УДК 615.32:612.398.192

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

Національний фармацевтичний університет

ВИВЧЕННЯ АМІНОКИСЛОТНОГО СКЛАДУ ТРАВИ ЕСПАРЦЕТУ ПІЩАНОГО

Наведені результати вивчення амінокислотного складу трави Onobrychis arenaria. Вивчено якісний склад та кількісний вміст амінокислот. Ідентифіковано 17 амінокислот, 11 з яких є незамінними, та 6 замінних.

Ключові слова: еспарцет піщаний; трава; амінокислоти; кількісний вміст

ВСТУП

Назва «еспарцет» походить від французького слова Esparcette, що означає «розсіяний», «той, що розкидує», тому що його насіння легко осипається.

Латинська назва роду еспарцет походить від Onobrychis, вперше згадується у Діоскоріда (в 1560 р.) і походить від грецьких слів «Онос» – осел і «Бріх» – розкушувати, гризти.

За даними М. Г. Попова (1929) рід Onobrychis Adans походить від роду Hedosarum, який є типовим родом найдавнішого третинного періоду. Рід Onobrychis Adans утворився шляхом повільних змін головним чином генеративних частин, зменшення числа насіння у зав'язі члеників боба аж до одночленистого, однонасінного боба, звідки видно, що зміни йшли по лінії редукційної еволюції. До кінця міоцену відносить походження роду Onobrychis і Ширяєв Г. І. (1930).

Стародавність обробітку еспарцету обчислюється приблизно чотирма століттями. У Франції еспарцет вперше з'явився на полях в 1567 р. В Англії його стали використовувати як кормову рослину в середині XVIII ст., а в Німеччині на початку XVIII ст. У Росії, як стверджує В. М. Кузнєцов, еспарцет з'явився із Франції в другій половині XIX століття. За даними А. А. Матевосян у Вірменії посіви еспарцету існують більше тисячі років [3, 9].

В європейській частині і ряді місць південної частини Росії еспарцет почали культивувати в 50-х роках XIX-го сторіччя, але ввезений еспарцет віколистий виявився малопридатним для культури, маловрожайним, посіви його швидко зріджувались і не набули великого поширення [2, 9].

Окультуренням дикого еспарцету піщаного вперше в Росії зайнявся професор Харківського університету І. І. Черняєв, а пізніше в тому ж університеті – професор В. А. Гордієнко [3, 9].

© Демешко О. В., Ковальов В. М., Ковальов С. В., 2015

Еспарцет піщаний відомий з давніх часів і застосовувався як кормова рослина та чудовий медонос у сільському господарстві і як лікарська рослина при маткових кровотечах та засіб, що підсилює статеву діяльність чоловіків. Науково-лікувальним фітоцентром «Авіценна» (м. Харків) виробляється екстракт «Еспарцету піщаного» і на його основі БАД «Еректин-Т» – засіб для посилення чоловічої потенції і профілактики аденоми простати та фітосупозиторії як тонізуючий засіб при зниженні сексуальної активності у чоловіків. Фітосупозиторії також ефективні при маткових кровотечах у жінок [8]. З лікувальною метою збирають надземні та підземні частини рослини. Надземна частина еспарцету піщаного містить флавоноїди (кемпферол, астрагалін, кверцетин, рутин), таніни, кумарини (умбеліферон, скополетин), птерокарпани (медікарпін). Еспарцетовий мед покращує кровообіг і зміцнює капілярні судини. Цей сорт меду має так само сечогінну і потогінну дію. За запевненням більшості бджолярів, еспарцетовий мед зміцнює імунітет і посилює потенцію.

Еспарцет піщаний широко використовується у бджільництві та аграрній справі, також використовується у народній медицині. Однак його хімічний склад недостатньо вивчений. На сьогодні на основі результатів виконаних досліджень можна зробити висновок про перспективність вивчення даної рослини України.

Метою даної роботи стало дослідження якісного та кількісного вмісту амінокислот у траві еспарцету піщаного.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Об'єктом досліджень була трава еспарцету піщаного, зібрана у 2013 році (кінець травня-червень) в Харківській області. Аналіз даної сировини проводився згідно з ДФУ [4, 6, 7].

