

Рекомендована д-м біол. наук, проф. Л.С. Фірою

УДК 634.7:581.19

БІОЛОГІЧНО АКТИВНА СКЛАДОВА ПЛОДІВ ЛИМОННИКА КИТАЙСЬКОГО

©Н.І. Джуренко, О.П. Паламарчук, Н.В. Скрипченко

Національний ботанічний сад ім. М.М. Гришка НАН України

Резюме: проводились дослідження різних виділених субстанцій лимонника китайського. Виявлено високу антимуутагенну активність рідкої фракції (сік з мякоттю) та антиоксидантну дію ліпідної фракції плодів лимонника з високим вмістом ненасичених вищих жирних кислот (ВЖК) (86,04 % від загальної суми). Запропоновано раціональний підхід до використання плодів лимонника.

Ключові слова: лимонник китайський, ліпідний комплекс, вищі жирні кислоти, антимуутагенна активність, антиоксидантна дія.

Вступ. На даний час природним джерелам біологічно активних сполук (БАС), здатних підтримувати природну рівновагу організму людини, особливо в умовах екзо- і ендоекологічного неблагополуччя, приділяється значна увага як у фундаментальних, так і в науково-практичних дослідженнях. Дедалі актуальнішою стає проблема пошуку і вивчення перспективних видів – рослинних антиоксидантів, детоксикантів з біологічно-сорбційними, імуностимулювальними і захисними властивостями. Враховуючи потреби теперішнього часу у безшкідливих рослинних субстанціях, особливу увагу привертає рід Лимонник (*Schisandra Michx.*) родини *Schisandraceae* Blume. Його представники зростають у Східній і Південно-Східній Азії, а також в південно-східній частині Північної Америки. Це – вічнозелені або листопадні ліаноподібні чагарники, більшість з яких теплолюбиві. Найбільш відомим видом, якому властива висока холодостійкість, є лимонник китайський (*Schizandra chinensis* (Turcz.) Baill.), який зростає в лісах Далекого Сходу Росії, включно Приморський і Хабаровський краї, Амурську область, південну частину о. Сахалін та Курильські острови [3, 9, 20].

Лимонник китайський широко використовують в народній та науковій медицині [9, 16, 17]. Він давно відомий народам Східної Азії – китайські та тибетські лікарі використовували його ще в V ст. н. е. Як медичний засіб вперше описаний в китайській літературі з медицини в XVI ст. Плоди лимонника здавна застосовуються як тонізуючий засіб при фізичній втомі, виснаженні нервової системи, неврастенії, гіпотонії, а його насіння при лікуванні туберкульозу, бронхіальної астми, захворюванні печінки і нирок, дизентерії та інших захворюваннях. Високо цінують лимонник як засіб, здатний підвищувати стійкість організму до кисневого голодування [3, 9, 17, 20]. Окрім ягід, використовують також стебла,

листки й кореневища. З листків, кори і коренів готують тонізуючий чай, який знімає втому і втамовує спрагу. Використання вегетативних органів лимонника пов'язано, насамперед, зі значним вмістом БАС та їх приємними смаковими властивостями [3, 25].

Спектр фармакологічної дії субстанцій, отриманих з різних частин лимонника, залежить від кількісного і якісного складу БАС [19, 14, 16]. Найбільш активним є насіння, яке проявляє стимулювальні, тонізуючі, адаптогенні та інші властивості [3, 4, 6, 14, 24-27].

У плодах лимонника виявлено поліфенольні, перш за все, Р-активні сполуки (100 мг/100 г), переважно антоціани, катехіни, мінеральні сполуки, сапоніни, вітаміни, органічні кислоти (лимонна, яблучна, винна), цукри (2-6 %, переважно моносахариди), ефірна олія, ліпіди та ін. Сік плодів лимонника містить 3 % винної, 52 % лимонної, 40 % яблучної, 4 % бурштинової та щавлеву кислоти (загальна кислотність складає 9-11 %), а також пектини (0,2-4 %) і вітамін С (до 33 мг/%) [4, 6, 14, 17, 20, 21, 25].

