

ВИВЧЕННЯ БІОЛОГІЧНО АКТИВНИХ РЕЧОВИН НАДЗЕМНОЇ ЧАСТИНИ ШОВКОВИЦІ БІЛОЇ (*MORUS ALBA L.*) ТА ШОВКОВИЦІ ЧОРНОЇ (*MORUS NIGRA L.*)

Ключові слова: шовковиця біла та чорна, біологічно активні речовини, ВЕРХ, ТШХ

Пошук нових лікарських рослин та створення на їх основі лікарських засобів залишаються на даний час одним з основних завдань фармацевтичної та медичної науки. Надійним орієнтиром для вибору напряму пошуку нових лікарських рослин є відомості про використання рослин у народній і традиційній медицині. Народна медицина тисячоліттями акумулює в собі теоретичні та практичні знання про використання лікарських рослин. Сучасні науковці використовують ці знання для пошуку перспективних лікарських рослин з метою їх подальшого детального вивчення та впровадження у медичну практику. До таких рослин можна віднести рослини родини шовковицеві (Moraceae) шовковицю білу та чорну, які здавна використовують у народній медицині, що створює значну сировинну базу по всій території України.

Виходячи з цього, метою нашої роботи була ідентифікація біологічно активних речовин у надземній частині шовковиці білої та чорної (кора, листя, плоди та бруньки) та розробка методик їх аналізу.

Крім того, ми ставили собі за мету дослідити вміст біологічно активних речовин у надземній частині шовковиці білої та чорної залежно від строку заготівлі сировини. Оскільки вивчення динаміки накопичення біологічно активних речовин у лікарській рослинній сировині має особливе значення, тому що дає змогу визначити оптимальні терміни збирання сировини з урахуванням біологічних особливостей розвитку рослини. Ці відомості мають теоретичний та практичний інтерес і можуть бути використані у рекомендаціях щодо заготівлі.

Матеріали та методи дослідження

Ми досліджували сировину надземної частини шовковиці білої та чорної (кора, листя, плоди та бруньки), що була зібрана у 2009–2010 рр. у Рівненській та Київській областях України.

Хімічний скринінг водних, водно-спиртових та ліпофільних екстрактів досліджуваної сировини проводили загальноприйнятими методами (якісні реакції, порівняння хроматографічної поведінки з вірогідними стандартними зразками (паперова хроматографія (ПХ), тонкошарова хроматографія (ТШХ), високоефективна рідинна хроматографія (ВЕРХ), газо-рідинна хроматографія (ГРХ)) [1, 2].

Для виділення біологічно активних речовин досліджувану сировину екстрагували 70 % етиловим спиртом. Одержаний екстракт концентрували у вакуумі. Після охолодження смолисті осад, що містив хлорофіли та інші малополярні сполуки відділяли декантацією; фільтрат вміщували у ділільну лійку і послідовно обробляли органічними розчинниками в ряду зростаючої полярності: хлороформом, етилацетатом, н-бутиловим спиртом. Після відгону органічних розчинників були отримані бутанольна, етилацетатна та водна фракції.

З метою розділення речовин отриманих фракцій використовували розподільну і адсорбційну хроматографію на целюлозі, поліамідному сорбенті та силікагелі. Динаміку розділен-

ня контролювали методами ПХ і ТШХ у системах розчинників: 2 % оцтова кислота; 15 % оцтова кислота; н-бутанол–оцтова кислота–вода (4:1:2); хлороформ–оцтова кислота–вода (13:6:1), бензол–етилацетат–оцтова кислота (70:30:2), та переглядом колонки в УФ-світлі. Хімічну будову виділених сполук встановлювали за допомогою спектральних, фізичних та хімічних методів аналізу порівняно із стандартними зразками [1, 2, 5].

Спектри виділених речовин записували за допомогою спектрофотометрів СФ-4 та «Hewlett Packard 8452A» (УФ-видимий діапазон), «Perkin Elmer Spectrum BX» та «Perkin Elmer 325» (ГЧ-діапазон).

