

Рекомендована д.ф.н., професором А.Г.Сербіним

УДК 615.322:582.736:54.061/.062:547.466:577.118

АМІНОКИСЛОТНИЙ І МІНЕРАЛЬНИЙ СКЛАД ЛИСТЯ ТА ЛУШПИННЯ ПЛОДІВ ГЛЕДИЧІЇ ЗВИЧАЙНОЇ

М.А.Дученко, О.В.Демешко, С.В.Ковальов, В.М.Ковальов

Вінницький національний медичний університет ім. М.І.Пирогова
Національний фармацевтичний університет

Досліджено амінокислотний і мінеральний склад листя та лушпиння плодів гледичії звичайної. Встановлено наявність 16 амінокислот, у тому числі 7 незамінних. Домінуючими є аспарагінова і глутамінова кислоти, гліцин, аланін, лейцин, серин і триптофан. У результаті вивчення елементного складу відмічено високий вміст кальцію, калію, кремнію та магнію.

Гледичія звичайна (*Gleditsia triacanthos L.*) відноситься до родини бобових (*Fabaceae*). Походить з Північної Америки. В Україні широко культивують як декоративну рослину у парках, садах і парках, найбільше у степовій і лісостеповій зонах [2, 5].

У медицині використовують лушпиння плодів і молоде листя, зібране у період розпускання. У молодому листі міститься алкалоїд триакантин, аскорбінова кислота, флавоноїди, у лушпинні плодів — антраглікозиди, дубильні речовини, вітамін К. Алкалоїд триакантин виявляє спазмолітичну дію, розширює кровоносні судини, знижує кров'яний тиск. Фармацевтичною промисловістю випускався препарат "Триакантин", який використовували при гіпертонічній хворобі, бронхіальній астмі, виразковій хворобі шлунка і дванадцятипалої кишки, при спастичних колітах та хронічному холециститі; галенові препарати з лушпиння плодів виявляють послаблюючу дію [1, 4, 8, 12, 15].

Аналіз літературних даних свідчить, що наведені фармакологічні ефекти зумовлені вмістом речовин вторинного біосинтезу, але на фармакологічну дію впливають і речовини первинного біосинтезу — амінокислоти, білки, макро- та мікроелементи [3, 10, 11, 13].

Амінокислоти мають важливе функціональне значення та широкий спектр фармакологічної дії. Вони є джерелом синтезу специфічних тканинних білків, ферментів, пептидних гормонів тощо. Макро- та мікроелементи, що надходять до організму людини, поєднуючись з хімічними регуляторами обміну речовин, стають посередниками різних біохімічних процесів, коректорами обміну речовин у організмі людини [3, 14].

Біологічно активні речовини у рослинах знаходяться в легко засвоюваних людським організмом комплексах. Тому рослинна сировина та лікарські засоби на її основі, що містять комплекс амінокислот, пептидів і мінералів, широко застосовують у медичній практиці.

Матеріали та методи

Для дослідження використовували листя і лушпиння плодів гледичії звичайної, зібрані у 2009 р. у Вінницькій і Харківській області. Листя збирали у серпні, лушпиння плодів — у вересні.

Визначення амінокислотного складу

Попереднє вивчення якісного складу амінокислот у листі і лушпинні плодів гледичії звичайної проводили методом висхідної хроматографії на папері "Filtrak FN-4" у системі н-бутанол — кислота оцтова — вода (БОВ) (4:1:2). Для виявлення амінокислот використовували їх здатність утворювати комплекс синьо-фіолетового кольору при взаємодії з нінгідрином [16].

Для порівняння використовували 0,1% спиртові розчини амінокислот зі стандартного набору амінокислот (ТУ 6-09-3147-83). Отриману хроматограму висушували на повітрі, обробляли 0,5% спиртовим розчином нінгідрину та витримували у сушильній шафі при температурі 105°C протягом 5-10 хв. Амінокислоти ідентифікували із достовірними зразками за забарвленням плям і значенням R_f при паралельному хроматографуванні. Одержані дані наведені в табл. 1.

