

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

УДК 615.322:582.949.27:581.45:547.455:547.466:615.451.16

АМІНОКИСЛОТНИЙ ТА ЦУКРОВИЙ СКЛАД СПИРТОВОГО ЕКСТРАКТУ З ЛИСТЯ ШАВЛІЇ ЛІКАРСЬКОЇ

О.М.Кошовий, Г.П.Зайцев, А.М.Ковальова, А.М.Комісаренко

Національний фармацевтичний університет

Досліджено амінокислотний та цукровий склад спиртового екстракту листя шавлії лікарської, зокрема ідентифіковано 11 вільних та 13 зв'язаних амінокислот, шість з яких є незамінними — треонін, валін, ізолейцин, лейцин, фенілаланін і аргінін, та 4 моноцукри — глюкоза, галактоза, рамноза та арабіноза. У спиртовому екстракті листя шавлії лікарської встановлено вміст вільних (0,15%) та зв'язаних амінокислот (0,41%), моноцукрів (4,2%), вміст яких після гідролізу збільшується до 5,2%.

Вітчизняною фармацевтичною промисловістю у різних лікарських формах випускається антистафілококовий рослинний препарат “Хлорофіліпт” [4]. Як відомо, основними діючими речовинами препарату є хлорофіли *a* та *b*, терпеноїди, зокрема 1,8-цинеол. Щорічно для його виробництва в Україну імпортується близько 25 т листя евкаліпту, що робить українські фармацевтичні заводи залежними від іноземних постачальників.

Для зменшення цієї залежності з цінеоловмісної рослинної сировини, яка характерна для нашої кліматичної зони, нами для дослідження було обрано листя шавлії лікарської, яке можна використовувати для створення препарату, аналогічного “Хлорофіліпту”. Крім того, ця рослина культивується в Україні. Раніше повідомлялося про вивчення якісного складу та кількісного вмісту терпеноїдів та фенольних сполук листя шавлії лікарської (*Salvia officinalis*) та його спиртового екстракту [2, 3, 6, 8, 9]. Оскільки амінокислоти та вуглеводи чинять суттєвий вплив на біодоступність та загальний фармакотерапевтичний ефект екстракту, метою наших подальших досліджень було дослідження амінокислотного та цукрового складу спиртового екстракту листя шавлії лікарської.

Експериментальна частина

Об'єктом дослідження був густий спиртовий екстракт листя *Salvia officinalis*, одержаний з сировини, придбаної в аптеці (сер. 130409, ЗАТ “Ліктрави”, м. Житомир). Аналіз екстракту проводили згідно з ДФУ [1, 5].

Попереднє хроматографічне вивчення якісного складу амінокислот у спиртовому екстракті

листя шавлії лікарської проводили методом висхідної хроматографії на хроматографічному папері “Filtrak № 4” у системі розчинників н-бутанол — кислота оцтова — вода (4:1:2) (БОВ) [3, 7, 10]. Для порівняння використовували стандартний набір амінокислот (ТУ 6-09-3147-83) у концентрації 0,1%. Хроматограми обробляли 0,2% розчином нінгідрину в ацетоні та висушували у сушильній шафі при температурі 60-80°C.

Амінокислоти ідентифікували порівнянням з вірогідними зразками значень R_f при паралельному хроматографуванні. Виявлено 5 амінокислот (табл. 1).

Якісний і кількісний аналіз вільних та зв'язаних амінокислот в екстракті з листя шавлії лікарської проводили за допомогою вискоєфективного рідинного хроматографа фірми “Agilent Technologies” (модель 1100). У кількісному визначенні використовували стандартні розчини амінокислот (ТУ 6-09-3147-83). Для хроматографування використовували: колонку АА 200×2,1 мм та захисну передколонку; як рухома фаза — розчин А (20 мМ натрію ацетату та 0,018% триетиламін, доведений до рН 7,2 1-2% оцтовою кислотою з додаванням 0,3% тетрагідрофурану, та розчин В (40% CH_3CN , 40% MeOH та 20% 100 мМ натрію ацетату, доведений до рН 7,2 1-2% оцтовою кислотою); об'ємна швидкість потоку — 0,450 мл/хв; стискальність розчину А — $50 \cdot 10^{-6}$ бар, В — $115 \cdot 10^{-6}$ бар; температура колонки — 40°C; детектування проводили за допомогою УФ-детектора.

