

ПОЛЯКОВА А.С.

Національний університет біоресурсів та природокористування України,
Україна, 03041, м. Київ, вул. Героїв Оборони, 15, e-mail: lemna91@gmail.com, (050) 589-70-64

ВИЗНАЧЕННЯ ФУНКЦІОНАЛЬНОЇ ЗАЛЕЖНОСТІ МІЖ КИСЛОТАМИ І НЕЙТРАЛЬНИМИ СПОЛУКАМИ КАНАБІНОЇДІВ У СУЧАСНИХ ОДНОДОМНИХ СОРТІВ *CANNABIS SATIVA L.*

Мета. Встановлення кореляційної взаємозалежності між нейтральними речовинами КБД, ТГК, КБН і кислотами КБДК та ТГКК природних фенолів у сортів конопель *Cannabis sativa L.* **Методи.** Ураховуючи лабільність та ізомеризацію канабіноїдів за впливу різних факторів, використовували метод ТШХ, який дозволяє в процесі аналізу зберегти природно сформоване співвідношення канабіноїдів без порушення їх якісних і кількісних взаємозв'язків. **Результати.** У сорті конопель ЮСО 1, із яким не проводилася селекційна робота на зменшення вмісту нейтральних речовин, сортами французької селекції Федора 17 і Футура 77 з відносно високим вмістом канабіноїдів та з сортами конопель Золотоніські 15 і Вікторія, у яких у результаті доборів зменшувався або був відсутній вміст нейтральних речовин, встановлена достатньо висока взаємозалежність між нейтральними сполуками і кислотами. У сортів конопель ЮСО 31, Гляна, Глухівські 46 недостатні добори на зменшення вмісту нейтральних речовин призвели до порушення сформованих взаємозв'язків між кислотами і нейтральними речовинами. Кореляційна взаємозалежність була від'ємною. **Висновки.** Визначена кореляційна взаємозалежність між нейтральними речовинами і кислотами у сортів конопель вказує на наявну біологічно зумовлену залежність між ними та необхідність проведення доборів у сортах з урахуванням також і природних кислот.

Ключові слова: ТГК, КБД, КБН, КБДК, ТГКК.

Установлено, що багаторічна робота селекціонерів, спрямована на зменшення або відсутність у сортах лише нейтральних канабіноїдних сполук – тетрагідроканабінолу (ТГК), канабідіолу (КБД) і канабінолу (КБН), призводила до зниження або повної відсутності у більшості рослин природних кислот – канабідіолової (КБДК) і тетрагідроканабінолової (ТГКК).

Установлена нами кореляційна взаємозалежність між ними вказує на необхідність проведення в сортах доборів з урахуванням також і природних кислот, що може пришвидшити селекційну роботу у визначеному напрямі.

Феномен «гашишу» привертає велику увагу багатьох спеціалістів у галузі біології, хімії, фармакології, медицини, судово-медичної експертизи тощо. Відомими хіміками в результаті багаторічних досліджень було встановлено, що хімія гашишу охоплює лише природні феноли – канабіноїди. Вони представляють складну суміш природних кислот і нейтральних речовин. Завдяки роботам Adams і Todd (1940, pp. 2194–2204; 1946, p. 45) вдалося синтезувати КБН та виділити КБД. Adams і ін. (1940, pp. 2194–2204) шляхом ізомеризації КБД отримали фізіологічно активний ТГК. Пізніше були виділені природні канабіноїдні кислоти – спочатку КБДК. Нові напрями у вивченні хімії природних фенолів допомогли виокремити ТГКК. У 60-ті роки Schultz і Hoffner G. (1960, p. 38) показали, що у всіх досліджених зразках сортів конопель траплялися, (головним чином, як один із компонентів) КБДК поряд із невеликою кількістю залишкового фенолу, у той час як у гашишу вони містилися у зворотному співвідношенні. Автори допускають, що КБДК є основною сполукою феноловмісних речовин.