Вважають, що основна біологічна активність лимонника, його стимулювальна дія на організм зумовлені в основному наявністю в ньому речовини, названої схизандрином. В стиглому насінні на неї припадає більше 5 % лігнанової фракції, яка представлена сумішшю схизандрину та його аналогів (α -, β -, γ -, δ -, ϵ -схизандрини, псевдо- γ -схизандрини, нео- γ -схизандрини, дезоксисхизандрин, схизандрол та ін.). Структура деяких сполук (схизандрину, схизандролу, γ -схизандрину, дезоксисхизандрину) встановлена, деякі отримано в чистому вигляді [4, 6, 14, 21, 25, 27]. Лігнани як основні діючі речовини плодів лимонника китайського є основою лікарського препарату (*Tinctura Schisandrae*) [21, 26-28]. Тонізуючі речовини накопичуються також в корі і в коренях лимонника. У насінні, крім того, є жирна олія,

вітамін Е (0,03 %), ефірна олія (до 2%) [1, 2, 6, 13, 23, 26, 27].

Серед речовин, здатних захистити організм людини, запобігти цитогенетичній дії та посилити його адаптивний статус, значне місце посідають антиоксиданти (АО), які є однією з первинних ланок запуску детоксикаційних процесів, нормалізації імунodefіциту, порушеного обміну речовин, передусім, перекисного окислення ліпідів (ПОЛ) [8, 10, 15, 18] та антимутагени або генопротектори природного походження [5,19] – активні складові рослинного матеріалу, які здатні запобігати зростанню спадкових захворювань, передчасному старінню [7, 30].

Мета роботи – дослідження антимутагенної та антиоксидантної активності різних субстанцій плодів лимонника китайського і визначення якісного та кількісного (відносні відсотки) вмісту вищих жирних кислот (ВЖК) в ліпідній фракції.

Методи дослідження. Дослідження вмісту ВЖК проводились в ліпідній фракції плодів лимонника китайського, інтродукованого в Національному ботанічному саду НАН України. Для отримання ліпідної фракції попередньо було відпрацьовано режими її виділення і використано різні розчинники. Встановлено, що найбільш оптимальним екстрагентом виявився н-гексан, а вичерпна екстракція досягається при п'ятикратній повторюваності в режимі кімнатної температури, при співвідношенні сировини і екстрагента 1:3 (по об'єму). Висушене до постійної маси насіння подрібнювали і екстрагували методом циркуляційної екстракції в апараті Сохслета з використанням екстрагента гексану, який потім повністю видаляли у вакуумному випаровувачі [1, 2, 11, 13, 23].

Суміш ВЖК з ліпідного екстракту виділяли методом гідролізу за К.М. Синяк та ін. [11, 22]. Отримані метилові ефіри жирних кислот досліджували методом капілярної газової хроматографії (ГЖХ) [1, 11, 12] з використанням кварцових колонок з внутрішнім діаметром 0,35 мм на хроматографі "НР-6890"; нерухома фаза представлена 5 % синілметилсилаксаном. Для ідентифікації піків жирних кислот на хроматограмах використовували їх стандартний набір. ВЖК ідентифікували шляхом порівняння часу утримання їх метилових ефірів з часом утримання піків стандартних речовин [1, 12, 23].

Ліпідний комплекс лимонника китайського – це масляниста рідина брудно-зеленого кольору, з приємним запахом та гіркуватим присмаком.

Визначення антиоксидантної активності ліпідного комплексу проводили на щурах. За модель було обрано тетрахлорметановий гепатит, оскільки, за даними наукової літератури, розвиток цієї інтоксикації супроводжується ура-

женням печінки з яскраво вираженим окисним стресом. Тварини (щури) були поділені на 3 групи (по 6 тварин в кожній групі). I група – контроль. Щурам II групи вводили тетрахлорметан з розрахунку 3 мл на 1 кг маси тіла у вигляді 50 % розчину на соняшниковій олії (контрольним тваринам вводили соняшкову олію з того ж розрахунку). Тваринам III групи за 4 год до введення тетрахлорметану вводили масляний екстракт лимонника китайського у вигляді 50 % розчину на соняшниковій олії [8].

Антимутагенну дію досліджували мікробіологічним методом за допомогою тест-штамів (*Salmonella typhimurium* TA98). В дослідний варіант в поживне середовище вносили сік лимонника з мякоттю, використовуючи при цьому варіанти: сік пастеризований при температурі 80⁰ протягом 15 хв і сік фільтрований через асбестовий фільтр [19, 29].

