

**ДОСЛІДЖЕННЯ ВМІСТУ АМІНОКИСЛОТ У КВІТКАХ ХРИЗАНТЕМИ
НИЗЬКОРОСЛОЇ (*CHRYSANTHEMUM XHORTORUM BAILEYL.*)**

Ключові слова: біологічно активні речовини, амінокислоти, хризантема
низькоросла, квітки, хроматографічний метод

Амінокислоти мають важливі функції в організмі людини. Вони – важливі комплекси біологічно активних речовин, що є структурними елементами білка [1, 2].

Амінокислоти беруть участь у синтезі ферментів, алкалоїдів, флавоноїдів, стероїдних сполук, поліфенолів, вітамінів, пігментів [3, 4.]. Препарати амінокислот широко використовують у медицині для лікування захворювань шлунково-кишкового тракту, печінки, у разі гіпоксії та аритмії, для профілактики атеросклерозу, поліпшення серцевого кровообігу та заспокоєння збудженої центральної нервової системи [5, 6]. Лікарські рослини, що містять значну кількість амінокислот, є перспективними для створення нових лікарських препаратів.

Метою наших досліджень було вивчення амінокислотного складу квіток хризантеми низькорослої сортів Finos, Grandeur, Apro, Belgo, Ostora.

Матеріали та методи дослідження

Ці сорти хризантеми низькорослої вирощені на дослідних ділянках ботанічного саду «Червона калина» Тернопільського державного медичного університету імені І. Я. Горбачевського. Сировину збирали під час масового цвітіння рослин.

Визначення амінокислот здійснювали хроматографічним методом на хроматографі Agilent Technologies 1100 (США). Для виконання аналізу була використана хроматографічна колонка розміром 4,6×50 мм, заповнена октадецилсилильним сорбентом із зернистістю 1,8 мкм, «ZORBAX-XDB-C₁₈».

Вільні амінокислоти із квіток досліджуваних сортів хризантеми низькорослої вилучали у віалі 0,1 л водним розчином кислоти хлористоводневої, яка містила 0,2% β-меркаптоетанолу. Віалу герметично закривали і вміщували на 2 год в ультразвукову баню за температури 50 °С. Для визначення загального вмісту амінокислот у досліджуваних об'єктах після гідролізу у віалу додавали 3 мл 6 моль/л водного розчину хлористоводневої кислоти, яка містила 0,4% β-меркаптоетанолу. Віалу герметично закривали і витримували 24 год за температури 110 °С.

Віали із приготовленими зразками центрифугували і їх вміст фільтрували. Відбирали 100 мкл фільтрату для визначення вмісту вільних амінокислот та 20 мкл фільтрату для визначення загального вмісту амінокислот і вміщували у вакуумний ексикатор за температури 40–45 °С і тиску 1,5 мм. рт. ст. до повного видалення кислоти хлористоводневої. Потім у віалу для аналізу послідовно додавали автоматичним дозатором – 200 мкл 0,8 моль/л боратного буферу з рН 9,0, 200 мкл 20 ммоль/л розчину 9-флуоренілметоксікарбоніл хлориду в ацетонітрилі, через 10 хв у реакційну віалу додавали 20 мкл 150 ммоль/л розчину амантадину гідрохлориду в 50% водному розчині ацетонітрилу.

Хроматографічний аналіз здійснювали у градієнтному режимі елюювання з такими рухомими фазами: А – 0,05 моль/л водний розчин ацетату натрію, рН 6,5; В – 0,10 моль/л водний розчин ацетату натрію: ацетонітрил (23:22, v/v), рН 6,5; С – вода; D – ацетонітрил. Умови хроматографування такі: робочий тиск елюента 220–275 кПа; температура термостата

колонки 50 °С; об'єм введеної проби – 2 мкл. Параметри детектування: масштаб вимірювань 1,0; час сканування 0,5 с. Довжина хвилі детектування 265 нм. Ідентифікацію амінокислот здійснювали за часом утримування (RT) стандартів [7, 8, 9].

