

#### УДК 615.322:582.734.4

Ковальська Н.П., к.фарм.н., доцент кафедри фармакогнозії та ботаніки  
Національний медичний університет ім. О.О. Богомольця,  
Джан Т.В., к.фарм.н., науковий співробітник  
ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМН України»  
Клименко С.В., д.б.н., професор, головний науковий співробітник  
Національний ботанічний сад ім. М.М. Гришка НАН України

### ДОСЛІДЖЕННЯ ЛОКАЛІЗАЦІЇ ГІДРОКСИКОРИЧНИХ КИСЛОТ У ЛИСТІ АЗИМІНИ *ASIMINA TRILOBA* L.

**Ключові слова:** листкова пластинка, клітини-ідіобласти, ксилема, флоема, трихоми, гідроксикоричні кислоти.

Азиміна трилопатева (*Asimina triloba*) відноситься до родини Анонових (*Annonaceae*) із Північної Америки, де її називають Pawpaw чи Paw Paw. Вона є єдиним представником із більш ніж 120 родів родини анонових, які мають ареал свого поширення за межами субтропічної зони.

Перші рослини були завезені в Росію на початку дев'ятнадцятого століття. Вже з 1890 року їх почали вивчати в Нікітському ботанічному саду в Криму. Сучасні колекції азиміни в Україні представлені в Нікітському ботанічному саду, Дослідному господарстві «Новокаховське» з 1994 р. і в Національному ботанічному саду ім. М.М. Гришка НАН України (НБС) з 2001 році [3].

Серед біологічно активних сполук азиміни найбільшу увагу привертають ацетогеніни – похідні довголанцюгових жирних кислот (C32 чи C34). Із азиміни були виділені і встановлена структура більше 50 ацетогенінів. Із схожих видів виділені ще 150 ацетогенінів. Вони є потужними інгібіторами мітохондріального, так само як і цитоплазматичного (анаеробного), утворення АТФ і відповідних нуклеотидів. Потужна цитотоксичність, протипухлинна, пестицидна, протималярійна, антигельмінтна, противірусна і антимікробна ефективність вказує на можливість ефективного використання азиміни як лікарської рослинної сировини [7].

В результаті проведеного нами дослідження визначений вміст летких сполук в листі азиміни української селекції (0,1%-0,3%), серед летких сполук домінують терпеноїди, а саме гермакрен – від 22% до 42% в ефірній олії. На відміну від листя, вміст летких сполук в плодах азиміни незначний, основним компонентом являється сквален – від 40% до 60% в складі летких сполук і відсутні інші терпеноїди [2].

В складі хлороформних екстрактів листя азиміни домінують вуглеводні і неофітадієн. В хлороформних екстрактах плодів азиміни не виявлені терпеноїди, а вміст вуглеводнів незначний. Із стероїдів в листі і плодах азиміни виявлені стигмаста-3,5-дієн, а в двох зразках плодів також  $\gamma$ -ситостерол. Цікавим є той факт, що в листі всіх досліджуваних форм присутній  $\alpha$ -токоферол (від 13 мг/кг до 48 мг/кг), в той час як в плодах ця речовина не виявлена [2].

Вперше в листі і плодах азиміни ідентифікований пальмітон, вміст якого значно вищий в листі – від 18 мг/кг до 103 мг/кг. Пальмітон показав високу протисудомну активність і листя азиміни можна розглядати як перспективну рослинну сировину для лікування епілепсії [6].

Листя азиміни вирізняється високим вмістом ліноленової кислоти (до 1,2%) і наявністю 11,14,17-ейкозатрієнової кислоти, однією із найбільш активних незамінних жирних кислот, яка рідко зустрічається в природі. В плодах азиміни відмічений практично однаковий вміст для пальмітинової, лінолевої, ліноленової, олеїнової кислоти та її ізомеру – петрозелінової кислоти [2].

В листі азиміни ідентифіковані 12 органічних кислот, серед яких домінують яблучна і лимонна кислоти – 0,1%-0,6%. В плодах азиміни вміст органічних кислот виявився меншим, але основними кислотами являються також яблучна і лимонна [2].

Максимальний вміст біологічно активних сполук в листі азиміни спостерігається в кінці липня – на початку серпня, після закінчення росту пагонів. Зокрема, вміст суми гідроксикоричних кислот становить 8,72%-10,86% в перерахунку на кислоти хлорогенову, [2].

