

to standardize the raw material of *Hosta plantaginea* and *Hosta lancifolia* by the quantitative content of the compounds of flavonoid nature.

Key words: flavonoids, quantitative determination, *Hosta plantaginea*, *Hosta lancifolia*.

Відомості про авторів:

Процька Вікторія Василівна – аспірант кафедри хімії природних сполук Національного фармацевтичного університету.

Журавель Ірина Олександрівна – д.ф.н., професор кафедри хімії природних сполук Національного фармацевтичного університету.

УДК 615.322:547.466

© КОЛЕКТИВ АВТОРІВ, 2016

О. В.Савельєва, Г. С.Шумова, І. М.Владимирова

ВИВЧЕННЯ АМІНОКИСЛОТНОГО СКЛАДУ ТРАВИ СОНУ ЛУЧНОГО PULSATILLA PRATENSIS (L.) MILL.

Національний фармацевтичний університет, Харків

Вступ. Наведені короткі відомості щодо поширення та застосування трави сону лучного. Визначено, що дані щодо хімічного складу сировини є обмеженими, тому актуальним є дослідження представлені у статті.

Мета. Визначення амінокислотного складу трави сону лучного для розширення відомостей щодо хімічного складу біологічно активних речовин рослини.

Матеріали та методи. Для дослідження використовували траву сону лучного (постачальник «Світ трав», м. Харків). Метод визначення заснований на екстракції вільних амінокислот із рослинної сировини та кислотному гідролізі рослинних препаратів, з наступним аналізом гідролізатів методом високоефективної рідинної хроматографії з передколонковою дериватизацією 9-флуоренілметоксикарбоніл хлоридом (FМОС) та о-фталевим альдегідом (ОРА) та з наступною детекцією флуоресцентним детектором. Хроматографічне розділення проводили на рідинному хроматографі Agilent 1200 (Agilent technologies, США).

Результати. В результаті дослідження у траві сону лучного встановлена наявність 15-ти амінокислот. За кількісним вмістом значно переважають зв'язані амінокислоти (70,24 мкг/мг) в порівнянні з вмістом вільних амінокислот (18,03 мкг/мг). Такі амінокислоти, як L-серин, L-гістидин, гліцин, L-фенілаланін та L-лейцин представлені у траві сону лучного лише у зв'язаному вигляді. Слід відзначити найбільший вміст L-аспарагінової кислоти, L-глутамінової кислоти (сумарно 13,41 мкг/мг і 17,47 мкг/мг відповідно). Високим сумарним вмістом також характеризуються такі амінокислоти, як L-серин (4,63 мкг/мг), гліцин (4,85 мкг/мг), L-аргінін (5,10 мкг/мг) та L-лейцин (5,52 мкг/мг).

Висновки. В результаті дослідження у траві сону лучного встановлена наявність 15-ти амінокислот. Встановлено, що за кількісним вмістом значно переважають зв'язані амінокислоти (70,24 мкг/мг) в порівнянні з вмістом вільних амінокислот (18,03 мкг/мг). Слід відзначити найбільший вміст L-аспарагінової кислоти, L-глутамінової кислоти (сумарно 13,41 мкг/мг і 17,47 мкг/мг відповідно).

Ключові слова: трава сону лучного *Pulsatilla pratensis* (L.) Mill., амінокислотний склад, вивчення.

Вступ. Сон лучний, або сон-трава (*Pulsatilla pratensis* (L.) Mill.) родини жовтецевих (*Ranunculaceae*) поширений на Балканах, у Середній та Східній Європі. В Україні – на більшій частині територій в лісовій, а також в

лісостеповій та степовій (спорадично) зонах, крім крайніх західних районів і Криму [4, 6].

Рослину та препарати з неї широко застосовують в народній медицині і в гомеопатії. З лікувальною метою заготовлюють траву під час цвітіння. Рослина має сечогінну, відхаркувальну, бактерицидну, седативну і болезаспокійливу дію. Стимулює функції печінки. Гомеопатичний засіб *Pulsatilla* застосовують для лікування депресій, мігрені, порушень менструального циклу, шлунково-кишкових і застудних захворювань, хвороб нирок і сечового міхура, екземи, спазмів судин, ревматизму, подагри тощо [4, 5].

Відомості щодо хімічного складу трави сону лучного є обмеженими. Відомо, що свіжа рослина містить ранункулін, протоанемонин, ефірну олію, танін, вітамін С, органічні кислоти, флавоноїди, сліди алкалоїдів, дубильні речовини (близько 4,5 %), суха – біциклічний лактан (анемонін), сапоніни [4, 6].

Мета роботи - визначення амінокислотного складу трави сону лучного для розширення даних щодо хімічного складу біологічно активних речовин трави сону лучного.

