

БІОЛОГІЧНО АКТИВНІ РЕЧОВИНИ ЛИСТЯ УНАБІ (*ZIZIPHUS JUJUBA* MILL.)

Ключові слова: унабі, фракції полісахаридів, флавоноїди, таніни, хлорофіли, каротиноїди, леткі сполуки, ліпофільні речовини

Унабі (*Ziziphus jujuba* Mill.) – представник родини Жостерових (*Rhamnaceae*), яка об'єднує близько 60 родів і більш ніж 900 видів переважно деревних рослин з великою різноманітністю форм – від дрібних, що стелються, кущів, і до великих дерев та ліан.

Рослина була окультурена в давнину і широко розповсюджена в країнах Південної і Східної Азії, на півдні Європи, в Японії, Австралії. Культивується на Кавказі і в Центральній Азії. Відомо близько 400 сортів.

В Лісостепу України сіянці середньо- та дрібноплідних форм унабі, що ростуть з 1981р. на території плодового саду Національного ботанічного саду ім. М. М. Гришка (насіння було завезено з Киргизії), задовільно зимують і плодоносять, хоча насінню не розмножуються, пагони їх дуже околючені, плоди дрібні. У середньоплідних форм плоди не дозрівають, тому вони становлять інтерес лише як зимостійкі вегетативні підщепи для сортів та вихідний матеріал для селекції.

Плоди унабі – офіційна сировина в Китайській народній республіці (КНР). Відповідно до Фармакопеї КНР основними біологічно активними речовинами (БАР) плодів унабі є тритерпени і тритерпенові сапоніни, С-глікозиди спінозин і свертизин, циклічні нуклеотиди та полісахаридний комплекс зизифус-арабінан. Стандартизацію плодів унабі здійснюють за вмістом 3-О-*n*-кумароїлалфїтолових кислот та ююбозидів А і В.

Лікувальні властивості притаманні також листю, насінню, корі пагонів, кореням і деревині [6].

Водно-спиртовий екстракт листя *Ziziphus jujuba* в дозах 200, 400 і 600 мг/кг в день протягом 125 днів спричинює зниження маси тіла та рівня загального холестерину, ліпопротеїнів низької щільності (ЛПНЩ), ліпопротеїнів дуже низької щільності (ЛПДНЩ), тригліцеридів, а також підвищення рівня HDL-холестерину. Ці результати свідчать, що екстракт листя унабі має гіполіпідемічні властивості [9].

На моделі виразки шлунку, індукованої етанолом та аспірином, екстракт листя унабі виявився ефективним у зниженні виразкового індексу і збільшенні вмісту шлункового слизу [8].

Спиртовий екстракт листя було протестовано на щурах на гіпоглікемічні властивості в нормі й за моделювання аллоксаном цукрового діабету. Одноразова (100–400 мг/кг) доза екстракту спричинила дозозалежне статистично зна-

чуже зниження рівня глюкози в крові інтактних щурів через 2, 4 і 6 год. Цей ефект був найбільш виражений через 6 год, рівень глюкози в крові повертався до контрольного значення через 24 год. У щурів з модельованим аллоксаном діабетом не спостерігали істотного впливу цього екстракту на рівень глюкози в крові [7, 11].

Матеріали та методи дослідження

Метою дослідження було визначення вмісту різних класів біологічно активних речовин у листі унабі (*Ziziphus jujuba* Mill.) в процесі онтогенезу.

Об'єктом дослідження було листя чотирьох форм унабі, інтродукованого у Національному Ботанічному саду ім. М. М. Гришка НАН України (м. Київ), зібране у період з червня по вересень 2011 р.

Дослідження вмісту флавоноїдів здійснювали спектрофотометричним методом (спектрофотометр Hewlett Packard 8452A, США) за реакцією із алюмінію хлоридом у перерахунку на рутин [1], танінів – спектрофотометричним методом за реакцією із фосфорномолібденово-вольфрамовим реактивом у перерахунку на пірогалол відповідно до ДФУ [2]. Дослідження вмісту окремих флавоноїдів виконували методом високоефективної рідинної хроматографії (ВЕРХ) на хроматографі Shimadzu UFLC (Японія) з діодноматричним детектором, обладнаному автосамплером и термостатом колонок. Колонка – C18X-Тегга завдовжки 150 мм і діаметром 4,6 мм, з розміром частинок 5 мкм, температура колонки 35 °С, швидкість потоку 1 мл/хв, об'єм інjektування 5 мкл, детектування здійснювали за довжини хвилі 360 нм. Рухома фаза: А – 0,1% водний розчин трифтороцтової кислоти, В – 0,1% розчин трифтороцтової кислоти в ацетонітрилі.