Для визначення зв'язаних амінокислот екстракт гідролізували, при цьому 0,1 г (точна наважка) екстракту вносили в ампулу (скло Пірекс), заливали 6 М розчином кислоти хлористоводневої у співвідношенні 1:200, відкачували повітря, запаявали, поміщали у термостат при температурі 80°C і гідролізували протягом 24 год. Після цього ампулу розкривали, вміст ампули центрифугували та фільтрували крізь мембранний тефлоновий фільтр з розміром пор 0,45 мкм в віалу для аналізу. Хроматограми, одержані при визначенні вмісту вільних та зв'язаних амінокислот, наведені на рис. 1 та 2 відповідно.

Таблиця 1

Амінокислотний склад спиртового екстракту з листя шавлії лікарської

Амінокислота	Час утримання, хв	Вміст амінокислот (мг на 100 г екстракту)		R _f БОВ (4:1:2)
		вільні	зв'язані	
Аспарагінова кислота	2,80	13,7	43,5	0,16
Глутамінова кислота	3,92	16,6	47,2	0,12
Серин	6,89	67,4	74,1	0,15
Гліцин	8,68	4,4	4,1	
Треонін	9,07	8,4	15,1	
Аргінін	10,62	0,0	53,9	
Тирозин	12,15	144,0	53,5	0,40
Цистеїн	12,86	0,0	55,3	
Валін	14,64	9,4	12,5	
Фенілаланін	15,91	12,0	13,5	0,71
Ізолейцин	16,45	10,4	18,7	
Пролін	16,48	2,3	5,2	
Лейцин	16,92	10,1	11,9	

Результати визначення якісного складу та кількісного вмісту вільних та зв'язаних амінокислот у спиртовому екстракті листя шавлії лікарської наведені в табл. 1.

У результаті дослідження амінокислотного складу спиртового екстракту листя шавлії лікарської ідентифіковано 11 вільних та 13 зв'язаних амінокислот, шість з яких є незамінними — треонін, валін, ізолейцин, лейцин, фенілаланін і аргінін. Як видно з табл. 1, в екстракті листя шавлії лікарської переважають тирозин, серин, глутамінова та аспарагінова кислоти, фенілаланін. Вміст вільних амінокислот складає 0,15%, а вміст зв'язаних — 0,41%.

Попередню ідентифікацію моноцукрів проводили за допомогою паперової хроматографії низхідним способом у системі н-бутанол — кислота оцтова — вода (4:1:2) з достовірними зразками нейтральних моноцукрів. Хроматограми проявляли розчином анілінфталату [6]. В екстракті були ідентифіковані глюкоза, галактоза та рамноза, а після гідролізу ще й арабіноза.

Аналіз цукрів проводили на хроматографі фірми “Agilent Technologies” (модель 1100), який укомплектований проточним вакуумним дегазатором G1379A, 4-и каналним насосом градієнта низького тиску G1311A, автоматичним інжекто-