Матеріали та методи. Для дослідження використовували траву сону лучного (постачальник «Світ трав», м. Харків). Метод визначення заснований на екстракції вільних амінокислот із рослинної сировини та кислотному гідролізі рослинних препаратів з наступним аналізом гідролізатів методом високоєфективної рідинної хроматографії з передколонковою дериватизацією 9-флуоренілметоксикарбоніл хлоридом (FMOC) та о-фталевим альдегідом (OPA) та з наступною детекцією флуоресцентним детектором [1-3].

Хроматографічне розділення проводили на рідинному хроматографі Agilent 1200 (Agilent technologies, США). Колонка Zorbax AAA довжиною

150 мм, внутрішнім діаметром 4,6 мм, діаметр зерна сорбента 3 мкм. Мобільна фаза А - 40 mM Na₂HPO₄ рН 7.8; В - ACN:MeOH: water (45:45:10, v/v/v). Режим розділення - градієнтний із постійною швидкістю потоку 1,5 мл/хв. Температура термостату колонки 40 °С. Передколонкову дериватизацію проводили в автоматичному програмованому режимі з використанням FMOC реагента (Agilent 5061-3337) та OPA реагента (Agilent 5061-3335). Детекція дериватизованих амінокислот реалізовувалася за допомогою флуоресцентного детектора.

Для визначення вільних амінокислот наважку перетертого до порошкподібного стану препарату поміщали у віялу, додавали 4 мл водного розчину 0,1N соляної кислоти та витримували на ультразвуковій бані при 80 0С впродовж 3 годин.

Для визначення загальних амінокислот наважку препарату поміщали у віялу, додавали 1 мл водного розчину 6N соляної кислоти та поміщали в термостат при 110 °С. Гідроліз проводили впродовж 24 годин.

Ідентифікацію амінокислот проводили шляхом порівняння часів утримання з сумішшю стандартів амінокислот (Agilent 5061-3334). Вміст зв'язаних амінокислот визначали шляхом віднімання вмісту вільних амінокислот від їх загального вмісту.

Результати та обговорення. Хроматографи, одержані в результаті дослідження амінокислотного складу, наведені на рис.

Результати визначення якісного складу та кількісного визначення вільних, зв'язаних та загальних амінокислот представлені в табл.

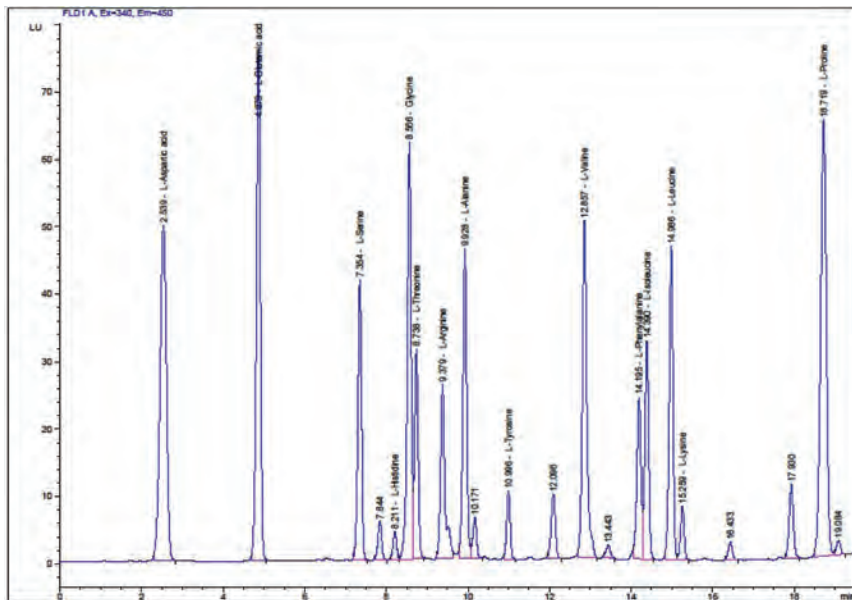


Рис. Хроматограма досліджуваного розчину трави сону лучного

В результаті дослідження у траві сону лучного встановлена наявність 15-ти амінокислот. За кількісним вмістом значно переважають зв'язані амінокислоти (70,24 мкг/мг) в порівнянні з вмістом вільних амінокислот (18,03 мкг/мг). Лише для L-лізину та L-проліну визначений їх переважний вміст у вільному стані (2,14 мкг/мг та 6,58 мкг/мг відповідно). Такі амінокислоти, як L-серин, L-гістидин, гліцин, L-фенілаланін та L-лейцин представлені у траві сону лучного лише у зв'язаному вигляді.

