

УДК 615.1: 577.112.3: 582.736: 577.118

С. В. КОВАЛЬОВ

Національний фармацевтичний університет

ДОСЛІДЖЕННЯ РЕЧОВИН ПЕРВИННОГО СИНТЕЗУ З ТРАВИ ЛЯДВЕНЦЯ УКРАЇНСЬКОГО ТА ЛЯДВЕНЦЯ ПОЛЬОВОГО

Наведені результати досліджень якісного складу та кількісного вмісту амінокислот у траві лядвенця українського та лядвенця польового. Встановлено наявність 16 амінокислот, у тому числі 9 незамінних. Домінуючими є аспарагінова та глутамінова кислоти, серин, аланін, валін, лейцин, пролін. Знайдено також 15 макро- та мікроелементів, з яких домінують калій, кальцій, магній, кремній, фосфор.

Ключові слова: лядвенець; амінокислоти; макро- та мікроелементи

ВСТУП

В останні десятиріччя спостерігається високий інтерес практичної медицини до лікарських препаратів з рослинної сировини. Ця тенденція поширена не тільки у країнах, які традиційно використовують лікарську рослинну сировину у великому асортименті (Індія, Китай тощо), а також у країнах з високорозвиненою фармацевтичною промисловістю, в яких є великі можливості для синтезу нових лікарських сполук (США, Японія, Німеччина тощо). Так, у світовій фармацевтичній промисловості кожен третій препарат виготовляється з лікарської рослинної сировини. Це зумовлено їх малою токсичністю, тому що біологічно активні речовини природного походження знаходяться у легкозасвоюваних людським організмом комплексах і концентраціях, та можливістю тривалого застосування без істотних побічних ефектів, що дає можливість використовувати рослинні препарати дітям і людям похилого віку, особливо при хронічних формах захворювань.

Основним пластичним матеріалом для побудови органів і тканин людини є білки. Повноцінність білка визначається вмістом у ньому незамінних амінокислот (що не синтезуються в організмі людини), а містяться вони, переважно у продуктах тваринного походження. У сучасному світі людство живе під впливом несприятливих факторів навколишнього середовища [5,12,13]. Це і погана екологія, і не завжди якісна їжа і питна вода, підвищена радіація та

багато інших шкідливих для організму людини факторів. Все це призводить до утворення в організмі особливих речовин — вільних радикалів — активних молекул кисню. Вільні радикали буквально атакують усі клітини нашого організму, з їхнім впливом пов'язаний розвиток багатьох захворювань. Існують речовини, які руйнують вільні радикали та запобігають порушенням у роботі організму — це так звані антиоксиданти. До найпотужніших антиоксидантів належать вітамін А, β -каротин, вітамін С, вітамін К, селен, марганець. Потреби у вітамінах та деяких мінералах під впливом негативних факторів навколишнього середовища збільшуються у декілька разів. Так, необхідність вітаміну Д вища у 5 разів, фолієвої кислоти — у 3 рази, вітаміну B₁₂ — у 2 рази; також підвищена потреба у кальції, йоді, залізі, цинку та інших мінералах [1,2,10].

Складності у нормальному надходженні вітамінів і мінералів обумовлені недостатнім їх вмістом у сучасних продуктах харчування. Зміна сільськогосподарських технологій вирощування, промислова переробка продуктів, тривале зберігання, надмірна термічна обробка призводять до втрати вітамінів і мінералів. Методи культивування овочів і фруктів, що застосовуються у цей час у комерційному сільському господарстві, призвели до того, що кількість вітамінів А, B₁, B₂ і С скоротилася у багатьох овочевих культурах на 30 %, вітамін Е майже зник з горошку, яблук, петрушки, а кількість вітамінів у шпинаті одного врожаю може бути у 30 разів меншою, ніж у зелені іншого врожаю.

© С. В. Ковальов, 2010

Продовжуючи фітохімічне вивчення рослин родини бобових, а саме трави лядвенців українського та польового [7-9], дослідили амінокислотний, макро- та мікроелементний склад даних рослин.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Для визначення амінокислотного складу використовували траву лядвенців українського та польового, зібрану у фазу цвітіння у Харківській та Івано-Франківській областях у 2007 р.

