УДК: 582.711.714:581.47:615.37:547.458.88

ДОСЛІДЖЕННЯ ПЕКТИНУ ПЛОДІВ *CRATAEGUS SUBMOLLIS SARG*

[1] Н. В. Сидора, к. фарм. н., доц. каф. фармакогн.
[1] А. М. Ковальова, д. фарм. н., проф. каф. фармакогн.
[1] І. А. Данилова, к. фарм. н., ас. каф. фармац. хім.
[2] Н. В. Кашпур, к. біол. н., ст. наук. співр. лаб. імунореабіл.

[1] Національний фармацевтичний університет, м. Харків
[2] ДУ «Інститут мікробіології та імунології ім. І. І. Мечникова НАМН України»

Під дією різноманітних ендогенних та екзогенних факторів спостерігається зниження імунологічної реактивності населення. Порушення функцій імунної системи призводить до підвищення чутливості до запальних захворювань, загострення хронічних захворювань та зниження працездатності [8]. При терапії інфекційних захворювань слід пам'ятати, що антибактеріальні препарати сприяють пригніченню розвитку збудника, а за його елімінацію відповідають фактори імунітету, що свідчить про необхідність відновлення або стимулювання функціональної активності імунної системи [8, 9]. Останнім часом спостерігається зростання інтересу до імуномодулюючих препаратів.

Відомо, що імуномодулятори рослинного походження підвищують активність фагоцитів, які відповідають за імунітет, мають м'яку комплексну дію та є незамінними при комплексній терапії різноманітних захворювань [10].

Оскільки асортимент імуномодулюючих засобів рослинного походження на фармацевтичному ринку України досить обмежений, актуальним для медицини та фармації є пошук нових рослинних джерел для одержання біологічно активних субстанцій імуномодулюючої дії.

Пектини – це природні полісахариди, які мають ряд фармакологічних ефектів, зокрема детоксикаційні та імуномодулюючі властивості.

Нами був розроблений спосіб одержання пектину плодів глоду [2]. З наукової точки зору цікавим було визначити основні числові показники одержаного пектину та дослідити його імуномодулюючу активність.

Метою роботи було визначення числових показників та дослідження імуномодулюючої активності пектину, одержаного з плодів глоду.

Матеріали та методи дослідження

Об'єктом дослідження був пектин, одержаний з плодів глоду м'якуватого C. *submollis Sarg.*

Для оцінки *якості пектину* нами були визначені такі показники: кількісний вміст функціональних груп; ступінь етерифікації; колір, запах, смак; вміст вологи; відсоток волокнистої фракції.

Визначення якості одержаного пектину проводили у відповідності з нормативною документацією, що регламентує якість промислового пектину [1].

Визначення ***вільних карбоксильних груп (Кв)***. 1,0 г пектину вміщували у конічну колбу на 300 мл, змочували спиртом етиловим Р 96 %, додавали 100 мл води очищеної Р, перемішували та залишали на 6 годин для повного розчинення пектинів. Одержану суміш титрували розчином 0,1 моль/л натрію гідроксиду Р до появи стійкого протягом 1 хвилини червоного забарвлення при додаванні 6 крапель індикатора Хінтона (0,4 % водні розчини індикаторів бромтимолового синього, крезолового червоного та фенолового червоного у співвідношенні 1:1:3) [5]. Кількісний вміст *Кв* визначали за формулою:

$$Кв = \frac{V_{NaOH} \cdot 0{,}0045 \cdot 100}{m_н}, \text{ де}$$

V_{NaOH} – об'єм розчину гідроксиду натрію, який пішов на титрування, мл;

0,0045 – маса карбоксильних груп, яка відповідає 1 мл 0,1 н розчину NaOH;

$m_н$ – маса наважки пектину, г.

Визначення ***метоксильованих карбоксильних груп (Км)***. До проби після визначення вмісту *Кв* додавали 10 мл розчину натрію гідроксиду Р, закривали колбу та залишали на 2 години при кімнатній температурі для омилення метоксильованих карбоксильних груп. Потім до колби приливали 10 мл хлористоводневої кислоти (0,5 моль/л) і надлишок кислоти відтитровували розчином натрію гідроксиду (0,1 моль/л). Після розраховували вміст вільних карбоксильних (*Кв%*) та метоксильованих карбоксильних груп (*Км%*) [5].

Загальний вміст карбоксильних груп (Кз) дорівнює сумі вільних та метоксильованих карбоксильних груп.