Температуру топлення виділених речовин визначали на приладі для визначення температури топлення «Mel-temp II».

Вміст в досліджуваній сировині суми флавоноїдів, суми оксикоричних кислот, полісахаридів та суми поліфенольних сполук визначали, як описано в [4, 7, 8, 10].

Результати дослідження та їх обговорення

У результаті хімічного скринінгу листя, кори, плодів та бруньок шовковиці білої та чорної, встановлено наявність таких груп біологічно активних речовин, як гідроксикоричні кислоти, флавоноїди, терпеноїди, полісахариди, амінокислоти, стерини, жирні кислоти.

На основі результатів аналізу фізико-хімічних властивостей (даних УФ-, ГЧ-спектрального аналізу, хроматографії, порівняння з вірогідними зразками), даних ВЕРХ та ГРХ хроматографування, хромато-мас-спектрометрії, встановлена структура 62 речовин.

Із сировини листя шовковиці білої було виділено наступні речовини: 2 гідроксикоричні кислоти (кавова і хлорогенова) та 5 флавоноїдів: похідні 2-фенілбензо-*g*-пірону – 3,5,7,4'-тетрагідроксифлавоон (кемпферол) і 3,5,7,4'-тетрагідроксифлавоон (кверцетин); кверцитин-3-*O*- β -*D*-рутинозид (рутин); кверцитин-3-*O*- α -*L*-рамнопіранозид (кверцитрин); кверцетин-3-*O*- β -*D*-глюкопіранозид (ізокверцитрин).

Дані щодо деяких фізико-хімічних властивостей біологічно активних речовин, ідентифікованих в надземній частині шовковиці білої та чорної, наведені в табл. 1.

Т а б л и ц я 1

Основні фізико-хімічні властивості речовин, виділених та ідентифікованих у надземній частині шовковиці білої та чорної

№ п/п	Речовина, її структурна характеристика	Джерело отримання сполуки	Т пл, °C	УФ-спектр, λ_{max} , нм	R _f у системах розчинників	
					Система	R _f
1	2	3	4	5	6	7
Гідроксикоричні кислоти						
1	Хлорогенова кислота (5- <i>O</i> -кофеіл- <i>D</i> -хінна кислота)	ЛШБ	203-205	325 298 242	1 2	0,62 0,66
2	Кавова кислота (3,4-дигідроксикорична кислота)	ЛШБ	194-195	325 299 236	1 2	0,81 0,32
Флавоони						
3	Кемпферол (3,5,7,4'-тетрагідроксифлавоон)	ЛШБ	275-277	369 265	1 4	0,80 0,36
4	Кверцетин (3,5,7,4'-тетрагідроксифлавоон)	ЛШБ	310-312	375 268	1 4	0,71 0,44
5	Рутин (кверцитин-3- <i>O</i> - β - <i>D</i> -рутинозид)	ЛШБ	189-190	362 264	1 3	0,46 0,54
6	Кверцитрин (кверцетин-3- <i>O</i> - α - <i>L</i> -рамнозид)	ЛШБ	184-186	355 265	1 3	0,63 0,39
7	Ізокверцитрин (кверцетин-3- <i>O</i> - β - <i>D</i> -глюкопіранозид)	ЛШБ	224-231	360 255	1 3	0,52 0,36