Результати дослідження та обговорення

За результатами ВЕРХ-аналізу у квітках хризантеми низькорослої сортів Finos, Grandeur, Apro, Belgo, Ostora ідентифіковано 19 амінокислот, з яких 8 (треонін, валін, метіонін, ізолейцин, лейцин, фенілаланін, гістидин, лізин) належать до незамінних, які попадають в організм людини разом із продуктами харчування, та 11 (глутамін, аспарагін, серин, аргінін, гліцин, аланін, пролін, цистеїн, тирозин, аспарагінова і глутамінова кислоти) – до замінних кислот (рис. 1–5). Замінні амінокислоти синтезуються в організмі людини у потрібній кількості з незамінних [1].

Серед незамінних амінокислот, як випливає з таблиці, найбільший загальний вміст припадає на треонін – 355,3 мг/100 г у квітках хризантеми низькорослої сорту Finos, 340 мг/100 г – сорту Apro та 320,1 мг/100 г – сорту Belgo. Також у значних кількостях у квітках хризантеми низькорослої сорту Finos у зв'язаному вигляді виявлено лейцин – 351,0 мг/100 г, лізин – 344,2 мг/100 г та фенілаланін – 311,5 мг/100 г.

У квітках найбільше виявлено проліну, який, згідно з даними літератури, сприяє відновленню хрящових поверхонь суглобів, укріплює серцевий м'яз [10]. Так, у квітках хризантеми низькорослої сорту Finos вміст цієї амінокислоти становив 2 475,6 мг/100 г, сорту Grandeur – 2 626,3 мг/100 г, сорту Belgo – 2 939,0 мг/100 г, сорту Ostora – 2 356,1 мг/100 г.

Результати досліджень показали, що хімічний склад квіток досліджуваних сортів хризантеми низькорослої дуже різноманітний. Вважаємо доцільним подальше фітохімічне дослідження цих рослин.

Т а б л и ц я

Вміст амінокислот у квітках деяких сортів хризантеми низькорослої (в мг/100 г, у перерахунку на абсолютно суху сировину)

Амінокислота	Сорти хризантеми низькорослої									
	Finos		Grandeur		Apro		Belgo		Ostora	
	ЗА	ВА	ЗА	ВА	ЗА	ВА	ЗА	ВА	ЗА	ВА
Аспарагінова кислота	2 456,1	21,0	826,2	20,1	1 892,9	51,6	779,8	12,6	985,2	37,6
Глутамінова кислота	2 262,6	36,1	923,8	33,3	1 059,3	32,2	879,6	18,7	1 094,2	56,8
Аспарагін	5,8	580,3	9,4	45,6	0,0	872,8	0,0	131,5	24,2	7,7
Глутамін	0,0	344,3	0,0	75,4	28,3	191,6	0,0	141,6	0,0	206,3
Серин	424,1	43,9	339,5	17,0	462,6	93,7	343,3	32,2	354,6	56,6
Аргінін	1 273,0	157,4	657,2	45,1	1 161,3	159,4	605,5	50,0	750,8	62,6
Гліцин	363,4	168,8	318,1	23,7	348,0	127,1	332,0	31,0	374,7	50,8
Треонін*	355,3	22,1	289,7	7,7	340,0	22,4	320,1	38,7	312,5	17,3
Аланін	504,0	25,7	495,9	20,4	468,9	63,6	474,0	45,2	560,8	20,6
Пролін	2 475,6	2 466,0	2 626,3	2 618,3	1 681,3	1 468,1	2 939,0	2 935,7	2 356,1	1 962,1
Валін*	275,1	19,2	192,3	14,4	219,0	19,9	282,9	52,3	293,2	43,2
Метіонін*	20,4	1,3	22,1	0,0	29,3	6,8	24,0	0,0	18,8	2,8
Ізолейцин*	188,3	7,5	137,0	2,6	181,0	5,7	199,5	29,9	242,3	10,1
Лейцин*	351,0	8,6	227,7	4,4	298,4	9,0	272,0	10,6	296,6	7,2
Фенілаланін*	311,5	77,9	165,5	25,4	233,8	48,4	196,2	40,0	230,5	74,6
Цистеїн	33,2	31,4	21,0	18,7	20,9	18,8	16,4	15,4	7,4	6,6
Гістидин*	188,0	24,9	180,9	11,4	184,3	31,9	157,0	16,6	184,5	17,4
Лізин*	344,2	40,1	202,0	8,2	273,7	22,9	229,8	19,1	272,1	15,0
Тирозин	208,0	9,7	259,5	14,8	221,7	6,5	240,6	16,0	275,8	21,4

Пр и м і т к и: ЗА – зв'язані амінокислоти, ВА – вільні амінокислоти, * – незамінні амінокислоти.