R. Mechoulam (1967, pp. 33–37; 1970, pp. 1156–1166) зауважив, що КБДК у природі має перевагу над іншими канабіноїдами у коноплях, які вирощувалися на волокно. Рослини *Cannabis*, які вирощують для отримання смоли, мають меншу кількість такої сполуки і більше ТГК. Автор відзначає, що канабіноїдні кислоти психотоміметично не активні, але під час нагрівання швидко переходять із одного стану в інший. Л. М. Горшковою (2007, с. 137) було встановлено, за дії різних температур (20–25°C до 120°C) на зразки різних сортів конопель відбувалися якісні і кількісні зміни: зменшувався вміст природних кислот КБДК і ТГКК та під-

вищувався вміст нейтральних речовин – КБД, ТГК і КБН.

Отже, якщо взяти до уваги, що канабіноїдні сполуки є лабільними і за впливу відповідних факторів відбувається їх перетворення та ізомеризація, то визначення їх співвідношення в сортах конопель є актуальною проблемою.

Протягом десятиліть теоретична і практична селекційна робота була спрямована на зменшення вмісту в сортах конопель лише психотоміметично активного ТГК та споріднених із ним нейтральних – КБД і КБН. Виникає питання щодо вмісту природних кислот, на зниження вмісту яких селекційна робота не проводилася. Результатами хроматографічних аналізів була встановлена наявність у сортозразках як нейтральних речовин КБД, ТГК, КБН, так і кислот – КБДК і ТГКК. Важливою підставою є встановлення існування кореляційного співвідношення між ними, що має як теоретичне, так і практичне значення.

Матеріали і методи

Із метою визначення кореляційного співвідношення між природними кислотами і нейтральними сполуками було використано сучасні однокімнатні сорти конопель вітчизняної селекції: ЮСО 1, ЮСО 31, Гляна, Вікторія, Глесія, Глухівські 46, Глухівські 51, Золотоніські 15 та сорти французької селекції – Федора 17, Феліна 32 і Футура 77. Аналізу підлягала оцвітина суцвіть, яка, порівняно з іншими органами рослин, містила більшу кількість канабіноїдів.

Ураховуючи лабільність феноловмісних сполук – канабіноїдів, у яких за впливу відповідних чинників відбувається їх перетворення та

ізомеризація, в роботах використовували метод ТШХ, що має принципове значення. Переважним фактором методу ТШХ є здатність зразків конопель зберігати в процесі аналізу природно сформоване співвідношення канабіноїдних речовин без порушення їх кількісного і якісного взаємоперетворення.

Результати та обговорення

Із метою визначення більш поглибленого зв'язку між нейтральними речовинами і природними кислотами представлені сорти конопель розділили на групи з урахуванням вмісту канабіноїдних речовин.

У групі сортів ЮСО 1, Федора 17 і Футура 77 із сортом конопель ЮСО 1 не проводилася селекційна робота на зменшення вмісту канабіноїдних речовин. Сорти із Франції – Федора 17 і Футура 77 – містили більшу кількість визначених кислот і нейтральних речовин порівняно з вітчизняними сортами.

Хроматографічними аналізами встановлено, що поодинокі рослини сорту конопель ЮСО 1 містили як нейтральні сполуки – КБД, ТГК, КБН, так і природні кислоти – ТГКК і КБДК (рис. 1).

Коефіцієнт кореляції, встановлений між кислотами і нейтральними речовинами, дорівнював $r = 0,62$. Результати аналізів свідчать, що між цими сполуками існують природно сформовані позитивні співвідношення.

У сорти конопель Федора 17 проаналізовані індивідуальні рослини також містили як нейтральні речовини, так і кислоти. Кореляційна взаємозалежність між ними була позитивною і складала $r = 0,84$ (рис. 2).

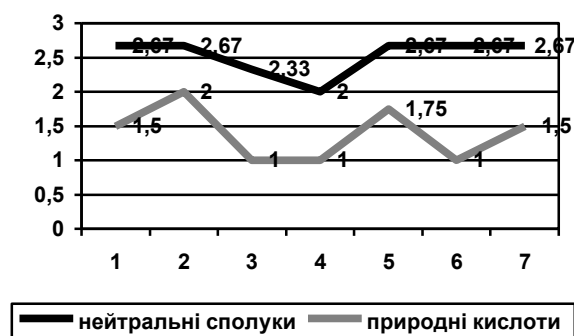


Рис. 1. Співвідношення між вмістом природних кислот і вмістом нейтральних речовин (оцвітина) – ЮСО 1 (у балах).

