

ФІТОХІМІЧНЕ ВИВЧЕННЯ НОВОГО РОСЛИННОГО ЗБОРУ З АНТИДІАБЕТИЧНОЮ ДІЄЮ (ПОВІДОМЛЕННЯ І – РЕЧОВИНИ ПЕРВИННОГО СИНТЕЗУ)

Вивчено хімічний склад збору антидіабетичного. Встановлено наявність та визначено кількісний вміст речовин первинного синтезу: полісахаридів, у тому числі інуліну, органічних та аскорбінової кислот, аміно- і жирних кислот. Методом газової хроматографії ідентифіковано 18 органічних та 17 жирних кислот, методом високоефективної рідинної хроматографії – 23 амінокислоти.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: цукровий діабет, збір антидіабетичний, аскорбінова кислота, полісахариди, інулін, амінокислоти, жирні кислоти, органічні кислоти.

ВСТУП. Захворювання на цукровий діабет (ЦД) в останні роки, у зв'язку зі стрімким зростанням кількості хворих в усьому світі, набуває загрозливого масштабу світової епідемії. Тому пошук нових ефективних препаратів для лікування та профілактики цукрового діабету є перспективним напрямком фармацевтичних і фармакологічних досліджень.

Одним з методів лікування, попередження ускладнень та покращення перебігу даного захворювання є фітотерапія. Проте призначення препаратів із лікарських рослин не є альтернативою застосування інсуліну та синтетичних цукрознижувальних препаратів. Пацієнти, які використовують фітотерапію, потребують нижчих доз інсуліну і пероральних цукрознижувальних ліків [12].

Застосування лікарських рослинних препаратів при ЦД посилює ефекти багатьох пероральних антидіабетичних препаратів, сприяє синтезу інсуліну, оптимізуючи його дію на рівні тканин, стимулює процеси регенерації β-клітин підшлункової залози, покращує роботу всіх ланок імунної системи, нормалізує вторинні порушення обміну речовин і гормонів, забезпечує профілактику ускладнень зі сторони серцево-судинної, сечовидільної систем, опорно-рухового апарату тощо [5].

Лікувальна дія багатьох видів лікарських рослин, які застосовують у науковій та народній медицині, пов'язана з наявністю в них різних

біологічно активних речовин, що при надходженні в організм тварин і людей проявляють фізіологічно активні властивості та зумовлюють певний терапевтичний ефект [7]. Наявність у рослинах комплексу діючих речовин з різнобічним проявом фармакологічної активності сприяє ефективному лікуванню захворювань. Органічні речовини, що утворюються в рослинах або виділяються ними внаслідок обміну речовин, поділяють на речовини первинного і вторинного синтезу, або первинні й вторинні метаболіти. До первинних метаболітів належать вуглеводи, білки, ліпіди, вітаміни, органічні кислоти.

Метою даної роботи було виявлення і визначення кількісного вмісту первинних метаболітів у новому рослинному зборі з антидіабетичною активністю, до складу якого входять лікарські рослини, які традиційно застосовують у народній медицині для лікування ЦД: трава хвоща польового (*Equiseti arvensis herba*), квітки бузини (*Sambuci flores*), кореневища і корені омани (*Inulae rhizomata et radices*), трава звіробою (*Hyperici herba*), квітки липи (*Tiliae flores*), трава споришу (*Polygoni avicularis herba*), листя чорниці (*Myrtilli folium*), листя кропиви (*Urticae folia*) [6].

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. У зборі антидіабетичному проведено виявлення та визначення кількісного вмісту полісахаридів, у тому числі інуліну, органічних і аскорбінової кислот, жирних та амінокислот.

Для виявлення полісахаридів, у тому числі інуліну, органічних і аскорбінової кислот, амінокислот використовували водні витяжки з досліджуваного збору.

Поява плаваючих пластинчастих згустків, що при відстоюванні випадали в осад, при додаванні до витяжки 95 % спирту Р, свідчила про наявність у досліджуваній сировині полісахаридів. Осад відфільтрували і проводили реакцію з реактивом Фелінга на виявлення відновних (нейтральних) цукрів – цегляно-червоний осад свідчив про наявність цукрів у зборі антидіабетичному [9].