Вивчення якісного складу та кількісного вмісту амінокислот досліджуваних зразків трави лядвенця

Попереднє хроматографічне вивчення якісного складу амінокислот у досліджуваних видах трави лядвенця проводили наступним чином.

Аналітичну пробу сировини подрібнювали до розміру частинок, які проходять крізь сито з отворами розміром 2 мм. Подрібнену сировину (20,0 г) поміщали у колбу, заливали 70 % спиртом (1: 10) і настоювали. Спиртову витяжку випарювали до близько 10 мл і наносили на хроматограму. Попереднє вивчення якісного складу амінокислот у досліджуваних зразках трави лядвенця проводили методом висхідної хроматографії на папері «Filtrak FN-4» у системі розчинників н-бутанол — кислота оцтова — вода (4: 1: 2). Для порівняння використовували стандартний набір амінокислот (ТУ 6-09-3147-83) у концентрації 0,1 %. Хроматограми обробляли 0,2 % спиртовим розчином нінгідрину в ацетоні та висушували у сушильній шафі при темпе-

ратурі 60–80°C. Амінокислоти ідентифікували з достовірними зразками за забарвленням плям і значенням R_f при паралельному хроматографуванні [3, 11]. Виявлено 16 амінокислот. Одержані дані наведені у табл.1, 2.

Кількісний вміст амінокислот у досліджуваних зразках трави лядвенця проводили за допомогою автоматичного амінокислотного аналізатора LKB 4151 «Альфа Плюс» (Швеція) на колонці, заповненій іонообмінною смолою марки DCGA. Для проведення дослідження сировину попередньо витримували у сушильній шафі при температурі 100°C протягом 2–3 год. Потім близько 0,1 г (точна наважка) одержаної сировини вносили в ампулу (скло Пірекс), заливали 200-кратним надлишком 6М розчину кислоти хлористоводневої, відкачували повітря, запаювали, поміщали у термостат на 20 год при температурі 80°C і гідролізували. Після цього ампулу розкривали, надлишок кислоти хлористоводневої відганяли при температурі 100°C і подальшу нейтралізацію проб проводили в екзикаторі над натрію гідроксидом протягом 2 діб. Потім пробу розбавляли 10 мл цитратного буферного розчину рН 2,2, перемішували і фільтрували. Одержаний фільтрат вносили у колонку, заповнену іонообмінною смолою, і крізь колонку за допомогою насоса пропускали цитратні буферні розчини з різними значеннями рН і різною іонною силою, що сприяло розділенню амінокислот.

Елюат, який виходив із колонки, змішувався з нінгідриновим реагентом у реакторі при тем-

Таблиця 1

РЕЗУЛЬТАТИ ВИЗНАЧЕННЯ ЯКІСНОГО СКЛАДУ ТА КІЛЬКІСНОГО ВМІСТУ АМІНОКИСЛОТ У ТРАВІ ЛЯДВЕНЦЯ УКРАЇНСЬКОГО

Речовина	Загальна формула	R _f БОВ (4: 1: 2)*	Вміст вільних амінокислот		Вміст зв'язаних амінокислот	
			мкмоль/ г	мг/ г	мкмоль/ г	мг/ г
Аспарагінова кислота	C ₄ H ₇ O ₄ N	0,16	4,0	0,57	3,7	0,5
Треонін	C ₄ H ₉ O ₃ N	0,18	1,2	0,14	2,0	0,25
Серин	C ₃ H ₇ O ₃ N	0,15	1,7	0,18	2,5	0,25
Глутамінова кислота	C ₅ H ₉ O ₄ N	0,17	4,5	0,66	3,5	0,5
Пролін	C ₅ H ₉ O ₂ N	0,24	3,3	0,4	1,0	0,12
Гліцин	C ₂ H ₅ O ₂ N	0,21	2,5	0,19	3,5	0,25
Аланін	C ₃ H ₇ O ₂ N	0,20	3,0	0,27	2,7	0,24
Валін	C ₅ H ₁₁ O ₂ N	0,43	2,0	0,22	1,5	0,17
Метіонін	C ₅ H ₁₁ O ₂ NS	0,39	1,0	0,15	0,9	0,14
Ізолейцин	C ₆ H ₁₃ O ₂ N	0,72	1,3	0,17	1,2	0,16
Лейцин	C ₆ H ₁₃ O ₂ N	0,63	2,0	0,25	2,5	0,3
Тирозин	C ₉ H ₉ O ₃ N	0,57	0,9	0,15	1,0	0,18
Фенілаланін	C ₉ H ₉ O ₂ N	0,32	1,8	0,3	1,0	0,17
Гістидин	C ₆ H ₉ O ₃ N	0,10	0,8	0,12	0,7	0,12
Лізин	C ₆ H ₁₄ O ₂ N	0,05	0,3	0,045	1,8	0,27
Аргінін	C ₆ H ₁₄ O ₂ N	0,04	0,55	0,097	0,8	0,15