Ступінь етерифікації пектинів визначали з урахуванням об'ємів гідроксиду натрію, який пішов на титрування при визначенні вільних карбоксильних груп та метоксильованих груп [1].

Ступінь етерифікації Е (%) визначали за формулою:

$$E = \frac{V_2}{V_1 - V_2} \cdot 100, \text{ де}$$

V_1 – об'єм розчину гідроксиду натрію, який пішов на перше титрування, мл;

© Н. В. Сидора, А. М. Ковальова, І. А. Данилова, Н. В. Кашпур

V_2 – об'єм розчину гідроксиду натрію, який пішов на друге титрування, мл.

Визначення проводили у двох повтореннях, за результат вважали середнє арифметичне двох визначень, значення не повинні були відрізнятись більш ніж на 1 %.

Органолептичні показники пектину визначали таким чином: наважку наносили на білий папір та відмічали форму часток, колір, запах, смак [1].

Встановлення вмісту вологи пектину: 3,000 г пектину зважували у бюксі з закритою кришкою, відкриту бюксу з наважкою поміщували у сушильну шафу та сушили 1,5 год. при температурі 103°С. Після висушування бюкс закривали, вміщували в ексикатор на 30 хв. для охолодження та зважували [1].

Масову долю вологи пектину (%) розраховували за формулою:

$$W = \frac{m - m_1}{m - m_2} \cdot 100, \text{ де}$$

m – маса бюкси з наважкою до висушування, г;

m_1 – маса бюкси с наважкою після висушування, г;

m_2 – маса пустої бюкси, г.

Для визначення волокнистої фракції пектину наважку (5 г) поміщали на сито, закривали кришкою та струшували 5 хв. Залишок на ситі зважували та розраховували вміст (%) волокнистої фракції [1].

Дослідження імуномодулюючої активності пектину

Імуномодулюючу дію пектину вивчали *in vitro* в реакції макрофагальної трансформації мононуклеарів периферичної крові [3].

Первинні культури імунокомпетентних клітин одержували з гепаринізованої крові донорів шляхом відстоювання при температурі 4-8 °С. Мононуклеарні клітини крові культивували в середовищі 199 з 10 % фетальної сироватки. До живильного середовища додавали по 100 ОД/см натрієвої солі бензилпеніциліну та стрептоміцину, а також амфотеріцин В. Субстанцію вносили до первинних культур імунокомпетентних клітин у кількості 5 мкг/мл, 50 мкг/мл і 100 мкг/мл та інкубували при 37 °С протягом 23 годин. З метою оцінки фагоцитарної активності макрофагів і їх попередників через 23 години культивування в культуру вносили референтний штам *Staphylococcus aureus* – 209Р, інактивований прогріванням.

Імуномодулюючу дію пектину на імунокомпетентні клітини визначали за такими показниками: показник макрофагальної трансформації мононуклеарів (ПМТМ); фагоцитарний індекс (ФІ); фагоцитарне число [7].

Контроль включав постановку реакції макрофагальної трансформації мононуклеарів периферичної крові без додавання досліджуваної субстанції. Випробування проводили п'ятикратно. Одержані показники статистично обробляли за допомогою програми «Microsoft Excel» [4].

Результати дослідження та їх обговорення

Досліджуваний пектин – кремово-сірий порошок без сторонніх домішок; з кислуватим смаком.

Масова доля вологи пектину становить 7,14 %; ступінь етерифікації дорівнює 37 %; масова доля часток волокнистої фракції – 11 %.

Результати кількісного визначення вмісту функціональних груп пектину плодів С. *submollis* Sarg. наведені у табл. 1.

Таблиця 1

Вміст функціональних груп пектину плодів глоду м'якуватого

Показник	Умовна позначка	Вміст, %
Вільні карбоксильні групи	Кв	10,25
Метоксильовані групи	Км	5,68
Загальна кількість карбоксильних груп	Кз	15,93
Метоксильні групи	$-OCH_3$	6,25

Як видно з даних, наведених у табл. 1, ступінь етерифікації пектину дорівнює 37 %, що дозволяє віднести його до середньоетерифікованих пектинів. Кількість метоксильних груп дорівнює 6,25 %, що вказує на низькі драглеутворювальні властивості отриманого пектину [6]. Високий вміст вільних карбоксильних груп дозволяє спрогнозувати детоксикуючі властивості субстанції внаслідок зв'язування важких металів.

