

УДК 582.635.38

Казначєєва М.С.¹⁾, Аркушина Г.Ф.²⁾, Затуливітер О.І.³⁾

**ЯКІСНИЙ ТА КІЛЬКІСНИЙ АНАЛІЗ КОМПОНЕНТІВ
ЕНДОКАНАБІНОЇДНОЇ СИСТЕМИ CANNABIS SATIVA L.**

- ¹⁾ Центральноукраїнський державний педагогічний університет імені Володимира Винниченка, м. Кропивницький
e-mail: kazna4eeva@gmail.com
- ²⁾ Центральноукраїнський державний педагогічний університет імені Володимира Винниченка, м. Кропивницький
e-mail: chupa1996@ukr.net
- ³⁾ Кіровоградський науково-дослідний експертно-криміналістичний центр МВС України, м. Кропивницький
e-mail: vdmrvkirov@ukr.net

У статті розглянуті основні шляхи метаболізму канабіноїдів в організмі рослин; визначені фактори, що впливають на зміст канабіноїдів в тканинах рослин. Наведено результати практичного визначення кількісного вмісту тетрагідроканабінолу та його похідних в тканинах різних органів Cannabis sativa L. Виявлено причини взаємоперетворення фітоканабіноїдів, обґрунтовано їх значення в рослинному організмі.

Ключові слова: *ендоканабіноїдна система, канабінол, тетрагідроканабінол, канабідіол.*

В останні роки в зв'язку з відкриттям ендоканабіноїдної системи значно зріс інтерес до вивчення хімічного складу конопель і механізмів впливу на організм. Рослина коноплі містить понад 421 хімічних речовин, з яких 61 є канабіноїдами [1, 2]. Особливий інтерес становить значення ендоканабіноїдної системи саме для рослинного організму, оскільки в літературі наявні лише поодинокі припущення щодо участі канабіатів у процесах адаптації рослинного організму до змінних умов середовища [3, 4, 5]. Однак однозначне уявлення про ці процеси та системне біохімічне та фізіологічне обґрунтування відсутні. Зважаючи на це тема дослідження є актуальною та практично значимою.

Мета роботи: визначення ролі фітоканабіноїдів у функціонуванні рослинного організму та факторів, що впливають на їх кількісний та якісний розподіл.

Реалізація мети дослідження передбачала необхідність виконання таких завдань:

- 1) на основі аналізу літературних джерел виділити основні шляхи метаболізму канабіноїдів в організмі рослин;
- 2) визначити фактори, що впливають на вміст канабіноїдів в тканинах рослин;

3) дослідити вміст тетрагідроканабінолу та його похідних в тканинах різних органів *Cannabis sativa* L.

4) з'ясувати роль канабіноїдів в життєдіяльності рослин.

Об'єкт дослідження: фітоканабіноїди (КБ – канабінол, ТГК – тетрагідроканабінол, КБД – канабідіол).

Предмет дослідження: розподіл канабіноїдів залежно від локалізації та функціонального призначення тканин *Cannabis sativa* L.

Матеріали та методи дослідження. Для дослідження використовувала зразки *Cannabis sativa* L., які надійшли до лабораторії науково-дослідного експертно-криміналістичного центру для аналізу. Для проведення біохімічного аналізу були відібрані різні частини рослин, а саме: верхівка стебла, середина стебла, листки, суцвіття та корені. Для виявлення канабіноїдів у дослідних об'єктах було використано метод тонкошарової хроматографії та метод газорідинної хроматографії [6]. Для розділення канабіноїдів методом тонкошарової висхідної хроматографії як адсорбент використовували силікагель КСК, активований при 105°C протягом 30 хв. Як рухливу фазу використовувати бензол – гексан – діетиламін (25:10:1). Після хроматографічного розділення пластинки висушували на повітрі і проявляли 0,05 %-им розчином тривкого синього Б в 1 %-му розчині гідроксиду натрію. При цьому хроматографічні зони канабінолу забарвлюється в рожевий колір, тетрагідроканабінолу – у фіолетовий колір, канабідіолу – в оранжевий (жовтий) колір [7].