Гідроксикоричні кислоти мають високу біологічну активність, зокрема хлорогенова кислота уповільнює вивільнення глюкози в кров після прийому їжі і пригнічує глюкозу-6-фосфатазу, зменшуючи печінковий глікогеноліз, сприяє збільшенню рівня глюкагонподібного пептиду-1 (GLP-1), який відіграє превентивну роль в розвитку діабету [5].

Метою даної роботи було дослідження локалізації гідроксикоричних кислот (ГКК) в листі азиміни.

Об'єктами вивчення було листя азиміни, виведеної у відділі акліматизації рослин Національного ботанічного саду ім. М.М. Гришка, зібране у червні 2013 р.

Досліджували свіжу і висушену повітряно-тіньовим способом рослину сировину, з якої приготували фіксований зразок, використовуючи суміш: спирт етиловий 96% – гліцерин – вода (1:1:1) за загальноприйнятими методиками [1,4].

Поперечні зрізи отримували за допомогою леза. Гідроксикоричні кислоти виявляли за допомогою реактива Арнова. На зріз наносили наступні реактиви у вказаній послідовності: 1 краплю реактиву № 1 (0,5 М розчину хлористоводневої кислоти), 1 краплю реактиву № 2 (суміш 10% розчину натрію молібдату і 10% розчину натрію нітриту), 1 краплю реактиву № 3 (розчину натрію гідроксиду розведеного). Залишки реактивів видаляли фільтрувальним папером, зріз поміщали в краплину води на предметному склі, накривали покривним склом і розглядали під мікроскопом. Спостерігали утворення червоно-фіолетового забарвлення.

Тимчасові препарати розглядали в світловому тринокулярному мікроскопі XSP-146T фірми ULAB при збільшенні в 40, 100 і 400 разів. Фотографували зрізи з допомогою цифрової мікрофотокамери дзеркальної фотокамери Canon EOS 550.

Результати мікрохімічних реакцій, в результаті яких ідентифіковані гідроксикоричні кислоти в листках азиміни, наведені на рис. 1-6.

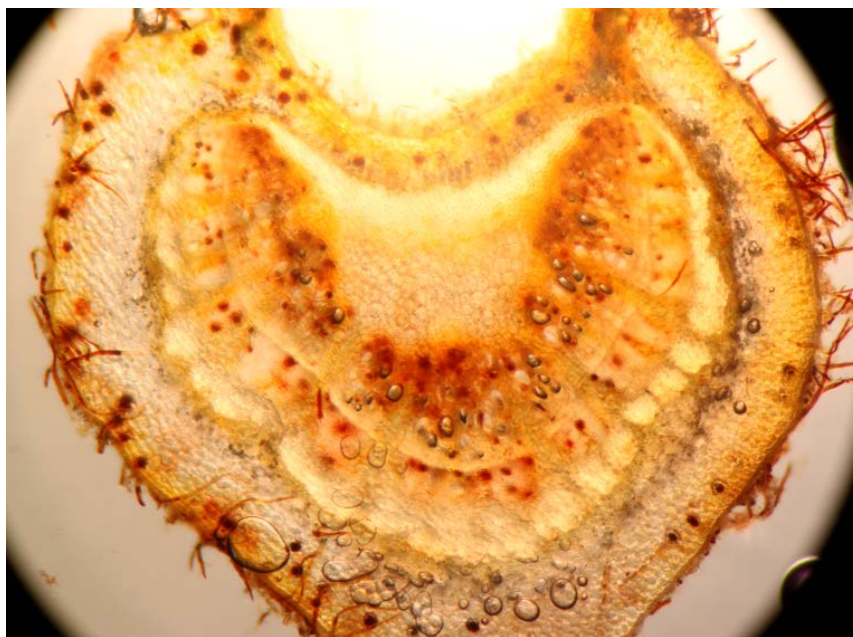


Рис.1. Результати мікрохімічної реакції на ГКК на поперечному перерізі черешка азиміни (зб.40).