Кількісне визначення полісахаридів виконували комбінованим методом, який поєднує відому схему розділення вуглеводів за Бейлі із спектрофотометричним методом Дрейвуда [4]. Розрахунок вмісту полісахаридів здійснювали в перерахунку на домінуючий моносахарид за результатами визначення моносахаридного складу полісахаридів після гідролізу методом тонкошарової хроматографії. Таким чином, розрахунок вмісту водорозчинних полісахаридів (ВРПС) і геміцелюлоз (ГЦ) робили на галактозу, пектинових речовин (ПР) – на галактуронову кислоту, використовуючи питомі оптичні показники поглинання цього моносахариду.

Вміст білково-полісахаридного комплексу визначали гравіметричним методом [2].

Дослідження вмісту пігментів виконували спектрофотометричним методом з наступним розрахунком їх концентрації за рівнянням Ветштейна-Хольма.

Визначення вмісту летких сполук і ліпофільних речовин здійснювали хромато-мас-спектрометричним методом, застосовуючи хроматограф Agilent Technologies 6890 з мас-спектрометричним детектором 5973 (США). Хроматографічна колонка – капілярна DB-5 з внутрішнім діаметром 0,25 мм, завдовжки 30 м. Швидкість газу-носія (гелій) 1,2 мл/хв. Температура нагрівача введення проби – 250 °С. Температура термостата програмована від 50 °С до 320 °С зі швидкістю 4 °С/хв. Для ідентифікації компонентів використовували бібліотеку мас-спектрів NIST05 і WILEY 2007 з загальною кількістю спектрів більш 470 000 в поєднанні з програмами для ідентифікації AMDIS і NIST. Для кількісних розрахунків використовували метод внутрішнього стандарту [5].

Статистичне оброблення результатів робили загальноприйнятим методом [3].

Результати дослідження та обговорення

В результаті проведеного дослідження встановлено, що максимальний вміст БАР спостерігали під час досягання плодів – у серпні–вересні місяці.

Вміст білково-полісахаридного комплексу становить 8,45%, 7,90%, 8,54% і 10,83% у листі I, II, III і IV форми унабі відповідно.

Вміст фракцій полісахаридів наведено на діаграмі (рис. 1).