Для кількісного аналізу методом газорідинної хроматографії 0,5 г рослинної сировини (канабісу) екстрагували 5 мл ацетону, який містив 0,5 мг/мл п-докозану, при кімнатній температурі протягом 30 хв. (струшуючи колбу). В інжектор вводили 1 мкл чистого екстракту.

Хроматографування проводили за наступних умов:

1. Детектор – полум'яно-іонізаційний (FID), температура – 290°C;
2. Колонка – капілярна неполярна (довжина – 30 м, внутрішній діаметр – 0,32 мм, товщина фази – 0,25 мкм); газ-носій – гелій 2 мл/хв.;
3. Термостат, програмований або ізотерма в межах 240-260°C;
4. Інжектор (спліт/сплітлес), температура – 290°C;
5. Внутрішній стандарт – N-тетрадекан [8].

Результати дослідження та їх обговорення. Результати тонкошарової хроматографії підтверджують, що основними канабіноїдами, виявленими в тканинах *Cannabis sativa* L. є канабінол, канабідіол та тетрагідроканабінол.

В результаті дослідження канабіноїдів методом газорідинної хроматографії нами були отримані хроматограми. На рис.1 наведено приклад хроматограми, отриманої для зразку, відібраного з листків *Cannabis sativa* L.

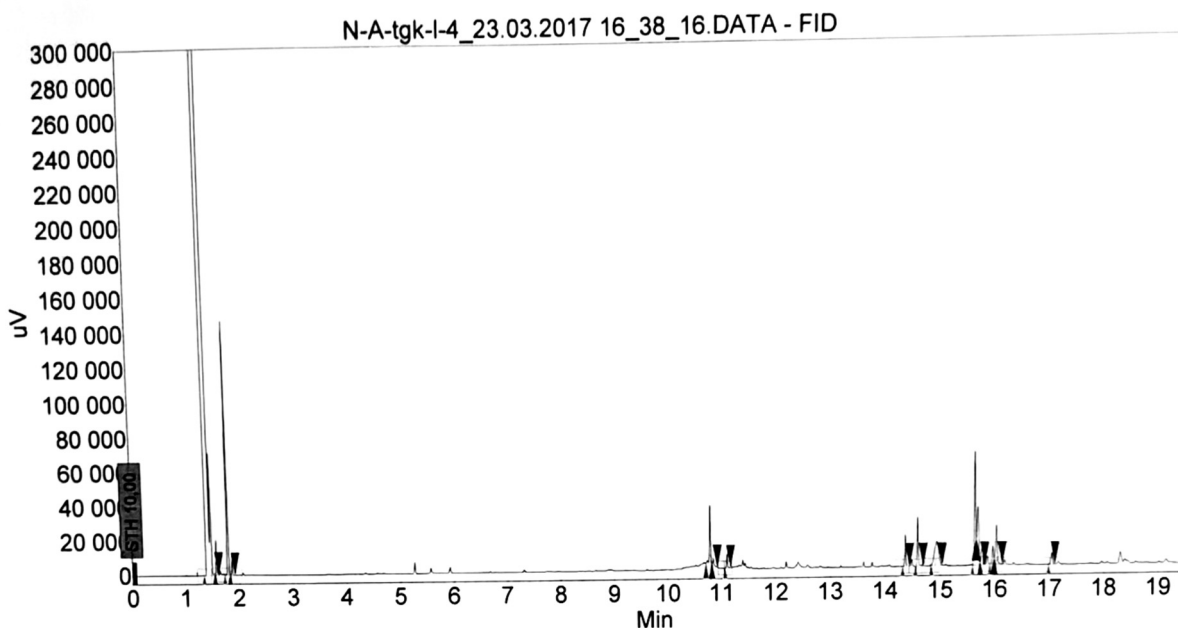
Як видно з рис.1, кожна хроматограма містить графік, який відображає залежність появи піків досліджуваних речовин від часу хроматографування.