Кількісний вміст амінокислот у досліджуваному зразку визначали за допомогою автоматичного аналізатора амінокислот Т 339 ("Мікротехна", Прага, ЧРСП). Подрібнений зразок проби (300 мг), попередньо витриманий до постійної маси, поміщали у пробірку місткістю 50 мл, додавали 10 мл води дистильованої і 10 мл кислоти хлористоводневої, ретельно перемішували та витримували у термостаті при температурі 130°C протягом 20 год. Після закінчення гідролізу розчин фільтрували, упарювали та доводили рН до 2,2. Для визначення зв'язаних амінокислот аліквоту проби (50 мкл) поміщали в амінокислотний аналізатор.

Таблиця 1

Якісний склад та кількісний вміст амінокислот у листі
і лушпинні плодів гледичії звичайної

Амінокислота	Загальна формула	Молекулярна маса, г/моль	Rf БОВ (4:1:2)	Вміст вільних амінокислот (листя / лушпиння)		Вміст зв'язаних амінокислот (листя / лушпиння)	
				мкмоль/г	мг/г	мкмоль/г	мг/г
Аспарагінова кислота	C ₄ H ₇ O ₄ N	133	0.16	6,4 / -	0,85 / -	2,6 / 1,75	0,35 / 0,23
Треонін	C ₄ H ₉ O ₃ N	119	0.18	2,8 / -	0,33 / -	1,4 / 0,7	0,17 / 0,09
Серин	C ₃ H ₇ O ₃ N	105	0.15	3,6 / -	0,38 / -	1,65 / 0,98	0,17 / 0,1
Глутамінова кислота	C ₅ H ₈ O ₄ N	147	0.17	5,2 / -	0,76 / -	3,2 / 1,47	0,5 / 0,22
Пролін	C ₅ H ₉ O ₂ N	115	0.24	2,0 / 0,3	0,23 / 0,04	1,5 / 0,5	0,17 / 0,06
Гліцин	C ₂ H ₅ O ₂ N	75	0.21	4,0 / 1,0	0,3 / 0,08	3,8 / 1,6	0,3 / 0,12
Аланін	C ₃ H ₇ O ₂ N	89	0.20	3,7 / 2,0	0,33 / 0,18	2,3 / 1,65	0,2 / 0,15
Валін	C ₅ H ₁₁ O ₂ N	117	0.43	1,85 / 0,6	0,2 / 0,07	1,5 / 1,0	0,17 / 0,13
Метіонін	C ₅ H ₁₁ O ₂ NS	149	0.39	1,5 / 1,0	0,24 / 0,15	0,5 / 0,65	0,07 / 0,1
Ізолейцин	C ₆ H ₁₃ O ₂ N	131	0.72	1,75 / 0,75	0,23 / 0,1	0,85 / 0,65	0,11 / 0,09
Лейцин	C ₆ H ₁₃ O ₂ N	131	0.63	3,0 / 1,4	0,4 / 0,18	2,0 / 1,17	0,25 / 0,15
Тирозин	C ₉ H ₁₁ O ₃ N	181	0.57	1,21 / 1,0	0,22 / 0,19	1,0 / 0,68	0,2 / 0,12
Фенілаланін	C ₉ H ₁₁ O ₂ N	165	0.32	1,0 / 1,0	0,17 / 0,17	1,4 / 0,7	0,3 / 0,12
Гістидин	C ₆ H ₉ O ₂ N	155	0.10	1,25 / 1,2	0,2 / 0,18	0,8 / 0,4	0,12 / 0,06
Лізин	C ₆ H ₁₄ O ₂ N	146	0.05	2,0 / 0,4	1,0 / 0,16	1,45 / 0,3	0,2 / 0,05
Аргінін	C ₆ H ₁₄ O ₂ N	174	0.04	1,2 / 1,0	0,22 / 0,18	0,65 / 0,32	0,12 / 0,06

Для визначення вільних амінокислот до наважки сировини гледичії (300 мг) двічі додавали по 10 мл спирту (80% об/об), нагрівали до температури 60°C, центрифугували протягом 10 хв при 1000 об/хв. Спиртовий шар видаляли, а осад переносили у реакційну ємність місткістю 50 мл і піддавали гідролізу та аналізу на аналізаторі (методику зазначено вище).