Результати й обговорення. В результаті проведеної роботи встановлено, що рідка фракція плодів лимонника китайського виявила антимутагену активність в обох варіантах: пастеризований сік лимонника китайського зменшував кількість індукованих біхроматом калію мутацій на 82 %, а фільтрований – на 92 %, фактично повністю запобігав мутагенному впливу біхромату калію. При внесенні цієї фракції з біхроматом калію кількість ревертантів була майже на рівні спонтанного фону мутацій.

Поряд з вивченням рідкої фракції плодів досліджувались також виділені зі шроту плодів ліпідні комплекси та їх антиоксидантна активність.

Ліпіди – один із основних продуктів біосинтезу рослин, і залежно від складу і структури окремих компонентів вони проявляють різнобічну біологічну активність [13, 18, 27]. Процесам пероксидації ліпідів належить важлива роль у функціонуванні біологічних систем [8, 10, 15]. Активні форми кисню (АФК) при взаємодії із сполуками ліпідів ініціюють процеси ПОЛ. Природна регуляція цих процесів в клітинах здійснюється при обов'язковій участі природних антиоксидантів, серед яких найбільш універсальними є, в тому числі, вищі жирні кислоти (ВЖК) – біологічно активна складова ліпідних комплексів (поряд з каротиноїдами та токоферолами), а їх вміст, якісний склад, кількісне співвідношення та ін. і зумовлюють особливий спектр біологічної дії ліпідів [8,10,15,18]. Це – насичені (пальмітинова, стеаринова, бегенова та ін.) жирні кислоти і ненасичені (олеїнова, лінолева, ліноленова, арахідонова та ін.), на які особливо багаті рослинні олії. Найбільш високою біологічною активністю відзначаються поліненасичені (есенціальні) жирні кислоти, зокрема, лінолева та ліноленова, які належать до групи вітаміна F.

Лінолева кислота належить до більш реакційно здатних біоенергетичних сполук, порівняно з олеїною кислотою [13, 27]. Ці жирні кислоти складають значну частку рослинних олій і відіграють провідну роль у синтезі простагландинів, які мають гормональну природу. Вони не синтезуються в організмі і не входять до складу клітинних мембран та інших структурних елементів тканин тощо, тому є незамінними і повинні потрапляти ззовні. Нестача ненасичених ВЖК послаблює опірність організму проти інфекцій та іонізуючих опромінювань. Добова потреба людини в поліненасичених ВЖК становить приблизно 8-15 г (20-25 г) [8, 13, 18, 26, 27].

В результаті наших досліджень встановлено, що для ліпідної фракції лимонника китайського

характерний високий вміст ненасичених ВЖК (86,04%). Серед них найвищий відсоток припадає на лінолеву кислоту, який складає 69,97. Значно менший відсоток займає олеїнова кислота (15,37%); ліноленова кислота в ліпофільній фракції лимонника присутня в слідових кількостях (0,7%) (рис.1).

Серед ідентифікованих насичених ВЖК в жирній олії насіння лимонника біля 3% (від загального відсотка ВЖК), складає пальмітинова кислота, інші жирні кислоти представлені в слідових кількостях (рис.1).

Високий вміст ненасичених ВЖК свідчить про їх значну біологічну активність та перспективність для створення олійних препаратів – природних антиоксидантів, біостимуляторів тощо (рис. 2).

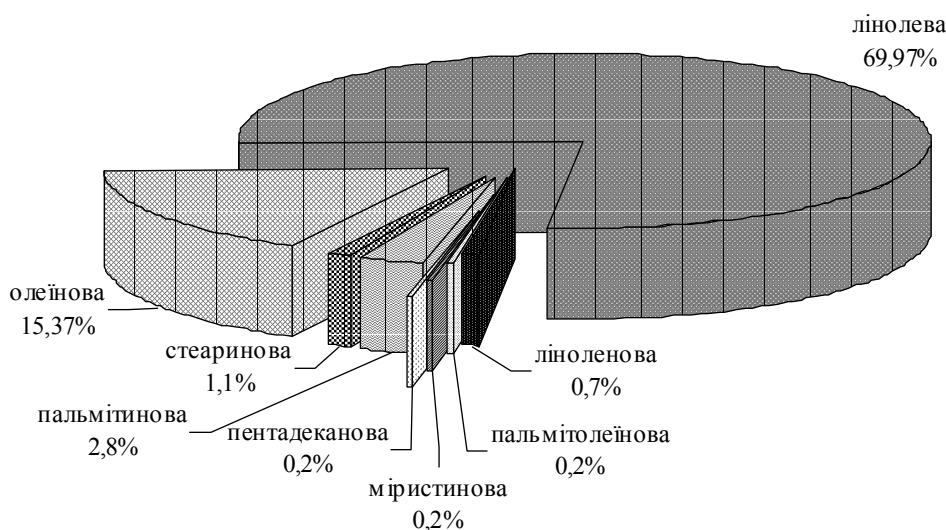


Рис. 1. Жирнокислотний склад ліпідного комплексу плодів *Schizandra chinensis* (Turcz.) Baill.