Виявляли інулін у досліджуваному зборі за реакцією з 20 % спиртовим розчином α -нафтолу і концентрованою кислотою сульфатною. Поява фіолетово-червоного забарвлення, а при заміні α -нафтолу на резорцин – червоного, свідчила про наявність у зборі антидіабетичному інуліну.

Кількісний вміст інуліну визначали методом газової хромато-мас-спектрометрії (ГХ-МС) і розраховували як різницю між загальним вмістом фруктози після ферментації та вільної фруктози з урахуванням кількості фруктози, що вивільняється в результаті розкладання сахарози [16].

Кількісний вміст полісахаридів визначали гравіметричним методом [10].

Органічні кислоти виявляли методом тонкошарової хроматографії (ТШХ) у системі розчинників: *n*-бутанол–мурашина кислота–вода (30:5:10) та *n*-бутанол–оцтова кислота–вода (4:1:2). Використовували достовірні зразки яблучної, лимонної, саліцилової, бурштинової та щавлевої кислот. Хроматограми після хроматографування добре висушували й обробляли 0,1 % розчином 2,6-дихлорфеноліндофенолу в 95 % спирті Р і нагрівали в сушильній шафі.

Вміст вільних органічних кислот у перерахунку на яблучну кислоту в абсолютно сухій

сировині у відсотках визначали методом алкаліметрії [1, 3].

Кількісне визначення аскорбінової кислоти проводили методом титрування 0,001 моль/л розчином натрію 2,6-дихлорфеноліндофенолу за ДФ СРСР XI і ДФУ [1, 2].

Виявляли амінокислоти за реакцією з 0,1 % свіжоприготовленим розчином нігдрину. Поява червоно-синього забарвлення свідчила про наявність у досліджуваній витяжці амінокислот [4].

Дослідження якісного складу та кількісного вмісту вільних амінокислот у досліджуваному об'єкті проводили за допомогою ВЕРХ-аналізу на хроматографі фірми "Agilent Technologies" (модель 1100) [13, 14]. Ідентифікацію амінокислот здійснювали за часом утримування (RT) стандартів (рис. 1).

Низько- та високомолекулярні карбонові кислоти виявляли методом ГХ-МС із використанням газового хроматографа Agilent 6890N, обладнаного мас-спектрометричним детектором 5973inert (Agilent technologies, USA), та капілярної колонки HP-5MS (30m×0,25mm×0,25mkm, Agilent technologies, USA). Ідентифікацію метилових естерів жирних та органічних кислот проводили, застосовуючи бібліотеку мас-спектрів NIST 02. Кількісний вміст визначали шляхом додавання розчину внутрішнього стандарту в досліджувані проби. Як внутрішній стандарт використовували розчин ундеканової кислоти [11].

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Полісахариди – важливі біологічно активні речовини, які мають позитивний вплив на лікування та профілактику ЦД. Вони проявляють антисклеротичну дію, яка зумовлена їх здатністю утворювати комплекси з білками та ліпопротеїнами плазми крові. Інулін – полісахарид, який знижує рівень

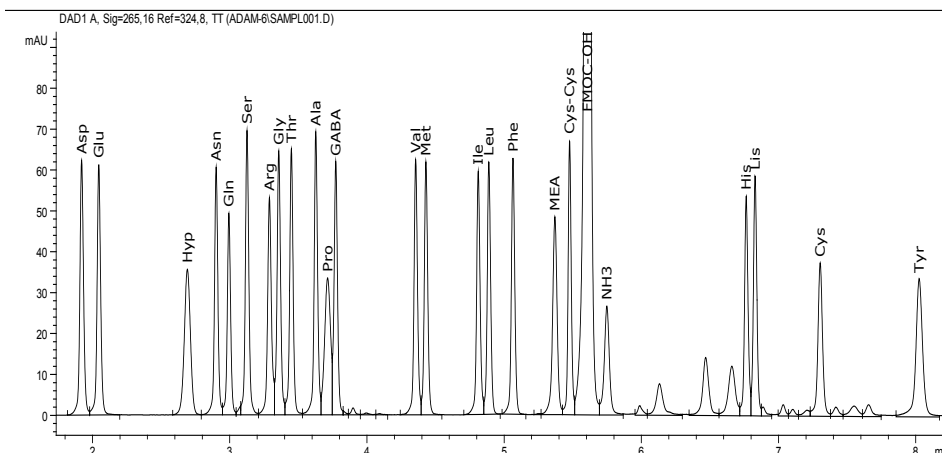


Рис. 1. Хроматограма стандартів амінокислот.