1	2	3	4	5	6	7
8	Морин (2-(2,4-дигідроксифеніл)-3,5,7-тригідроксіхромен-4-он)*	КШБ				
Цукри						
9	D-арабіноза	А			5	0,58
10	D-галактоза	А			5	0,41
11	D-фруктоза	А			5	0,35
12	L-рамноза	А			5	0,65
13	Галактуронова кислота	А			5	0,19
Амінокислоти						
14	Аспарагінова кислота*	А				
15	Аланін*	ЛШБ, ПШЧ, БШБ, БШЧ				
16	Аргінін*	А				
17	Валін*	А				
18	Гістидин*	А				
19	Гліцин*	ЛШБ, ПШЧ, БШБ, БШЧ				
20	Глутамінова кислота*	А				
21	Ізолейцин*	А				
22	Лейцин*	А				
23	Лізин*	А				
24	Метіонін*	А				
25	Пролін*	А				
26	Серин*	А				
27	Тирозин*	А				
28	Треонін*	А				
29	Фенілаланін*	А				
30	Цистеїн*	А				
Стерини						
31	Кампостерол**	ЛШБ, ЛШЧ				
Терпеноїди						
32	β-амірин**	КШЧ				
Монотерпени						
33	α-туйон**	ПШЧ				
34	β-туйон**	ПШЧ				
Сесквітерпенові спирти						
35	α-кадинол**	КШБ				
36	Неролідол**	КШБ				
37	Спатуленол**	КШБ				
38	Ліналоол**	ЛШБ				
Тритерпеноїди						
39	Сквален**	ЛШБ, ПШБ, КШБ, БШБ, ЛШЧ, ПШЧ				
Токофероли						
40	β-токоферол**	КШБ, КШЧ				
41	γ-токоферол**	КШБ, КШЧ, ЛШЧ				
Жирині кислоти						
42	Арахідонова кислота**	ЛШБ				
43	Бегенова кислота**	ЛШБ				
44	Гептадеканова кислота**	КШБ				
45	Гептанова кислота**	КШБ				
46	Ейкозанова кислота**	ЛШБ				
47	Ізооктилова кислота**	КШБ				
48	Каприлова кислота**	КШБ, ПШЧ				
49	Капринова кислота**	КШБ, ПШЧ				

1	2	3	4	5	6	7
50	Капронова кислота**	КШБ				
51	Лауринова кислота**	ПШБ, ПШЧ				
52	Лігноцерінова кислота**	ЛШБ				
53	Лінолева кислота**	ЛШБ, ПШБ, КШБ, ЛШЧ				
54	Ліноленова кислота**	ЛШБ, КШБ, ПШЧ				
55	Міристинова кислота**	КШБ, ПШБ, БШБ, ПШЧ				
56	Нонанова кислота**	КШБ				
57	Олеїнова кислота**	БШБ				
58	Пальмітинова кислота**	БШБ, ЛШБ, КШБ, ПШЧ				
59	Пентадеканова кислота**	ЛШБ, ПШБ, КШБ, БШБ				
60	Пентакозанова кислота**	ЛШБ				
61	Стеаринова кислота**	ЛШБ				
62	Церитинова кислота**	ЛШБ				

Примітки:

А – всі досліджувані об'єкти;

ЛШБ – листя шовковиці білої;

ЛШЧ – листя шовковиці чорної;

ПШЧ – плоди шовковиці чорної;

БШЧ – бруньки шовковиці чорної;

ПШБ – плоди шовковиці білої;

КШБ – кора шовковиці білої;

КШЧ – кора шовковиці чорної;

БШБ – бруньки шовковиці білої;

** – речовина, ідентифікована методом ГРХ [3, 9];

* – речовина, ідентифікована методом ВЕРХ [6].

Системи розчинників:

№ 1 – н-бутанол–кислота оцтова–вода БОВ (4:1:2);

№ 2–2 % кислота оцтова;

№ 3 – 5 % кислота оцтова;

№ 4 – хлороформ–етанол (8:2, 9:1);

№ 5 – ацетонітрил–вода (85:15)

При цьому слід зазначити, що в сировині шовковиці білої та чорної вперше ідентифіковано 14 біологічно активних речовин. Серед них 12 жирних кислот: ЛШБ – церитинова, лігноцерінова, ейкозанова та бегенова; КШБ – нонанова, ізооктилова, каприлова та капринова; БШБ – пентадеканова, пальмітинова, олеїнова, міристинова; 2 сесквітерпенових спиртів у КШБ – α -кадинол і спатуленол.