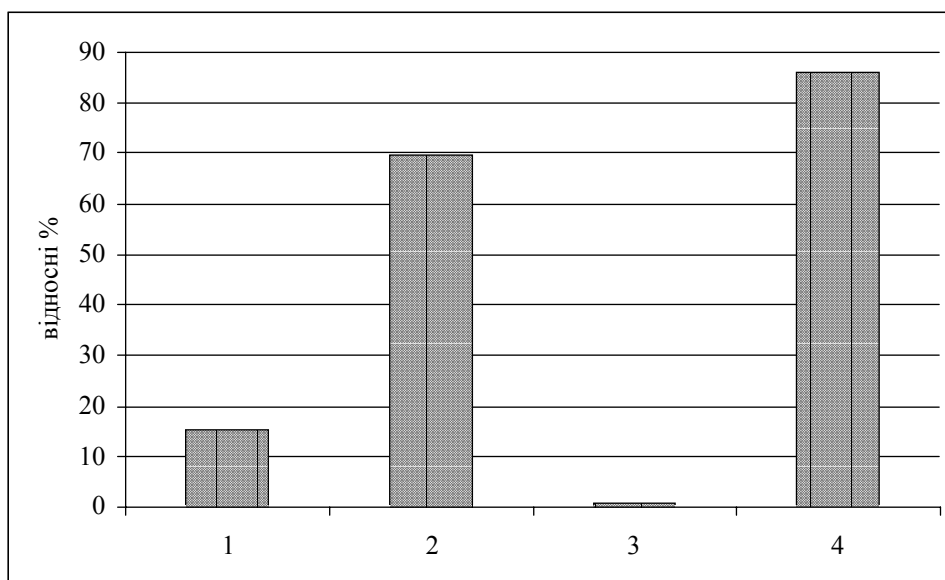


Рис. 2. Ненасичені ВЖК ліпідного комплексу лимонника китайського: 1 – олеїнова (омега-9), 2 – лінолева (омега-6), 3 – ліноленова (омега-3), 4 – загальна сума ненасичених ВЖК.

Дослідження антиоксидантної активності ліпідних комплексів показало, що введення тваринам тетрахлорметану призводить до законо-

мірного розвитку у них токсичного гепатиту, який супроводжується активізацією процесів ПОЛ в печінці, що проявляється підвищенням вмісту

ТБК-активних продуктів в гомогенаті печінки та плазмі крові тварин II групи, а також підвищенням в плазмі крові АЛТ-активності (табл.1).

Профілактичне введення ліпідного комплексу значно знижує вміст ТБК-активних продуктів як в тканині печінки, так і в плазмі крові щурів, що корелює зі зниженням їх в плазмі крові АЛТ-

активності і свідчить про гепатопротекторну дію олійного екстракту. Ліпідний екстракт насіння лимонника китайського виражено знижує вміст ТБК-активних продуктів особливо в плазмі крові. Отримані дані свідчать про значно високу антиоксидантну активність ліпідного екстракту лимонника китайського.

Таблиця 1. Вміст ТБК-активних продуктів в печінці (пмоль·мг⁻¹ білка) та в плазмі крові (мкмоль·л⁻¹) щурів, АЛТ-активність плазми крові (Е·л⁻¹) за гострої інтоксикації тетрахлоретаном при профілактичному введенні ліпідного комплексу лимонника китайського (M±m, n=6)

Умови досліджу	Група	ТБК-активні продукти, печінка	ТБК-активні продукти, плазма крові	АЛТ, плазма крові
Контроль	I	294,6±18,7	5,9±0,2	212±19
CCl ₄	II	582,3±31,8*	12,8±0,4*	2417±214*
CCl ₄ +лп л.	III	378,9±25,3**	6,7±0,3**	508±39*

Примітка: * – P ≤ 0,05 відносно контролю;

** – P ≤ 0,05 відносно токсичного гепатиту (CCl₄);

лп л. – ліпідний комплекс лимонника.