РЕЗУЛЬТАТИ ВИЗНАЧЕННЯ ЯКІСНОГО СКЛАДУ
ТА КІЛЬКІСНОГО ВМІСТУ АМІНОКИСЛОТ У ТРАВІ ЛЯДВЕНЦЯ ПОЛЬОВОГО

Речовина	Загальна формула	Rf БОВ (4: 1: 2)*	Вміст вільних амінокислот		Вміст зв'язаних амінокислот	
			мкмоль/г	мг/г	мкмоль/г	мг/г
Аспарагінова кислота	$C_4H_7O_4N$	0,16	2,9	0,32	2,8	0,37
Треонін	$C_4H_9O_3N$	0,18	1,5	0,18	2,0	0,24
Серин	$C_3H_7O_3N$	0,15	2,0	0,2	2,5	0,27
Глутамінова кислота	$C_5H_9O_4N$	0,17	2,25	0,33	4,45	0,65
Пролін	$C_5H_9O_3N$	0,24	1,2	0,14	1,6	0,18
Гліцин	$C_2H_5O_2N$	0,21	0,8	0,06	4,6	0,34
Аланін	$C_3H_7O_2N$	0,20	2,0	0,18	3,3	0,33
Валін	$C_6H_{11}O_2N$	0,43	1,2	0,135	2,0	0,24
Метіонін	$C_5H_{11}O_2NS$	0,39	0,3	0,045	1,2	0,18
Ізолейцин	$C_6H_{11}O_2N$	0,72	0,9	0,118	1,4	0,185
Лейцин	$C_6H_{13}O_2N$	0,63	1,6	0,2	3,0	0,4
Тирозин	$C_9H_9O_3N$	0,57	0,45	0,08	1,3	0,23
Фенілаланін	$C_9H_9O_2N$	0,32	0,6	0,1	1,6	0,26
Гістидин	$C_6H_9O_3N$	0,10	0,45	0,07	0,8	0,13
Лізин	$C_6H_{11}O_2N$	0,05	0,8	0,115	2,0	0,3
Аргінін	$C_6H_{14}O_2N$	0,04	0,7	0,12	0,7	0,12

пературі 135°C. У реакторі проходила реакція між нінгідриним і амінокислотами з утворенням забарвлених сполук. Кількість утворених забарвлених сполук прямо пропорційна кількості амінокислоти в елюаті. Потім суміш надходила до фотометра, де вимірювалася інтенсивність поглинання забарвленої сполуки. Вихідний сигнал фотометра надходив на двоканальний самописець, який реєстрував концентрації амінокислот на хроматограмі у вигляді серії піків. Час утримування піку, який визначали за хроматограмою, характеризує кожну індивідуальну амінокислоту. Площа піку відповідає кількості присутньої амінокислоти. Електричний сигнал самописця також поступав на інтегратор, який автоматично обчислював площу кожного піку. Для калібровки амінокислотного аналізатора крізь катіоніт пропускали стандартну суміш амінокислот [3, 11].

Вивчення елементного складу досліджуваних зразків трави лядвенця

Проби подрібненої сировини обробляли кислотою сульфатною і спалювали у муфельній печі при температурі 500°C протягом 1 год.

