

Н. Є. Стадницька, І. В. Павлюк, І. І. Думич, О. В. Блонський*
Національний університет "Львівська політехніка",
кафедра технології біологічно активних сполук, фармації та біотехнології
*ПАТ "Галичфарм"

ДОСЛІДЖЕННЯ ПЕРСПЕКТИВНОСТІ ВИКОРИСТАННЯ ПЛОДІВ МОРКВИ ДИКОЇ ЯК ДЖЕРЕЛА НОВИХ КОМПЛЕКСІВ БІОЛОГІЧНО АКТИВНИХ РЕЧОВИН

© Стадницька Н. Є., Павлюк І. В., Думич І. І., Блонський О. В., 2014

З метою вивчення можливості розширення спектра використання комплексів біологічно активних речовин моркви дикої проведено початковий скринінг фітохімічного складу і антимікробної активності водно-спиртової витяжки з насіння моркви дикої та проведено комп'ютерний скринінг біологічної активності діючих речовин за програмою PASS. У досліджуваному екстракті ідентифіковано хлорогенову, кавову, розмаринову кислоти, рутин, апігенін, лутеолін, гіперозид. Виявлено антимікробну активність досліджуваної витяжки до різних штамів *Staphylococcus aureus*. Одержані результати свідчать про доцільність подальшого дослідження моркви дикої як сировини для одержання фітопрепаратів з антиоксидантною та антимікробною дією.

Ключові слова: плоди моркви дикої, метод ВЕРХ, антибактеріальна активність, комп'ютерний скринінг.

In order to explore the possibility of expanding the range of use of complex biologically active compounds of wild carrot an initial screening of phytochemical composition and antimicrobial activity of water and ethanol extract from seeds of wild carrot was conducted and computer screening of biological activity of active substances by program PASS was carried out. In the investigated extract chlorogenic, caffeic, rosemary acids, rutin, apigenin, luteolin, hyperoside were identified. Antimicrobial activity of the investigated tinctures to different strains of *Staphylococcus aureus* was revealed. The obtained results showed the feasibility of further research of wild carrot as raw material for herbal medicines with antioxidant and antimicrobial activity.

Key words: fruits of wild carrot, method HPLC, antibacterial activity, computer screening.

Постановка проблеми. Рослини були і є одним з головних джерел одержання лікарських препаратів, тому останніми роками збільшується необхідність в раціональному використанні сировинних ресурсів. Пошук вітчизняних перспективних рослинних джерел біологічно активних речовин (БАР) з достатньою сировинною базою, розробка та створення на їх основі лікарських засобів є першочерговим завданням сучасної фармацевтичної науки України. Підвищений попит на лікарські засоби природного походження веде до пошуку нових рослин із певним спектром фармакологічної дії, а також до оптимізації використання і до поглибленого вивчення сировини, що традиційно використовується в народній та офіційній медицині. Одним із шляхів вирішення цієї багатогранної проблеми є системне використання рослинної сировини. Окрім того, не менш важливим є пошук нових напрямів використання сировини з метою розширення сфер її застосування. Враховуючи це, цілком заслужено ретельніше розглянути можливі напрями

використання плодів моркви дикої, яка використовується у народній та офіційній медицині, як сечогінний, холеретичний, спазмолітичний, антимікробний, вітрогінний, глистогінний і проносний засіб.

Аналіз останніх досягнень та публікацій. Морква дика (*Daucus carota*) представниця родини Селерові (*Ariaceae*), росте як бур'ян на полях і відкритих місцях по всій території України. Для медичних потреб використовують плоди рослини (*Fructus Dauci carotae*). У насінні моркви дикої є ефірна олія, алкалоїди, хромони, флавоноїди, кумарини, антоціани, дубильні речовини, органічні кислоти, цукри, мікроелементи [1,2].

О. Ю. Ткачук із співавторами провів дослідження електронних і паперових джерел інформації стосовно зареєстрованих в Україні та інших країнах лікарських засобів на основі насіння моркви дикої. Вони виявили, що в Україні виготовляють два препарати в різних лікарських формах – “Уролесан” (виробники: ПАТ “Київмедпрепарат”, м. Київ та ПАТ “Галичфарм”, м. Львів) і “Урохолум” (виробник ТОВ “ДКП “Фармацевтична фабрика”, м. Житомир). “Уролесан” призначають для лікування нефролітіазу, жовчно-кам'яної хвороби, гострого та хронічного калькульозного холециститу, пієлонефриту, ниркових і печінкових колік та сольових діатезів. Препарат “Урохолум” застосовують у лікуванні гострих та хронічних захворювань сечового міхура і нирок, сечокам'яної, нирковокам'яної та жовчнокам'яної хвороб, гострих і підгострих калькульозних пієлонефритів і холециститів, дискінезії жовчовивідних шляхів [3].