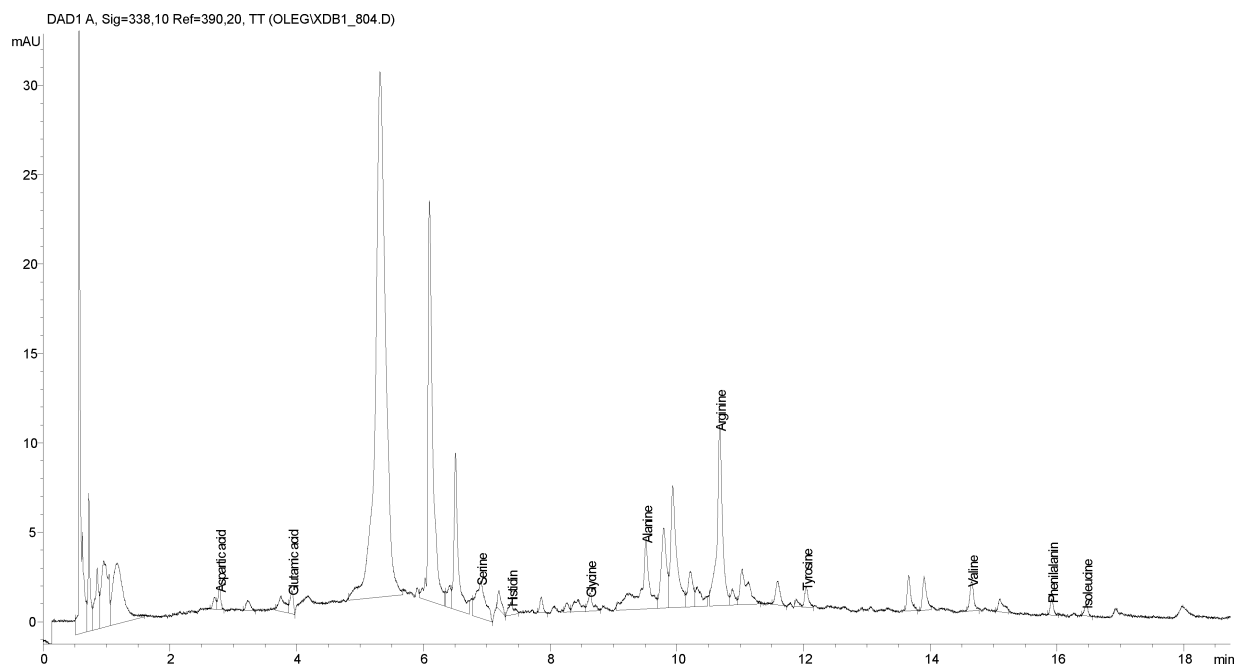


Рис. 1. Хроматограма, одержана при визначенні вмісту вільних амінокислот у спиртовому екстракті листя шавлії лікарської.

