

Рекомендована д.ф.н., професором В.М.Ковальовим

УДК 615.322: 582.893.6: 577.112.3: 577.115.3

## ВИВЧЕННЯ ЖИРНОКИСЛОТНОГО ТА АМІНОКИСЛОТНОГО СКЛАДУ ТРАВИ ТА ПЛОДІВ БОЛИГОЛОВУ ПЛЯМИСТОГО (CONIUM MACULATUM L.)

В.С.Бондар, Ю.Ю.Малиновський

Національний фармацевтичний університет

Проведено якісний та кількісний аналіз трави та недозрілих плодів болиголову плямистого з метою визначення структури і кількісного вмісту таких груп БАР, як жирні кислоти та амінокислоти. Встановлено, що у траві міститься 16 амінокислот, а в недозрілих плодах — 13 амінокислот, серед них 6 та 5 відповідно незамінних. Доповнені дані зі складу жирних кислот, переважними серед яких є пальмітинова, олеїнова та лінолева кислоти. У траві міститься на 57% більше жирних кислот та на 67% більше амінокислот в порівнянні з недозрілими плодами.

Болиголов плямистий (*Conium maculatum* L.) — отруйна алкалоїдовмісна рослина родини селерових (Ariaceae), відома з прадавніх часів. Його основна діюча речовина — алкалоїд коніїн, який входить до групи алкалоїдів піперидинового ряду, був першим синтезованим алкалоїдом [2, 6, 11]. Саме з цією речовиною, в першу чергу, пов'язують застосування болиголову в народній медицині для лікування новоутворень [1, 5]. Однак як комплексна біологічна система рослина містить інші види активних речовин, такі як фенольні сполуки, полісахариди, жирні та амінокислоти, мікроелементи тощо [2, 4, 9, 12, 13].

Жирні кислоти — один з обов'язкових компонентів ліпофільних екстрактів, тому що ці речовини завжди беруть участь у процесі біосинтезу жирів, входять до складу рослинних клітин. Жирні кислоти відіграють важливу роль в енергетиці живої клітини, метаболізмі стероїдних сполук, чинять антимікробну [10], F-вітамінну та іншу дію [4].

У рослинах амінокислоти є вихідним матеріалом для біосинтезу білків, алкалоїдів, поліфенолів, вітамінів, мають широкий спектр фармакологічної дії та надають іншим речовинам нешкідливу та легкозасвоювану форму, потенціюючи їх ефект. Крім того, амінокислоти беруть участь у процесах нервової, судинної та інших видах регуляції функцій організму [3, 4, 13].

Аналіз літературних джерел підтвердив відсутність даних про амінокислотний склад та факт

недостатнього хімічного вивчення жирних кислот у досліджуваній рослинній сировині [7, 8].

Тому викликає інтерес вивчення вказаних груп БАР, встановлення їх структури та кількісного вмісту з метою комплексного вивчення болиголову плямистого. У статті наведені результати якісного та кількісного складу жирних та амінокислот, а також дані про розподіл їх у різних частинах рослини.

### Експериментальна частина

Для проведення дослідження були використані надземна частина (трава) та недозрілі плоди болиголову плямистого, заготовлені в 2005 р. у Вовчанському районі Харківської області.

Аналіз амінокислот проводили за допомогою амінокислотного аналізатора Т 339 (Мікротехніка, Прага, ЧР) на колонці  $h=45$  см з іонітом Ostion LGANB, послідовно використовуючи як рухома фазу буферні розчини різної кислотності та іонної сили. Якісний аналіз проводили за часом виходу з колонки кожної сполуки в порівнянні зі стандартами чистих амінокислот. Кількісне визначення проводили з використанням стандартних розчинів амінокислот за формулою:

$$C_x = C_{ст} * \frac{S_{проби}}{S_{ст}}$$

де:  $C_x$  — концентрація досліджуваної проби (мкг);  $C_{ст}$  — концентрація стандарту амінокислоти (мкг);  $S_{проби}$  — площа піку проби ( $мм^2$ );  $S_{ст}$  — площа піку чистої амінокислоти ( $мм^2$ ).