Дані залежності кількісного вмісту біологічно активних речовин у надземній частині шовковиці білої та чорної від терміну заготівлі представлено в табл. 2.

Кількісний вміст полісахаридів у всіх досліджуваних об'єктах шовковиці варіював у незначних межах. Їх найбільший вміст спостерігався для плодів на стадії їх повного дозрівання у серпні (ПШБ – 8,65 %, ПШЧ – 8,20 %); для кори – (КШЧ – 0,53%, КШБ – 0,70%) у березні та квітні відповідно; для листя – (ЛШЧ – 2,33%, ЛШБ – 4,16%) у червні та липні відповідно. При аналізі кількісного вмісту флавоноїдів виявлено тенденцію їх максимального вмісту для листя – початок червня (ЛШБ – 1,56%, ЛШЧ – 2,19%), для кори – початок березня (КШБ – 0,90%, КШЧ – 0,81%) та для плодів – початок серпня (ПШЧ – 1,95%, ПШБ – 1,76%).

Отримані дані вмісту гідроксикоричних кислот у досліджуваних об'єктах, показали, що їх вміст у корі шовковиці білої та чорної залишається практично однаковим упродовж всього терміну заготівлі з максимальним значенням 0,05% на початку квітня, для листя – червень (ЛШБ – 1,56 %, ЛШЧ – 1,26 %) та плодів – серпень (ПШБ – 2,03 %, ПШЧ – 2,54 %).

Залежність вмісту біологічно активних речовин у сировинні шовковиці білої та чорної від строку заготівлі