Кількісний аналіз проводили шляхом порівняння площ піків амінокислот проби зі стандартними зразками амінокислот.

Вміст амінокислоти (С) обчислювали за формулою:

$$C = \frac{S \times C_1}{S_1}$$

де: С — концентрація амінокислоти у зразку;

S — площа піку амінокислоти у зразку;

C₁ — концентрація стандартного зразка амінокислоти;

S₁ — площа піку стандартного зразка амінокислоти.

Визначення мінерального складу

Для вивчення елементного складу екстрактів було використано атомно-емісійний спектроскопічний метод із фотографічною реєстрацією [7].

Наважки екстрактів, попередньо оброблені кислотою сульфатною розведеною, обвуглювали при нагріванні у муфельній печі (температура не більше 500°C). Випарювання зразків проводили із кратерів графітових електродів у розряді дуги змінного струму (джерело збудження спектрів типу

ИВС-28) при силі струму 16 А та експозиції 60 с. Для одержання спектрів та їхньої реєстрації на фотопластинках використовували спектрограф ДФС-8 із дифракційними ґратами 600 штр/мм. Вимірювання інтенсивності емісійних ліній у спектрах аналізованих і градувальних зразків (ГЗ) проводили за допомогою мікрофотометра МФ-1.

Фотографування спектрів проводили в таких умовах: сила струму дуги змінного струму — 16 А, фаза підпалювання — 60°C, частота підпалювальних імпульсів — 100 розрядів за секунду; аналітичний проміжок — 2 мм; ширина щілини спектрографа — 0,015 мм; експозиція — 60 с. Спектри фотографували в області довжин хвиль 230–330 нм.

Фотопластинки проявляли, сушили, потім фотометрували емісійні лінії (нм) у спектрах випробуваних зразків і ГЗ, а також фон біля них:

Ag — 328,0 нм	Co — 345,3 нм
Cu — 324,7 нм	Ge — 303,9 нм
Mo — 317,0 нм	Pb — 283,3 нм
V — 318,3 нм	Sr — 346,4 нм
Cd — 326,1 нм	Cr — 302,1 нм
Ga — 294,3 нм	Mn — 280,1 нм
Ni — 305,0 нм	Ti — 307,8 нм
Sn — 303,4 нм	Zn — 328,2 нм.

Для кожного елемента за результатами фотометрування розраховували різниці почорніння емісійної лінії та фону (S=S_{л+ф}-S_ф) для спектрів

Таблиця 2
Мінеральний склад листя та лушпиння плодів
гледичії звичайної

Елемент	Вміст елементу, мг/100 г золи	
	Листя	Лушпиння плодів
Fe	14,5	7,3
Si	755	39
P	175	167
Al	14,6	4,9
Mn	5,8	1,9
Mg	580	145
Pb	<0,03	<0,03
Ni	<0,03	0,15
Mo	<0,02	0,05
Ca	1940	395
Cu	0,34	0,73
Zn	4,8	0,49
Na	9,7	14,7
K	580	1470
Sr	9,7	0,9

Примітка: у зразках Co<0,03 мг/100 г; Cd<0,01 мг/100 г; As<0,01 мг/100 г; Hg<0,01 мг/100 г.

випробовуваних зразків ($S_{ін}$) і ГЗ ($S_{ГЗ}$). Потім будували градувальний графік у координатах: середнє значення різниці почорніння емісійної лінії та фону ($S_{ГЗ}$) — логарифм вмісту елемента (C) в ГЗ ($Ig C$), де C виражено у відсотках.

За цим графіком знаходили вміст елементу в золі (a) у відсотках.