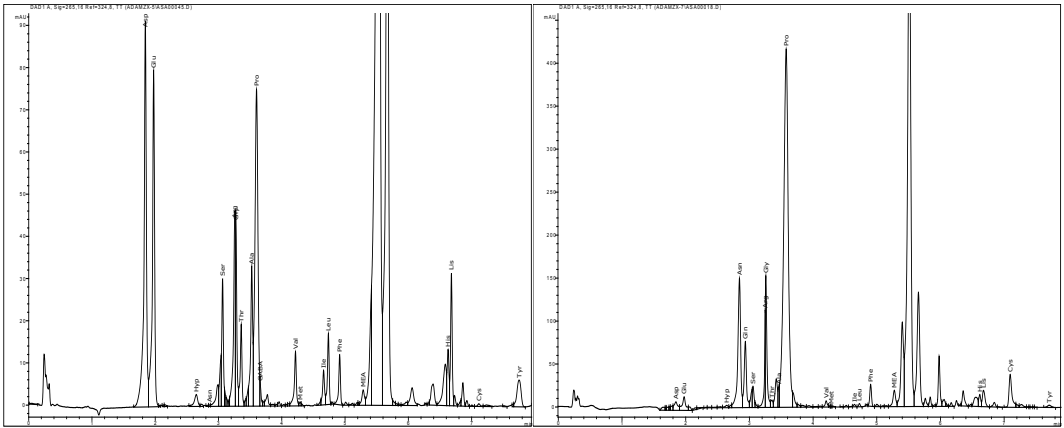


Рис. 1. Хроматограма зв'язаних та вільних амінокислот у квітках хризантеми низькорослої сорту Finos

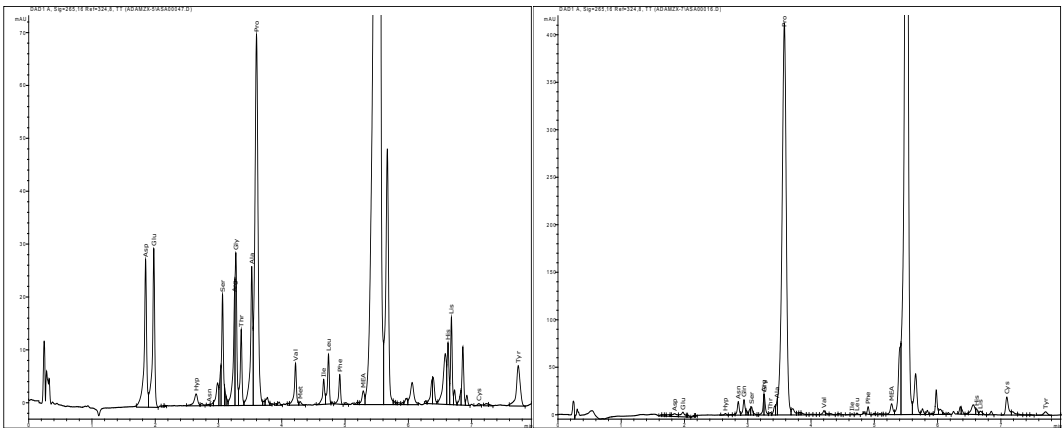


Рис. 2. Хроматограма зв'язаних та вільних амінокислот у квітках хризантеми низькорослої сорту Grandeur