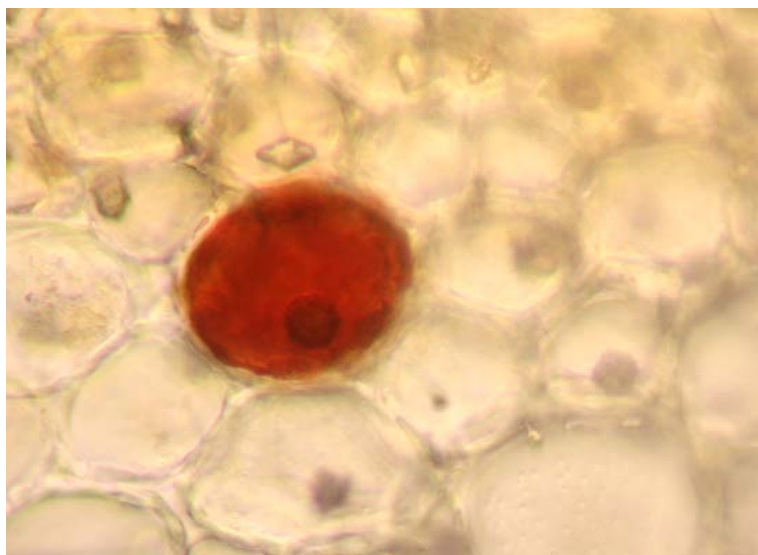


Рис. 2. Клітина-ідіобласт з ГКК після проведеної мікрохімічної реакції (зб.400).

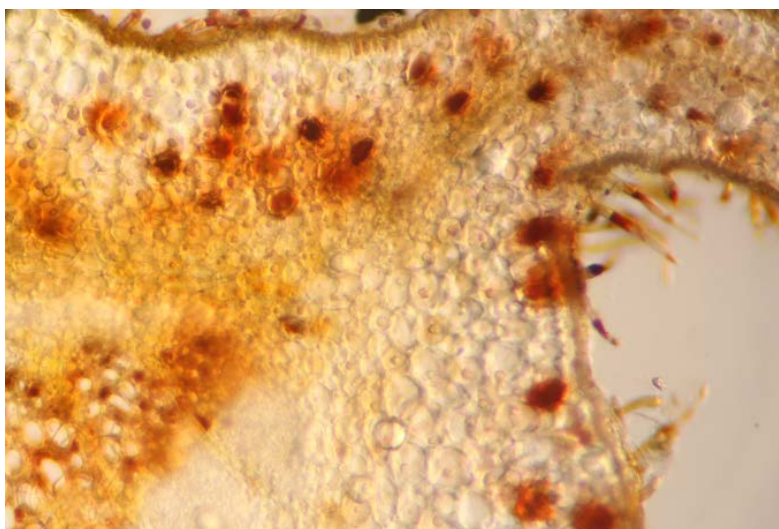


Рис. 3. Результати мікрохімічної реакції на ГКК на поперечному перерізі листка азиміни в зоні центральної жилки (зб. 100).

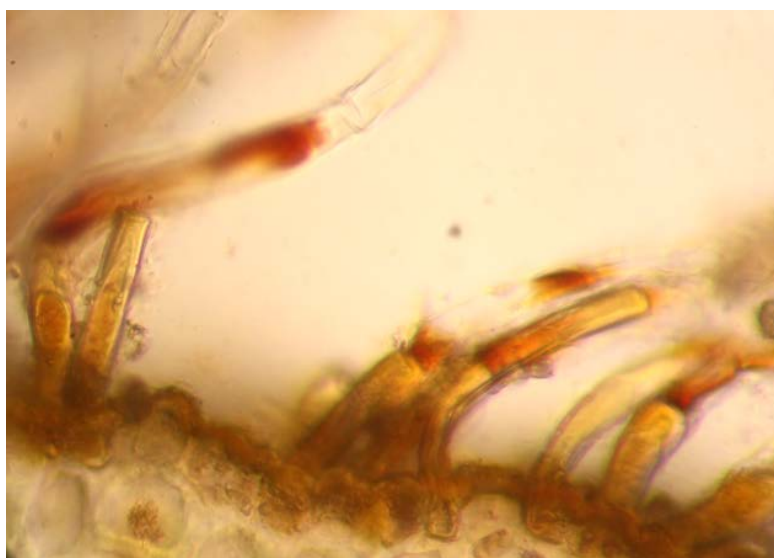


Рис.4. Прості трихоми після проведеної мікрохімічної реакції на ГКК (зб. 400)



