представленными также в табл. 1, показывает, что компонентный состав эфирных масел данных видов очень близок, что подтверждает ближайшее генетическое родство, а также то, что в эфирном масле из корней данных близко генетических видов преобладающими компонентами являются α -пинен, β -фелландрен и другие монотерпеновые соединения, высоко содержание гермакрена-D, а остальной сесквитерпеновый набор отличается как по составу, так и по соотношению компонентов.

В дополнение к химическому составу подлинность эфирно-масличного растительного сырья очень часто определяют по характерным эфирно-масличным структурам. Для корней вида

Таблица 1. Компонентный состав эфирного масла из корней *Angelica decurrens* (Ledeb.) B. Fedtsch. и сибирского и европейского *Angelica archangelica* L.

| Линейный индекс удерживания | Компонент | Содержание, % от цельного масла | | |
|-----------------------------|-----------------------------------|---------------------------------|------------------------|-------------------------|
| | | <i>A. decurrens</i> | <i>A. archangelica</i> | |
| | | | Сибирский подвид [17] | Европейский подвид [18] |
| 902 | гептаналь | 0.2 | - | 0.7 |
| 926 | δ -3-гуйен | 1.7 | - | 1.1 |
| 932 | α -пинен | 21.8 | 23.6 | 23.9 |
| 947 | камфен | 1.9 | 0.9 | 1.3 |
| 952 | вербенен | 0.3 | - | - |
| 973 | сабинен | 4.0 | - | 0.3 |
| 975 | β -пинен | 1.2 | 1.5 | 1.3 |
| 991 | β -мирцен | 0.6 | 4.7 | 2.1 |
| 1003 | октаналь | - | - | 2.8 |
| 1004 | α -фелландрен | 1.3 | 1.9 | 0.7 |
| 1010 | δ -3-карен | 3.3 | 0.3 | 3.4 |
| 1017 | α -терпинен | 1.5 | - | - |
| 1024 | <i>n</i> -цимен | 3.7 | - | 1.1 |
| 1028 | β -фелландрен | 16.3 | 30.5 | 10.3 |
| 1028 | лимонен | - | - | 2.4 |
| 1033 | бензиловый спирт | 0.6 | - | - |
| 1038 | <i>цис</i> - β -оцимен | 0.4 | 1.3 | 0.2 |
| 1048 | <i>транс</i> - β -оцимен | 2.7 | 3.1 | 0.7 |
| 1058 | γ -терпинен | 2.0 | - | 3.1 |
| 1066 | <i>транс</i> -сабиненгидрат | - | - | 1.2 |
| 1086 | α -терпинолен | 1.2 | - | 0.5 |
| 1177 | терпинен-4-ол | 2.3 | - | - |
| 1191 | α -терпениол | 0.7 | - | - |
| 1276 | фелландраль | 0.8 | - | - |
| 1277 | борнилацетат | 2.9 | - | 1.3 |
| 1378 | β -копаен | - | 0.3 | 0.8 |
| 1387 | β -бурбонен | 0.7 | 0.9 | - |
| 1392 | β -элемен | - | 3.4 | - |
| 1412 | α -кедрен | - | 0.7 | - |
| 1416 | <i>цис</i> - α -бергамотен | - | 0.4 | - |
| 1421 | β -кедрен | - | 0.7 | - |
| 1428 | <i>цис</i> - γ -элемен | - | 0.9 | - |
| 1440 | аромадендрен | 0.8 | - | - |
| 1444 | β -(<i>Z</i>)-фарнезен | - | 7.1 | 2.6 |
| 1450 | β -гумулен | - | 0.3 | 3.2 |
| 1484 | гермакрен D | 6.8 | 9.1 | 2.1 |
| 1494 | бициклогермакрен | 1.3 | 2.0 | - |
| 1502 | α - муролен | 1.0 | - | - |

| | | | | |
|------|---------------------------|-----|-----|---|
| 1508 | α - бульнезен | 0.6 | - | - |
| 1510 | (E,E)- α -фарнезен | - | 2.6 | - |
| 1517 | γ -кадинен | 2.1 | 0.5 | - |
| 1527 | δ -кадинен | 1.3 | 1.4 | - |
| 1541 | α - кадинен | - | 0.8 | - |
| 1580 | спатуленол | 1.1 | - | - |
| 1658 | δ -кадинол | - | 0.9 | - |
| 1730 | хамазулен | 0.9 | - | - |
| 2140 | остол | 1.0 | - | - |