Примітка. Asp – аспарагінова кислота, Glu – глутамінова кислота, Hyp – 4-гідроксипролін, Asn – аспарагін, Gln – глутамін, Ser – серин, Arg – аргінін, Gly – гліцин, Thr – треонін, Ala – аланін, Pro – пролін, GABA – гамма-аміномасляна кислота, Val – валін, Met – метіонін, Ile – ізолейцин, Leu – лейцин, Phe – фенілаланін, Cys-cys – цистин, His – гістидин, Lis – лізин, Cys – цистеїн, Tyr – тирозин.

глюкози в крові, проявляє антиоксидантну та дезінтоксикаційну дію шляхом виведення з організму радіонуклідів і кетонових тіл; покращує стан серцево-судинної системи, сприяє зниженню рівня холестерину в крові та нормалізує обмін речовин. Результати досліджень показали, що збір антидіабетичний містить 9,54 % водорозчинних полісахаридів та 11,54 % пектинових речовин. Окрім того, досліджуваний збір містить 61,6 мк/кг інуліну [8].

Велику групу біологічно активних речовин складають органічні кислоти, проте в лікувальній практиці використовують незначну їх кількість. Для органічних кислот характерні антиоксидантна, адаптогенна, антисептична та імуностимулювальна дії [7].

За результатами хроматографічного аналізу (ТШХ), у зборі антидіабетичному ідентифіковано щавлеву, лимонну, яблучну та саліцилову кислоти.

Методом ГХ-МС ідентифіковано органічні кислоти, кількісний вміст яких розраховували методом внутрішнього стандарту (табл.) [15].

Загальна кількість вільних органічних кислот у зборі антидіабетичному становила $(2,50 \pm 0,12) \%$ у перерахунку на суху сировину (метод алкаліметрії).

Результати досліджень показали, що вміст аскорбінової кислоти у зборі антидіабетичному становив $(0,13 \pm 0,012) \%$ у перерахунку на суху сировину. Відомо, що аскорбінова кислота є вираженим антиоксидантом, слугує донором водню для відновлення різних біологічних субстратів, оберігає організм від бактерій та вірусів, має протизапальну і протиалергічну дію, укріплює імунну систему [1].

Амінокислоти є високоактивними у фармакологічному відношенні органічними речовинами і мають важливе фізіологічне значення для організму. Це мономери білків, які є основою будови організму [4].

У результаті досліджень у зборі антидіабетичному виявлено 23 амінокислоти. Домінували такі зв'язані амінокислоти: аспарагінова (0,79 %), глутамінова (0,64 %), пролін (0,39 %), серин (0,37 %), аланін (0,36 %), гліцин (0,33 %), лейцин (0,31 %) (рис. 2). Серед вільних амінокислот переважали аспарагін (0,35 %), аргінін (0,08 %), гліцин (0,07 %), аспарагінова кислота (0,06 %), глутамін (0,05 %), серин (0,05 %), аланін (0,04 %) (рис. 3).

Жирні кислоти в організмі людини проявляють специфічний вплив: насичені є джерелом енергії, запобігають окисненню ліпідів мембран клітин, підвищують поріг токсичної дії отруйних речовин; поліненасичені – забезпечують функціонування клітинних мембран, сприяють росту та розвитку організму, беруть участь в обміні вітамінів групи В, стимулюють імунізаційні функції організму, сприяють виведенню надлишку холестерину, нормалізують стан стінок кровоносних судин, підвищуючи їх еластичність і зменшуючи проникність [5].

Досліджуючи якісний склад і кількісний вміст жирних кислот, виявили, що збір антидіабетичний містить 17 жирних кислот, з яких 12 належать до насичених (44,56 %), 2 – до мононенасичених (11,01 %) та 3 – до поліненасичених (44,45 %) (рис. 4).