Позитивна кореляційна закономірність встановлена у сорту конопель Футура 77. Коефіцієнт кореляції дорівнював $r = 0,61$ (рис. 3).

Схожі результати кореляційної взаємозалежності отримано у сортів конопель Золотоні-

ські 15 і Вікторія, які практично не містили як нейтральних речовин, так і кислот. Виявлені лише поодинокі рослини з незначною кількістю нейтральних сполук (рис. 4, 5).



Рис. 2. Співвідношення між вмістом природних кислот і вмістом нейтральних речовин (оцвітина) – Федора 17 (у балах).

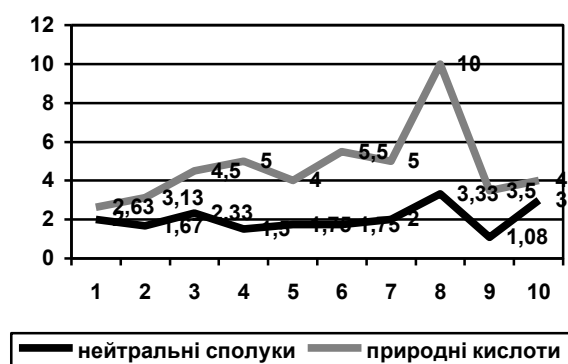


Рис. 3. Співвідношення між вмістом природних кислот і вмістом нейтральних речовин (оцвітина) – Футура 77 (у балах).



Рис. 4. Співвідношення між вмістом природних кислот і вмістом нейтральних речовин (оцвітина) – Золотоніські 15 (у балах).



Рис. 5. Співвідношення між вмістом природних кислот і вмістом нейтральних речовин (оцвітина) – Вікторія (у балах).

Коефіцієнт кореляції між нейтральними речовинами і природними кислотами у сорту конопель Золотоніські 15 дорівнював $r = 0,69$, у сорту конопель Вікторія – $r = 0,59$.

Порівнявши результати хроматографічних аналізів та коефіцієнти кореляції у сортів конопель ЮСО 1, Федора 17, Футура 77 із високим вмістом нейтральних речовин і кислот зі результатами аналізів сортів Золотоніські 15 і Вікторія з незначним вмістом названих сполук, знаходимо схожі кореляційні закономірності між нейтральними речовинами і кислотами. Виявлені закономірності доводять, що у природних фенолах-канабіноїдах існують природно сформовані зв'язки між кислотами і нейтральними речовинами. У сорті конопель ЮСО 1, із яким не проводилися добори на зменшення вмісту нейтральних сполук, і в сортах конопель із Франції Федора 17, Футура 77 зі значним вмістом канабіноїдних речовин визначено кореляційні взаємозалежності між вказаними сполуками. У вітчизняних сортах Золотоніські 15 і Вікторія шляхом постійних доборів на зменшення вмісту нейтральних речовин зменшився вміст кислот, і, як у вище зазначених сортах, визначено позитивну кореляційну взаємозалежність між кислотами і нейтральними сполуками.

Отже, зменшення нейтральних речовин КБД, ТГК і КБН призводить до зменшення кислот – КБДК і ТГКК, особливо КБДК. Вважаємо, що в селекційній практиці в результатів доборів необхідно враховувати вміст кислот.

Інші результати отримані у сортів конопель ЮСО 31, Гляна і Глухівські 46. Хромато-

рафічним аналізом одиничних рослин сорту конопель ЮСО 31 виявлено лише поодинокі рослини з відсутністю кислот і нейтральних сполук, передусім ТГК і КБН. Кореляційна залежність між нейтральними речовинами і кислотами мала від'ємний характер $r = -0,45$ (рис. 6).

Вважаємо, що незначною кількістю доборів на зменшення вмісту нейтральних сполук були лише порушені біологічно сформовані зв'язки між нейтральними сполуками і кислотами.

У сучасного сорту конопель Гляна встановлена відсутність нейтральних речовин – КБД, ТГК і КБН та кислоти КБДК. У 50% проаналізованих рослин виявлено наявність ТГКК у кількості від 3 до 6 балів. Відсутність нейтральних речовин і КБДК та незначної кількості ТГКК вказує на відсутність кореляційної залежності між нейтральними сполуками і кислотами. Коефіцієнт кореляції був від'ємним і дорівнював $r = -0,32$ (рис. 7).