**Підготовка проби.** Для проведення аналізу зразки сировини висушували до сталої маси та подрібнювали. Наважку масою 500 мг поміщали в спеціальну реакційну пробірку для гідролізу. Додавали 10 мл дистильованої води, ставили в термостат та ретельно перемішували при температурі  $+40$  °C протягом 60 хв. Потім додавали рівну кількість кислоти сульфатної концентрованої, необхідної для проведення гідролізу. Реакційну пробірку герметично закривали, продуваючи газоподібним азотом. Ставили в термостат при температурі  $+120$  °C на 16 годин. Після чого проводили нейтралізацію

Таблиця 1

Вміст основних амінокислот у траві та недозрілих плодах болиголову

Амінокислота	Трава болиголову		Плоди болиголову	
	ммоль/100 мг	% на суху вагу	ммоль/100 мг	% на суху вагу
Asp	18,4	2,45	12,5	1,65
Thr	6,7	0,79	6,3	0,75
Ser	10,5	1,1	8,0	0,85
Glu	19,4	2,8	16,2	2,4
Pro	7,9	0,9	12,8	1,5
Gly	6,6	0,5	5,34	0,4
Ala	1,65	0,14	—	—
1/2 Cys	16,8	4,0	15,67	3,76
Val	8,15	0,95	5,76	0,67
Met	5,74	0,85	3,5	0,5
Leu	11,0	1,46	8,25	1,0
Tyr	6,3	1,15	2,9	0,52
Phe	7,65	1,26	5,58	0,92
His	1,66	0,25	2,8	0,44
Lys	23,5	3,5	—	—
Arg	4,85	1,0	—	—
NH <sub>3</sub>	7,4	0,25	7,7	0,27
Сумарна кількість		23,15		15,36

кислоти сульфатної кристалами лугу для видалення аміаку до рН 12. З цього об'єму відбирали 5 мл для аналізу. Розчин двічі фільтрували крізь паперовий фільтр, доводили рН до 2,2. Для аналізу відбирали пробу об'ємом 50 мкл.

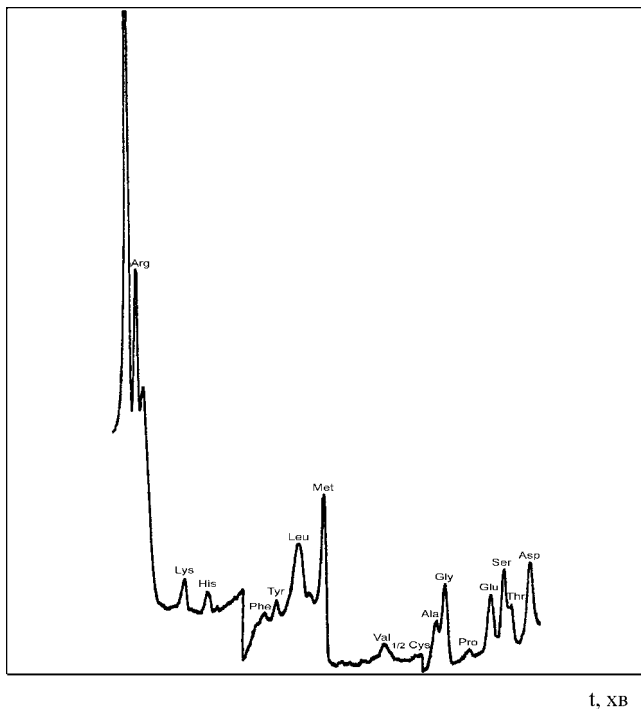


Рис. 1. Схема хроматограми амінокислот болиголову плямистого.

Результати аналізу наведені на рис. 1 та в табл. 1. Аналіз жирних кислот проводили за допомогою методу газорідинної хроматографії на аналізаторі Т 339 М (Мікротехніка, Прага, ЧР). Ідентифікацію проводили за часом утримування кожної сполуки у порівнянні з часом утримування зразків чистих жирних кислот. Кількісне визначення проводили за площами піків у порівнянні з даними градувальних графіків чистих стандартів жирних кислот, а також їх сумішей за формулою:

$$C_x = C_{ст} * \frac{S_{проби}}{S_{ст}}$$

де:  $C_x$  — концентрація досліджуваної проби (мкг);  $C_{ст}$  — концентрація стандарту жирної кислоти (мкг);  $S_{проби}$  — площа піку проби жирної кислоти (мм<sup>2</sup>);  $S_{ст}$  — площа піку стандарту жирної кислоти (мм<sup>2</sup>).

Підготовка проби. Для аналізу брали 500 мг висушеної подрібненої сировини. В центрифужну пробірку поміщали 500 мг екстракту та додавали 6 мл розчину Фолча (хлороформ-метанол 2:1), залишали на ніч при кімнатній температурі. Центрифугували при 1500 об/хв протягом 20 хв. Верхній шар зливали в реакційну пробірку об'ємом 25 мл, випаровували досуха в потоці азоту при  $t = +60\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Висушений залишок метилювали 1% розчином кислоти сульфатної в метанолі на водяній