На фармацевтичному ринку Росії зареєстровано один комплексний препарат, до складу якого входить насіння моркви дикої – “Урохолесан” (виробник – ЗАТ “Віфітех”, Росія), який призначається для лікування захворювань нирок та жовчовивідних шляхів, а також моркви дикої плодів рідкий екстракт, який використовується як жовчогінний засіб.

Згідно з даними довідника “Martindale”: TheCompleteDrugReference 36 видання у світі зареєстровано 9 комплексних препаратів, до складу яких входить насіння моркви дикої: Aromadetoх (Omega Pharma, Франція), Evamilk (Laboratori GambarS.r.l., Італія), Hepatalgina (Altana Pharma SA, Аргентина), Metiogen (Química MedicalArg. S.A.C.I., Аргентина), Natursel-C, Natur-Zin (Laboratorio Ximena Polanco, Чилі), Palatrobil (Monserat y Eclair S. A., Аргентина), Sciargo та Watershed (Potter's (HerbalSupplies) Ltd, Велика Британія). Випускають їх у формі мікстур, оральних крапель, таблеток і капсул; призначають як біологічно активні добавки для детоксикації, посилення лактації, у разі розладів травлення, люмбаго, радикуліту, гепатобіліарних розладів та як антиоксиданти [3].

У фітохімічному напрямі найкраще вивчений якісний і кількісний склад ефірної олії плодів моркви дикої з метою використання як сировини для парфумерно-косметичної промисловості.

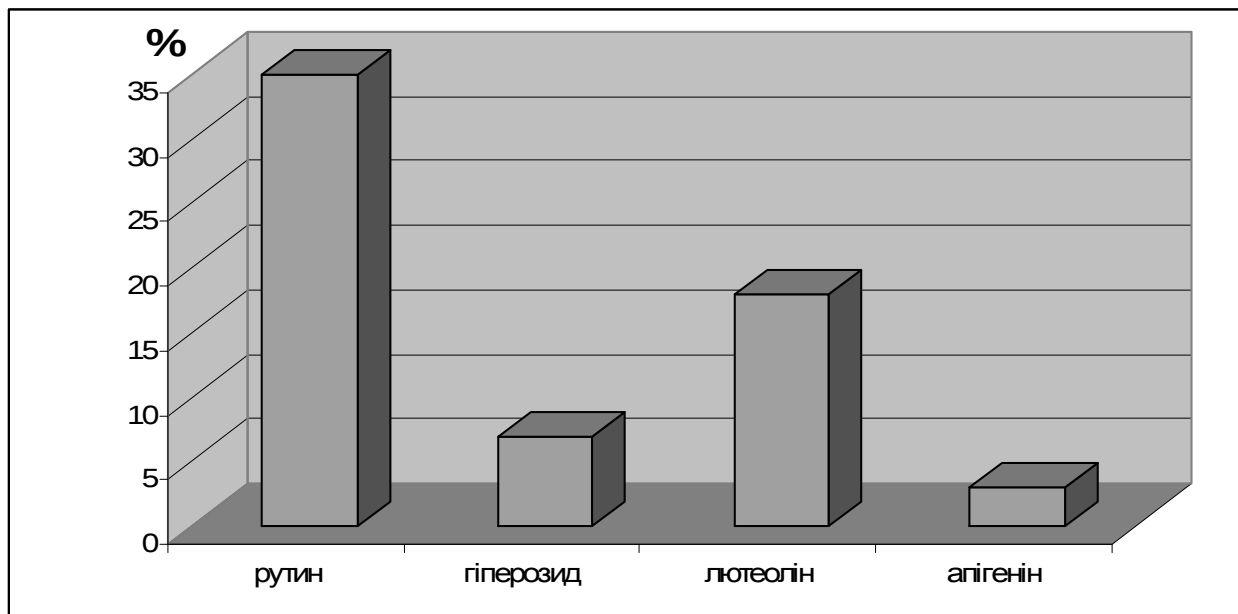
Мета роботи. Дослідження 70 %-ї водно-етанольної витяжки з плодів моркви дикої, одержаної в результаті повторного використання сировини.