Аналіз результатів хроматографії, проведеної методом ТШХ за вмістом канабіноїдних речовин у однодомного сорту конопель Глухівський 46, свідчить, що разом із повною відсутністю вмісту ТГК у всіх проаналізованих рослинах виявлено незначна кількість КБД (рис. 8).

Установлено розбіжність за вмістом між нейтральними сполуками та кислотами. Порівняно з нейтральними речовинами вміст природних кислот за окремими рослинами значно розрізнявся (від 0 до 6 балів). Кореляційна взаємозалежність між кислотами і нейтральними речовинами була від'ємною і складала $r = -0,36$.



Рис. 6. Співвідношення між вмістом природних кислот і вмістом нейтральних речовин (оцвітина) – ЮСО 31 (у балах).



Рис. 7. Співвідношення між вмістом природних кислот і вмістом нейтральних речовин (оцвітина) – Гляна (у балах).

Вважаємо, що в аналізованих сортах ЮСО 31, Гляна і Глухівські 46 в результаті, можливо, недостатнього добору на зменшення вмісту нейтральних речовин був порушений природно сформований зв'язок між кислотами і нейтральними речовинами, у результаті чого визначено значну розбіжність за вмістом канабіноїдів між окремими рослинами сорту, особливо за вмістом кислот. В аналізованих сортах також виявлено окремі рослини, які не містили як нейтральних речовин – КБД, ТГК, КБН, так і кислот ТГКК та КБДК. Подальша селекційна робота може призвести до повної відсутності всіх канабіноїдних речовин за менший проміжок часу, якщо разом із добром нейтральних речовин будуть ураховані кислоти, що є первинним джерелом нейтральних речовин.

Протилежні результати отримано за однодомними сортами конопель Глесія і Глухівські 51.

У сортів конопель Глесія і Глухівські 51 були повністю відсутні нейтральні речовини –

КБД, ТГК і КБН, а у більшості рослин сорту Глесія також не визначені кислоти – ТГКК і КБДК. У результаті коефіцієнт кореляції за сортами дорівнював $r=0$ (рис. 9).

Отже, в результаті проведених хроматографічних аналізів та визначення кореляційного взаємозв'язку виявлено функціональну біологічно зумовлену залежність між природними кислотами і нейтральними речовинами у природних фенолів – канабіноїдів.

Установлено, що багаторічна робота селекціонерів, спрямована на зменшення або відсутність у сортах лише нейтральних сполук ТГК, КБД і КБН, призводила до зниження або повної відсутності природних кислот КБДК і ТГКК. Визначена нами кореляційна взаємозалежність між названими речовинами доводить необхідність проведення в сортах доборів з урахуванням також і природних кислот, що може пришвидшити селекційну роботу в окресленому напрямку.



Рис. 8. Співвідношення між вмістом природних кислот і вмістом нейтральних речовин (оцвітина) – Глухівські 46 (у балах).



Рис. 9. Співвідношення між вмістом природних кислот і вмістом нейтральних речовин (оцвітина) – Глесья (у балах).

У роботах відомих хіміків N. N. Simmonds, A. R. Todd (1942, p. 130), A. R. Todd (1946, p. 2.55) наведено результати аналітичних робіт із хімії канабіноїдів. Учені висловлювали припущення про механізм їх біосинтезу. Науковці вважали, що канабіноїди утворюються в рослинах від конденсації похідних терпену з оліветолом.

Успішна робота відомого хіміка R. Mechoulam (1970, p. 1686) дала можливість внести деякі зміни до загальної схеми біогенезу канабіноїдних речовин. Автором встановлена послідовність біохімічних перетворень природних кислот і нейтральних речовин. Наявність кислотних і нейтральних канабіноїдів допускає декілька біогенетичних можливостей. Нейтральні компоненти утворюються або лише шляхом декарбоксілювання відповідних карбоксильних кислот, або біогенетичні послідовності існують паралельно у рослин для обох рядів, тобто як для кислот, так і для нейтральних сполук. Наявність нейтральних і кислотних фракцій

дає можливість припускати біогенетичну залежність між природними кислотами та нейтральними речовинами (КБД, ТГК, КБН) конопель, а також біогенетичну можливість утворення нейтральних сполук із природних кислот.