Нами запропоновано раціональний підхід виділення субстанцій плодів лимонника китайського як джерела цінних БАС для комплексного їх використання. При цьому доцільно спочатку відділити з плодів рідку фракцію (сік з мякоттю), отримуючи імуностимулювальну вітамінну субстанцію з високою антимуутагенною активністю. В подальшому з висушеного шроту (залишки попередньої переробки сировини) шляхом екстракції гексаном виділяти ліпідні комплекси з антиоксидантними властивостями.

Висновки. Досліджено різні субстанції, які виділено з плодів лимонника китайського: рідка фракція – (сік з мякоттю), ліпідний екстракт.

1. Встановлено високу антимуутагенну активність рідкої фракції плодів лимонника. Фільтрований сік зменшував кількість індукованих біхроматом калію мутацій на 92 %, фактично повністю запобігав мутагенному впливу біхромату калію.

2. В ліпідному екстракті насіння лимонника виявлено високий вміст ненасичених ВЖК (86,04 % від загального відсотка). Найвищий відсоток припадає на лінолеву кислоту, що складає 69,97-78,6 %.

3. Ліпідний комплекс насіння лимонника виражено знижує вміст ТБК-активних продуктів, особливо в плазмі крові, що свідчить про його високу антиоксидантну і гепатопротекторну дію.

4. Висока біологічна активність рідкої (сік з мякоттю) та ліпідної фракцій лимонника китайського обумовлює його перспективність, як джерела цінних БАС для створення лікувально-профілактичних засобів і препаратів – природних антиоксидантів, біостимуляторів тощо з потенційно антимуутагенними або генопротекторними властивостями, що заслуговує на подальші поглиблені комплексні дослідження.

Література

1. Алимова Е.К., Аствацатурьян А.Г. Исследование жирных кислот и липидов методом хроматографии. – М., 1967. – 220 с.
2. Баландин Д.А. Жирное масло косточек плодов лимонника // ДАН СССР. – Т. 26, №6. – 1940. – С. 592.
3. Баландин Д.А. Лимонник *Schisandra chinensis* Baill. // Тр. Дальневост. горно-таежной станции АН СССР, 4. – 1941. – С. 227.
4. Баландин Д.А. Схизандрин – новое стимулирующее вещество из плодов лимонника китайского // В кн.: Матер. к изучению стимулирующих и средств корня женьшеня и лимонника. – Владивосток, 1951. Вып. 1. – С. 45
5. Барилляк И.Р., Исаева А.В. Антимуутагенные и генопротекторные свойства препаратов растительного происхождения // Цитология и генетика. – 1994. – Т.28, №3. – С. 3 – 17.
6. Биологически активные вещества растительного

1. происхождения. В 3-х томах / Б.Н. Головкин, Р.Н. Руденская, И.А. Трофимова, А.И. Шретер; отв. ред. Б.Ф. Семихов. – М.: Наука. Т. 1. А-К, 2001. – 350 с.; Т. 2. Л-Я, 2001 – 764 с.; Т. 3. Указатели, 2002. – 216 с.
7. Бочков Н.П., Чеботарев А.И. Наследственность человека и мутагены внешней среды. – М.: Медицина, 1989. – 270.
8. Бурлакова Е.Б., Храпова Н.Г. ПОЛ мембран и природные антиоксиданты // Успехи медицинской химии. – 1985. – Т.54, № 9. – С. 1540-1559.
9. Витковский В.Л. Плодовые растения мира. – Санкт-Петербург-Москва-Краснодар: Из-во "Лань", 2003. – С. 415-418.
10. Владимиров Ю.А., Арчаков А.И. Перекисное окисление липидов в биологических мембранах. – М., 1972. – 252с.
11. ГОСТ 30418-96. Масла растительные. Метод оп-

ределения жирнокислотного состава.