Результати досліджень. Як свідчать оприлюднені дані, основним екстрагентом, який використовують фармацевтичні виробники, є спирт етиловий 96 %-й, який забезпечує максимальне вилучення ефірних олій з нативної сировини. Відомим є факт, що 70 %-й розчин спирту етилового є чудовим екстрагентом комплексу поліфенольних сполук, зокрема флавоноїдів. Тому з метою одержання комплексів БАР іншого якісного та кількісного складу проведено повторну екстракцію сировини моркви дикої з використанням 70 %-ї водно-етанольної суміші.

Склад одержаної 70 %-ї витяжки ідентифікували методом вискоєфективної рідинної хроматографії на приладі Agilent 1200 з діодно-матричним детектором. Хроматографування проводили на колонці, заповненій октадецилсилільним сорбентом C_{18} з розміром частинок 5 мкм [4]. Рухома фаза: ацетонітрил – буфер фосфатно кислий рН 2,8 із градієнтом ацетонітрилу від 10 % до 50 % об.

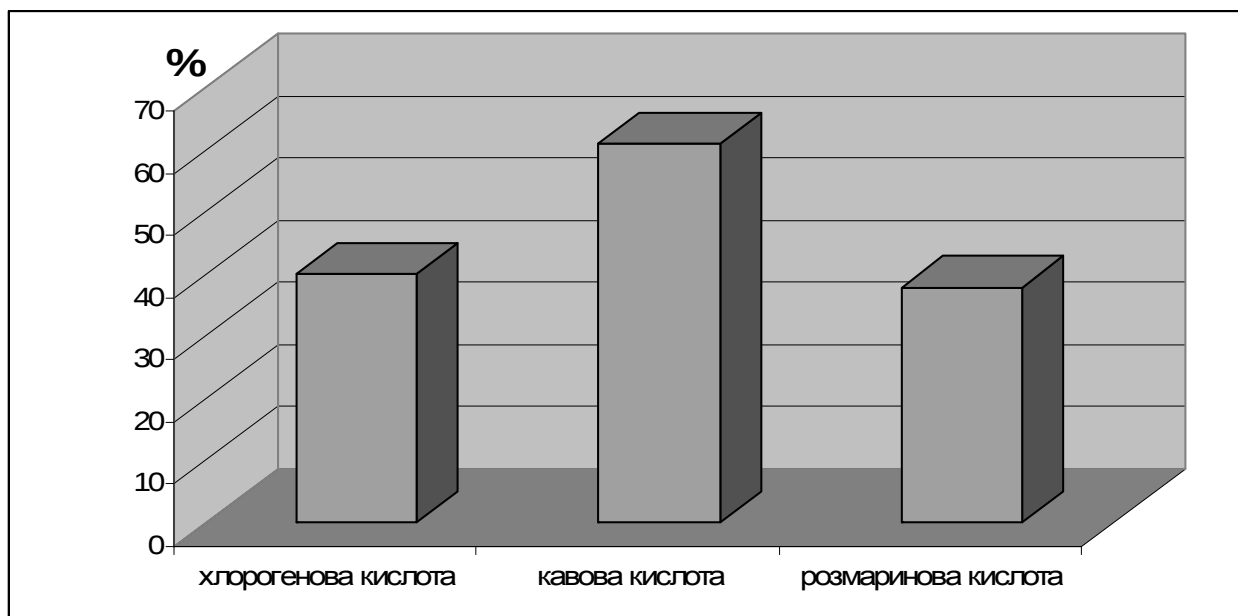
У витяжці виявлено БАР, серед яких ідентифіковано хлорогенову, кавову, розмаринову кислоти, лютеолін, апігенін, рутин, гіперозид. Для їх ідентифікації використовували розчини стандартних зразків.

Серед флавоноїдів виявлено найбільший вміст рутину, лютеоліну і гіперозиду (діаграма 1), які мають високий антиоксидантний потенціал.



Діаграма 1. Вміст флавоноїдів у 70 % водно-етанольній витяжці з плодів моркви дикої

Серед органічних кислот найбільшу кількість у витяжці становлять розмаринова, хлорогенова, кавова кислоти. Хлорогенова кислота є важливою біологічно активною речовиною з антимікробною, протівірусною дією та високою антиоксидантною активністю (діаграма 2).