Примечание. Знаком «-» отмечены компоненты, не обнаруженные в данном эфирном масле.

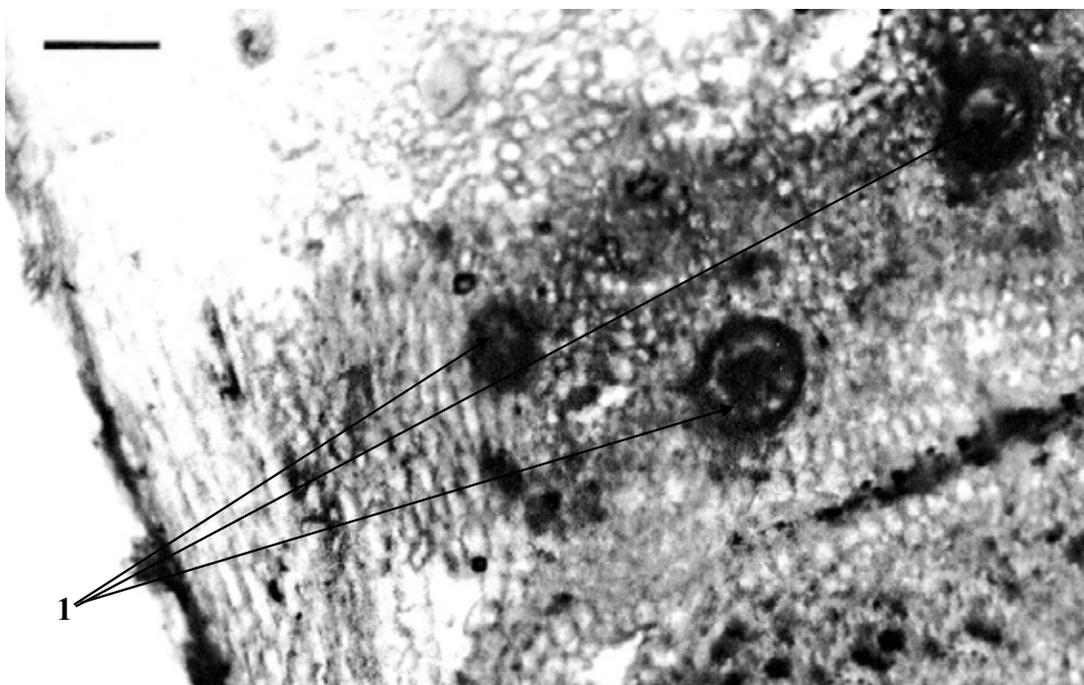


Рис. 1. Поперечный срез вторичного корня сибирского вида *Angelica decurrens* (Ledeb.) V. Fedtsch. (1 см в диаметре, толщина среза не более 2 мм). Обозначены эфирно-масличные структуры: 1 – секреторные каналы. Масштаб 1 мм

Angelica archangelica это ярко выраженные вторичные секреторные каналы, расположенные по направлению роста корней, что прописано в российском ГОСТ 21569-76Е на сырье дягиля лекарственного и в фармакопеях разных стран [9, 19, 20]. В ходе гистологического анализа было установлено, что в корнях *Angelica decurrens* эфирно-масличными структурами действительно являются секреторные каналы схизогенного происхождения во вторичной флоэме. Выстилающие клетки этих ходов на поперечном срезе вытянуто-овальные, образуют правильное кольцо (рис. 1). Другие эфирно-масличные структуры в корнях отсутствуют.