Таблиця 2

Вміст жирних кислот у траві та недозрілих плодах болиголову

Жирні кислоти	Трава болиголову		Плоди болиголову	
	площина піку S, мм <sup>2</sup>	% на суху вагу	площина піку S, мм <sup>2</sup>	% на суху вагу
C12-Лауринова	115	0,012	55	0,005
C13-Тридеканова	155	0,020	50	0,006
C14-Міристинова	265	0,040	55	0,0065
C15-Пентадеканова	70	0,010	20	0,0025
C16-Пальмітинова	500	0,090	170	0,003
C16 <sub>1</sub> -Пальмітоолеїнова	75	0,014	30	0,005
C17-Маргарина	—	—	—	—
C18 <sub>0</sub> -Стеаринова	105	0,027	30	0,008
C18 <sub>1</sub> -Олеїнова	360	0,143	300	0,100
C18 <sub>2</sub> -Лінолева	100	0,038	210	0,083
C18 <sub>3</sub> -Ліноленова	50	0,023	40	0,018
C20 <sub>0</sub> -Арахінова	40	0,022	30	0,015
C20 <sub>3</sub> -Ейкозатрієнова	—	—	—	—
C20 <sub>4</sub> -Арахідонова	—	—	—	—
Всього		0,439		0,252

бані при  $t=+80\text{ }^{\circ}\text{C}$  протягом 20 хв. Пробірку охолоджували, додавали 3 мл води, перемішували, додавали 5 мл суміші гексан-ефір (1:1). Збовтували, відстоювали і відбирали верхній шар, який переносили в мірну центрифужну пробірку. Упарювали досуха на водяній бані при  $t=+60\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Залишок заливали 0,1-0,5 мл гексану і використовували для хроматографічного аналізу.

*Умови газорідного аналізу:*

- довжина колонки — 2 м;
- нерухома фаза — Інертон-супер з 10% поліетилентетрагікоксукцинату;

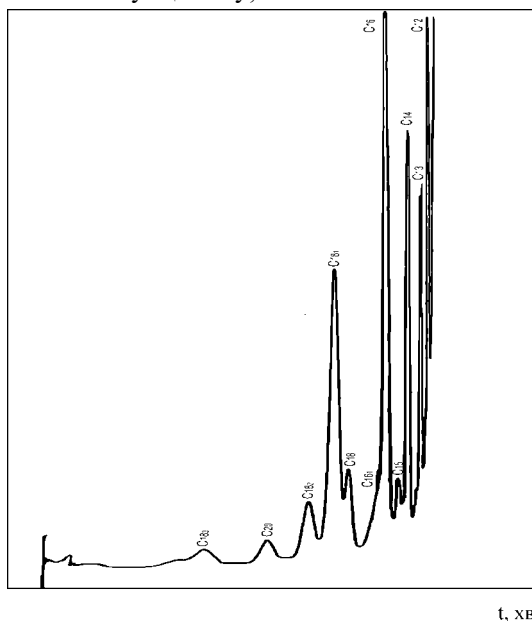


Рис. 2. Схема хроматограми жирних кислот болиголову плямистого.

- газ-носії — азот;
- $t^{\circ}\text{C}$  термостату колонки —  $+200\text{ }^{\circ}\text{C}$ ;
- $t^{\circ}\text{C}$  вводу проби —  $+220\text{ }^{\circ}\text{C}$ ;
- $t^{\circ}\text{C}$  полум'яно-іонізаційного детектора —  $+250\text{ }^{\circ}\text{C}$ ;
- час аналізу — 15 хв.

Результати аналізу наведені на рис. 2 та в табл. 2.

#### Результати та їх обговорення

У результаті дослідження амінокислотного складу трави та недозрілих плодів болиголову встановлена наявність 16 (у траві) та 13 (у плодах) основних амінокислот, у тому числі незамінних — 6 (треонін, валін, метіонін, лейцин, енілаланін та лізин). Отримані дані вказують на те, що трава та недозрілі плоди болиголову відрізняються кількістю амінокислот. Такі амінокислоти як лізин, аргінін та аланін не виявлені у зразках з екстракту плодів. Кількісний аналіз, результати якого наведені в табл. 1, показує, що загальна кількість амінокислот у траві болиголову більша в порівнянні з пробою плодів на 67%, однак кількість окремих амінокислот, навпаки, перевищує кількість амінокислот, які знаходяться у траві, це пролін та гістидин. Загальна сума основних амінокислот у траві та плодах складає 0,23% та 0,15% відповідно. З даних таблиці видно також, що у траві за кількісними показниками переважають такі амінокислоти як аспарагін, глютамінова кислота, цистин та лізин, а у плодах — глютамінова кислота та цистин.

Проведено дослідження якісного та кількісного вмісту жирних кислот у траві та недозрілих плодах болиголову плямистого. З даних табл. 2 видно, що сума жирних кислот у траві болиголову

перевищує суму жирних кислот у плодів на 57%. У пробі з екстракту трави переважають такі кислоти як пальмітинова та олеїнова, а у плодах — олеїнова та лінолева кислоти. Лінолевої кислоти, яка міститься у плодах, по кількості в 2 рази більше, ніж в екстракті з трави. Ейкозатрієнова, арахідонова та маргарінова кислоти у зразках не виявлені. Також не знайдені у зразках такі ненасичені кислоти як петрозелинова та петрозелідинова.