Діаграма 2. Вміст органічних кислот у 70 % водно-етанольній витяжці з плодів моркви дикої

Для дослідження антимікробної активності витяжки з плодів моркви дикої використовували тест культури таких мікроорганізмів: *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538-*P*, *Staphylococcus hyicus* виділений з навколишнього середовища, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027, *Candida albicans* ATCC 10231. Дослідження проводили методом дифузії в агар відповідно до вимог ДФУ 1.4 пункт 2.7. (табл. 1) [4]. у лунку вносили 0,1 мл зразка, інкубували протягом 24 год при 35 °С для бактерій та протягом 48 год при 25 °С. Найчутливішими стосовно досліджуваної витяжки виявилися штами *S. aureus* (діаметри зон затримки росту 17–18 мм), та *B. subtilis* (діаметр зони затримки росту 16 мм). Також чутливими виявились культури *P. Aeruginosa*, *C. albicans* (діаметр зони затримки росту 11 мм).

Таблиця 1

Результати дослідження антимікробної дії 70-ї водно-етанольної витяжки методом дифузії в агар

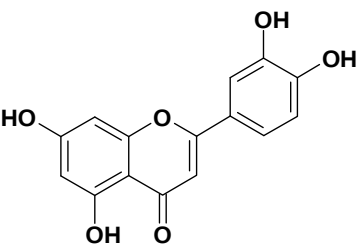
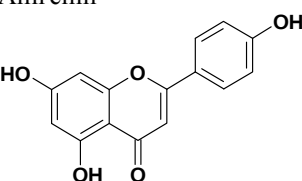
№	Тест-мікроорганізм	Діаметр зони затримки росту тест-мікроорганізмів, мм	
		Водно-етанольна 70 %-на витяжка з плодів моркви дикої	Водно-етанольний 70 %-й розчин
1	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538	17,5	-
2	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538- <i>P</i>	17	-
3	<i>Staphylococcus hyicus</i> виділений з навколишнього середовища	14,5	-
4	<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633	16,5	-
5	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 9027	11	-
6	<i>Candida albicans</i> ATCC 10231	11	-

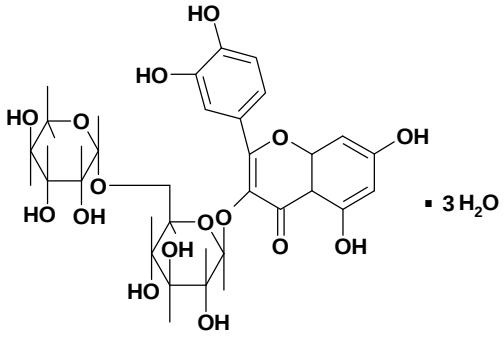
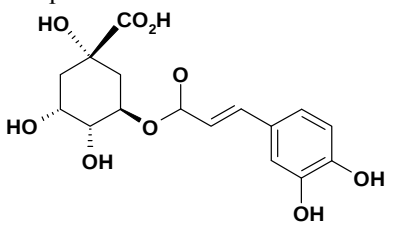
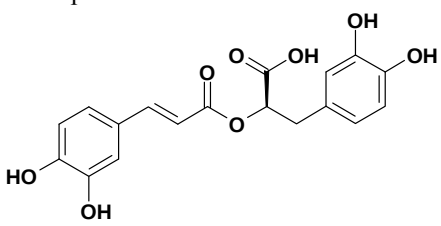
– Зона затримки росту відсутня

Для встановлення повного спектра біологічної активності виявлених флавоноїдів та органічних кислот використано комп'ютерний скринінг біологічної активності за програмою PASS (Prediction of Activity Spectra for Substances) [5–7]. Для оцінки відібрано активності, актуальні у разі зовнішнього застосування з показником P_a більше ніж 0,3 (табл. 2).