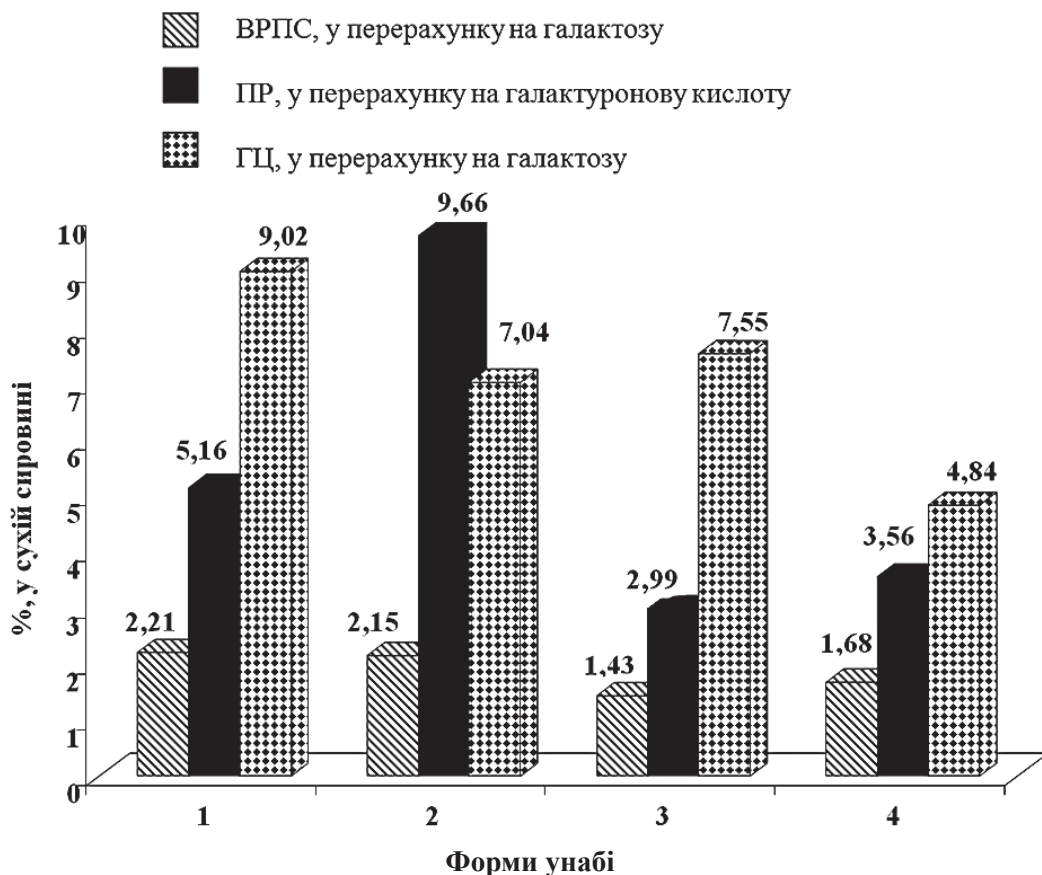


Рис. 1. Вміст фракцій полісахаридів у листі різних форм унабі

Як видно із діаграми (рис. 1), у листі I, III і IV форми унабі домінує фракція ГЦ, найвищий вміст якої виявили у листі I форми – 9,02% у перерахунку на галактозу. У листі унабі II форми переважають ПР, вміст яких становить 9,66% у перерахунку на галактуронову кислоту. В цілому, вміст ПР у листі унабі виявився вищим, ніж вміст ВРПС, серед форм унабі вміст ВРПС виявили найвищий у листі I форми – 2,21% у перерахунку на галактозу.

У листі унабі I форми найвищий також і вміст суми флавоноїдів – 5,78% у перерахунку на рутин (рис. 2).