Строки заготівлі сировини												
	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI	XII
<i>Поліфенольні речовини</i>												
ЛШБ	-	-	-	-	7,02±0,05	7,35±0,01	8,01±0,03	8,44±0,04	8,65±0,06	9,12±0,03	-	-
ЛШЧ	-	-	-	-	6,54±0,04	7,15±0,07	7,02±0,08	7,25±0,05	7,62±0,03	8,05±0,06	-	-
КШБ	3,72±0,02	3,86±0,03	3,59±0,02	3,24±0,05	3,14±0,07	3,01±0,02	2,91±0,04	2,84±0,06	3,15±0,03	3,24±0,04	3,42±0,08	3,68±0,05
КШЧ	2,61±0,03	2,75±0,04	2,59±0,06	2,44±0,05	2,31±0,03	2,10±0,07	1,95±0,06	1,74±0,03	1,65±0,04	1,92±0,05	2,38±0,03	2,54±0,05
ПШБ	-	-	-	-	2,81±0,02	3,41±0,04	4,04±0,06	4,15±0,03	-	-	-	-
ПШЧ	-	-	-	-	3,10±0,02	4,05±0,03	4,74±0,01	4,85±0,05	-	-	-	-
<i>Гідроксикоричні кислоти</i>												
ЛШБ	-	-	-	-	1,41±0,02	1,49±0,03	1,56±0,05	1,55±0,08	1,53±0,03	1,41±0,04	-	-
ЛШЧ	-	-	-	-	1,24±0,03	1,23±0,05	1,26±0,07	1,25±0,06	1,24±0,08	1,23±0,04	-	-
КШБ	0,03±0,02	0,03±0,06	0,04±0,04	0,05±0,03	0,04±0,08	0,04±0,05	0,04±0,06	0,04±0,03	0,04±0,02	0,03±0,05	0,03±0,02	0,03±0,03
КШЧ	0,04±0,02	0,05±0,04	0,05±0,05	0,06±0,02	0,05±0,08	0,05±0,09	0,04±0,02	0,04±0,03	0,04±0,07	0,04±0,06	0,03±0,05	0,04±0,02
ПШБ	-	-	-	-	1,59±0,02	1,76±0,03	1,96±0,08	2,03±0,03	-	-	-	-
ПШЧ	-	-	-	-	2,06±0,05	2,46±0,04	2,50±0,02	2,54±0,08	-	-	-	-
<i>Флавоноїди</i>												
ЛШБ	-	-	-	-	1,51±0,03	1,56±0,04	1,49±0,05	1,46±0,03	1,49±0,04	1,50±0,06	-	-
ЛШЧ	-	-	-	-	2,16±0,02	2,19±0,03	2,18±0,05	2,16±0,04	2,16±0,06	2,15±0,03	-	-
КШБ	0,71±0,02	0,87±0,05	0,90±0,03	0,70±0,02	0,84±0,03	0,81±0,05	0,79±0,08	0,77±0,04	0,76±0,07	0,75±0,03	0,73±0,04	0,71±0,02
КШЧ	0,78±0,03	0,80±0,01	0,81±0,02	0,71±0,03	0,78±0,01	0,78±0,05	0,77±0,04	0,76±0,03	0,75±0,04	0,75±0,05	0,76±0,03	0,77±0,05
ПШБ	-	-	-	-	1,01±0,05	1,12±0,08	1,24±0,04	1,76±0,07	-	-	-	-
ПШЧ	-	-	-	-	1,18±0,05	0,47±0,04	1,86±0,03	1,95±0,04	-	-	-	-
<i>Полісахариди</i>												
ЛШБ	-	-	-	-	3,46±0,02	4,16±0,04	4,01±0,03	3,76±0,02	3,66±0,02	3,16±0,04	-	-
ЛШЧ	-	-	-	-	2,03±0,02	2,13±0,02	2,33±0,02	2,21±0,02	2,01±0,02	1,90±0,02	-	-
КШБ	0,47±0,02	0,52±0,04	0,68±0,01	0,70±0,03	0,63±0,02	0,60±0,05	0,58±0,03	0,54±0,05	0,50±0,02	0,48±0,05	0,47±0,02	0,42±0,01
КШЧ	0,40±0,01	0,48±0,05	0,53±0,03	0,51±0,02	0,50±0,03	0,48±0,03	0,48±0,03	0,47±0,03	0,47±0,03	0,43±0,01	0,39±0,04	0,37±0,03
ПШБ	-	-	-	-	7,85±0,02	8,10±0,05	8,45±0,03	8,65±0,01	-	-	-	-
ПШЧ	-	-	-	-	7,40±0,01	7,69±0,02	8,01±0,02	8,20±0,04	-	-	-	-

Примітка. “-” показник не визначався

Поліфенольні сполуки у максимальному кількісному вмісту розподіляються таким чином: плоди – початок серпня (ПШБ – 4,15 %, ПШЧ – 4,85 %), кора – лютий (КШБ – 3,86 %, КШЧ – 2,75 %) та листя – жовтень (ЛШБ – 9,12 %, ЛШЧ – 8,05 %).

Нами встановлено оптимальні строки заготівлі сировини шовковиці з максимальним вмістом біологічно активних речовин: плоди – у фазу повного дозрівання (початок серпня), листя – у фазу формування плодів (початок червня) та кору – у фазу спокою (кінець лютого – початок березня).

В и с н о в к и

1. У надземній частині шовковиці білої та чорної ідентифіковано 62 біологічно активні речовини: 2 гідроксикоричні кислоти, 6 флавоноїдів, 17 амінокислот, 21 жирна кислота, 5 цукрів, 2 токоферолі і монотерпени, 1 терпеноїд, тритерпеноїд і стерин, 4 сесквітерпенові спирти.

2. Вперше в сировині шовковиці білої ідентифіковано 10 біологічно активних речовин – 8 жирних кислот у листі (церитинова, лігноцеринова, ейкозанова, бегенова) та у корі (нонанова, ізооктилова, каприлова, капринова), а також 2 сесквітерпенові спирти (α -кадинол і спатуленол).