12. Гольберт К.А., Вигдергауз М.С. Курс газовой хроматографии. – М.: Изд. "Химия", 1967.
13. Гусаков С.Д., Степаненко Г.А. и др. Липиды некоторых лекарственных растений // Растит. Ресурсы. – 1983. – Вып. 4. – С. 444-455.
14. Кочетков Н.К., Хорлин А.Я., Чижов О.С. Химическое исследование китайского лимонника. Сообщ. 1. Схизандрин и родственные соединения // ЖОХ. – Т. 31, вып. 10 – 1961. – С. 3454-3460.
15. Куликов В.Ю. Реакция перекисного окисления липидов в процессах адаптации и патологии // Бюл. СО АМН СССР. – 1985. – № 5. – С. 58.
16. Лебедев А.А. К фармакологии лимонника // В сб.: Материалы к изучению женьшеня и лимонника. Т. 2. М.-Л: Изд. АН СССР, 1955. – С.178.
17. Лебедев А.А. Лимонник. – Ташкент, 1971. – 136 с.
18. Максютіна Н.П., Пилипчук Л.Б. Рослинні антиоксиданти і пектини в лікуванні і профілактиці променевих уражень і детоксикації організму // Фармацевтичний журн. – 1996. – № 6. – С. 35-41.
19. Мусіяка В.К. Антимутагенні властивості препаратів природного походження // Физиология и биохимия культурных растений. – 2001. – Т. 33, № 3. – С. 216 – 225.
20. Титлянов А.А. Актинидии и лимонник. – Владивосток, 1969. – 123с.
21. Самойленко Л.И., Супрунов Н.И. Содержание лиг-

нанов в лимоннике китайском // Растительные ресурсы. – Изд-во "Наука, Ленингр. отд., 1974. – Т.Х, Вып. 1. – С. 636-640.

22. Синяк К.М., Оргель М.Я., Крук В.И. // Лабораторное дело. – 1976. – №1. – С. 37-41.
23. Супрунов Н.И. Жирное масло семян лимонника китайского // Растительные ресурсы. – Т. 9, вып. 4. – 1973. – С. 570-573.
24. Супрунов Н.И. К изучению локализации химических веществ в плодах лимонника китайского // В кн.: Биологически активные вещества плодов и ягод. – М., 1976. – С. 158-161.
25. Юрашевский Н.К. О химическом анализе плодов китайского лимонника *Schisandra chinensis*. Сов. ботаника, 2. – 1935. – С. 108.
26. Фармакогнозія з основами біохімії рослин / За ред. проф. В.М. Ковальова. – Харків: Прапор, вид-во НФАУ, 2000.- 703 с.
27. Кобзар А.Я. Фармакогнозія в медицині: Навч. посібник. – К.: Медицина, 2007. – С. 208-209.
28. Чекман И.С., Липкан Г.Н. Растительные лекарственные средства. – К., 1993. – 280 с.
29. Фонштейн Л.М. Метод рекомендованный по применению теста Эймса *Salmonella* / микросомы. – М., 1983. – 25 с.
30. Fariss M.W. Oxygen toxicity: unique cytoprotective properties of vitamin E succinate in hepatocytes // Free Radical Biol. Med. – 1990. – N 9. – P. 333-343.

БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНАЯ СОСТАВЛЯЮЩАЯ ПЛОДОВ ЛИМОННИКА КИТАЙСКОГО

Н.И. Джуренко, Е.П. Паламарчук, Н.В. Скрипченко

Национальный ботанический сад им. Н.Н. Гришко НАН Украины

Резюме: проводились исследования выделенных различных субстанций лимонника китайского. Выявлено высокую антимутагенную активность жидкой фракции (сок с мякотью) и антиоксидантное действие липидной фракции плодов лимонника, в которой выявлено высокое содержание ненасыщенных ВЖК (86,04 % от общей суммы). Предложен рациональный подход к использованию плодов лимонника.

Ключевые слова: лимонник китайский, липидный комплекс, высшие жирные кислоты, антимутагенная активность, антиоксидантное действие.

BIOLOGICALLY ACTIVE COMPONENT OF SCHIZANDRA CHINENSIS FRUIT

N.I. Dzhurenko, O.P. Palamarchuk, N.V. Skrypchenko

M.M. Hryshko National Botanical Gardens, NAS of Ukraine

Summary: the study of different excreted from Chinese magnolia vine substances was carried out. High anti-mutagenic activity was found in liquid fraction (juice with pulp), and anti-oxidation effect was found in lipid fraction of Chinese magnolia vine fruit containing high concentrations of unsaturated high fatty acids (86,04 % of total sum). Rational approach to use of Chinese magnolia vine fruits is proposed.

Key words: chinese magnolia vine (*Schizandra chinensis*), lipid complex, high fatty acids, anti-mutagenic activity, anti-oxidation effect.