#### ВИСНОВКИ

1. За допомогою амінокислотного аналізатора Т 339 з екстрактів трави та незрілих плодів боли-

голову виділені 16 та 13 амінокислот відповідно, в тому числі 6 незамінних. Домінуючими з них є аспарагін, глутамінова кислота, цистин та лізин.

2. Вивчено вміст жирних кислот в екстрактах трави та плодів болиголову. Переважними є такі кислоти як пальмітинова, олеїнова та лінолева.

3. Екстракти з незрілих плодів і трави болиголову відрізняються за якісним та кількісним складом амінокислот і жирних кислот. Встановлено, що в траві знаходиться на 67% більше амінокислот та на 57% більше жирних кислот у порівнянні з незрілими плодами.

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Беденко Е.Г., Веремей А.Г. *Применение лекарственных растений Полтавщины в традиционной и народной медицине. Разд. 2 (лечение и профилактика новообразований)*. — Полтава: ЧФ "Формика", 2001. — 124 с.
2. Генри Т.А. *Химия растительных алкалоидов / Пер. с англ. под ред. В.М.Родионова*. — М.: Госхимиздат, 1956. — 904 с.
3. Киселева Т.Л., Самылина И.А. // *Растит. ресурсы*. — 1989. — Т. 25, №4. — С. 546-552.
4. Ковальов В.М., Павлій О.І., Ісакова Т.І. *Фармакогнозія з основами біохімії рослин / За ред. проф. В.М.Ковальова*. — Х.: Прапор; Вид-во НФАУ, 2000. — 704 с.
5. Кьосев П.А. *Полный справочник лекарственных растений*. — М.: ЭКСМО-Пресс, 2001. — 992 с.
6. French D.H. *Ethnobotany of the Umbelliferae. Biol. And Chem. Of the Umbelliferae / Ed. by V.H.Heywood*. — London, 1971. — P. 385-412.
7. Hondelmann W. *Das // Landbauforsch. Volkenrode*. — 1985. — Jg. 35, H. 4. — S. 185-190.
8. Kleiman R., Spencer G.F. // *J. Amer. Oil Chem. Soc.* — 1982. — Vol. 59, №1. — P. 29-38.
9. Leung A. *Encyclopedia of Common Natural Ingredients used in Food, Drugs and Cosmetics*. — New York: Wiley and Sons, 1980. — 409 p.
10. McGaw L.J. // *Fitotherapy*. — 2002. — Vol. 73, №5. — P. 431-433.
11. Roberts M.F. // *Planta med.* — 1980. — Vol. 39, №3. — P. 216.
12. Teusher E. *Pharmakognosie*. — Berlin: Academic, 1978. — 189 S.
13. Trease and Evans W.C. *Pharmacognosy*. — London; Philadelphia; Toronto; Sidney; Tokyo; WB Saunders, 1996. — 832 p.

УДК 615.322: 582.893.6: 577.112.3: 577.115.3

ИЗУЧЕНИЕ ЖИРНОКИСЛОТНОГО И АМИНОКИСЛОТНОГО СОСТАВА ТРАВЫ И ПЛОДОВ БОЛИГОЛОВА ПЯТНИСТОГО (CONIUM MACULATUM L.)

В.С.Бондарь, Ю.Ю.Малиновский

Проведен качественный и количественный анализ травы и незрелых плодов болиголов пятнистого с целью изучения структуры и количественного содержания таких групп БАВ, как жирные кислоты и аминокислоты. Установлено, что в траве содержится 16 аминокислот, а в незрелых плодах — 13 аминокислот, среди них 6 и 5 соответственно незаменимых. Дополнены данные по составу жирных кислот, преобладающими среди которых являются пальмитиновая, олеиновая и линолевая кислоты. В траве содержится на 57% больше жирных кислот и на 67% больше аминокислот в сравнении с незрелыми плодами.

UDC 615.322: 582.893.6: 577.112.3: 577.115.3

THE STUDY OF THE FATTY ACIDS AND AMINO ACIDS COMPOSITION IN GRASS AND GREEN FRUITS OF POISON-HEMLOCK (CONIUM MACULATUM L.)

V.S.Bondar, Yu.Yu.Malinovskiy

The qualitative and quantitative analysis of grass and green fruits of hemlock with the purpose of studying the structure and the quantitative content of such BAS groups as fatty acids and amino acids has been carried out. It has been found that there are 16 amino acids in the grass and 13 amino acids in green fruits, among them 6 and 5 are the essential amino acids respectively. The data on the composition of fatty acids have been supplemented. The palmitic, oleic and linoleic acids prevail among them. The grass contains more fatty acids in 57% and more amino acids in 67% comparing to green fruits.