Дослідження імуномодулюючої активності пектину плодів С. *submollis* Sarg.

У результаті проведеного дослідження встановлено, що пектин плодів С. *submollis* Sarg. стимулює трансформаційну та фагоцитарну активність мононуклеарних клітин периферичної крові в усіх досліджених концентраціях (табл. 2).

Таблиця 2

Вплив пектинових речовин плодів С. *submollis* Sarg. на показники макрофагальної трансформації та фагоцитарної активності гематогенних попередників макрофагів, n=5

Зразок	Концентрація, мкг/мл	ПМТМ, %	Фагоцитарний індекс, %	Фагоцитарне число
Пектин плодів *Crataegus submollis* Sarg.	5	34,2±4,1	54,3±2,3	9,3±0,5
	50	50,3±4,0	64,4±3,7	12,6±1,4*
	100	55,2±2,3*	68,3±2,2*	11,9±1,2*
Контроль	-	32,6±3,4	46,4±2,8	7,6±0,6

*Примітки: * – $P < 0,05$ у порівнянні до показника контролю*

Як видно з даних, наведених у табл. 2, в дозі 5 мкг/мл спостерігається збільшення ПМТМ на 4,9 %, фагоцитарного індексу на 17 %, фагоцитарного числа на 22 %.

У дозі 50 мкг/мл ПМТМ збільшилась на 54,2 %, фагоцитарний індекс – на 38 %, фагоцитарне число – на 65 %.

При використанні досліджуваної субстанції в дозі 100 мкг/мл відзначається максимальна стимуляція функціональної активності імунокомпетентних клітин. Так, пектин плодів *Crataegus submollis* Sarg. збільшив трансформаційну активність мононуклеарів на 69 %, фагоцитарний індекс – на 47 % і фагоцитарне число – на 56 % у порівнянні з інтактним контролем.

Висновки

Вперше визначено основні числові показники пектину плодів Crataegus submollis Sarg.: вміст вільних карбоксильних груп; метоксильовані групи; загальна кількість карбоксильних груп; метоксильні групи; вміст вологи. Встановлено, що пектин плодів *Crataegus submollis* Sarg. проявляє дозозалежну стимулюючу дію на трансформаційну та фагоцитарну активність макрофагів та їх мононуклеарних попередників. Максимальна імуномоделююча активність спостерігається у концентрації субстанції 100 мкг/мл.

Литература

1. ДСТУ 8069: 2015. Продукти переробки фруктів та овочів. Титриметричний метод визначення пектинових речовин. – К.: ДП «УкрНДНЦ», 2017. – 10 с.

2. Сидора Н.В. Патент № 117522 UA. МПК C08B 37/06 Спосіб одержання пектинів плодів глодів / Н.В. Сидора, А.М. Комісаренко, А.М. Ковальова, Л. І. Вишневська, Н.П. Половко // заявл. №и 2017 00989 від 03.02.2017; опубл. 26.06.17, бюл. №12.

3. Киселева Е. П. Использование микрометода для бласттрансформации лимфоцитов человека и животных / Е.П. Киселева, А.С. Цвейбах, Е. И. Гольдман, Н. В. Пигарева // Иммунол. – 1985. – № 1. – С. 76-78.

4. Лапач С.Н. Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием Excel / С.Н. Лапач, А.В. Чубенко, П.Н. Бабич // Киев: Морион. – 2000. – 320 с.

5. Позднякова Т.А., Бубенчиков Р.А. Количественное определение функциональных групп пектинових веществ травы герани сибирской (Geranium Sibiricum L.) // Фундамент. исслед. – 2014. – №. 11-1. – С. 110-113. (степень этерификации).

6. Тры А. В. Химическая характеристика пектина, выделенного из растительного сырья / А. В. Тры // Приволжс. науч. вестк. – 2015. – №2 (42). – С. 8-10.

7. Фролов В.М. Определение фагоцитарной активности моноцитов периферической крови у больных / В. М. Фролов, Н. А. Пересадин, И.Я. Пшеничный // Лабор. дело. – 1990. – № 9. – С. 27-29.

8. Alamgir M. Recent advances on the ethnomedicinal plants as immunomodulatory agents / M. Alamgir, S.J. Uddin // Ethnomed: A Source of Complement. Therap. – 2010. – № 4. – P. 227-244.

9. Patil V. V. Studies on immunomodulatory activity of Ficus carica / V.V. Patil, S.C. Bhangale // Internat. J. of Pharm. and Pharmaceut. Sci. – 2010. – № 2 (4). – P. 97-99.