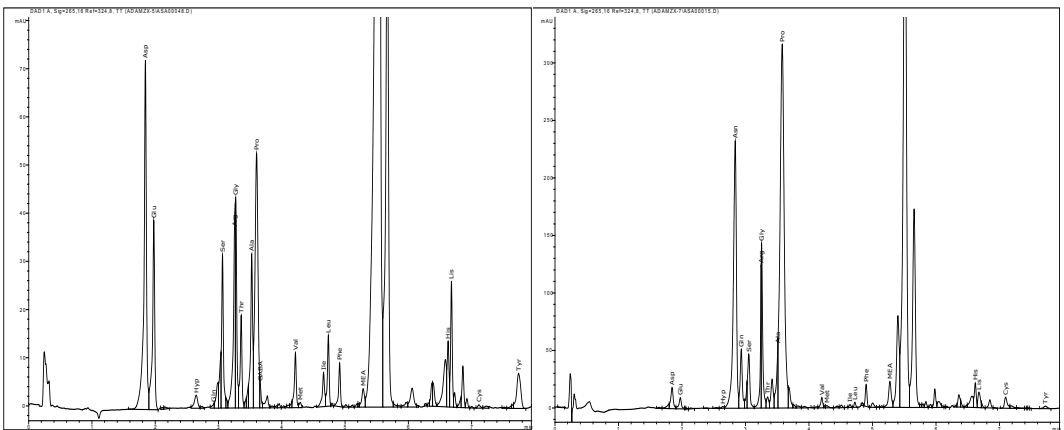


Рис. 3. Хроматограма зв'язаних та вільних амінокислот у квітках хризантеми низькорослої сорту Argo

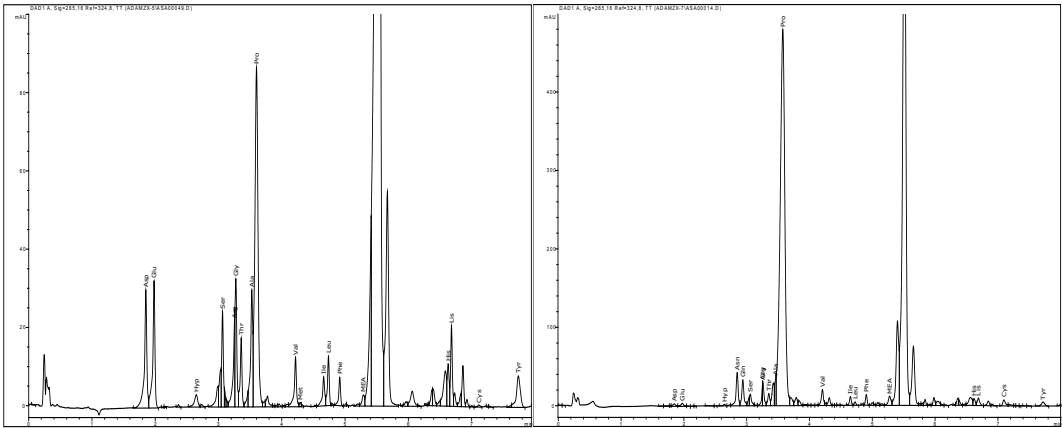


Рис. 4. Хроматограма зв'язаних та вільних амінокислот у квітках хризантеми низькорослої сорту *Belgo*