Для вивчення якісного та кількісного елементного складу досліджуваних зразків трави лядвенця був застосований метод атомно-абсорбційної спектроскопії, який полягає у випарюванні проб в дуговому розряді, фотографічній реєстрації розкладеного спектра випромінювання і у вимірюванні спектральних ліній окремих елементів. Проби випарювали з кратерів графітових електродів у розряді дуги змінного струму силою 16

А при експозиції 60 с; як джерело збудження спектрів використовували ІВС-28. Реєстрували спектри на фотопластинках за допомогою спектрографа ДФС-8 із трілінзовою системою освітлення щілини та дифракційним штахетом 600 штр / мм. Вимірювання інтенсивності ліній у спектрах досліджуваних проб проводили за допомогою мікрофотометра МФ-4 за довжини хвилі від 240 нм до 347 нм у порівнянні зі стандартними зразками елементів [4, 6]. У результаті досліджень визначений вміст 15 макро- та мікроелементів. Результати досліджень наведені у табл. 3.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Результати досліджень амінокислотного складу трави лядвенця українського та лядвенця польового наведені у табл. 1, 2. У сировині трави лядвенця ідентифіковано 16 амінокислот, у тому числі 9 незамінних: треонін, валін, ізолейцин, лейцин, фенілаланін, гістидин, лізин, аргінін та метіонін. Встановлено, що домінуючими є аспарагінова кислота, глутамінова кислота, серин, аланін, валін, лейцин, пролін.

У результаті вивчення макро- та мікроелементного складу (табл. 3) у траві лядвенця українського та лядвенця польового встановлена наявність 15 елементів, з яких домінуючими є К, Са, Si, Р, Mg. Вміст кальцію склав у траві лядвенця українського 660 мг/100г, у траві лядвенця польового — 820 мг/100г, який відіграє важливу роль у забезпеченні кислотно-лужної рівноваги, бере участь у процесі зсідання крові, контролює проникність судинної стінки, бере

Таблиця 3

**РЕЗУЛЬТАТИ ВИЗНАЧЕННЯ ЕЛЕМЕНТНОГО
СКЛАДУ ДОСЛІДЖУВАНИХ
ЗРАЗКІВ ТРАВИ ЛЯДВЕНЦЯ**

Елементи	Вміст елемента, мг/100 г	
	трава лядвенця українського	трава лядвенця польового
Fe	15	9
Si	410	500
Al	80	50
Mn	7	8
Mg	230	270
Pb	0,04	0,05
Mo	0,2	0,5
P	130	140
K	2310	2820
Ni	0,2	0,5
Ca	660	820
Cu	0,8	0,7
Zn	0,8	0,9
Na	50	60
Sr	1,5	2

участь у регуляції м'язового тонуусу і тонуусу судин. Кальцій має велике значення для побудови кістково-хрящової тканини. Вміст кремнію складає 410–500 мг/100 г, він сприяє синтезу колагену, зниженню проникності судинної стінки, бере участь у імунологічних процесах, стимулює фагоцитоз. Магній (його вміст склав 230–270 мг/100 г) бере участь у регуляції нервово-м'язової передачі, запобігаючи тим самим підвищеному тонуусу матки, необхідний також для правильного утворення кісток, виявляє заспокійливу дію та нормалізує сон. Калій, вміст якого склав 2310–2820 мг/100 г, відіграє важливу роль у регуляції водно-сольового обміну, підтриманні тонуусу і автоматичному скороченні серцевого м'яза та видаленні з організму води.

В усіх досліджених зразках трави лядвенця у межах чутливості методу атомно-адсорбційної спектроскопії були відсутні арсен, ртуть, кобальт, сурма, ванадій та германій.

ВИСНОВКИ

1. Вперше досліджено якісний склад та кількісний вміст амінокислот з трави лядвенців українського та польового. Встановлено наявність 16 амінокислот, у тому числі 9 незамінних. Домінуючими є аспарагінова та глутамінова кислоти, серин, аланін, валін, лейцин, пролін.
2. Вперше встановлений склад 15 макро- та мікроелементів у досліджуваних зразках

трави лядвенця, з яких домінуючими є К, Са, Si, Р, Mg.

