Рекомендована д. біол. наук, проф. Л. С. Фіроою
УДК 615.014.07:615.322:582.998-035.27:547.466

АМІНОКИСЛОТНИЙ СКЛАД ЛИСТКІВ ХРИЗАНТЕМИ НИЗЬКОРОСЛОЇ

©О. Л. Демидяк

Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського

Резюме: проведено дослідження амінокислотного складу листків хризантеми низькорослої сортів Finos, Grandeur, Apro, Belgo, Ostora. Встановлено наявність 19 амінокислот, 8 з яких незамінні.

Ключові слова: амінокислоти, хризантема низькорослa, листки.

Вступ. Рід Хризантема (Chrysanthemum) належить до родини Айстрових. У медицині країн Азії хризантему використовують при запальних захворюваннях шлунково-кишкового тракту, невралгіях, головному болю, гіпертонії та для покращення циркуляції кровотоку. Зовнішньо настій застосовують при запальних захворюваннях шкіри та очей [3, 7].

Метою наших досліджень було вивчення амінокислотного складу листків хризантеми низькорослої сортів Finos, Grandeur, Apro, Belgo, Ostora, які зростають на дослідних ділянках ботанічного саду "Червона калина" Тернопільського державного медичного університету імені І. Я. Горбачевського.

Методи дослідження. Листки заготовляли в період масового цвітіння рослин. Виявлення амінокислот (вільних та зв'язаних) у листках хризантеми низькорослої проводили на хроматографі Agilent Technologies 1100. Для проведення аналізу використано хроматографічну колонку розміром 4,6×50 мм, заповнену октадецилсилильним сорбентом із зернистістю 1,8 мкм, «ZORBAX-XDB-C_{18}».

Вміст вільних амінокислот у листках досліджуваних сортів хризантеми низькорослої вилучали у віалі 0,1 n водним розчином хлористоводневої кислоти, яка містила 0,2 % β-меркаптоетанолу. Віалу герметично закривали і поміщали на 2 год в ультразвукову баню при температурі 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 при температурі 110 °С.

Віали із приготовленими зразками центрифугували і фільтрували. Відбирали 100 мкл фільтрату для визначення вмісту вільних амінокислот та 20 мкл фільтрату для визначення загального вмісту амінокислот і поміщали у вакуумний ексикатор при температурі 40–45 °С і тиску 1,5 мм рт. ст. до повного видалення хлористоводневої кислоти. Потім у віалу для аналізу послідовно додавали автоматичним дозатором – 200 мкл 0,8 моль/л боратного буферу з pH 9,0, 200 мкл 20 ммоль/л розчину 9-флуоренілметоксикарбоніл 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, pH 6,5, В – 0,10 моль/л водний розчин ацетату натрію: ацетонітрил (23:22, v/v), pH 6,5, С – вода, D – ацетонітрил. Визначали умови проведення хроматографування наступним чином: робочий тиск елюенту 220-275 кПа; температура термостата колонки 50 °С; об'єм введеної проби Ї 2 мкл; Параметри детектування: масштаб вимірювань 1,0; час сканування 0,5 с. Довжина хвилі детектування 265 нм. Ідентифікацію амінокислот у листках хризантеми низькорослої сортів: Finos, Grandeur, Apro, Belgo, Ostora здійснювали за часом утримування (RT) стандартів [4, 8, 9].

Результати й обговорення. У листках хризантеми низькорослої сортів Finos, Grandeur, Apro, Belgo, Ostora за результатами ВЕРХ-аналізу ідентифіковано 19 амінокислот, з яких 8 належать до незамінних (треонін, валін, метіонін, ізолейцин, лейцин, фенілаланін, гістидин, лізин), 11 – до замінних (глутамін, аспарагін, серин, аргінін, гліцин, аланін, пролін, цистеїн, тирозин, аспарагінова і глутамінова кислоти).

З незамінних амінокислот у листках хризантеми низькорослої сортів: Finos, Grandeur, Apro, Belgo, Ostora домінує пролін. Як видно із таблиці 1, найбільший вміст проліну серед зв'язаних та вільних амінокислот спостерігається у листках хризантеми низькорослої сорту Finos, що становить 1912,8 мг/100 г та 1790,1 мг/100 г