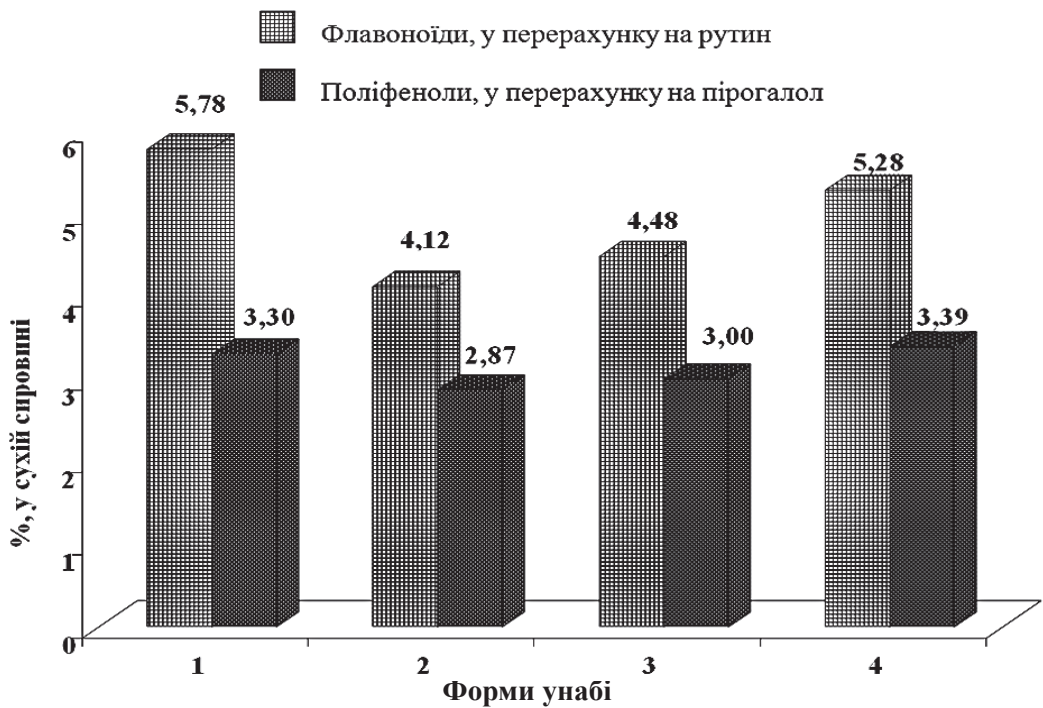


Рис. 2. Вміст фенольних сполук у листі різних форм унабі

Вміст рутину, визначений методом ВЕРХ, становить 0,34%, 0,21%, 0,24% і 0,29% у листі I, II, III і IV форми унабі відповідно. Вміст танінів у листі досліджуваних форм унабі відрізняється несуттєво – від 2,87% до 3,39% у перерахунку на пірогалол, при цьому листя I і IV форм вирізняється вищим вмістом танінів, так само як і флавоноїдів.

Найвищий вміст пігментів виявили у листі унабі III форми – 356 мг% суми хлорофілів і 84 мг% каротиноїдів (рис. 3). Листя інших форм унабі мало відрізняється між собою за вмістом хлорофілів і каротиноїдів.

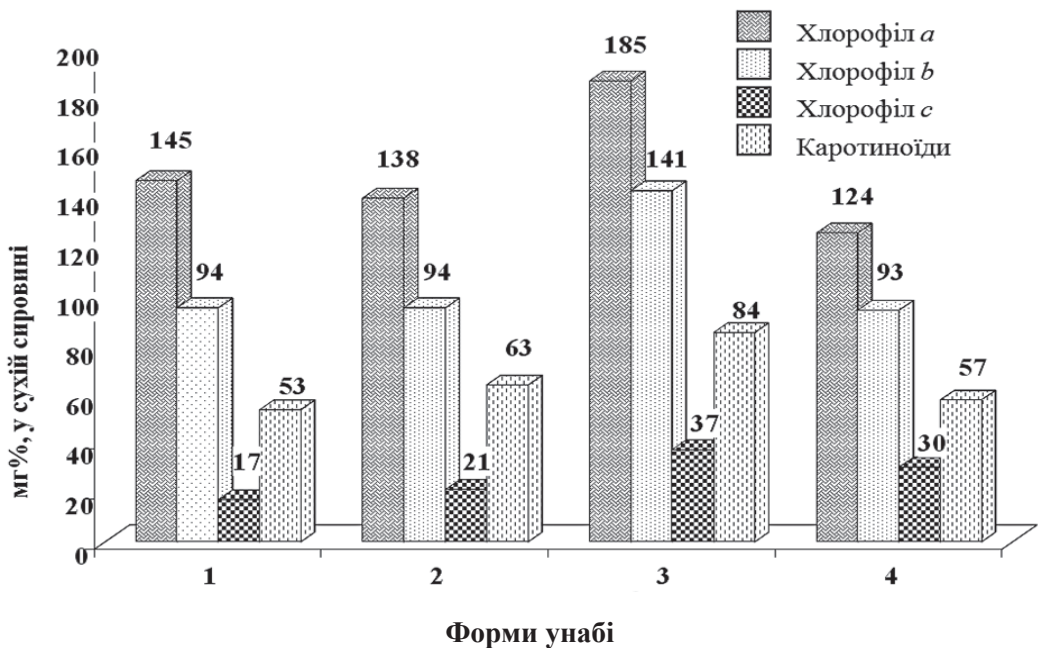


Рис. 3. Вміст пігментів у листі різних форм унабі

Результати визначення вмісту летких сполук наведено в табл. 1. Як впливає з даних табл. 1, спільними для листя чотирьох форм унабі є три сполуки – евгенол, фітол і сквален. Евгенол домінує в складі летких компонентів листя I і III форми унабі, а сквален – в складі летких компонентів листя II і IV форм. У листі III форми унабі найвищим серед досліджуваних зразків виявився також і вміст фітолу, що, очевидно пов'язано із вмістом хлорофілу у сировині. Цікавим також є той факт, що в листі цієї форми унабі ідентифіковано ще 14 терпеноїдів, вміст яких становить 211,6 мг/кг, а в листі II форми унабі тільки гексагідрофарнезиллацетон, який в листі унабі III форми відсутній, що може бути використано для ідентифікації форм унабі. Як маркери форм унабі можна використовувати і інші речовини, наприклад міристинову кислоту для листя IV форми унабі, стеаринову кислоту – для листя II форми унабі, нерол – для листя I форми унабі.