**ПЕРЕЛІК ВИКОРИСТАНИХ
ДЖЕРЕЛ ІНФОРМАЦІЇ**

1. Авцин А. П., Жаворонков А. А., Риш М. А. Микроэлементы человека. — М.: Медицина, 1991. — 496 с.
2. Біохімія: підручник / [М. Є. Кучеренко, Ю. Д. Бабенюк, О. М. Васильєв, Р. П. Виноградова та ін.] — К.: Видавничо-поліграфічний центр «Київський університет», 2002. — 480 с.
3. Западнюк В. И., Купраш Л. П., Заика М. У., Безверхая И. С. Аминокислоты в медицине / [В. И. Западнюк, Л. П. Купраш, М. У. Заика, И. С. Безверхая] — К.: Здоров'я, 1982. — 200 с.
4. Затильнікова О. О., Ковальов С. В. Вивчення амінокислотного та мінерального складу підземних органів *Iris pseudacorus* L. / О. О. Затильнікова, С. В. Ковальов // Фармаком. — 2009. — № 1. — С. 45–47.
5. Исаев Ю. А. Лечение микроэлементами, металлами и минералами. — К.: Здоров'я, 1992. — 118 с.
6. Ковальов С. В. Вивчення амінокислотного та елементного складу деяких видів роду *Medicago* L. / С. В. Ковальов // Медична хімія. — 2008. — Т. 10, № 4. — С. 99–103.
7. Ковальов С. В. Кількісне визначення фенольних сполук у траві деяких видів лядвенця / С. В. Ковальов // Фармац. часопис. — 2009. — № 2 (10). — С. 25–28.
8. Ковальов С. В. Флавоноиды *Lotus ucrainicus* L. и *L. arvensis* L. / С. В. Ковальов // ХПС. — 2009. — № 4. — С. 465–466.
9. Ковальов С. В. Дослідження ліпофільних фракцій трави лядвенців українського та польового / С. В. Ковальов // Вісник фармації. — 2010. — № 1. — С. 43–45
10. Мазо В. К. Антиоксиданты пищи / В. К. Мазо // Рос. журн. гастроэнтерол., гепатол. и колопроктол. — 2001. — Т. XI, № 4. — С. 118–121.
11. Новые методы анализа аминокислот, пептидов и белков / Пер. с англ. под ред. Ю. А. Овчинникова. — М.: Мир, 1974. — 462 с.
12. Тутельян В. А. Новые стратегии в лечебном питании. — М.: Медицина, 2002. — 144 с.
13. Тутельян В. А., Спиричев В. Б., Суханов Б. П., Кудашева В. А. Микронутриенты в питании здорового и больного человека / [В. А. Тутельян, В. Б. Спиричев, Б. П. Суханов, В. А. Кудашева] — М.: Колос, 2002. — 423 с.

УДК 615.1: 577.112.3: 582.736: 577.118

С. В. Ковалев

ИССЛЕДОВАНИЕ ВЕЩЕСТВ ПЕРВИЧНОГО СИНТЕЗА

ТРАВЫ ЛЯДВЕНЦА УКРАИНСКОГО И ЛЯДВЕНЦА ПОЛЕВОГО

Приведены результаты исследования качественного состава и количественного содержания аминокислот в траве лядвенца украинского и лядвенца полевого. Установлено наличие 16 аминокислот, в том числе 9 незаменимых. Доминирующими являются аспарагиновая и глутаминовая кислоты, серин, аланин, валин, лейцин, пролин. Найдено также 15 макро- и микроэлементов, из которых доминируют калий, кальций, магний, кремний, фосфор.

Ключевые слова: лядвенец; аминокислоты; макро- и микроэлементы

UDC 615.1: 577.112.3: 582.736: 577.118

S. V. Kovalev

RESEARCH OF PRIMARY METABOLITS

IN LOTUS UKRAINICUS AND LOTUS ARVENSIS HERBS

The aminoacids and element's content were studied in *Lotus ukrainicus* and *Lotus arvensis* herbs. Qualitative composition and quantitative contents of aminoacids were studied. 16 aminoacids were identified; 9 of them are essential. Dominant aminoacids are: aspartic and glutamic acids, serine, alanine, valine, leucine, proline. 15 macro- and microelements were found in herbal drug, potassium, calcium, magnesium, silicon, phosphorus, prevail among them.

Key words: *Lotus*; aminoacids; macro- and microelements

Адреса для листування:

61168, м. Харків, вул. Блюхера, 4.

Кафедра фармакогнозії НФаУ

Тел. роб. 0572-67-92-08

e-mail: gnosy@ukrfa.kharkov.ua

Надійшла до редакції:

12.02.10