Використання нами ТШХ як методу, який не впливає на ізомеризацію та взаємоперетворення лабільних канабіноїдних речовин, дало можливість встановити, що в онтогенезі першими утворюються кислоти КБДК і ТГКК. У міру росту і розвитку рослин відбувається утворення нейтральних сполук – КБД, ТГК і КБН, що доводить утворення нейтральних речовин із природних кислот, можливо, шляхом ферментативного декарбоксілювання кислот.

Сучасними дослідженнями виявлені групи ферментів, які каталізують оксидициклізацію одних кислот в інші, а також ферменти, які відповідальні за ферментативні перетворення кислот у нейтральні сполуки. Важливим відкриттям є виділення синтетази тетрагідроканабінолової кислоти (ТГКК), яка є ферментом, що відпові-

дає за утворення тетрагідроканабінолу (ТГК) – психоактивного компонента конопель. Sirikantaramas S., Taura F., Tanaka Y., Ishikawa Y., Morimoto S. and Shoyama Y. [2005, p. 1578–1582] встановлено, що синтетаза – ТГКК – є ферментом, який контролює психоактивність конопель. Синтезується фермент у порожнині залозистих волосків. Автори вважають, що секреторні клітини залозистих трихом виділяють не тільки метаболіти, а й біосинтетичний фермент.

Отже, огляд наукових літературних джерел засвідчує, що у рослинах конопель існують специфічні ферменти, а можливо, ферментні системи, за дії яких відбуваються ферментативні як перетворення природних кислот з одних в інші, так і утворення нейтральних речовин із кислот за їх дії.

На основі численних аналізів, проведених методом ТШХ, можемо констатувати, що відібрані нами рослинні зразки конопель не підлягали впливу високої температури та інших негативних зовнішніх та внутрішніх факторів. Вважаємо, що були отримані індивідуальні канабіноїдні речовини без порушень їх структури та їх взаємоперетворень. У результаті отримані кореляційні зв'язки відповідали наявним біологічним закономірностям.

Селекційна робота зі створення однодомних високоврожайних безнаркотичних сортів конопель була спрямована на відсутність або на меншу кількість у них психотоміметично активного ТГК. У результаті добору, на рівні зі зменшенням вмісту ТГК, підлягали нейтральні споріднені до нього сполуки – КБД і ТГК. Добір на зменшення вмісту природних кислот у сортах конопель не відбувався. На наш погляд, мало як наукове, так і практичне значення встановлення в сортах функціональної залежності між нейтральними сполуками і природними кислотами.

Результати хроматографічних аналізів та визначених кореляційних залежностей у сортів конопель між природними кислотами і нейтральними речовинами довели, що сорти конопель, у яких не відбувався селекційний процес на зменшення вмісту нейтральних сполук, – КБД, ТГК і КБН; визначена пряма залежність між вмістом кислот і нейтральними речовинами ЮСО 1, Федора 17 і Футура 77. Коефіцієнт кореляції досягав значних величин.

На рівні із зазначеними однодомними сортами, у яких не порушувався біогенетично зумовлений процес взаємозалежності між кисло-

тами і нейтральними сполуками, визначено сорти конопель, у яких у результаті недостатніх доборів на зменшення вмісту нейтральних сполук відбувалася деяка варіабельність за вмістом як нейтральних сполук, так і кислот. Коефіцієнт кореляції був незначним або від'ємним – ЮСО 31, Гляна, Глухівські 46.

У сучасних сортів конопель Глесія і Глухівські 51 в результаті доборів на відсутність вмісту нейтральних речовин також визначена відсутність природних кислот – коефіцієнт кореляції дорівнював 0, що свідчить про їх природну взаємозалежність.

Висновки

Визначена кореляційна взаємозалежність між нейтральними речовинами і кислотами у значної кількості сортів вітчизняної і зарубіжної селекції вказує на наявну функціональну біологічно зумовлену залежність між ними та необхідність проведення доборів у сортах з урахуванням природних кислот.