3. Встановлені оптимальні строки заготівлі для сировини шовковиці: плоди – у фазу повного дозрівання (початок серпня), листя – у фазу формування плодів (початок червня) та кору – у фазу спокою (кінець лютого – початок березня).

1. *Георгиевский В.П., Казаринов Н.А., Каррыев М.О.* Физико-химические методы анализа биологически активных веществ растительного происхождения. – Ашхабад: «Ылым». – 1976. – 240с.

2. *Георгиевский В.П., Рыбаченко А.И., Козаков А.Л.* Физико-химические и аналитические характеристики флавоноидных соединений. – Ростов: Изд-во Ростовского ун-та, 1988. – 131 с.

3. *Гергель О.В.* Дослідження жирнокислотного складу листя шовковиці білої // Мат. наук.-практ. конф. молод. вчених. Х.: 2009. – С. 28–29.

4. Государственная Фармакопея СССР: Вып. 2. Общие методы анализа. Лекарственное растительное сырье / МЗ СССР. – 11-е изд., доп. – М.: Медицина, 1990. – 400 с.

5. Жукова О.Л., Абрамова А.А., Даргаева Т.Д. и др. // Вестн. Моск. ун-та. Сер. 2. Химия. – 2006. – Т. 47, № 5. – С. 342–345.

6. Цуркан О.О., Ковальчук Т.В., Гергель О.В. Вивчення амінокислотного складу листя та кори шовковиці білої (*Morus alba L.*) і шовковиці чорної (*Morus nigra L.*) // Фітотерапія. Часопис. 2010. – № 3. – С. 56–58.

7. *Цуркан О.О., Ковальчук Т.В., Гергель О.В.* Дослідження вмісту кофейної кислоти в сировині шовковиці білої та чорної // Тези доп. ювіл. наук.-практ. конф. з міжн. учас. – Х.: Вид-во НФаУ. – 2009. – 305 с.

8. *Цуркан О.О., Ковальчук Т.В., Гергель О.В.* Розробка методик аналізу флавоноїдів шовковиці // Матеріали наук.-практ. конф. молод. вчених присв. 85-річчю ХМАПО. – Х.: 2008. – 116 с.

9. *Цуркан О.О., Ковальчук Т.В., Гергель О.В.* Фармакогностичне вивчення деяких рослин родини Moraceae // Матер. XXVII наук.-практ. конф. з міжн. участ. Х.: Вид-во НФаУ. – 2010. – С. 143.

10. *Цуркан О.О., Ковальчук Т.В., Гергель О.В.* Фітохімічне дослідження вуглеводних компонентів шовковиці білої та чорної // Фітотерапія. Часопис. – 2010. – №4. – С. 69–73.

Надійшла до редакції 12.12.2011

А.А.Цуркан, Т.В.Ковальчук, А.В.Гергель

ИЗУЧЕНИЕ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ НАДЗЕМНОЙ ЧАСТИ ШЕЛКОВИЦЫ БЕЛОЙ (*MORUS ALBA L.*) И ШЕЛКОВИЦЫ ЧЕРНОЙ (*MORUS NIGRA L.*)

Ключевые слова: шелковица белая и черная, биологически активные вещества, ВЭЖХ, ТСХ

В процессе изучения надземной части шелковицы белой и черной были идентифицированы 62 биологически активных вещества, а также установлены оптимальные сроки заготовки их сырья.

O.O.Tsurkan, T.V.Kovalchuk, O.V.Gergel

STUDY OF BIOACTIVE SUBSTANCES OF OVERGROUND PART OF MULBERRY WHITE (*MORUS ALBA L.*) AND MULBERRY BLACK (*MORUS NIGRA L.*)

Keywords: a mulberry is white and black, bioactive substances, HPLC, TLC

S U M M A R Y

In the process of study over-ground part of mulberry white and black it was identified 62 bioactive substances, and also the set optimal terms of purveyance of their raw material.