Вміст елементу у рослинному матеріалі у відсотках обчислювали за формулою:

$$x = \frac{a \cdot m}{M},$$

де: m — маса золи, г;

M — маса екстракту, взята для аналізу, г;

a — вміст елементу в золі, %.

При аналізі враховували нижні границі вмісту домішок, які складають: для Cu — $1 \cdot 10^{-4}\%$; Co, Cr, Mo, Mn, V — $2 \cdot 10^{-4}\%$; Ag, Ga, Ge, Ni, Pb, Sn, Ti — $5 \cdot 10^{-4}\%$; Sr, Zn — $1 \cdot 10^{-2}\%$.

Результати аналізу наведені в табл. 2.

Результати та їх обговорення

У досліджуваній сировині було виявлено 16 амінокислот, у тому числі 7 незамінних: валін, ізолейцин, лейцин, лізин, метіонін, треонін, фенілаланін (табл. 1). У кількісному відношенні се-

ред незамінних амінокислот переважають лізин (1,2 мг/г), лейцин (0,65 мг/г), треонін (0,5 мг/г) і фенілаланін (0,47 мг/г). Серед замінних амінокислот домінують глутамінова (1,26 мг/г) та аспарагінова (1,2 мг/г) кислоти, гліцин (0,6 мг/г), серин (0,55 мг/г) та аланін (0,53 мг/г). Глутамінова та аспарагінова кислоти беруть участь у процесах переамінування амінокислот і знешкодження аміаку, входять до складу альбумінів і глобулінів крові, мають нейромедіаторні функції. Гліцин функціонує як гальмівний медіатор у спинному мозку, його призначають для лікування алкоголізму та депресій [3].

Слід відмітити, що лушпиння плодів гледичії звичайної містить значно меншу кількість амінокислот у порівнянні з листям (табл. 1).

У результаті вивчення мінерального складу листя та лушпиння плодів гледичії звичайної встановлено наявність 15 елементів, з яких 7 — макроелементи, 7 — мікроелементи і 1 — ультрамікроелемент (табл. 2).

Для вмісту знайдених елементів у досліджуваній сировині спостерігалася така закономірність: для листя — Ca>Si>K>Mg>P>Al>Fe>Na>Sr>Mn>Zn>Cu>Pb>Ni>Mo, для лушпиння плодів — K>Ca>P>Mg>Si>Na>Fe>Al>Mn>Sr>Cu>Zn>Ni>Mo>Pb. Можна відмітити у листі високий вміст кальцію (1940 мг/100 г), кремнію (755 мг/100 г), калію (580 мг/100 г), магнію (580 мг/100 г), фосфору (175 мг/100 г); у лушпинні плодів — калію (1470 мг/100 г), кальцію (395 мг/100 г), фосфору (167 мг/100 г); магнію (145 мг/100 г). Саме ці макроелементи відіграють важливу роль у регулюванні водно-електролітного обміну, беруть участь в окиснювально-відновних процесах, у процесах передачі нервово-м'язового збудження, позитивно впливають на імуногенез тощо. Деякі елементи, наприклад, мідь, залізо, магній, цинк, марганець здатні утворювати комплекси з речовинами органічної природи. Вони входять до складу або активують до 300 ферментів [6, 9].

ВИСНОВКИ

Вперше встановлено якісний склад і кількісний вміст вільних і зв'язаних амінокислот у листі та лушпинні плодів гледичії звичайної. У результаті проведених досліджень ідентифіковано 16 амінокислот, 7 із яких є незамінними. У кількісному відношенні переважають аспарагінова і глутамінова кислоти, гліцин, аланін, лейцин, серин і триптофан. Вперше дано порівняльну характеристику елементного складу листя та лушпиння плодів гледичії звичайної. Визначено вміст 15 макро- та мікроелементів, також виявлені специфічні особливості їх накопичення у досліджуваній сировині.