Природа и расположение эфирно-масличных структур корневища *Angelica decurrens*, описанных нами, полностью соответствуют требованию нормативно-технической документации к корням *Angelica archangelica* о наличии на поперечном срезе корня в широком поясе внутрен-

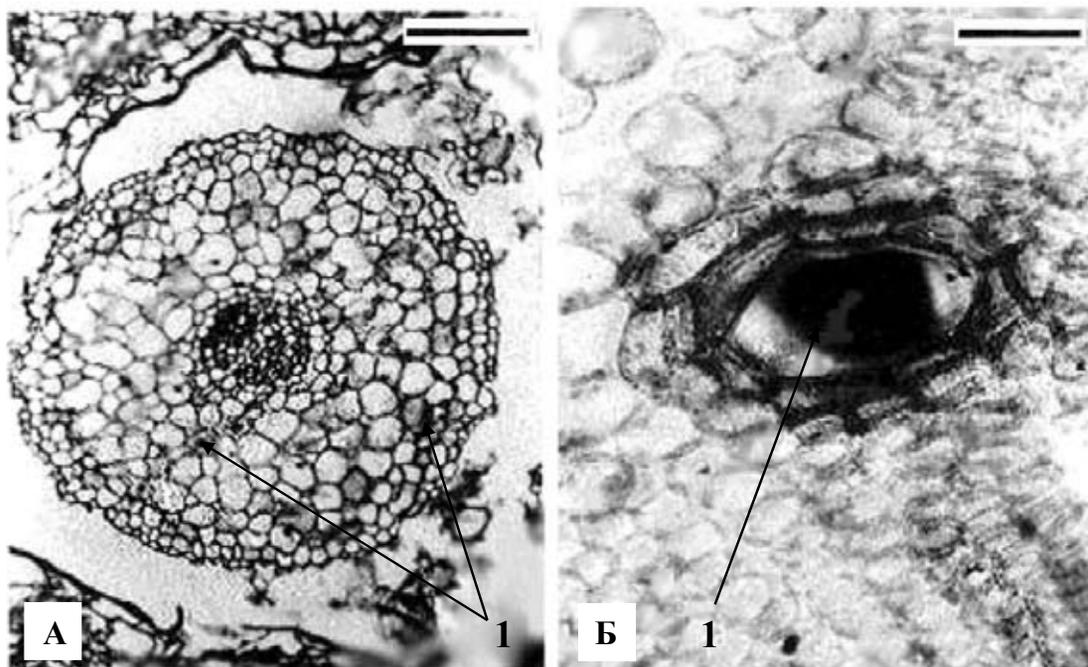


Рис. 2. Поперечные срезы формирующихся вторичных корней европейского вида *Angelica archangelica* L. А. Корня (0,5 мм в диаметре). Б. Корня (1,5 см в диаметре), терпеновые компоненты эфирного масла, окрашенные реагентом, выделяются темным пятном в середине канала. 1 – секреторные каналы во вторичной флоэме. Масштаб 1 мм

ней коры или флоэме многочисленных секреторных каналов и фармакопейным описаниям [9]. Кроме того, эфирно-масличные структуры вторичных корней первого года *Angelica decurrens* и образцов вторичных, формирующихся в процессе роста, корней европейского вида *Angelica archangelica* также идентичны (рис. 2) [18].

Заключение

Установлено процентное содержание и компонентный состав эфирного масла из корней сибирского *Angelica decurrens* (Ledeb.) В. Fedtsch. (дудника низбегающего), преобладающими компонентами которого являются монотерпены α -пинен (21,8 %) и β -фелландрен (16,3 %). При сравнении выявлено, что в эфирном масле из корней *Angelica decurrens* и европейского и сибирского *Angelica archangelica* L. (дудника лекарственного) максимально содержание именно этих монотерпеновых соединений, а кроме того, оба масла очень похожи по компонентному составу и сопоставимы по содержанию в корнях эфирного масла: 0,3-0,6 % в сибирском и европейских видах.