ВИСНОВКИ. 1. Проведено фітохімічний аналіз збору антидіабетичного та встановлено

Таблиця – Вміст органічних кислот у зборі антидіабетичному

Час утримання	Назва органічної кислоти	Вміст, %
4,51	капронова кислота	0,016
5,72	3-гексенова кислота	0,004
8,86	щавлева кислота	0,732
11,16	малонова кислота	0,322
12,05	фумарова кислота	0,024
13,97	бензойна кислота	0,025
15,51	глутарова кислота	0,009
16,65	метоксибурштинова кислота	0,030
16,97	саліцилова кислота	0,012
19,91	3-окси-2-метилглутарова кислота	0,138
22,05	яблучна кислота	0,723
23,74	азелаїнова кислота	0,071
24,85	аконітова кислота	0,782
28,42	лимонна кислота	1,341
31,34	ванілінова кислота	0,048
31,92	ізолимонна кислота	0,030
39,08	ферулова кислота	0,065
43,35	п-кумарова кислота	0,115
Загальний вміст		4,489

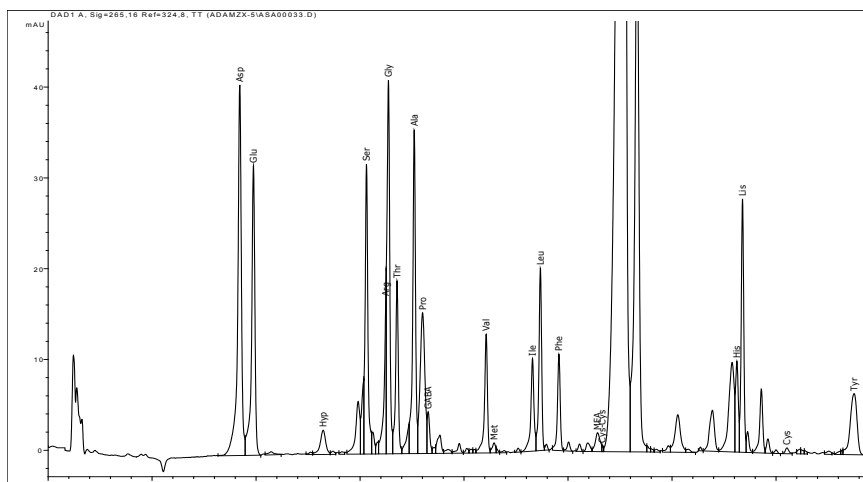


Рис. 2. Хроматограма зв'язаних амінокислот у зборі антидіабетичному.

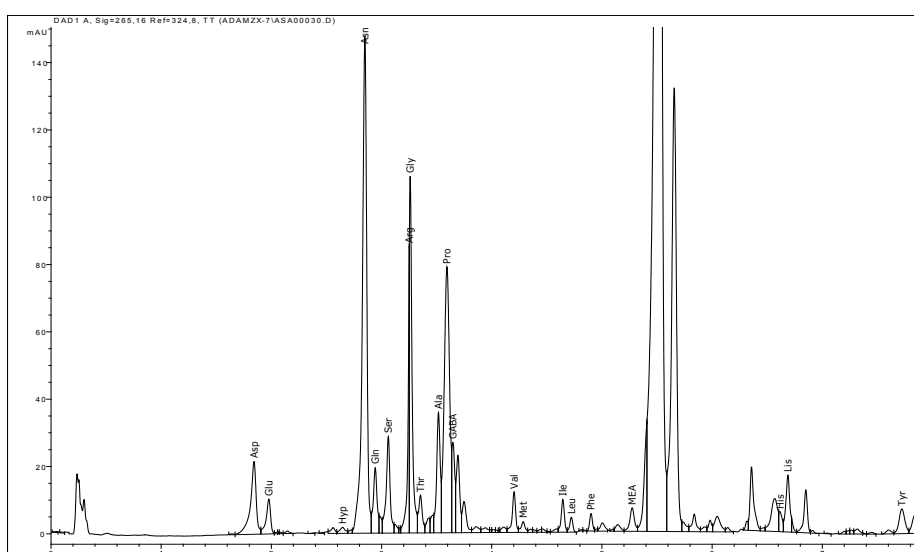


Рис. 3. Хроматограма вільних амінокислот у зборі антидіабетичному.