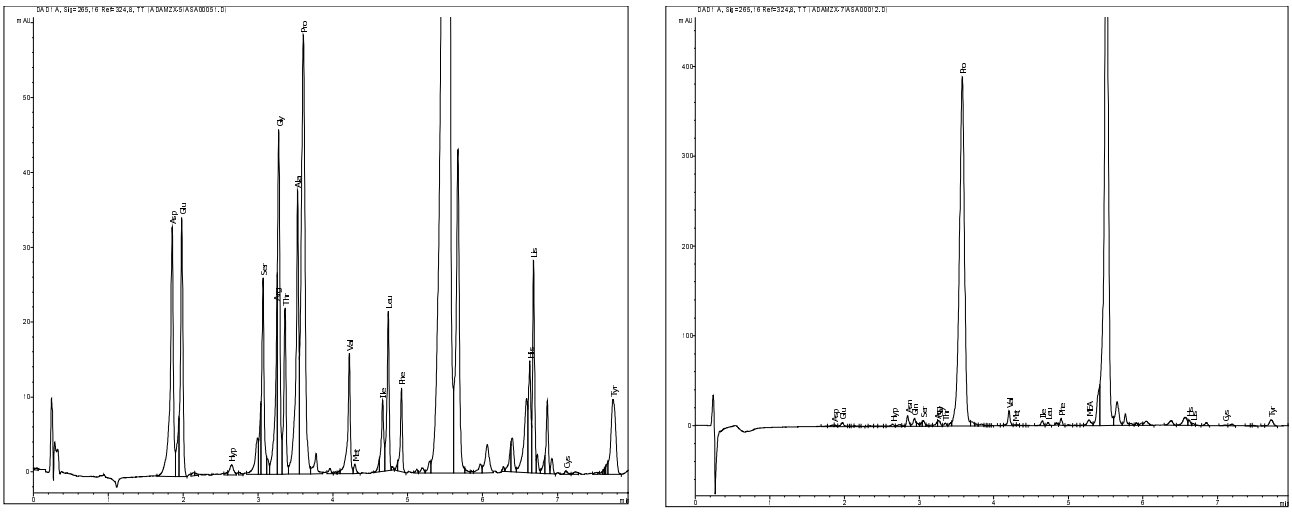
Таблиця 1. Вміст амінокислот у листках деяких сортів хризантеми низькорослої (мг/100 г, у перерахунку на абсолютно суху сировину)

Амінокислота	Finos		Grandeur		Apro		Belgo		Ostora	
	ЗА	ВА	ЗА	ВА	ЗА	ВА	ЗА	ВА	ЗА	ВА
Аспарагінова кислота	901,6	6,7	680,0	3,9	864,1	11,8	720,2	14,0	1440,5	47,4
Глутамінова кислота	954,4	10,6	694,7	12,6	929,8	16,0	827,5	11,4	1559,6	61,3
Аспарагін	0,0	24,2	5,1	31,9	4,4	171,8	4,5	16,8	6,6	279,4
Глутамін	0,0	29,0	0,0	42,4	0,0	59,1	0,0	38,9	0,0	204,7
Серин	390,2	13,0	335,9	15,8	490,7	25,6	381,1	13,2	850,9	124,8
Аргінін	610,0	12,1	385,1	20,8	628,6	34,8	519,6	19,8	1025,6	41,4
Гліцин	468,7	7,2	369,6	5,6	423,1	14,3	419,9	3,2	642,1	19,3
Треонін*	387,5	5,9	293,7	12,9	399,2	8,7	359,9	18,9	625,1	49,1
Аланін	625,6	4,1	423,7	41,0	501,0	11,1	515,3	20,6	732,4	51,7
Пролін	1912,8	1790,1	1500,8	1081,4	1863,7	1572,1	1312,4	780,8	1521,8	1237,8
Валін*	333,2	32,4	233,5	33,8	315,2	17,4	337,8	27,0	589,4	76,1
Метіонін*	33,1	5,3	22,3	1,0	36,2	6,0	27,9	3,0	49,2	5,1
Ізолейцин*	240,4	11,5	135,8	13,2	233,8	5,0	245,1	10,7	444,4	26,8
Лейцин*	459,0	7,1	304,8	11,5	456,5	5,9	392,5	8,7	777,2	19,5
Фенілаланін*	318,0	19,7	211,0	24,4	322,9	21,7	246,8	6,6	567,1	52,5
Цистеїн	9,0	1,5	8,6	2,3	4,5	0,0	6,8	0,6	6,5	1,2
Гістидин*	205,5	8,3	153,8	9,1	145,9	10,1	179,6	6,3	177,7	13,9
Лізин*	297,4	3,2	201,6	3,3	332,6	6,2	277,0	2,6	525,3	15,8
Тирозин	327,0	17,2	253,6	38,5	298,0	9,3	336,9	42,0	423,1	45,4

Примітки: 1.ЗА – зв'язані амінокислоти;
2. ВА – вільні амінокислоти;
3. * – незамінні амінокислоти.