10. Salem M. L. Immunomodulatory and therapeutic properties of the Nigella sativa L. seed /M. L. Salem // Internat. Immunopharmacol. – 2005. – №5. – P. 1749-1770.

Надійшла до редакції 06.11.2018

УДК: 582.711.714:581.47:615.37:547.458.88

Н. В. Сидора, А. М. Ковальова, І. А. Данилова, Н. В. Кашпур

ДОСЛІДЖЕННЯ ПЕКТИНУ ПЛОДІВ *CRATAEGUS SUBMOLLIS* SARG.

Ключові слова: глід, плоди, пектини, імуномуделююча активність.

Досліджено пектин плодів C. *submollis* Sarg. Титриметричним методом встановлений кількісний вміст функціональних груп пектину: вільні карбоксильні групи – 10,25 %; метоксильовані групи – 5,68 %; загальна кількість карбоксильних груп – 15,93 %; метоксильні групи – 6,25 %. Визначено ступінь етерифікації одержаного пектину, яка дорівнює 37 %. Встановлено, що пектин C. *submollis* Sarg. відноситься до середньоетерифікованих пектинів з високою детоксикаційною здатністю. При дослідженні імуномодулюючої активності встановлено, що субстанція у концентрації 5 мкг/мл, 50 мкг/мл та 100 мкг/мл стимулює трансформаційну та фагоцитарну активність мононуклеарних клітин периферичної крові. Найбільша активність спостерігається при концентрації 100 мкг/мл. У цій концентрації трансформаційна активність мононуклеарів збільшується на 69 %, фагоцитарний індекс – на 47 % і фагоцитарне число – на 56 % у порівнянні з контролем. Отримані дані вказують на перспективність використання пектину плодів C. *submollis* Sarg. як субстанції для подальшого створення препаратів імуномодулюючої дії.

Н.В. Сидора, А.М. Ковалева, И. А. Данилова, Н. В. Кашпур

ИССЛЕДОВАНИЕ ПЕКТИНА ПЛОДОВ *CRATAEGUS SUBMOLLIS* SARG.

Ключевые слова: боярышник, плоды, пектины, иммуномодулирующая активность.

Исследован пектин плодов C. *submollis* Sarg. Титриметрическим методом установлено количественное содержание функциональных групп пектина: свободные карбоксильные группы – 10,25 %; метоксилированные группы – 5,68 %; общее содержание карбоксильных групп – 15,93 %; метоксильные группы – 6,25 %. Определена степень етерификации полученного пектина, которая составила 37 %. Установлено, что пектин C. *submollis* Sarg. относится к среднеэтерифицированным пектинам с высокой детоксикационной способностью. В результате исследования иммуномодулирующей активности установлено, что субстанция в концентрации 5 мкг/мл, 50 мкг/мли 100 мкг/мл стимулирует трансформационную и фагоцитарную активность мононуклеарных клеток периферической крови. Более высокая активность наблюдалась при концентрации 100 мкг/мл. В этой концентрации трансформационная активность мононуклеаров увеличилась на 69 %, фагоцитарный индекс – на 47 % и фагоцитарное число – на 56 % по сравнению с контролем. Полученные результаты указывают на перспективность использования пектина плодов C. *submollis* Sarg. как субстанции для дальнейшего создания иммуномодулирующих препаратов.

N. V. Sydora, A. M. Kovaleva, I. A. Danylova, N. V. Kashpur

STUDY OFPECTIN FROMFRUITS OF *CRATAEGUS SUBMOLLIS* SARG.

Keywords: hawthorn, fruits, pectins, immunomodulating activity.

Pectin of fruits of C. *submollis* Sarg. is investigated. By use a titrimetric method established the quantitative content of pectin functional groups: free carboxyl groups – 10,25 %; methoxylated groups – 5,68 %; the total content of carboxyl groups is 15,93 %; methoxy groups – 6,25 %. The degree of esterification of obtained pectin was determined, which was 37 %. It is established that pectin of C. *submollis* Sarg. refers to medium esterified pectins with a high detoxification ability. As a result of the study of immunomodulating activity ehe substance at a concentration of 5 μg/ml, 50 μg/ml and 100 μg/ml stimulates the transformational and phagocytic activity of peripheral blood mononuclear cells. The higher activity was observed at concentration of 100 μg/ml. In this concentration, the transformational activity of mononuclear cells increased at 69 %, the phagocytic index – by 47 % and the phagocytic number – 56 % in compared with the control. The results are indicate the promise for using a pectin of C. *submollis* Sarg fruits like a substance for the further creation of immunomodulatory drugs.

