

Рекомендована д. фармац. наук, проф. І. А. Мазуром

УДК 615.07:582.9.22:547.466

АМІНОКИСЛОТНИЙ СКЛАД РОЗМАРИНУ ЛІКАРСЬКОГО

© Н. В. Попова

Національний фармацевтичний університет, Харків

Резюме: наведено результати дослідження якісного складу та вмісту аміноциклот розмарину лікарського. Ідентифіковано 17 аміноциклот, з яких 8 незамінні, встановлено домінуючі аміноциклоти. Визначено вміст загального азоту та сирого протеїну.

Ключові слова: розмарин лікарський, аміноциклоти, загальний азот, протеїн.

Вступ. Розмарин лікарський *Rosmarinus officinalis* – відомий ефірноолійний чагарник (напівчагарник) з приємним, деревинно-камфорним запахом, родини ясноткових Lamiaceae. У світовому виробництві ефірних олій займає 5–7 місце, хімічний склад добре вивчений. Листки та олію розмарину лікарського здавна застосовують у народній медицині різних країн. У народній медицині країн Середземномор'я відвари з листків застосовують при болю в серці і шлункових коліках, спазмах жовчо- та сечовивідніх шляхів, при аменореї, як тонізуючий засіб при імпотенції; він проявляє седативну дію при нервових розладах у клімактеричний період, проявляє відхаркувальну, жовчогінну, діуретичну дії. Олію зовнішньо застосовують як антисептичний засіб. Фармакологічний ефект фітозасобів розмарину зумовлений сукупністю ефірної олії та похідних гідроксикоричних кислот, але на активність впливають і речовини первинного синтезу, до яких відносять аміноциклоти [1, 2, 3, 7].

Оскільки аміноциклоти чинять суттєвий вплив на біодоступність та загальний фармакотерапевтичний ефект рослинних препаратів, метою роботи стало дослідження аміноциклотного складу сировини розмарину лікарського.

Методи дослідження. Зразки рослинної трави та листків розмарину лікарського збирали на фармакопейній ділянці у ЗДС (Крим) під час цвітіння (2011 р.).

Попереднє хроматографічне вивчення аміноциклотного складу спиртового екстракту зразків сировини розмарину здійснювали за допомогою хроматографії на папері «Filtrak». Як розчинники застосовували системи: н-бутанол оцтова кислота – вода (БОВ) у різних співвідношеннях (4 : 1 : 1, 4 : 1 : 5, 12 : 3 : 5, 18 : 2 : 5, 25 : 3 : 25), а також інші системи: н-бутанол – піридин – вода 1 : 1 : 1; н-бутанол – піридин – оцтова кислота – вода 15 : 10 : 3 : 12; фтор – бутанол – аміак 3 : 1; трет-бутанол – вода – мурашина кислота 14 : 3 : 3 і 139 : 59 : 2; ізоаміловий спирт –

піридин – вода 7 : 7 : 6; н-пропанол – вода 7 : 3; етанол – вода 77 : 33; фенол – вода 4:1. Хроматограми обробляли 0,2 % розчином нінгідрину в ацетоні та висушували у сушильній шафі при температурі 60–80 °C. Виявлення біологічно активних сполук здійснювали порівняно з достовірними зразками при паралельному хроматографуванні [4, 5, 6].

Аналіз вмісту аміноциклот. Вміст вільних та зв'язаних аміноциклот визначали за допомогою автоматичного аміноциклотного аналізатора LKB 4151 «Альфаплюс» (Швеція) на колонці, заповнені юнообмінною смолою марки DCGA. Для проведення дослідження сировину попередньо витримували у сушильній шафі при температурі 100 °C протягом 2–3 год. Наважку сировини (0,1 г) вносили в ампулу, заливали 200-кратним надлишком 6 М розчину кислоти хлористоводневої, відкачували повітря, запаювали, поміщаючи у термостат на 20 год при температурі 80 °C та гідролізували. Після цього ампулу розкривали, надлишок кислоти хлористоводневої відганяли при температурі 100 °C і далі нейтралізували пробу в ексикаторі над натрію гідроксидом протягом 2 діб. Пробу розбавляли 10 мл цитратного буферного розчину pH 2,2, перемішували і фільтрували. Одержані фільтрат вносили у колонку, заповнену юнообмінною смолою, і крізь колонку за допомогою насоса пропускали цитратні буферні розчини з різними значеннями pH і різною іонною силою, що сприяло розділенню аміноциклот.

Елюат, який виходив з колонки, змішували з нінгідриновим реагентом у реакторі при температурі 135 °C. Кількість забарвлених сполук пряму пропорціональна кількості аміноциклот у елюаті. У фотометрі вимірювали інтенсивність забарвлених сполук. Вихідний сигнал фотометра реєстрував концентрації аміноциклот на хроматограмах у вигляді пиків. Час утримання піків характеризував кожну індивідуальну кислоту, а площа піку відповідає кількості аміноциклоти.

Електричний сигнал самописця поступав на інтегратор, який автоматично обчислював площа кожного піка. Для калібрування амінокислотного аналізатора крізь катіоніт пропускали стандартну суміш амінокислот.

Аналіз вмісту протеїну. Визначення вмісту білка у сировині розмарину проводили за методикою Лоурі, а вміст загального азоту визначали за методом Кельдаля [4].