Слід відзначити найбільший вміст L-аспарагінової кислоти, L-глутамінової кислоти (сумарно 13,41 мкг/мг і 17,47 мкг/мг відповідно). Високим сумарним вмістом також характеризуються такі амінокислоти, як L-серин (4,63 мкг/мг), гліцин (4,85 мкг/мг), L-аргінін (5,10 мкг/мг) та L-лейцин (5,52 мкг/мг).

Вміст амінокислот у траві сону лучного

№ з/п	Назва амінокислоти	Вміст амінокислот, мкг/мг		
		Вільні амінокислоти	Загальні амінокислоти	Зв'язані амінокислоти
1.	L-аспарагінова кислота	3,57	13,41	9,84
2.	L-глутамінова кислота	1,82	17,47	15,66
3.	L-серин	-	4,63	4,63
4.	L-гістидин	-	1,80	1,80
5.	гліцин	-	4,85	4,85
6.	L-треонін	0,07	3,91	3,84
7.	L-аргінін	0,66	5,10	4,44
8.	L-аланін	0,68	4,38	3,70
9.	L-тирозин	1,68	1,76	0,08
10.	L-валін	0,03	4,37	4,34
11.	L-фенілаланін	-	4,08	4,08
12.	L-ізолейцин	0,80	3,87	3,08
13.	L-лейцин	-	5,52	5,52
14.	L-лізин	2,14	3,95	1,81
15.	L-пролін	6,58	9,15	2,57
Загальний вміст		18,03	88,27	70,24

Примітка: «-» - амінокислота відсутня.

Висновки. У траві сону лучного вперше встановлений якісний склад і кількісний вміст суми біологічно активних вільних, зв'язаних та загальних амінокислот з використанням методики, що запропонована Штейном і Муром, в сучасній модифікації із застосуванням методу високоефективної рідинної хроматографії на хроматографі Agilent Technologies, модель 1200 (США).

В результаті дослідження у траві сону лучного встановлена наявність 15-ти амінокислот. Встановлено, що за кількісним вмістом значно переважають зв'язані амінокислоти (70,24 мкг/мг) в порівнянні з вмістом вільних амінокислот (18,03 мкг/мг). Слід відзначити найбільший вміст L-аспарагінової кислоти, L-глутамінової кислоти (сумарно 13,41 мкг/мг і 17,47 мкг/мг відповідно).

Література

1. Jámbor A. Aminoacid analysis by high-performance liquid chromatography after derivatization with 9-fluorenylmethylloxycarbonyl chloride. Literature overview and further study / A. Jámbor, Molnár-Perl // Journal of Chromatography A, 1216. – 2009. – P.3064–3077.

2. Jámbor A. Quantitation of aminoacids in plasma by high performance liquid chromatography: Simultaneous deproteinization and derivatization with

9-fluorenylmethylxycarbonyl chloride / A. Jámbor, Molnár-Perl // Journal of Chromatography A, 1216. – 2009. – P. 6218–6223.

3. John W. Accurate, Sensitive, and Reproducible HPLC Analysis of Amino Acids Amino Acid Analysis Using Zorbax Eclipse-AAA Columns and the Agilent 1100 HPLC // Agilent Technical Note. – 1999. – P.5980–1193E.

4. Губанов, И. А. и др. 599. *Pulsatilla pratensis* (L.) Mill. – Прострел луговой // Иллюстрированный определитель растений Средней России. В 3 т. – М.: Т-во науч. изд. КМК, Ин-т технолог. иссл., 2003. – Т. 2. Покрытосеменные (двудольные: раздельнолепестные). – С. 214.

5. Макрушин М. М. та ін. Фізіологія рослин. – Вінниця: Нова книга, 2006. – 413 с.

6. Юзепчук С. В. Род 528. Прострел – *Pulsatilla* // Флора СССР. В 30 т. / Гл. ред. акад. В. Л. Комаров; Ред. тома Б. К. Шишкин. – М.-Л.: Изд-во АН СССР, 1937. – Т. VII. – С. 301-302.

Е. В. Савельева, А. С. Шумова, И. Н. Владимірова

Изучение аминокислотного состава травы прострела лугового *Pulsatilla pratensis* (L.) Mill.

Национальный фармацевтический университет, г. Харьков

Вступление. Представлены краткие сведения относительно распространения и применения травы прострела лугового. Установлено, что данные относительно химического состава сырья ограничены, потому актуальным являются исследование представленные в статье.

Цель. Определение аминокислотного состава травы прострела лугового для расширения сведений относительно химического состава биологически активных веществ растения.