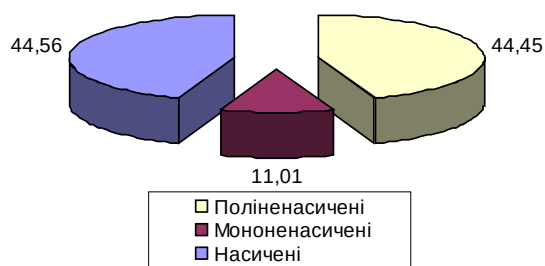


Рис. 4. Діаграма вмісту жирних кислот (%) у зборі антидіабетичному.

наявність таких речовин первинного синтезу: полісахаридів, у тому числі інуліну, органічних та аскорбінової кислот, аміно- і жирних кислот.

2. Визначено кількісний вміст основних первинних метаболітів у зборі антидіабетичному: водорозчинних полісахаридів – 9,54 %, пектинових речовин – 11,54 %, інуліну – 61,6 мк/кг, органічних кислот – 2,50 %, аскорбінової кислоти – 0,13 %.

3. Методом ВЕРХ у зборі антидіабетичному ідентифіковано та визначено кількісний вміст 23 амінокислот. Домінують аспарагінова і глутамінова кислоти, серин, аланін, гліцин, аргінін.

4. Досліджено компонентний склад жирних кислот збору антидіабетичного. Встановлено наявність 11 насичених (44,24 %), 3 мононенасичених (44,56 %) та 3 поліненасичених жирних кислот (11,18 %). З насичених кислот переважає пальмітинова (35,72 %), з мононенасичених – олеїнова (9,35 %), з поліненасичених – ліноленова (22,27 %) і лінолева (20,97 %).