Дослідження проводили загальноприйнятими методами. При проведенні аналізу амінокислот засто-

Таблиця 1

ЯКІСНИЙ ХРОМАТОГРАФІЧНИЙ АНАЛІЗ АМІНОКИСЛОТНОГО СКЛАДУ ТРАВИ ЕСПАРЦЕТУ ПІЩАНОГО

Амінокислота	Формула амінокислоти	Величина Rf у системі розчинників бутанол : кислота оцтова : вода (4:1:2)
Замінні амінокислоти		
Аспарагінова кислота	$C_4H_8O_2N$	0,16
Серин	$C_3H_4O_2N$	0,15
Глютамінова кислота	$C_5H_9O_4N$	0,17
Пролін	$C_5H_9O_2N$	–
Цистеїн	$C_6H_{12}O_4N_2S_2$	–
Аланін	$C_3H_7O_2N$	0,20
Незамінні амінокислоти		
Метіонін	$C_5H_{11}O_2NS$	0,33
Треонін	$C_4H_9O_3N$	0,42
Гліцин	$C_2H_5O_2N$	0,21
Валін	$C_5H_{11}O_2N$	0,58
Ізолейцин	$C_6H_{13}O_2N$	–
Лейцин	$C_6H_{13}O_2N$	0,96
Тирозин	$C_9H_{11}O_3N$	0,69
Фенілаланін	$C_9H_{11}O_2N$	0,94
Гістидин	$C_6H_9O_2N_3$	0,10
Лізин	$C_6H_{14}O_2N_2$	0,24

совували паперову хроматографію: низхідну, висхідно-низхідну, одномірну та двомірну і тонкошарову хроматографію. При застосуванні паперової хроматографії використовували такі системи розчинників: н-бутанол – підирин – вода (1:1:1); н-бутанол – піридин – кислота оцтова – вода (5:10:3:12); бутанол – вода – мурашина кислота (14:3:3 та 139:59:2); бутанол – кислота оцтова – вода (4:1:2) [1, 5].

Водну витяжку концентрували до густого залишку, розчиняли у невеликій кількості води та аналізували [1, 5]. Як стандартні зразки використовували розчини амінокислот у 0,1 н розчині кислоти хлористоводневої. Для виявлення амінокислот хроматограми обробляли 0,25 % розчином нінгідрину в ацетоні, який містив 5 % піридину. Хроматограми витримували у вологій камері, а потім у темряві. Плями амінокислот набували забарвлення, для фіксації якого використовували розчин міді в етанолі, при цьому забарвлення змінювалось від синіх кольорів до червоних і набувало більшої стабільності [1, 5, 10].

Повний якісний та кількісний амінокислотний аналіз проводили на амінокислотному аналізаторі LKB 4151 «Альфа Плюс» (Швеція) у випробувальному центрі Інституту тваринництва НААН України. Аналіз амінокислотного складу зв'язаних амінокислот включав повний гідроліз білка, що міститься у досліджуваній речовині і кількісне визначення амінокислот у гідролізаті [1, 5, 10]. Наважку сировини подрібнювали, гідролізували кислотою хлористоводневою в термостаті при Т 110 °С протягом доби. Після проходження гідролізу кислоту випаровували на водяній бані та розміщували пробу в ексикаторі з NaOH для остаточної нейтралізації. Додавали буферний розчин з pH 2,2 і фільтрували. Пробу вводили в капсулу і поміщали в магазин автоматичного вводу проб, звідкіля проба потрапляла на колонку з катіонообмінною смолою. Через колонку пропускали буферні розчини, які мали різні значення pH і різну іонну силу. При цьому проходило розділення амінокислот. Елюат, що виходив із колонки, змішувався з нінгідрином, і вони поступали до фотометра, де вимірювалась кількість поглинутого світла. Концентрацію амінокислот реєстрували у вигляді піків. Час утримання піку характеризує кожну амінокислоту, а площа піку вказує на її кількість. Для порівняння результатів проводили аналіз стандартної суміші амінокислот.