УДК 615.322:582.975

ХРОМАТО-МАС-СПЕКТРОСКОПІЯ НАСТОЯНОК ВАЛЕРІАНИ

[1] Ю. І. Корнієвський, к. фарм. н., доц. каф. фармакогн., фармакол. та ботан.
[1] Зіузіу Фіда, студ. 5 курсу фармац. факульт.
[1] В. Г. Корнієвська, к. фарм. н, доц. каф. фармакогн., фармакол. та ботан.
[2] Н. Ю. Богуславська, к. мед. н., заступ. голов. лікаря з мед. частини
[1] С. В. Панченко, к. фарм. н., ас. каф. фармакогн., фармакол. та ботан.

[1] Запорізький державний медичний університет
[2] КЗ «Обласний перинатальний центр», м. Запоріжжя

Валеріана зростає по всій Земній кулі і нараховує 250 видів. В Україні розповсюджені 13 видів, які входять до збірного видового циклу ***Valeriana officinalis*** **L.** s. l. Із них на Закарпатті зустрічаються: **в. бузинолиста –** ***V. sambucifolia*** **Mikan., в. горбкова –** ***V. collina*** **Wallr., в. дводомна –** ***V. dioica*** **L., в. цілолиста –** ***V. simplicifolia*** **Kabath., в. трикрила –** ***V. Tripteris*** **L., в. трансільванська –** ***V. transsylvanica*** **Schur, в. висока –** ***V. exaltata*** **Mikan., в. блискуча –** ***V. nitida*** **Kr.**

До седативних препаратів відносяться речовини різної природи, насамперед препарати рослинного походження. Кращим рослинним фітотранквілізатором є валеріана. У XVIII столітті валеріана була включена в усі європейські фармакопеї. До особливостей валеріани та її препаратів відносяться переносимість та відсутність побічних ефектів, що дозволяє широко використовувати її в медичній практиці, особливо для лікування геріатричних хворих. Незважаючи на багаторічні дослідження біології росту та

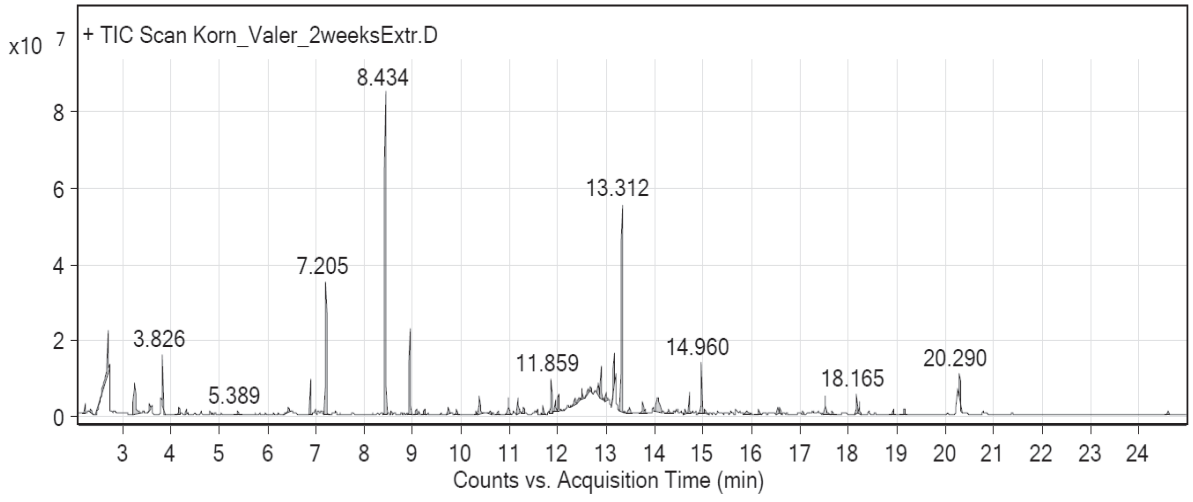

Рис. 1. Хроматограма настоянки Valeriana exaltata Mikan.

© Ю. І. Корнієвський, З. Фіда, В. Г. Корнієвська, Н. Ю. Богуславська, С. В. Панченко