В однодомного сорту конопель ЮСО 1, із яким не проводилася селекційна робота на зменшення вмісту психотоміметично активного ТГК та споріднених із ним нейтральних речовин – КБД і КБН, та у французьких однодомних сортах конопель Федора 17 і Футура 77 зі значно вищим вмістом канабіноїдних речовин встановлено позитивну функціональну кореляційну взаємозалежність між природними кислотами – ТГКК, КБДК та нейтральними речовинами – ТГК, КБД і КБН. Коефіцієнт кореляції 0,61–0,84.

В однодомних сортах конопель ЮСО 31, Гляна і Глухівські 46, у яких визначені коливання за вмістом як нейтральних речовин, так і кислот, коефіцієнт кореляції був незначним або від'ємним, що свідчить про порушення взаємозалежності між ними в результаті недостатніх доборів на зменшення вмісту нейтральних речовин. Коефіцієнт кореляції складав $r = -0,32$ – $0,45$.

У сучасних однодомних сортах конопель Глесія і Глухівські 51 відсутність вмісту нейтральних речовин, пов'язаних із селекційною роботою на їх зменшення, відповідала зменшенню та у деяких рослин характеризувалася відсутністю природних кислот, що свідчить про їх функціональну взаємозалежність. Коефіцієнт кореляції досягав $r = 0$.

References

1. Adams R., Roder. Marihuana. *Science*. 1940. 92 (2380). P. 21–94.
2. Todd A.R. Hashish. *Experientia*. 1946. Vol. 2, Is. 2. P. 55–60. doi.org/10.1007/BF02163886. URL: <https://link.springer.com/article/10.1007/BF02163886> (дата звернення: 14.02.2019).
3. Schultz O.E., Hoffner G. Arch. Pharm. Ber. Bent. *Pharmaz Ges.* 1958. P. 291–391.
4. Mechoulam R., Gaoni G. Fortschr. *Chem. Organ. Naturst.* 1967. P. 175.
5. Mechoulam R. Marichuana chemistry. *Science*. 1970. 3936. P. 1156–1166.
6. Gorshkova L.M. Selekcija iak zasib eliminacii narkotichnoi dii posivnikh konopel' (*Cannabis sativa* L.). *Problemi genetiki, selekcii, biotekhnologii*: zb. nauk. prac' nauk.-prakt. konf., prisviachenoj 120-richchju vid dnia narodzhennia akad. NAN Ukraïni M.I. Vavilova. Kiïv: Logos, 2007. S. 46–53. [in Ukrainian] / Горшкова Л.М. Селекція як засіб елімінації наркотичної дії посівних конопель (*Cannabis sativa* L.). *Проблеми генетики, селекції, біотехнології*: зб. наук. праць наук.-практ. конф., присвяченої 120-річчю від дня народження акад. НАН України М.І. Вавілова. К.: Логос, 2007. С. 46–53.

POLYAKOVA A.

National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine,
Ukraine, 03041, Kyiv, Heroyiv Oborony str., 15, e-mail: lemma91@gmail.com

ASSESSMENT OF FUNCTIONAL RELATIONSHIPS BETWEEN ACIDS AND NEUTRAL COMPOUNDS OF CANNABINOIDS IN MODERN MONOECIOSUS VARIETIES OF CANNABIS SATIVA L.

Aim. The research was aimed at determining the correlation between neutral substances and acids in varieties of *Cannabis sativa* L. **Methods.** Taking into account lability and isomerization of cannabinoids under the influence of various factors, the TLC method was used for preserving the naturally formed ratio of cannabinoids without disturbing their qualitative and quantitative interrelations. **Results.** In the hemp variety YuSO 1 excluded from breeding work to reduce the content of neutral substances, varieties of French selection – Fedora 17 and Futura 77 with relatively high content of cannabinoids and with varieties of hemp Zolotonis'ky 15 and Viktoriya with reduced or absent content of neutral substances, high interdependence between neutral compounds and acids was determined. In the varieties of hemp YuSO 31, Hlyana, Hlukhivs'ky 46 insufficient selections for reducing the content of neutral substances led to a violation of the formed relationships between acids and neutral substances. Correlation interdependence was negative. **Conclusions.** The determined correlation between neutral substances and acids in cannabis varieties indicates the existing biologically determined dependence between them taking into account natural acids.

Keywords: THC, CBD, CBN, CBDA, THCA.