Таблиця 1. Хроматографічний аналіз амінокислот у розмарині лікарському

Амінокислота	Формула	Rf, БОВ (4:1:2)
Аспарагінова кислота	C ₄ H ₈ O ₂ N ₂	0,09
Треонін	C ₄ H ₉ O ₂ N	0,18
Глутамінова кислота	C ₅ H ₉ O ₂ N	0,13
Гліцин	C ₂ H ₅ O ₂ N	0,21
Аланін	C ₄ H ₈ O ₃ N ₂	0,20
Валін	C ₅ H ₁₁ O ₂ N	0,43
Ізолейцин	C ₆ H ₁₃ O ₂ N	0,72
Лейцин	C ₆ H ₁₃ O ₂ N	0,64
Фенілаланін	C ₉ H ₁₁ O ₂ N	0,32
Гістидин	C ₆ H ₉ O ₂ N ₃	0,10
Лізин	C ₆ H ₁₃ O ₂ N	0,05
Аргінін	C ₆ H ₁₃ O ₂ N	0,04

Таблиця 2. Вміст вільних та зв'язаних амінокислот у розмарині лікарському

Амінокислота	Вміст, %	
	вільні амінокислоти	зв'язані амінокислоти
замінні амінокислоти		
Аргінін	0,08	0,15
Аланін	0,10	0,55
Цистин	0,14	-
Пролін	-	0,50
Тирозин	0,02	0,40
Глутамінова к-та	-	0,65
Аспарагінова к-та	0,03	1,40
Серин	0,01	0,45
Гліцин	0,03	0,40
незамінні амінокислоти		
Валін	0,03	0,50
Ізолейцин	0,01	0,20
Лейцин	0,06	0,30
Лізин	0,07	0,35
Метіонін	0,01	0,25
Треонін	0,03	0,50
Фенілаланін	0,03	0,25
Гістидин	0,03	0,25
Разом	0,68	7,10

Встановлено, що у зразках розмарину у середньому вміст загального азоту складає 0,96T%, а вміст сирого протеїну – 5,98 %.

Результати й обговорення. Результати хроматографічного амінокислотного аналізу наведено в таблиці 1. Методом ПХ порівняно з вірогідними зразками було ідентифіковано 12 амінокислот, а за допомогою амінокислотного аналізатора – 17, з яких 8 – це незамінні (табл. 2). Серед найпоширеніших амінокислот встановлено високий вміст аспарагінової та глутамінової кислот, а також валіну та треоніну.

Висновки. 1. Вперше проведено дослідження якісного складу та вмісту амінокислот листків та трави розмарину лікарського. Встановлено

наявність 17 амінокислот, у тому числі 8 незамінних.

2. Серед вільних амінокислот розмарину до- мінуючими є цистин, лізин, аргінін та аланін, а

серед зв'язаних – аспарагінова та глутамінова кислоти, а також пролін та валін.

3. Вміст загального азоту в розмарині складає близько 1 %, а сирого протеїну близько 6 %.

Література

1. Попова Н. В. Лекарственные растения мировой флоры / Н. В. Попова, В. И. Литвиненко. – Х. : СПДФО Мосякин В. Н., 2008. – 510 с.
2. Попова Н. В. Морфолого-анатомическая стандартизация розмарина лекарственного / Н. В. Попова, В. И. Литвиненко, Я. С. Кичимасова // Фармаком. – 2009. – № 3. – С. 48–52.
3. Попова Н. В. Анализ ефірної олії листків розмарину лікарського / Н. В. Попова, В. І. Литвиненко // Фармац. часопис. – 2010. – № 1. – С. 24–28.
4. Державна фармакопея України / Державне підприє- мство «Науково-експертний центр». – 1-ше вид. – Х. : РІРЕГ, 2001. – 556 с.
5. Куликов А. Ю. Тонкошарова хроматографія: теоретичні основи та практичне використання / А. Ю. Куликов. – Х. : ХНУ імені В. Н. Каразіна, 2011. – 260 с.
6. Хроматография на бумаге / под ред. И. М. Хайса, К. Мацека. – М. : Иностр. лит-ра, 1962. - 851 с.
7. Wichtl M. Herbal Drugs and Phytopharmaceuticals. / M. Wichtl, N. G. Bisset. – Stuttgart : Medpharm Scientific Publishers, 1994. – 566 p.

АМИНОКИСЛОТНЫЙ СОСТАВ РОЗМАРИНА ЛЕКАРСТВЕННОГО

Н. В. Попова

Национальный фармацевтический университет, Харьков

Резюме: приведены результаты изучения качественного состава и содержания аминокислот розмарина лекарственного. Идентифицировано 17 аминокислот, 8 из которых незаменимые, установлены доминирующие аминокислоты. Определено содержание общего азота и сырого протеина.

Ключевые слова: розмарин лекарственный, аминокислоты, общий азот, протеин.

AMINO ACID COMPOSITION OF ROSEMARY

N. V. Popova

National University of Pharmacy, Kharkiv

Summary: the results of the research of qualitative and quantitative amino acid composition of the rosemary are presented. It was identified 17 amino acids, 8 of which are essential. It was established dominant amino acids. It was determined the content of total nitrogen and crude protein.

Key words: rosemary, aminoacids, total nitrogen, protein.