Материалы и методы. Для исследования использовали траву прострела лугового (поставщик "Мир трав", г. Харьков). Метод определения основан на экстракции свободных аминокислот из растительного сырья и кислотном гидролизе растительных препаратов с последующим анализом гидролизатов методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с предколонковой дериватизацией 9-флуоренилметоксикарбонил хлоридом (ФМОС) и о-фталевым альдегидом (ОФА) с последующей детекцией флуоресцентным детектором. Хроматографическое разделение проводили на жидкостном хроматографе Agilent 1200 (Agilent technologies, США).

Результаты. В результате исследования в траве прострела лугового установлено наличие 15 аминокислот. По количественному содержанию значительно преобладают связанные аминокислоты (70,24 мкг/мг) по сравнению с содержанием свободных аминокислот (18,03 мкг/мг). Такие аминокислоты, как L-серин, L-гистидин, глицин, L-фенилаланин и L-лейцин представлены в траве прострела лугового только в связанном виде. Следует отметить наибольшее содержание L-аспарагиновой и L-глутаминовой кислот (суммарно 13,41 мкг/мг и 17,47 мкг/мг соответственно). Высоким суммарным содержанием также характеризуются такие аминокислоты, как L-серин (4,63 мкг/мг), глицин (4,85 мкг/мг), L-аргинин (5,10 мкг/мг) и L-лейцин (5,52 мкг/мг).

Выводы. В результате исследования в траве прострела лугового определено наличие 15 аминокислот. Установлено, что по количественному содержанию значительно преобладают связанные аминокислоты (70,24 мкг/мг) по сравнению с содержанием свободных аминокислот (18,03 мкг/мг). Следует отметить

наибольшее содержание L-аспарагиновой и L-глутаминовой кислот (суммарно 13,41 мкг/мг и 17,47 мкг/мг соответственно).

Ключевые слова: трава прострела лугового *Pulsatilla pratensis* (L.) Mill., аминокислотный состав, изучение.

E. V.Savelieva, A. S.Shumova, I. N.Vladymyrova

The study of aminoacid composition of Pulsatilla's herb

National university of pharmace, Kharkiv

Introduction. The short information about relation to distribution and application of Pulsatilla's herb has been described. It is set that data of relatively chemical composition of raw material of limited information, that is why actual it is been research presented in the article.

Aim. Determination of aminoacid composition of grass of Pulsatilla's herb for expansion of information of relatively chemical composition of bioactive substances of plant.

Materials and methods. For research used of Pulsatilla's herb (a supplier is the "World of herbals", Kharkiv). The method of determination is based on extraction of free aminoacids from a raw material and acid hydrolysis of plant preparations with the subsequent analysis of hydrolyzate by the method of high-efficiency liquid chromatography with derivatization by a 9-fluoremethoxycarbonyl chloride (FMOC) and o-phthalaldehyde (OPA) with subsequent detection by a fluorescent detector. A chromatography division was conducted on the liquid chromatograph of Agilent 1200 (Agilent technologies, the USA).

Results. As a result of research in Pulsatilla's herb is determined presence 15 aminoacids. On quantitative maintenance considerably the constrained aminoacids (70,24 mcg/mg) prevail as compared to maintenance of free aminoacids (18,03 mcg/mg). Such amino acids, as L-serine, L-histidin, glycine, L-phenylalanine and L-leucine presented in Pulsatilla's herb only in the constrained kind. It should be noted most maintenance of L-aspartic and L-glutamic acids (totally 13,41 mcg/mg and 17,47 mcg/mg accordingly). High total maintenance is characterize such aminoacids also, as L-serine (4,63 mcg/mg), glycine (4,85 mcg/mg), L-arginine (5,10 mcg/mg) and L-leucine (5,52 mcg/mg).

Conclusions. As a result of research in Pulsatilla's herb is determined presence 15 amino acids. It is set that on quantitative maintenance considerably the constrained aminoacids (70,24 mcg/mg) prevail as compared to maintenance of free aminoacids (18,03 mcg/mg). It should be noted most maintenance of L-aspartic and L-glutamic acids (totally 13,41 mcg/mg and 17,47 mcg/mg accordingly).

Key words: composition of Pulsatilla's herb, aminoacid, study.

Відомості про авторів:

Савельєва Олена Валеріївна – здобувач кафедри якості, стандартизації та сертифікації ліків Інституту підвищення кваліфікації спеціалістів фармації Національного фармацевтичного університету; тел.: (057) 731-92-76.

Шумова Ганна Сергіївна – к. фарм. н., асистент кафедри фармацевтичної, біологічної та токсикологічної хімії Національного медичного університету імені О.О. Богомольця; тел.: (044) 234-80-11.

Владимирова Інна Миколаївна – д. фарм. н., доцент кафедри якості, стандартизації та сертифікації ліків Інституту підвищення кваліфікації спеціалістів фармації Національного фармацевтичного університету; тел.: (057) 731-92-76.