Висота та площа піків є кількісною характеристикою процентного вмісту канабіноїдів у досліджуваному зразку, який відображено у формі таблиці, розміщеної під графіком.

Хроматограма : N-A-tgk-l-4_23.03.2017 16_38_16

Хроматограф : 430-GC
 Метод : Амфетаміни
 Оператор : _____

Хроматограму отримано: 23.03.2017 16:41:40
 Хроматограму оброблено : 23.03.2017 17:01:19
 Хроматограму роздруковано: 23.03.2017 17:03:04



Peak results :

Index	Name	Time [Min]	Quantity [% Area]	Height [uV]	Area [uV.Min]	Area % [%]
1	UNKNOWN	1.39	98.52	24367425.3	818841.2	98.522
2	UNKNOWN	1.57	0.04	20592.7	371.5	0.045
3	UNKNOWN	1.79	0.35	146952.7	2926.3	0.352
4	UNKNOWN	1.86	0.02	8435.2	166.9	0.020
5	UNKNOWN	10.78	0.10	34774.5	847.9	0.102
6	UNKNOWN	10.84	0.02	4555.9	126.5	0.015
7	UNKNOWN	11.10	0.02	8356.5	189.3	0.023
8	UNKNOWN	14.37	0.05	18510.4	399.0	0.048
9	UNKNOWN	14.59	0.08	28499.1	681.3	0.082
10	UNKNOWN	14.94	0.15	14135.8	1229.9	0.148
11	UNKNOWN	15.63	0.24	65695.4	1995.0	0.240
12	UNKNOWN	15.69	0.17	34082.0	1438.9	0.173
13	UNKNOWN	15.76	0.05	13111.6	395.9	0.048
14	UNKNOWN	15.96	0.04	10920.4	373.9	0.045
15	UNKNOWN	16.03	0.11	22912.7	880.7	0.106
16	UNKNOWN	17.04	0.03	6799.7	261.6	0.031
Total			100.00	24805759.9	831125.7	100.000

Рис. 1. Хроматограма зразків, відібраних з листків *Cannabis sativa* L.

Результати всіх одержаних гістограм опрацьовані методами математичної статистики [9]) та представлені у формі фінальної гістограми (рис.2).