Определены основные эфирно-масличные структуры корней *Angelica decurrens* – секреторные каналы – и доказана их идентичность структурам европейского вида *Angelica archangelica*, что служит дополнительным подтверждением подлинности растительного сырья.

Таким образом, все вышеописанные результаты с учетом того, что вид *Angelica decurrens* широко произрастает по всей территории Сибирского региона и потенциальные объемы его заготовок могут насчитываться тоннами, а сами заготовительные работы достаточно просты в

организации, данный вид может быть рекомендован в качестве возможной сырьевой альтернативы *Angelica archangelica* при получении корневого эфирного масла.

Список литературы

1. Башкирова Р.М., Касьянова А.Ю., Галяутдинов И.В. Растения рода дягиль: химический состав и фармакологические свойства // Фармация. 2004. Т. 4. С. 46-48.
2. Bisset N. G., Wichtl M. Herbal Drugs and Phytopharmaceuticals. N.-Y., 2001. 708 p.
3. Войткевич С.А. Эфирные масла для парфюмерии и ароматерапии. М., 1999. 284 с.
4. Пленник Р.Я., Гонтарь Э.М., Тюрина Е.В. Полезные растения Хакасии. Ресурсы и интродукция. Новосибирск, 1989. 271 с.
5. Крылов Г.В., Казакова Н.Ф., Степанов Э.В. Зеленая аптека Кузбасса. Кемерово, 1989. 334 с.
6. Минаева В.Г. Лекарственные растения Сибири. Новосибирск, 1991. 431 с.
7. Lee S.-B., Rasmussen S.K. Molecular markers in some medicinal plants of the Apiaceae family // Euphytica. 2000. V.114. P. 87-91.
8. Weinert E. Die Taxonomische Stellung und das Areal von *Angelica archangelica* L. und *A. lucida* L. // Feddes Repert. 1973. V. 84. P. 303-314.
9. ГОСТ 21569-76Е. Корневища и корни дягиля лекарственного. М., 1976. 3 с.
10. Лекарственное растительное сырье. Фармакогнозия / под ред. Г.П. Яковлева, К.Ф. Блиновой. СПб., 2004. 765 с.
11. Государственная фармакопея СССР: Общие методы анализа. Лекарственное растительное сырье. Т. 1. М., 1989. 400 с.
12. ГОСТ 24027.0-80. Сырье лекарственное растительное. Правила приема и отбора проб. М., 1999. 5 с.
13. ГОСТ 24027.2-80. Сырьё лекарственное растительное. Методы определения влажности, содержания золы, экстрактивных и дубильных веществ, эфирного масла. М., 1980. 12 с.
14. Ладыгина Е. Я. Химический анализ лекарственных растений. М., 1983. 176 с.
15. Ткачев А.В. Исследование летучих веществ растений. Новосибирск, 2008. 969 с.
16. Фурст Г.Г. Методы анатомо-гистохимического исследования растительных тканей: метод. пособие. М., 1979. 115 с.
17. Shchipitsyna O.S., Efremov A.A. Composition of ethereal oil isolated from various vegetative parts of *Angelica* from the Siberian region // Russ. J. of Bioorg. Chem. 2011. V. 37. № 7. P. 888-892.
18. Pasqua G. Monacelli B., Silvestrini A. In vitro root differentiation and essential-oil accumulation in *Angelica archangelica* // In Vitro Cell. Dev. Biol. 2001. V. 37. P. 763-766.
19. Upton R., Graff E., Jolliffe G. American Herbal pharmacopoeia. B.-R.: CRS Press, 2011. 800 p.
20. European Pharmacopoeia 6.0. Vol. 2. Strassbourg: Council of Europe, 2007. 2240 p.