Таблиця 2

Результати прогнозу величини активності досліджуваних сполук *Daucus carota*

№	Досліджувана сполука	P_a	Активність
1	2	3	4
1	Лютеолін 	0,704	Антисептична
		0,666	Протизапальна
		0,580	Лікування проліферативних хвороб
		0,519	Протигрибкова
		0,472	Противірусна (Герпес)
		0,459	Протитуберкульозна
		0,458	Противірусна (Грип)
		0,423	Лікування судинних хвороб
		0,413	Протиалергічна
		0,402	Антипротозойна
		0,385	Антибактеріальна
		0,378	Протипухлинна (рак язика)
		0,345	Імуностимулююча
3	Апігенін 	0,730	Антиоксидантна
		0,697	Антисептична

1	2	3	4
		0,555	Лікування проліферативних захворювань
		0,522	Протигрибкова
		0,508	Антимікобактеріальна
		0,472	Проти <i>Helicobacter pilori</i>
		0,470	Противірусна (Герпес)
		0,459	Протитуберкульозна
		0,454	Противірусна (Грип)
		0,403	Протипухлинна (рак дрібних клітин язика)
		0,414	Протиалергічна
		0,386	Антибактеріальна
		0,340	Антипротозойна
6	Рутин 	0,674	Інгібітор пероксидаз
		0,655	Протипухлинна
		0,591	Протигрибкова
		0,562	Антиоксидантна
		0,560	Антикарценогенна
		0,504	Лікування проліферативних захворювань
		0,442	Противірусна (Герпес)
		0,380	Антибактеріальна
		0,350	Антипротозойна
		0,375	Противірусна (Риновірус)
2	Хлорогенова кислота 	0,576	Анестезуюча
		0,564	Антипротозойна
		0,414	Противірусна (Герпес)
		0,403	Противірусна (Грип)
		0,392	Протитуберкульозна
		0,357	Протизапальна
		0,351	Антисептична
		0,359	Протигрибкова
		0,345	Імуностимулююча
5	Розмаринова кислота 	0,406	Противірусна (Грип)
		0,300	Антисептична

Одержані дані хімічних досліджень та аналіз ідентифікованих речовин за допомогою системи прогнозування біологічної активності PASS свідчить про доцільність подальшого вивчення комплексів біологічно активних сполук плодів моркви дикої та створення на їх основі нових лікарських та косметичних засобів.

Висновки. 1. Методом ВЕРХ вивчено якісний склад 70 % водно-спиртової витяжки з плодів моркви дикої. Ідентифіковано розмаринову, хлорогенову, кавову кислоти, рутин, апігенін, лютеолін, гіперозид. З огляду на високу антимікробну активність щодо різних штамів *Staphylococcus aureus* та результати комп'ютерного скринінгу біологічної активності хімічних

речовин за програмою PASS, доцільно розглянути можливість введення досліджуваної витяжки до складу засобу для зовнішнього застосування.

2. Проведений пошук та дослідження свідчать про доцільність поглибленого фітохімічного та мікробіологічного вивчення плодів моркви дикої та можливих напрямів використання.

1. Hong-Wei Fu, Lin Zhang, Tao Yi and Jing-Kui Tian. A new sesquiterpene from the fruits of *Daucus carota* L. // *Molecules* 2009, 14, 2862-2867 2. Лікарські рослини: Енциклопедичний довідник / Відп. ред. А. М. Гродзінський. – К.: Вид-во “Українська Енциклопедія” ім. М. П. Бажана, Український виробничо-комерційний центр “Олімп”, 1992. – 544 с. 3. Ткачук О. Ю., Вишневська Л. І., Марків В. І. Аналіз фармацевтичного ринку лікарських засобів на основі насіння моркви дикої // *Клінічна фармація*. – 2013. – т. 17, № 2. – с. 18–22. 4. Державна фармакопея України 1.4. “Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів” на підставі Європейської фармакопеї. – Харків, 2011. 5. PASS-assisted exploration of new therapeutic potential of natural products Rajesh Kumar Goel, Damanpreet Singh, Alexey Lagunin, Vladimir Poroikov Received: 15 March 2010 / Accepted: 22 July 2010_ Springer Science+Business Media, LLC 2010. 6. Rollinger JM, Stuppner H, Langer T (2008) Virtual screening for the discovery of bioactive natural products. *Prog Drug Res* 65:211–249. 6. М. С. Вишневська, Н. М. Косяченко, Л. І. Вишневська Прогноз спектра біологічної активності сполук як основа для пошуку нових ліків. Національний фармацевтичний університет, м. Харків. Запорозький медичний журнал 2011, том 13, № 2. 7. N 167, 05.04.2007, Наказ, Вказівки, Міністерство охорони здоров'я України Про затвердження методичних вказівок “Визначення чутливості мікроорганізмів до антибактеріальних препаратів”.