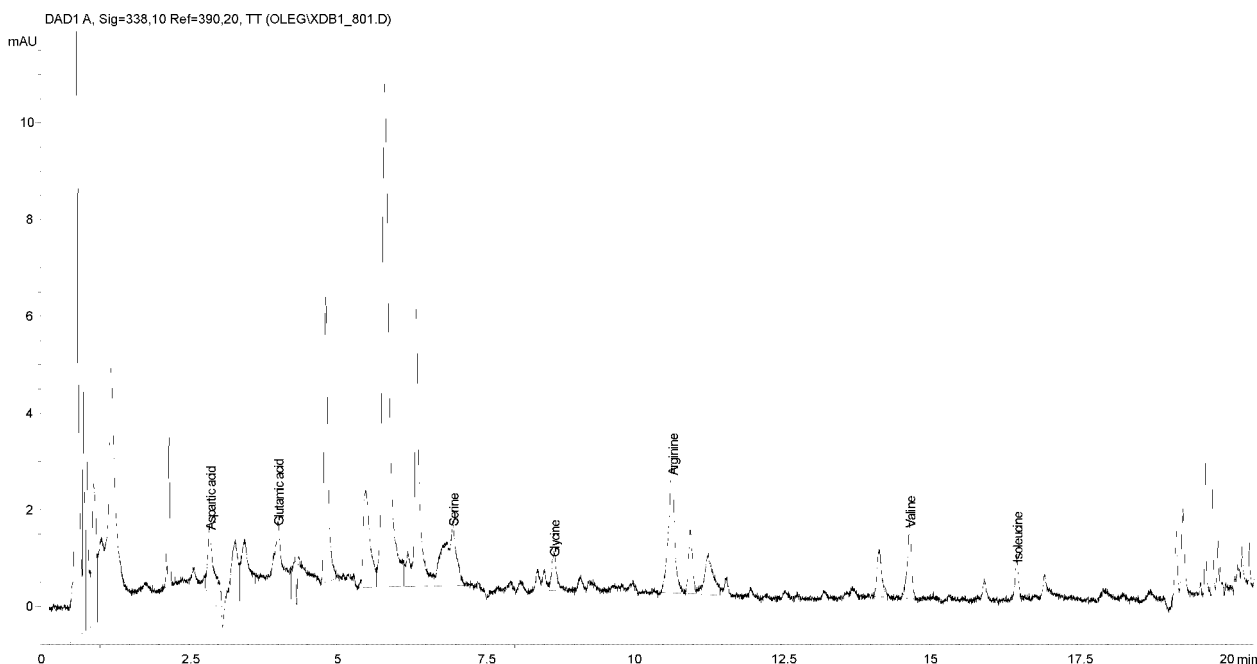


Рис. 2. Хроматограма, одержана при визначенні вмісту зв'язаних амінокислот у спиртовому екстракті листя шавлії лікарської.

Таблиця 2
Цукровий склад спиртового екстракту
з листя шавлії лікарської

Моноцукри	Час утримання, хв	Вміст моноцукрів (мг на 100 г екстракту)	
		до гідролізу	після гідролізу
Глюкоза	11,94	1678	4534
Галактоза	12,47	184	148
Рамноза	12,81	2384	435
Арабіноза	13,74	0	74

ром G1313A, термостатом колонок G13116A та рефрактометричним детектором G1362A. Для проведення аналізу була використана карбогідратна хроматографічна колонка розміром 7,8×300 мм “Supelcogel-S610H” та встановлений такий режим хроматографування: швидкість подачі рухомої фази — 0,5 мл/хв, елюент — 0,1% водний розчин H_3PO_4 , робочий тиск елюенту — 33-36 кПа, температура термостату колонки — 30°C, об'єм проби — 5 мкл. Параметри рефрактометричного детектування були такі: масштаб вимірювання 1,0, час сканування — 0,5 с. Ідентифікацію цукрів проводили за часом утримання стандартів.

Для аналізу зв'язаних цукрів проводили кислотний гідроліз, для чого в скляну віалу на 5 мл вносили 400 мг екстракту (точна наважка) та до-

давали 5 мл 6 М розчину хлористоводневої кислоти. Після цього віалу герметично закривали та витримували протягом 24 год при 100°C в термошафі. Після охолодження вміст віали центрифугували та фільтрували крізь мембранний тефлоновий фільтр з розміром пор 0,45 мкм у віалу для аналізу.

Результати визначення якісного складу та кількісного вмісту цукрів у спиртовому екстракті листя шавлії лікарської наведені в табл. 2.

У результаті дослідження цукрового складу спиртового екстракту листя шавлії лікарської ідентифіковано 4 моноцукри. В екстракті були ідентифіковані глюкоза, галактоза та рамноза, а після гідролізу ще й арабіноза. Вміст моноцукрів у спиртовому екстракті листя шавлії лікарської складає 4,2%, а після гідролізу збільшується до 5,2%.

ВИСНОВКИ

1. Досліджено амінокислотний та цукровий склад спиртового екстракту листя шавлії лікарської, зокрема ідентифіковано 11 вільних та 13 зв'язаних амінокислот, шість з яких є незамінними — треонін, валін, ізолейцин, лейцин, фенілаланін і аргінін, та 4 моноцукри — глюкоза, галактоза, рамноза та арабіноза.