Т а б л и ц я 1

Вміст летких сполук у листі різних форм унабі

Назва речовини	Вміст речовини у формах унабі, мг/кг			
	I	II	III	IV
Вуглеводні				
Пентадекан	2,4		5,7	
Гексадекан	2,8			
Гептадекан	2,6	2,5		
Спирти і феноли				
2,5-Диметилциклогексанол		1,6	24,3	
Цис-3-гексен-1-ол	3,3		8,8	1,8
4-Метил-3-пентен-1-ол				2,4
2-Октен-1-ол			3,5	
1-Нонен-4-ол				3,4
3,5,7-Нонатрієн-2-ол				2,1
Бензиловий спирт		2,5		
β-Фенілетиловий спирт		5,5		
2-Метокси-4-вінілфенол	3,1	3,4		
Альдегіди і кетони				
Гексаналь		0,5		
Нонаналь		1,7		
Транс-2-гексеналь	6,5			
2,4-Гексادیєналь			2,0	
2,4-Гептадієналь	3,4		2,7	2,4
Фенілацетальдегід	3,5		6,3	2,9
Фурфурол			2,4	
6-Метил-5-гептен-2-он	1,4			
Метилоктанон-4				5,4
2-Окси-3-пропіл-2-циклопентен-1-он		7,0		
6-Метил-3,5-гептадієн-2-он	2,4		10,0	7,1
2,3-Октандіон	1,2			2,1
3,5,7-Нонатрієн-2-он				3,3
Жирні кислоти та їх ефіри				
Лауринова кислота	2,8			2,3
Міристинова кислота				3,8
Пальмітинова кислота		32,1	18,9	44,9
Стеаринова кислота		11,5		
Етилпальмітат	10,8		11,4	

Продовження табл. 1

1	2	3	4	5
Терпеноїди				
Монотерпени				
Епоксиліналоол	3,6		32,7	
Транс-ліналоолоксид	11,1		29,7	4,6
Гераніол	1,8		5,5	
Геранілацетон	15,9			41,9
Нерол	1,7			
Мірценол				2,5
α -Терпінеол	2,3		12,4	
<i>n</i> -Ментадієн-7-ол			6,3	
Периловий спирт			11,4	
Цис-міртанол			10,1	
Міртенол	2,3		7,0	3,2
Борнеол	10,0		27,2	8,1
Норгтерпеноїди				
β -Іонон	6,6		21,1	11,0
β -Іонон-5,6-епоксид	7,0		25,4	15,6
Транс-псевдоіонон				5,7
Сесквітерпени				
Фарнезилацетон	3,7			
Гексагідрофарнезилацетон	26,0	24,7		29,2
Гермакрен В			9,7	
Епі- α -кадинол			7,2	
Каріофіленоксид			5,9	
Дитерпени				
Фітол	13,8	29,3	57,5	11,6
Тритерпени				
Сквален	13,3	37,6	24,8	28,1
Ароматичні сполуки				
Евгенол	91,2	7,5	108,5	12,7

В табл. 2 наведено компонентний склад хлороформних екстрактів листя унабі. Як впливає з табл. 2, найвищий вміст серед ліпофільних речовин листя унабі припадає на дитерпени, а саме неофітадієн.

Т а б л и ц я 2

Компонентний склад хлороформних екстрактів листя різних форм унабі

Назва речовини	Вміст речовини у екстракті, мг/кг			
	I	II	III	IV
Вуглеводні				
Пентадекан				13,3
Докозан	67,7		27,2	
Трикозан	75,9		41,1	19,4
Тетракозан	55,9			
Гексакозан	172,7			
Гептакозан	323,5	46,7	68,7	52,5
Ейкозан	39,0			
Нонакозан	729,1			
Унтриаконтан	336,3	74,7		