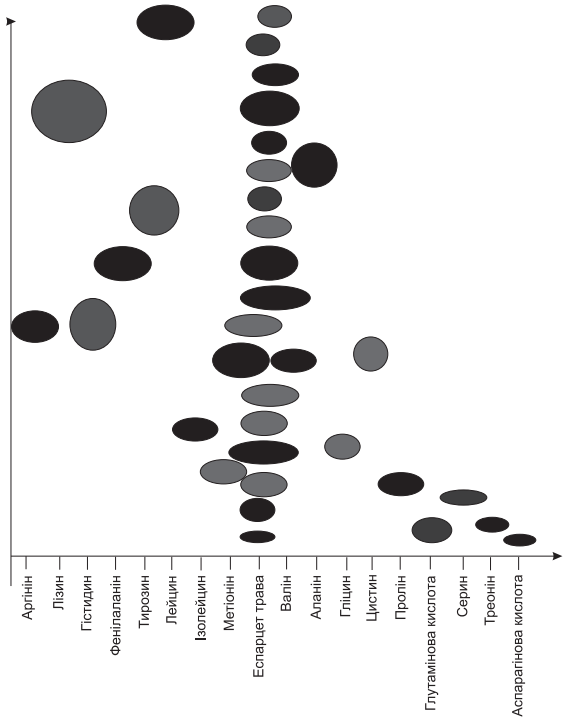

Рис. *Схема хроматограми водної витяжки трави еспарцету піщаного у системі БУВ (4:1:2).*

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Результати дослідження якісного хроматографічного аналізу амінокислотного складу трави еспарцету піщаного наведені в табл. 1.

Схему хроматограми водної витяжки трави еспарцету піщаного наведено на рисунку.

Результати вивчення якісного і кількісного амінокислотного складу трави еспарцету піщаного, проведеного за допомогою амінокислотного аналізатора, представлені в табл. 2.

Хроматографічний аналіз і аналіз, проведений за допомогою амінокислотного аналізатора, вияви-

Таблиця 2

ЯКІСНИЙ І КІЛЬКІСНИЙ СКЛАД ТРАВИ ЕСПАРЦЕТУ ПІЩАНОГО

Амінокислота	Формула амінокислоти	Вміст вільних амінокислот, мг/100 мг (ваг, %)
Замінні амінокислоти		
Аспарагінова кислота	$C_4H_8O_2N$	0,02
Серин	$C_3H_4O_2N$	0,08
Глютамінова кислота	$C_5H_9O_4N$	0,03
Пролін	$C_5H_9O_2N$	0,09
Цистеїн	$C_6H_{12}O_4N_2S_2$	0,20
Аланін	$C_3H_7O_2N$	0,71
Незамінні амінокислоти		
Аргінін	$C_6H_{14}O_2N_4$	0,29
Метіонін	$C_5H_{11}O_2NS$	0,10
Треонін	$C_4H_9O_3N$	0,05
Гліцин	$C_2H_5O_2N$	0,12
Валін	$C_5H_{11}O_2N$	0,18
Ізолейцин	$C_6H_{13}O_2N$	0,13
Лейцин	$C_6H_{13}O_2N$	1,01
Тирозин	$C_9H_{11}O_3N$	0,64
Фенілаланін	$C_9H_{11}O_2N$	0,54
Гістидин	$C_6H_9O_2N_3$	0,38
Лізин	$C_6H_{14}O_2N_2$	0,81
Сума		5,38

ли наявність 17 амінокислот. Замінні амінокислоти представлені аспарагіновою кислотою, серином, глютаміновою кислотою, проліном, цистеїном та аланіном. Незамінні амінокислоти представлені аргініном, валіном, лейцином, ізолейцином, лізином, метіоніном, треоніном, фенілаланіном, гліцином, тирозином та гістидином. У траві еспарцету піщаного у кількісному відношенні переважали серед замінних амінокислот цистеїн і аланін, серед незамінних амінокислот – лейцин і лізин. Найменшу кількість серед замінних амінокислот спостерігали для аспарагінової та глютамінової кислот, серед незамінних амінокислот – для треоніну.