відповідно. У листках хризантем сорту Apro, Ostora та Grandeur та Belgo вміст даної амінокислоти становив 1863,7 мг/100 г та 1572,1 мг/100 г; 1521,8 мг/100 г та 1237,8 мг/100 г; 1500,8 мг/100 г і 1081,4 мг/100 г; 1312,4 мг/100 г та780,8 мг/100 г відповідно (рис. 1–5).

Значний вміст серед зв'язаних амінокислот займає аргінін – незамінна амінокислота, яка має широкий спектр біологічної активності. Аргінін відіграє важливу роль у пластичному та енергетичному обміні, зміцнює імунну систему, збільшує активність Т-клітинного імунітету, усуваючи



А Б

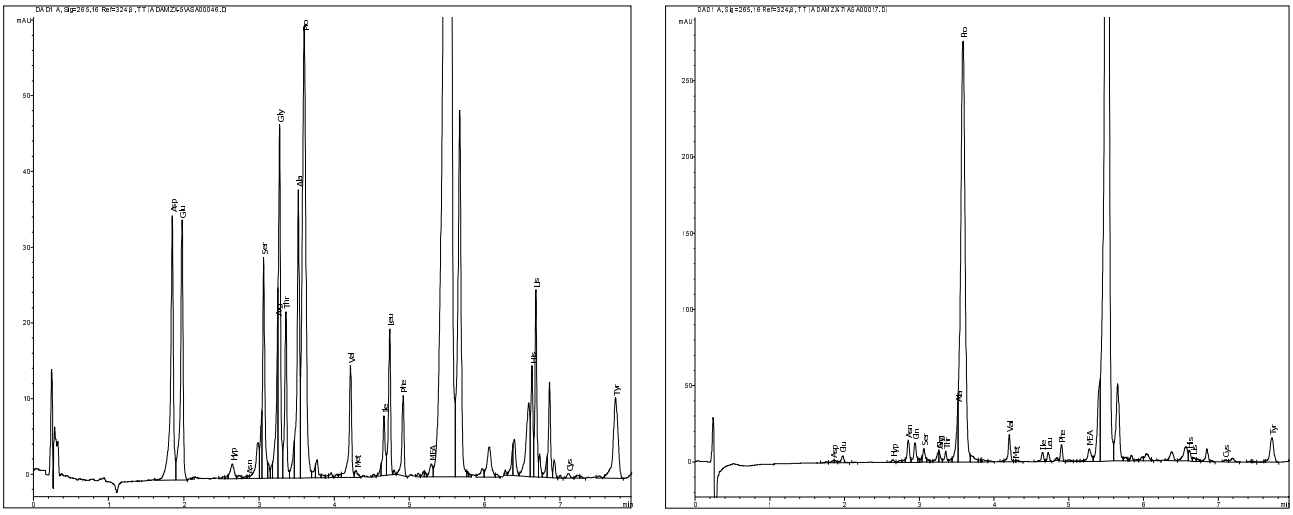
Рис. 1. Хроматограма зв'язаних (А) та вільних (Б) амінокислот у листках хризантеми низькорослої сорту Finos.

імунодефіцитні стани, уповільнює розвиток пухлин [1, 2].

У листках хризантеми низькорослої сорту Ostora вміст аргініну становив 1025,6 мг/100 г, сорту Apro – 628,6 мг/100 г, сорту Finos – 610,0 мг/100 г (рис.1, 3, 4, А).