Продовження табл. 2

1	2	3	4	5
Альдегіди і кетони				
Гексакозаналь	632,1	366,0	516,1	287,2
6-метил-5-гептен-2-он				7,6
Карбонові кислоти та їх ефіри				
Транс-2-гексенова кислота				88,2
Етилпальмітат	75,7	21,6	51,7	14,1
Метиліноленат	37,2	29,0		
Етилліноленат		21,9	57,3	28,7
Етилінолеат	95,3	67,4	82,4	31,9
Етилстеарат	34,0		11,7	
Терпеноїди				
Сесквітерпени				
Фарнезилацетон	53,6	65,0		54,0
Гексагідрофарнезилацетон	274,6	311,2	330,1	140,5
β-евдесмол				110,5
Дитерпени				
Цис-неофітадієн	4128,3	3046,6	5169,1	3415,8
Транс-неофітадієн	1125,6	909,7	1377,9	997,1
Цис-, транс-неофітадієн	546,9	424,7	778,9	513,8
Дигідроактинідіолід	167,0	107,0	122,1	54,6
Цис-3,7,11,15-тетраметил-гексадецен-2	132,7	170,5	246,5	121,8
Транс-3,7,11,15-тетраметил-гексадецен-2	184,5	115,2	482,4	266,1
4,8,12,16-Тетраметилгептадекан-4-олід	46,6	27,1	58,3	52,4
Епі-маноїлоксид				26,4
Тритерпени				
Сквален	2094,5	1734,2	4043,4	4318,1
28-норолеан-17-ен-3-он	729,4			
Політерпени				
Соланесол	175,6	55,7	120,7	143,6
Стероїди				
Стерин	533,8			
Стерол	234,6	43,2		
Стеринон	67,0			
β-Ситостерол ацетат	2575,5	179,2	310,1	205,8
Стигмаст-5-ен-3-ол (γ-ситостерол)	287,7			
Ситостенон	671,4			
9-октадеценамід (олеамід)			22,7	

Високий вміст неофітадієну, який пригнічує протилізоцимну активність мікроорганізмів, зумовлює можливість використання екстрактів листя унабі для створення нових антибактеріальних лікарських засобів.

У всіх досліджуваних зразках хлороформних екстрактів листя унабі ідентифіковано також сквален, соланесол і β -ситостеролу ацетат.

Варто зазначити, що вміст β -ситостеролу ацетату в листі I форми унабі набагато вищий, ніж у листі інших форм унабі, окрім β -ситостеролу ацетату в листі цієї форми унабі ідентифіковано ще 5 стероїдних сполук. Виходячи з одержаних даних, можна передбачати гіполіпідемічну активність ліпофільного екстракту листя унабі I форми.

Цінним компонентом хлороформних екстрактів листя унабі є соланесол – вихідна речовина для одержання синтетичних аналогів вітаміну K і коензиму Q.

Актуальним є той факт, що в листі унабі III форми ідентифіковано олеамід, який є ендогенною речовиною ссавців, накопичується в спинномозковій рідині під час неспання і індукує сон. На сьогодні цю речовину вивчають як потенційний лікарський засіб для лікування депресії і розладів сну.

β -Евдесмол і епі-маноїлоксид, які ідентифіковано лише в листі IV форми унабі, можуть бути використані для ідентифікації цієї форми унабі, а 28-норолеан-17-ен-3-он – для ідентифікації I форми унабі.

В и с н о в к и

1. Методом ВЕРХ у листі унабі ідентифіковано рутин та визначено його кількісний вміст – 0,21–0,34%.

2. Максимальний вміст танінів, флавоноїдів, полісахаридів і пігментів у листі унабі спостерігали під час дозрівання плодів – у серпні–вересні місяці.

3. Хромато-мас-спектрометричним методом визначено вміст летких сполук і склад хлороформних екстрактів листя унабі.

4. В складі летких сполук домінують евгенол, сквален і фітол, серед компонентів хлороформних екстрактів найвищий вміст визначено для неофітадієну.