ВИСНОВКИ

Вперше проведено якісний та кількісний аналіз амінокислотного складу трави еспарцету піщаного. Отримані результати є першим етапом дослідження перспективної лікарської рослини еспарцету піщаного з метою створення фармакологічно активних субстанцій на її основі.

ПЕРЕЛІК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ ІНФОРМАЦІЇ

1. Берестова С. І. Вивчення амінокислотного складу Humulus lupulus L. / С. І. Берестова, В. М. Ковальов, С. В. Ковальов // Фармаком. – 2006. – № 4. – С. 67-70.
2. Болотских А. С. Овощи Украины: [справочник] / А. С. Болотских. – Х.: Орбита, 2001. – 1088 с.
3. Борисова А. Г. Новые для культуры виды эспарцета / А. Г. Борисова. – Л.: Изд-во АН СССР, 1952. – 69 с.
4. Государственная фармакопея СССР. Вып. 1. Общие методы анализа. Лекарственное растительное сырье / МЗ СССР. – 11-е изд., доп. – М.: Медицина, 1987. – 336 с.
5. Демешко О. В. Амінокислотний та мінеральний склад Альбіції ленкоранської / О. В. Демешко, С. В. Ковальов, А. В. Мигаль // Укр. біофармац. журн. – 2012. – № 5-6. – С. 100-102.
6. Державна фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». – 1-е вид. – Х.:РІРЕГ, 2001. – Доп. 1. – 2004. – 520 с.
7. Державна фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр» – 1-е вид. – Х.:РІРЕГ, 2001. – 556 с.
8. Компендиум 2011 – лекарственные препараты: [справочник] / Под ред. В. Н. Коваленко, А. В. Викторова. – К.: Морион, 2011. – 1200 с.
9. Рабинович В. М. Общая характеристика эспарцета и история введения его в культуру. Эспарцет. – М.: Сельхозиздат, 1951. – 152 с. – (Всесоюз. науч.-исслед. ин-т кормов им. Вильямса).
10. Blaschke W. Hagers Handbuch der Pharmazeutischen Praxis. Folgeband 2: Drogen A-K / W. Blaschek. – 5-th ed. – Berlin: Springer-Verlag, 1998. – 374 p.
11. Gimenez-Gallego G. High-performance liquid chromatography of phenylthiocarbamyl-amino acids. Application to carboxyl-terminal sequencing of proteins / G. Gimenez-Gallego, K. A. Thomas // J. Chromatogr. – 1987. – Vol. Vol. 409. – P. 299-304.

УДК 615.32:612.398.192

О. В. Демешко, В. Н. Ковалев, С. В. Ковалев

ИЗУЧЕНИЕ АМИНОКИСЛОТНОГО СОСТАВА ТРАВЫ ЭСПАРЦЕТА ПЕСЧАНОГО

Приведены результаты изучения аминокислотного состава травы Onobrychis arenaria. Изучен качественный состав и количественное содержание аминокислот. Идентифицировано 17 аминокислот, 11 из которых являются незаменимыми, и 6 заменимых.

Ключевые слова: эспарцет песчаный; трава; аминокислоты; количественное определение

UDC 615.32:612.398.192

O. V. Demeshko, V. N. Kovalyov, S. V. Kovalyov

THE STUDY OF AMINO ACID COMPOSITION IN THE HERB OF ONOBRYCHIS ARENARIA

The content and composition of amino acids in the herb of Onobrychis arenaria was studied. It has been studied qualitative and quantitative content of amino acids. It have been identified 17 amino acids, 11 from tham are independent and 6 are dependent acids.

Key words: onobrychis arenaria; herb; amino acids; quantitative definition

Адреса для листування:
61168, м. Харків, вул. Блюхера, 4.
Національний фармацевтичний університет

Надійшла до редакції
28.01.2015 р.