ЛІТЕРАТУРА

1. Вульф Е.В., Малеева О.Ф. *Мировые ресурсы полезных растений: Справочник*. — Л.: Наука, 1969. — 566 с.
2. Єлін Ю.Я., Оляницька Л.Г., Івченко С.І. *Шкільний визначник рослин*. — К.: Радянська школа, 1988. — 368 с.
3. Кошовий О.М., Комісаренко А.М. // *Фармаком*. — 2004. — №4. — С. 57-61.
4. *Лікарські рослини: Енциклопедичний довідник / За ред. акад. АН УССР А.М.Гродзінського*. — К.: Голов. ред. укр. рад. енциклопедії ім. М.П.Бажана, 1991. — 344 с.
5. Попова Н.В., Литвиненко В.И. *Лекарственные растения мировой флоры*. — X., 2008. — 510 с.
6. Скальный А.В., Рудаков И.А. *Биоэлементы в медицине*. — М.: Издательский дом "ОНИКС 21 век": Мир, 2004. — 272 с.
7. Тарасевич Н.И., Семененко К.А., Хлыстова А.Д. *Методы спектрального и химико-спектрального анализа*. — М.: МГУ, 1973. — 213 с.
8. Duke J.A., Ayensu E.S. *Medicinal Plants of China*. — Michigan: Algonac, 1985. — 705 p.
9. Faelten S. *Mineral for Health*. — Emmaus: Rodalc press, 1981. — 534 p.
10. Felker P., Bandurski R.S. // *J. Sci. Food Agric.* — 1977. — Vol. 28. — P. 791-797.
11. Hegnauer R. *Chemotaxonomie der Pflanzen: eine Übersicht über die Verbreitung und die systematische Bedeutung der Pflanzenstoffe*. — Basel, Boston, Berlin: Birkhauser, 1996. — 512 p.
12. Quevauviller A., Blanpin O. // *Therapie*. — 1961. — Sep.-Oct., №16. — P. 782-790.
13. Rakhmanberdyeva R.K., Talipova M., Gazizov F., Rakhimov D.A. // *Chem. Nat. Compd.* — 2002. — Vol. 38, №1. — P. 24-26.
14. Roman J. *Handbook of vitamins, minerals and hormones*. — N.Y.: Reinhold, 1981. — 492 p.
15. Thomas S.C.Li. *Chinese and Related North American Herbs: Phytopharmacology and Therapeutic Values*. — Boca Raton: CRC Press, 2002. — 589 p.
16. Wagner H., Bladt S. *Plant drug analysis*. — Berlin: Springer, 2001. — 384 p.

УДК 615.322:582.736:54.061/.062:547.466:577.118

АМИНОКИСЛОТНЫЙ И МИНЕРАЛЬНЫЙ СОСТАВ ЛИСТЬЕВ И СТВОРОК ПЛОДОВ ГЛЕДИЧИИ ОБЫКНОВЕННОЙ

М.А.Дученко, О.В.Демешко, С.В.Ковалев, В.Н.Ковалев
Исследован аминокислотный и минеральный состав листьев и створок плодов *Gleditsia triacanthos*. Установлено наличие 16 аминокислот, в том числе 7 незаменимых. Доминирующими являются аспарагиновая и глутаминовая кислоты, глицин, аланин, лейцин, серин и триптофан. В результате изучения элементного состава отмечено высокое содержание кальция, калия, кремния и магния.

UDC 615.322:582.736:54.061/.062:547.466:577.118

THE AMINO ACID AND MINERAL COMPOSITION OF LEAVES AND LEAF FRUIT OF *GLEDITSIA*

M.A.Duchenko, O.V.Demeshko, S.V.Kovalyov, V.M.Kovalyov
The study of the amino acid and mineral composition of leaves and leaf fruit of *Gleditsia triacanthos* has been conducted. The presence of 16 amino acids, including seven essential ones, has been determined. Aspartic and glutamic acids, glycine, alanine, leucine, serine and tryptophan were dominating. As a result of the study of the element composition, the high content of calcium, potassium, silicon and magnesium has been found.