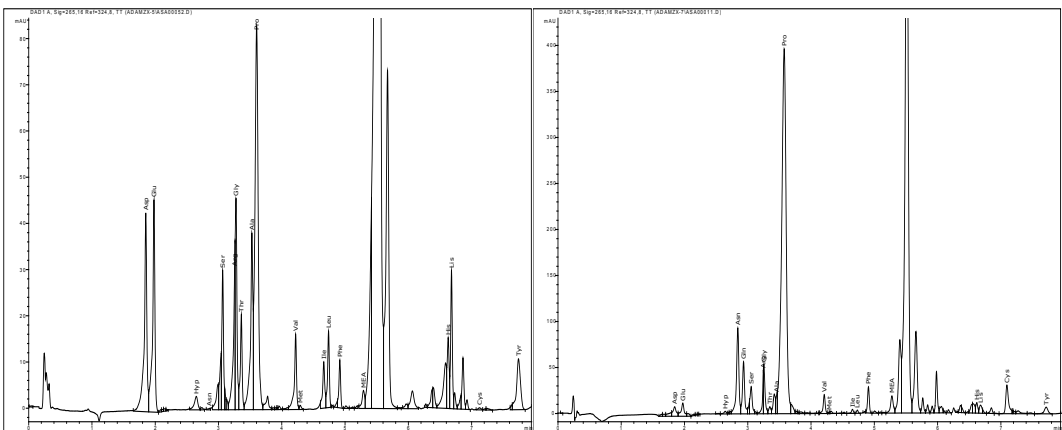


Рис. 5. Хроматограма зв'язаних та вільних амінокислот у квітках хризантеми низькорослої сорту *Ostora*

Висновки

1. Вперше визначено якісний склад і кількісний вміст амінокислот у квітках хризантеми низькорослої сортів: *Finos*, *Grandeur*, *Apro*, *Belgo*, *Ostora*.

2. За результатами ВЕРХ-аналізу у квітках хризантеми низькорослої сортів *Finos*, *Grandeur*, *Apro*, *Belgo*, *Ostora* ідентифіковано 19 амінокислот, з яких 8 (треонін, валін, метіонін, ізолейцин, лейцин, фенілаланін, гістидин, лізин) належать до незамінних, які попадають в організм людини разом із продуктами харчування, та 11 (глутамін, аспарагін, серин, аргінін, гліцин, аланін, пролін, цистеїн, тирозин, аспарагінова і глутамінова кислоти) – до замінних кислот.

ЛІТЕРАТУРА

1. *Броновицкая З. Г.* Аминокислоты, их производные и регуляция метаболизма. – Ростов, 1983. – 112 с.
2. *Герасимов В. М.* Амінокислотний склад ефіроолійних видів роду деревій флори України // Фармац. журн. – 2006. – № 3. – С. 90–92.
3. *Гонтова Т. М.* Амінокислотний склад трави та коренів живокосту лікарського та живокосту кавказького // Там само. – 2009. – № 1. – С. 117–119.
4. *Мазулін Г. В., Мазулін О. В., Колошина Н. О.* Новий підхід до використання відомостей про вміст амінокислот у рослинах родів чебрець, материнка та майоран в наукових дослідженнях та навчальному процесі // Там само. – 2002. – № 1. – С. 65–67.
5. *Западняк В. И., Купраш Л. П., Заика М. У., Безверхая И. С.* Аминокислоты в медицине. – К.: Здоров'я, 1982. – 200 с.
6. *Машковский М. Д.* Лекарственные средства. 13-е изд., новое. – Харьков: Торсинг, 1998. – Т. 2. – 592 с.
7. *Козачок С. С.* Исследование содержания аминокислот в антиаллергическом сборе / Молодые учёные и фармация XXI века: Сб. науч. трудов, 25–26 февраля, Москва, 2013. – С. 84–87.
8. *Jámbor A.* Amino acid analysis by high-performance liquid chromatography after derivatization with 9-fluorenylmethylloxycarbonyl chloride. Literature overview and further study // J. Chromatography A. – 2009. – V. 1216. – P. 3064–3077.
9. *Jámbor A.* Quantitation of amino acids in plasma by high performance liquid chromatography: Simultaneous deproteinization and derivatization with 9-fluorenylmethylloxycarbonyl chloride // Ibid. – 2009. – V. 1216. – P. 6218–6223.
10. *Лиходід В. С., Владімірова О. В., Дорошенко В. В.* Оздоровче харчування – Запоріжжя: ЗНУ, 2006. – 273 с.

Надійшла до редакції 16. 07. 2014.

О. Л. Демидяк

ГВУЗ «Тернопольский государственный медицинский университет имени И. Я. Горбачевского МОЗ Украины»

ИССЛЕДОВАНИЕ СОДЕРЖАНИЯ АМИНОКИСЛОТ В ЦВЕТКАХ ХРИЗАНТЕМЫ НИЗКОРОСЛОЙ (CHRYSANthemum xHortorum BAILEYL.)