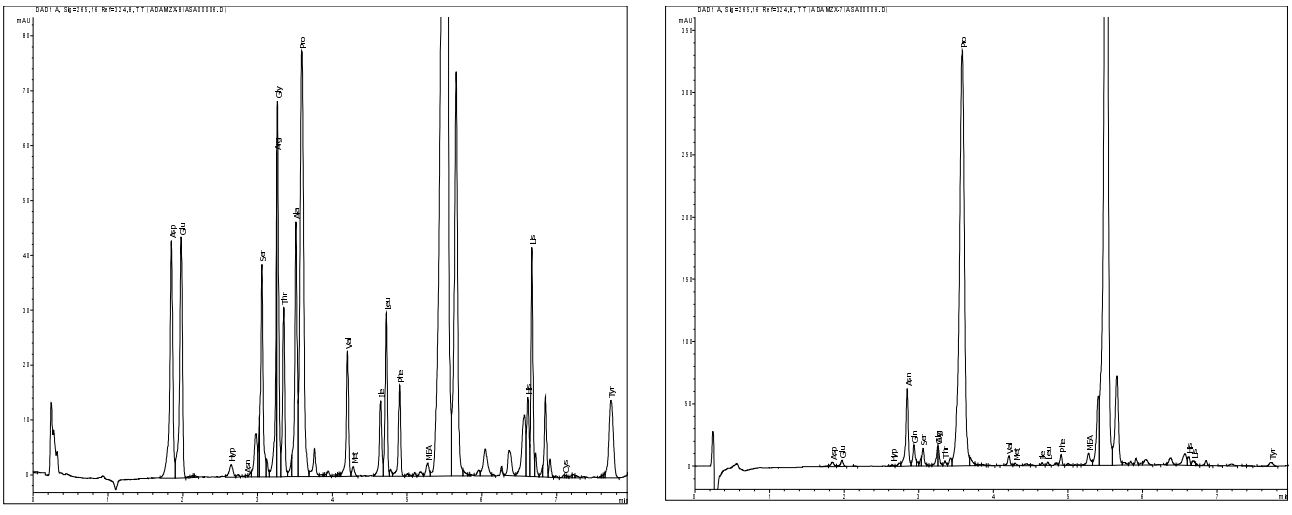
У досліджуваних об'єктах виявлено значний вміст таких важливих амінокислот, як аспарагінова і глутамінова. Відомо, що дані амінокислоти займають центральне місце у процесах зв'язування, транспорту і виведення з організму біологічно активних форм азоту. Вони сприяють підтриманню азотистого балансу живих організмів. Аспарагінова кислота покращує проникність клітинних мембран для йонів K^+ та Mg^{2+}, що стимулює активність синтетичних процесів у клітинах та полегшує процес м'язового скорочення. Аспарагінова кислота також є попередником оротової кислоти та піримідинів, які проявляють імуностимулювальну дію [5]. Глутамінова кислота бере участь у біосинтезі ДНК та РНК, стимулює процеси окиснення, покращує білковий та вуглеводний обмін, підвищує стійкість організму до гіпоксій, сприяє енергетичному забезпеченню функцій головного мозку, проявляє гепатопротекторну дію [6].

Листки досліджуваних сортів хризантеми містять достатню кількість у зв'язаному стані лейцину, який має здатність знижувати рівень цукру в крові і стимулювати виділення гормону росту (рис. 1–5, А).



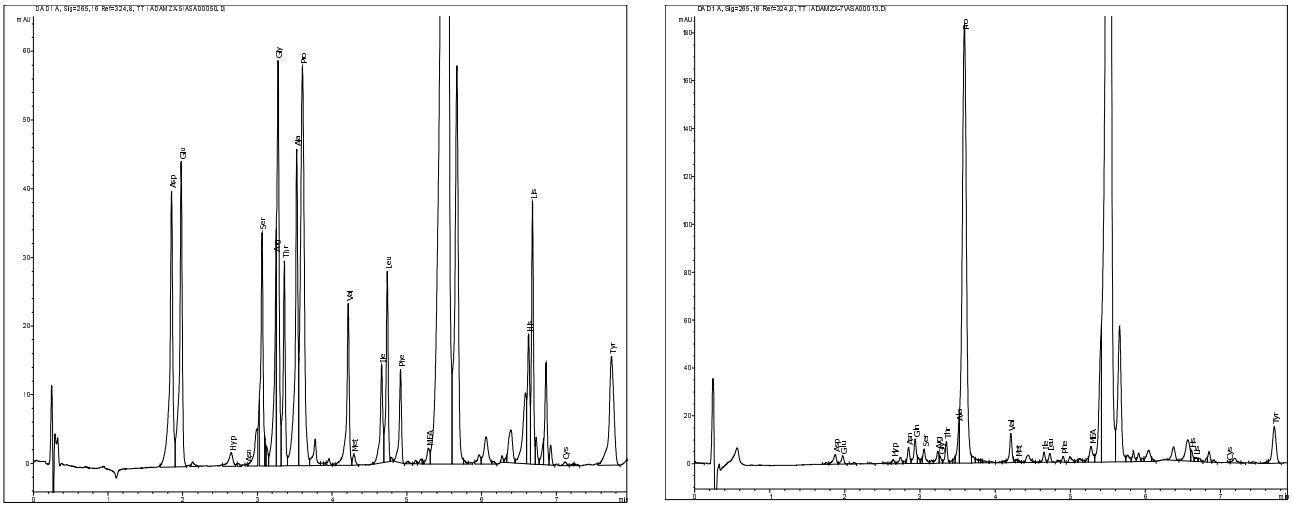
А Б

Рис. 2. Хроматограма зв'язаних (А) та вільних (Б) амінокислот у листках хризантеми низькорослої сорту Grandeur.