5. Результати досліджень, а також досвід народної медицини та гомеопатії свідчать про доцільність вивчення біологічно активного складу і проведення фармакологічного вивчення збору антидіабетичного з метою використання його для лікування цукрового діабету 2 типу та його ускладнень.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Государственная фармакопея СССР : Вып. 2. Общие методы анализа. Лекарственное растительное сырье / МЗ СССР. – 11-е изд., доп. – М. : Медицина, 1990. – 400 с.
2. Державна Фармакопея України / МОЗ України. – 1-ше вид. – Харків, 2009. – Доп. 3. – 279 с.
3. Кисличенко В. С. Полисахариды *Brassica oleracea* var. *Italica* plenck / В. С. Кисличенко, И. Н. Владимирова // Химия природных соединений. – 2008. – № 2. – С. 61–62.
4. Марчишин С. М. Вивчення амінокислотного та елементного складу пірїю повзучого / С. М. Марчишин, О. Б. Калушка // Фармац. журн. – 2006. – № 1. – С. 83–85.
5. Пастушенков А. Л. Фитотерапия и диетология сахарного диабета / А. Л. Пастушенков. – СПб. : Нетиз, 2001. – 124 с.
6. Пат. 104161 Україна, МПК А61К 36/00, А61Р 3/10. Збір лікарських рослин для лікування хворих на цукровий діабет II типу / Марчишин С. М., Савич А. О., Кошова О. Ю. ; заявники і патентовласники Марчишин С. М., Савич А. О., Кошова О. Ю. – № u 2015 07752 ; заявл. 03.08.15 ; опубл. 12.01.16, Бюл. № 1.
7. Перспективные направления в области изучения лекарственных растений и создания отечественных фитопрепаратов / В. Н. Ковалев, В. С. Кисличенко, И. А. Журавель [и др.] // Провизор. – 1999. – № 12. – С. 139–140.
8. Перспективы использования растительных полисахаридов в качестве лечебных и лечебно-профилактических средств / Н. А. Криштанова, М. Ю. Сафонова, В. Ц. Болотова [и др.] // Вестник ВГУ. Серия "Химия. Биология. Фармация". – 2005. – № 1. – С. 212–221.
9. Солодовниченко Н. М. Лікарська рослинна сировина та фітопрепарати : посіб. з фармакогнозії з основами біохімії лікарських рослин / Н. М. Солодовниченко, М. С. Журавльов, В. М. Ковальов. – Харків : Вид-во НФАУ : Золоті сторінки, 2001. – 408 с.
10. Тартинська Г. С. Вивчення полісахаридів у траві талабану польового (*Thlaspi arvense* L.) / Г. С. Тартинська, І. О. Журавель, В. С. Кисличенко // Фармац. журн. – 2012. – № 5. – С. 67–70.
11. Garcés R. One-step lipid extraction and fatty acid methyl esters preparation from fresh plant tissues / R. Garcés, M. Mancha // Anal. Biochem. – 1993. – **15**, № 211 (1). – P. 139–143.
12. Hoffmann D. Medical herbalism: the science principles and practices of herbalmedicine / D. Hoffmann. – Healing Arts Press, 2003. – 672 p.
13. Jámbor A. Amino acid analysis by high-performance liquid chromatography after derivatization with 9-fluorenylmethyloxycarbonyl chloride. Literature overview and further study / A. Jámbor, I. Molnár-Perl // Journal of Chromatography A. – 2009. – **1216**. – P. 3064–3077.
14. Jámbor A. Quantitation of amino acids in plasma by high performance liquid chromatography: Simultaneous deproteinization and derivatization with 9-fluorenylmethyloxycarbonyl chloride / A. Jámbor, I. Molnár-Perl // Journal of Chromatography A. – 2009. – **1216**. – P. 6218–6223.
15. Lewis T. Evaluation of extraction methods for recovery of fatty acids from lipid-producing microheterotrophs / T. Lewis, P. D. Nichols, T. A. McMeekin // J. Microbiol Methods. – 2000. – **43**, № 2. – P. 107–116.
16. Vendrell-Pascuas S. Determination of inulin in meat products by high-performance liquid chromatography with refractive index detection / S. Vendrell-Pascuas, A. I. Castellote-Bargallo, M. C. Lopez-Sabater // Journal of Chromatography A. – 2000. – **881**. – P. 591–597.

С. М. Марчишин, А. О. Савич

ТЕРНОПОЛЬСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ И. Я. ГОРБАЧЕВСКОГО

ФИТОХИМИЧЕСКОЕ ИЗУЧЕНИЕ НОВОГО РАСТИТЕЛЬНОГО СБОРА С ПРОТИВОДИАБЕТИЧЕСКИМ ДЕЙСТВИЕМ (СООБЩЕНИЕ I – ВЕЩЕСТВА ПЕРВИЧНОГО СИНТЕЗА)

Резюме

Изучен химический состав сбора противодиабетического. Установлено наличие и определено количественное содержание веществ первичного синтеза: полисахаридов, в том числе инулина, органических и аскорбиновой кислот, амино- и жирных кислот. Методом газовой хроматографии идентифицировано 18 органических и 17 жирных кислот, методом высокоэффективной жидкостной хроматографии – 23 аминокислоты.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: сахарный диабет, сбор противодиабетический, аскорбиновая кислота, полисахариды, инулин, аминокислоты, жирные кислоты, органические кислоты.

**PHYTOCHEMICAL STUDIES OF NEW HERBAL COLLECTION
WITH ANTIDIABETIC ACTION
(NOTICE I – SUBSTANCE OF PRIMARY SYNTHESIS)**

Summary

There was studied the chemical composition of the anti-diabetic herbal collection. It was established the presence and determined the quantitative content of the substances of primary synthesis: polysaccharides, including inulin, organic acids and ascorbic acid, amino acids and fat acids. 17 organic acids and 18 fatty acids were identified by gas chromatography and 23 amino acids by high performance liquid chromatography (HPLC).

KEY WORDS: diabetes mellitus, anti-diabetic collection, ascorbic acid, polysaccharides, inulin, amino acids, fatty acids, organic acids.

Отримано 22.02.16

Адреса для листування: С. М. Марчишин, Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського, м. Волі, 1, Тернопіль, 46001, Україна.