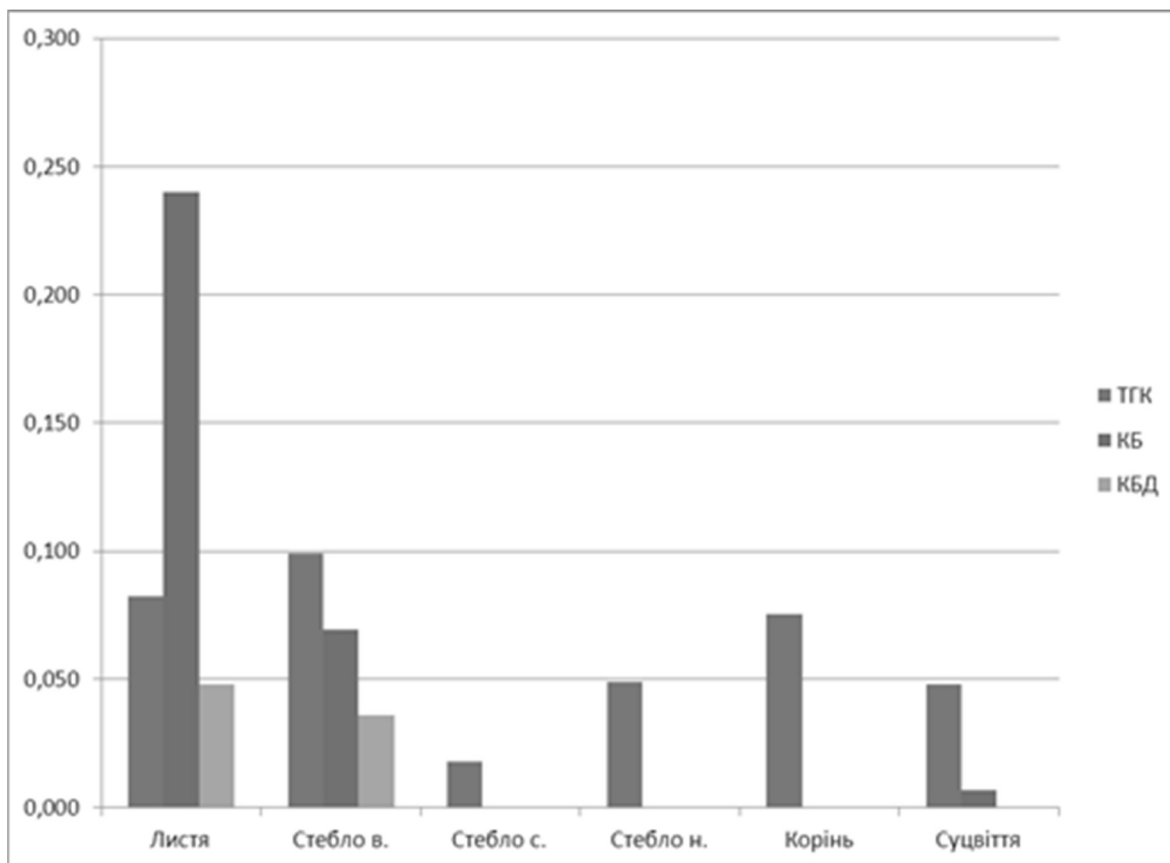


Рис. 2. Розподіл канабіоїдів в тканинах Cannabis sativa L.

Як видно з гістограми, всі частини рослин містять ТГК, найбільша кількість якого наявна у верхівках стебла та листках *Cannabis sativa* L. Як відомо, всі канабіноїди належать до алкалоїдів, і мають основне призначення – захист рослини від поїдання тваринами. Оскільки верхівки стебла і листки є найбільш соковитими і найлегше доступними частинами рослини, є посилена загроза пошкодження саме їх. Саме тому в них спостерігається підвищений вміст канабіноїдів, причому всіх основних форм – ТГК, КБ, КБД. Привертає увагу оберненопропорційна залежність вмісту канабінолу та ТГК в цих частинах рослини, що може бути пояснене тим, що ТГК легко окислюється до канабінолу, а оскільки фотосинтетична активність листків сприяє посиленій продукції кисню в тканинах, вміст ТГК зменшується, на фоні зростання концентрації КБ (КБД є продуктом декарбоксілювання КБ).

Верхівка стебла також здатна до фотосинтезу у більшій мірі, ніж середина та нижня його частина, однак значно менше, ніж листки, тому концентрація ТГК тут є більшою ніж КБ. У середині стебла наявний лише ТГК, кількість якого найменша, однак спостерігаємо зростання вмісту ТГК в нижній частині стебла, з подальшим накопиченням у коренях. Такий розподіл може бути пояснений основною транзиторною функцією середини стебла, і незначною здатністю до фотосинтезу. Накопичення ж ТГК у

коренях може слугувати захистом рослини від ґрунтових тварин та шкідників. Полярне оберненопропорційне співвідношення ТГК і КБ в суцвіттях є свідченням про їх потребу в захисті не лише як верхньої, але і як генеративної частини рослини, здатної до фотосинтезу, однак у меншій мірі, порівняно з листками та верхівкою стебла.

Привертає увагу також зростання кількісного і розширення якісного складу канабіноїдів у тих частинах рослини, що у більшій мірі піддавалися сонячній інсоляції та дії підвищеної температури. Враховуючи літературні дані про те, що накопичення канабіноїдів в рослинах конопель визначається еколого-географічними факторами [4, 8], так кількісна величина канабіноїдів зростає в залежності від просування сортів з північного заходу на південний схід, можна припустити, що на кількісний і якісний склад канабіноїдів в рослині впливає температура, сонячна радіація, вологість, поживний режим тощо. Отже, припускаємо, що канабіноїди є компонентом адаптогенної системи рослин до змінних факторів навколишнього середовища.