Л І Т Е Р А Т У Р А

1. Блажей А., Шутый Л. Фенольные соединения растительного происхождения. – М., 1977.
2. Державна фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». 1-е вид. – Харків: РІРЕГ, 2001. – Доповнення 2. – 2008. – 620 с.
3. Лапач С. Н., Чубенко А. В., Бабич П. Н. Статистика в науке и бизнесе. – К.: Морион, 2002. – 640 с.
4. Оленников Д. Н., Танхаева Л. М. Методика количественного определения группового состава углеводного комплекса растительных объектов // Химия раст. сырья. – 2006. – № 4. – С. 29–33.
5. Черногород Л. Б., Виноградов Б. А. Эфирные масла некоторых видов рода *Achillea* L., содержащие фразанол // Раст. ресурсы. – Санкт-Петербург. – 2006. – Т. 42, Вып. 2. – С. 61–68.
6. Azam-Ali S., Bonkoungou E., Bowe C. et al. Ber and other jujubes / International Centre for Underutilised Crops. – 2006. – 289 p.
7. Anand K. K., Singh B., Grand D. et al. Effect of *Zizyphus sativa* leaves on blood glucose levels in normal and alloxan-diabetic rats // J. Ethnopharm. – 1989. – V. 27, N 1–2. – P. 121–127.
8. Ganachari M. S., Kumar S. Anti-ulcer properties of *Ziziphus jujuba* Lam. leaves extract in rats // J. Natural Remedies. – 2004. – V. 4, N 2. – P. 103–108.
9. Ganachari M. S., Kumar S. Effect of *Ziziphus jujuba* leaf extract on body weight, food intake and serum lipid levels in sucrose-induced obese rats // Inter. J. Pharm. Sciences. – 2004. – V. 66, N 3. – P. 363–365.
10. Ganachari M. S., Kumar S., Bhat K. G. Effect of *Ziziphus jujuba* leaves extract on phagocytosis by human neutrophils // J. Natural Remedies. – 2004. – V. 4, N 1. – P. 120.
11. Shirdel Z., Madani H., Mirbadalzhadch R. Investigation into the hypoglycemic effect of hydroalcoholic extract of *Ziziphus jujuba* leaves on blood glucose and lipids in alloxan-induced diabetes in rats // Iranian J. Diabetes and Lipid Disorders. – 2009. – V. 3. – P. 13–19.

Надійшла до редакції 27. 07. 2012.

Т. В. Джан¹, Е. Ю. Коновалова², С. В. Клименко³

¹ Государственная лаборатория контроля качества лекарственных средств
ГУ «Институт фармакологии и токсикологии», г. Киев

² Киевский медицинский университет Украинской ассоциации народной медицины

³ Национальный ботанический сад им. М. М. Гришко НАН Украины, г. Киев

БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫЕ ВЕЩЕСТВА ЛИСТЬЕВ УНАБИ (*ZIZIPHUS JUJUBA* MILL.)

Ключевые слова: унаби, фракции полисахаридов, флавоноиды, танины, хлорофиллы, каротиноиды, летучие соединения, липофильные вещества

А Н Н О Т А Ц И Я

В статье приведены результаты определения содержания спектрофотометрическим методом полисахаридов, флавоноидов, танинов и пигментов в листьях унаби форм украинской селекции. Максимальное содержание этих биологически активных веществ наблюдали во время созревания плодов. Методом высокоэффективной жидкостной хроматографии в листьях унаби идентифицирован рутин и определено его количественное содержание – 0,21–0,34%. Хромато-масс-спектрометрическим методом определен состав летучих соединений и хлороформных экстрактов листьев унаби. В составе летучих соединений доминируют эвгенол, сквален и фитол, среди компонентов хлороформных экстрактов наибольшее содержание определено для неопфитадина.

T. V. Dzhan, E. Yu. Konovalova, S. V. Klimenko

BIOLOGICALLY ACTIVE SUBSTANCES OF LEAVES JUJUBE (*ZIZIPHUS JUJUBA* MILL.)

Key words: jujube, fraction of polysaccharides, flavonoids, tannins, chlorophylls, carotenoids, volatile compounds, lipophilic substances

А B S T R A C T

The results of polysaccharides, flavonoids, tannins and pigments determination in jujube leaves of Ukrainian selection form by spectrophotometric method. The maximum content of biologically active substances observed during fruit ripening. By HPLC in jujube leaves identified rutin and defined its quantitative content – 0.21%–0.34%. The composition of volatile compounds and chloroform extracts of jujube leaves determined by chromatography-mass spectrometric method. In the composition of volatile compounds is dominated eugenol, squalene, and phytol, among the components of the chloroform extracts of the highest concentration determined for neofitadien.

*Електронна адреса для листування з авторами:
zakusilo@gmail.com*