Ключові слова: біологічно активні речовини, амінокислоти, хризантема низкоросла, квітки, хроматографічний метод

АННОТАЦИЯ

Аминокислоты обладают важными функциями в организме человека. Они являются структурными элементами белка.

Целью наших исследований было изучение аминокислотного состава цветков хризантемы низкорослой сортов Finos, Grandeur, Argo, Belgo, Ostora. Растения выращены на опытных участках ботанического сада Тернопольского государственного медицинского университета имени И. Я. Горбачевского. Изучение аминокислотного состава хризантемы проводили методом высокоэффективной жидкостной хроматографии.

По результатам ВЭЖХ-анализа в цветках хризантемы низкорослой сортов Finos, Grandeur, Argo, Belgo, Ostora идентифицировано 19 аминокислот, 8 из которых (треонин, валин, метионин, изолейцин, лейцин, фенилаланин, гистидин, лизин) относятся к незаменимым (они попадают в организм вместе с продуктами питания), 11 (глутамин, аспарагин, серин, аргинин, глицин, аланин, пролин, цистеин, тирозин, аспарагиновая, глутаминовая кислоты) – к заменимым аминокислотам.

Среди незаменимых аминокислот в значительном количестве выявлен треонин – 355,3 мг/100 г в цветках хризантемы низкорослой сорта Finos, 340 мг/100 г – сорта Argo и 320,1 мг/100 г – сорта Belgo.

Также в большом количестве в цветках хризантемы низкорослой сорта Finos в связанном виде обнаружен лейцин – 351,0 мг/100 г, лизин – 344,2 мг/100 г и фенилаланин – 311,5 мг/100 г.

Цветки всех сортов хризантемы содержат заменимую аминокислоту – пролин. Так, в цветках хризантемы низкорослой сорта Finos содержание этой аминокислоты составляет 2 475,6 мг/100 г, сорта Grandeur – 2 626,3 мг/100 г, сорта Belgo – 2 939,0 мг/100 г, сорта Ostora – 2 356,1 мг/100 г.

DETERMINATION OF AMINO ACIDS CONTENT IN THE FLOWERS OF THE SORTS OF CHRYSANTHEMUM (*CHRYSANTHEMUM XHORTORUM* BAILEYL.)

Key words: biological active substances, amino acids, Chrysanthemum, flowers, chromatographic method

ABSTRACT

Amino acids play important roles in the human body. They are the building units of proteins.

The aim of our researches was to study amino acids content of the flowers of Chrysanthemum sorts as Finos, Grandeur, Apro, Belgo, Ostora. Plants were grown on the experimental plots of Botanical Garden of SHEI «Ternopil I.Ya. Horbachevsky State Medical University of the Ministry of Public Health of Ukraine». Investigation of amino acids content were performed with HPLC method on the Agilent Technologies 1100 chromatograph.

As a result of HPLC analysis it was established 19 amino acids: 8 (threonine, valine, methionine, isoleucine, leucine, phenylalanine, histidine, lysine) from them are essential (they income to the body with food), 11 (glutamine, asparagine, serine, arginine, glycine, alanine, proline, cysteine, tyrosine, asparagine, glutamic acid) are nonessential amino acids in the flowers of Chrysanthemum sorts as Finos, Grandeur, Apro, Belgo, Ostora.

Among the essential amino acids the most abundant components were threonine – 355,3 mg/100 g in the flowers of Chrysanthemum of Finos sort, 340 mg/100 g in Apro sort and 320,1 mg/100 g in Belgo sort.

Also in the high quantity it were established the bounded form of leucine – 351,0 mg/100 g, lysine – 344,2 mg/100 g and phenylalanine – 311,5 mg/100 g in the flowers of Chrysanthemum of Finos sort.

The flowers of all Chrysanthemum sorts contain nonessential amino acid – proline. So the content of this amino acid were 2 475,6 mg/100 g in the flowers of Chrysanthemum of Finos sort, 2 626,3 mg/100 g in Grandeur sort, 2 939,0 mg/100 g Belgo sort, 2 356,1 mg/100 g in Ostora sort.

Електронна адреса для листування з автором: mizirolya@gmail.com