Висновки: за літературними даними виділені особливості метаболізму канабіноїдів в рослинному організмі, які є *теоретичним* підґрунтям даного дослідження:

1. Попередником всіх рослинних канабіноїдів є канабігеролова кислота, яка перетворюється в канабіхроменову, канабідіолову і дельта-9-тетрагідроканнабінолову кислоти. Дані кислоти в результаті декарбоксілювання дають вільні канабіноїди – канабіхромен, канабідіол і дельта-9-тетрагідроканнабінол відповідно.

2. Накопичення канабіноїдів в рослинах конопель визначається генетичними і еколого-географічними факторами. Серед другої групи виділяють температуру, сонячну радіацію, вологість, поживний режим тощо. Вирішальними факторами, визначаючими вміст канабіноїдів є сортові ознаки. Кількісна величина канабіноїдів змінюється в залежності від просування сортів з північного заходу на південний схід. Високий вміст канабіноїдів є домінантною ознакою, яка передається по материнській лінії.

Результати проведених *експериментальних* досліджень дозволили виявити наступні закономірності:

3. Якісний склад канабіноїдів зменшується у ряду: листок > верхівка стебла > суцвіття > середина стебла = нижня частина стебла = корінь.

4. Кількісний вміст канабіноїдів зменшується в ряду: листок > верхівка стебла > корінь > суцвіття > нижня частина стебла > середина стебла.

5. Вміст ТГК та канабінолу має тенденцію до оберненопропорційної залежності.

6. Канабіноїди належать до алкалоїдів, і мають основне призначення – захист рослини від поїдання тваринами. Окрім цього канабіноїди є

компонентом адаптогенної системи рослин та відіграють роль у їх пристосуванні до змінних факторів навколишнього середовища.

ЛІТЕРАТУРА

1. Канабіноїди [Електронний ресурс]. – 2009. – Режим доступу до ресурсу: <http://www.pharmencyclopedia.com.ua/article/5676/kanabinoidi-kanabis>.
2. Лужников Е.А. Клиническая токсикология. – М.: “Медицина”, 2000. – 416 с.
3. Петюнін Г.П., Полях А.М., Шепітько В.Ю. Наркотичні засоби, психотропні речовини та прекурсори. — Х., 2006.
4. Turner C. E., M. A. Elsohly and E. G. Boeren, 2010. Constituents of Cannabis sativa L. XVII. A review of natural constituents. Journal of Natural Products 43 (2): 169–234.
5. Про затвердження переліку наркотичних засобів, психотропних речовин і прекурсорів: Постанова Кабінету Міністрів України від 06.05.2000 №770 // Офіційний Вісник України. – 2000. – № 19.
6. Порядок проведення та оформлення експертних досліджень: Метод. рекомендації. / Печніков В.С. та ін. – К.: ДНДЕКЦ МВС України, 2005. – 18 с.
7. Симонов Е.А., Изотов Б.Н., Фесенко А.В. Наркотики: методы анализа на коже, в ее придатках и выделениях. – М.: «Анахарсис», 2000. – 130 с
8. Шимановський С.О. Дослідження наркотиків, поширених на території України. – К.: МВС України, 1997. – 92 с.
9. Калінін, М. І. Біометрія :підручник для студентів вузів біологічних та екологічних напрямків /М.І. Калінін, В.В. Єлісеєв. – Миколаїв: МФ НаУКМА, 2000. – 202 с.

M.S. Kaznacheeva, G.F. Arkushin, A.I. Zatuliveter
QUALITATIVE AND QUANTITATIVE ANALYSIS OF COMPONENTS OF THE ENDOCANNABINOID SYSTEM OF CANNABIS SATIVA L.

The main ways of cannabinoid metabolism in the plant organism are considered in the article; factors affecting the content of cannabinoids in plant tissues were determined. The results of the practical determination of the quantitative content of tetrahydrocannabinol and its derivatives in the tissues of various organs of Cannabis sativa L. The causes of the interconversion of phytocannabinoid are substantiated, their significance in the plant organism is justified.

Key words: *endocannabinoid system, cannabinol, tetrahydrocannabinol, cannabidiol.*