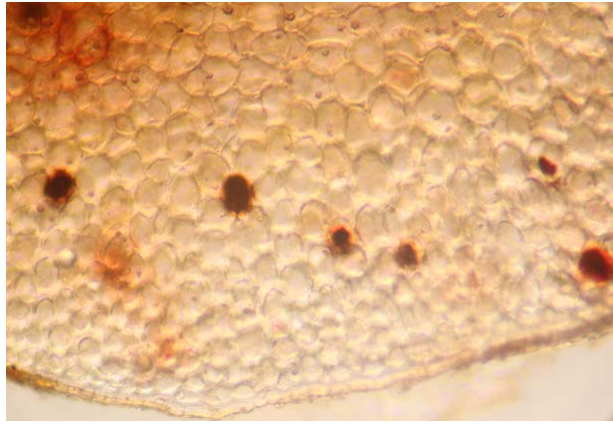


Рис. 5. Клітини-ідіобласти з ГКК після проведеної мікрохімічної реакції (зб. 100)

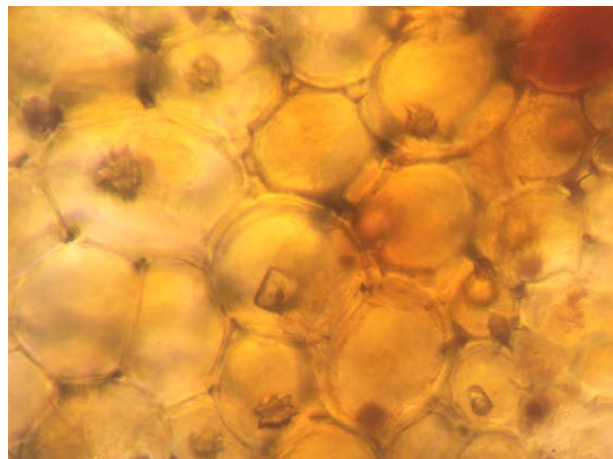


Рис. 6. Друзи і призматичні кристали в листках азиміни (зб. 400)

Таким чином, гідроксикоричні кислоти містяться у клітинах-ідіобластах у зоні ксилеми, флоєми, в паренхімі під покривною тканиною, в клітинах простих трихом листя азиміни. Визначені особливості локалізації гідроксикоричних кислот можуть бути використані для ідентифікації рослинної сировини.

#### **Бібліографія.**

1. Атлас по анатомии растений (растительная клетка, ткани, органы) / А.Г. Сербин, Л.С. Картмазова, В.П. Руденко, Т.Н. Гонтова // Учебн. пособие для студентов вузов. – Х.: Колорит, 2006. – 86 с.
2. Джан Т.В. Интродукция азимины трехлопастной в Украине и перспективы ее использования как лекарственного растительного сырья / Т.В. Джан, С.В. Клименко, О.В. Григорьева // Лекарственные растения: фундаментальные и прикладные проблемы: мат. I Междунар. науч. конф. (21—22 мая 2013 г., г. Новосибирск) — Новосибирск, 2013. – С. 279-282.
3. Клименко С.В. Интродукция и селекция нетрадиционных плодовых растений в Украине / С.В. Клименко // Труды Никитского ботанического сада. 2008. Т. 130. С. 83-95.
4. Справочник по ботанической микротехнике. Основы и методы / Барыкина Р.П., Веселова Т.Д., Девятов А.Г. [и др.]. – М.: Изд-во МГУ, 2004. – 312 с.
5. Clifford M.N. Chlorogenic acids and other cinnamates – nature, occurrence and dietary burden / M.N. Clifford // J. Sci. Food Agric. 1999. Vol. 79. P. 362-372.
6. González-Truján M.E. Anticonvulsant properties and bio-guided isolation of palmitone from leaves of *Annona diversifolia* / M.E. González-Trujano, A. Navarrete, B. Reyes et al. // Planta Med. 2001. Vol. 67, N2. P. 136-141.
7. The alternative medicine pawpaw and its acetogenin constituents suppress tumor angiogenesis via the HIF-1/VEGF pathway / V. Coothankandaswamy, Y. Liu, S.C. Mao // J. Nat. Prod. – 2010. – Vol. 73, N5. – P. 956-961.