2. У спиртовому екстракті листя шавлії лікарської встановлено вміст вільних (0,15%) та зв'язаних амінокислот (0,41%), моноцукрів (4,2%), вміст яких після гідролізу збільшується до 5,2%.

ЛІТЕРАТУРА

1. Державна фармакопея України / ДП “Науково-експертний фармакопейний центр”. — 1-е вид. — Доп. 2. — Х.: ДП “Науково-експертний фармакопейний центр”, 2008. — 620 с.
2. Кошовий О.М., Комісаренко А.М., Ковальова А.М., Мудрик І.М. // Фітотерапія. Часопис. — 2005. — №3. — С. 59-62.

3. Кошовий О.М., Передерій Є.О., Ковальова А.М., Комісаренко А.М. // *Фармац. часопис.* — 2010. — №1. — С. 17-19.
4. Пат. № 5242 Україна, МПК А 61 К 35/78. Спосіб одержання хлорофілінту / В.Л.Надтока, Н.Г.Божко, А.О.Грижко. — №2753048/SU. — Заявл.: 25.04.79. Опубл.: 28.12.94. — Бюл. №7-1.
5. *European Pharmacopoeia.* — 4-th ed. — Strasbourg: Council of Europe, 2001. — 2416 p.
6. Lu Yinrong, Foo L. Yeap // *Phytochem.: The International J. of Plant Biochem.* — 1999. — Vol. 51, №1. — P. 57-63.
7. Spiller G., Shipley E. // *World Rew. Nutr. Diet.* — 1977. — Vol. 43, №27. — P. 105.
8. Velickovic Anas L., Smelecerovic Andrija A., Randjelovic Novica V. et al. // *J. Serb. Chem. Soc.* — 2003. — Vol. 68, №1. — P. 57-63.
9. Vernon H. Heywood. *Popular Encyclopedia of plants.* — Cambridge University Press. — 1982. — 368 p.
10. *WHO monographs on selected medicinal plants.* — Geneva: World Health Organization, 2002. — Vol. 2 — 586 p.

615.322:582.949.27:581.45:547.455:547.466:615.451.16
АМИНОКИСЛОТНЫЙ И САХАРНЫЙ СОСТАВ СПИР-
ТОВОГО ЭКСТРАКТА ИЗ ЛИСТЬЕВ ШАЛФЕЯ ЛЕКАР-
СТВЕННОГО

О.Н.Кошевой, Г.П.Зайцев, А.М.Ковалева, А.Н.Комиссаренко
Исследованы аминокислотный и сахарный состав спирто-
вого экстракта листьев шалфея лекарственного, в частности
идентифицировано 11 свободных и 13 связанных аминокис-
лот, шесть из которых являются незаменимыми — треонин,
валин, изолейцин, лейцин, фенилаланин и аргинин, и 4
моносахарида — глюкоза, галактоза, рамноза и арабиноза.
В спиртовом экстракте листьев шалфея лекарственного
установлено содержание свободных (0,15%) и связанных
аминокислот (0,41%), моносахаридов (4,2%), содержание
которых после гидролиза увеличивается до 5,2%.

UDC 615.322:582.949.27:581.45:547.455:547.466:615.451.16
THE AMINO ACID AND SUGAR COMPOSITION OF THE
ALCOHOLIC EXTRACT FROM *SALVIA OFFICINALIS*
LEAVES

O.M.Koshovoy, G.P.Zaytsev, A.M.Kovaleva, A.M.Komisarenko
The amino acid and sugar composition of the alcoholic extract
from *Salvia officinalis L.* leaves has been studied. In particular,
11 free and 13 fixed amino acids, six of them are essential —
threonine, valine, isoleucine, leucine, phenylalanine and argi-
nine, as well as 4 monosugars — glucose, galactose, rhamnose
and arabinose have been identified. In the extract from *Salvia*
officinalis L. leaves the composition of free (0.15%) and fixed
amino acids (0.41%), monosugars (4.2%), which content after
hydrolysis increases to 5.2%, has been determined.