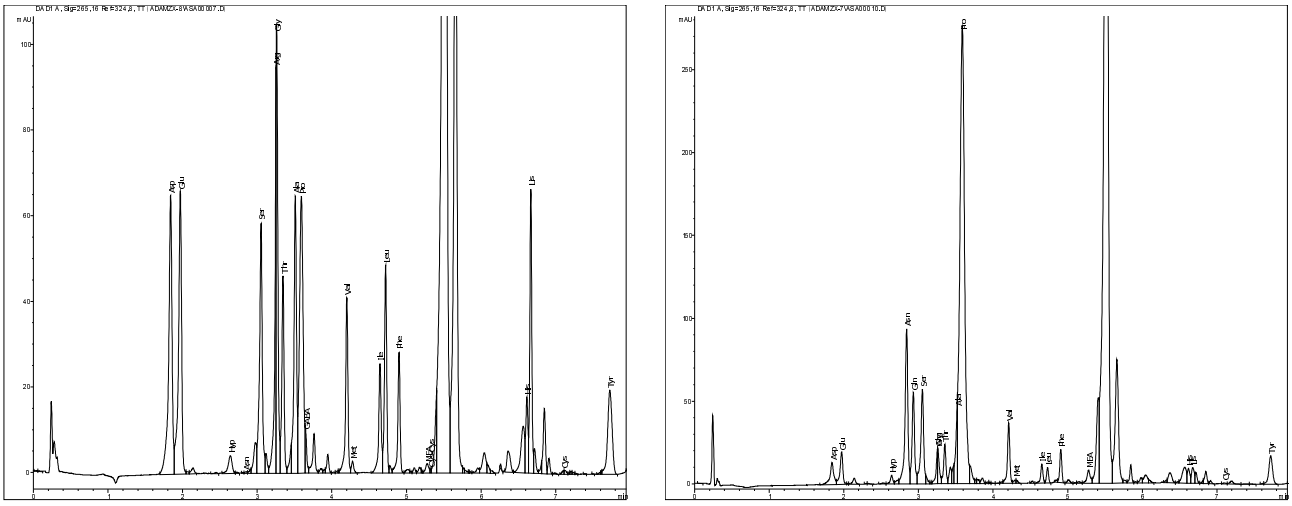
А Б

Рис. 3. Хроматограма зв'язаних (А) та вільних (Б) амінокислот у листках хризантеми низькорослої сорту Apro.



А Б

Рис. 4. Хроматограма зв'язаних (А) та вільних (Б) амінокислот у листках хризантеми низькорослої сорту Belgo.



А Б

Рис. 5. Хроматограма зв'язаних (А) та вільних (Б) амінокислот у листках хризантеми низькорослої сорту Ostora.

Висновки. Вперше вивчено амінокислотний склад листків хризантеми низькорослою сортів Finos, Grandeur, Apro, Belgo, Ostora. За результатами ВЕРХ-аналізу ідентифіковано 19 амінокислот, 8 з яких є незамінні та 11 замінні.

Література

1. Алмакаева Л. Г. Аргинин и его применение в медицине и фармации / Л. Г. Алмакаева, Е. В. Литвинова // Ліки України. – 2011. – № 1(5). – С. 23–26.
2. Аргинин в медицинской практике / Ю. М. Степанов, И. Н. Кононов, А. И. Журбина [и др.] // Журнал АМН України. – 2004. – № 1. – С. 340–352.
3. Кодониди М. И. Изучение качественного состава фенольных соединений сухого экстракта соцветия хризантемы корейской (Chrysanthemum koreanum Makai) методом ВЭЖХ / М. И. Кодониди, Э. Т. Оганесян, О. А. Андреева // Курский научно-практический вестник "Человек и его здоровье. – 2008. – № 1. – С. 120–122.
4. 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.
5. Лукманова К. А. Аминокислотный и минеральный состав фитопрепарата люцерон / К. А. Лукманова, В. А. Рябчук, Н. Х. Салихова // Фармация. – 2000. – № 2. – С. 25–27.
6. Салига Н. О. Активність глутатіонової системи анти-

оксидантного захисту в щурів за дії L-глутамінової кислоти / Н. О. Салига // Український біохімічний журнал. – 2013. – № 4. – С. 40-47.
7. Світ рослин. Повна ілюстрована енциклопедія / пер. з рос. Т. Єгорової; Іл. А. Воробйова, Ю. Золотарьової, Ю. Школьник. – К. : Країна Мрій, 2008. – С. 202–203 с.
8. Jambor A. Amino acid analysis by highÏperformance liquid chromatography after derivatization with 9–fuorenylmethyloxycarbonyl chloride. Literature overview and further study / A. Jambor // Journal of Chromatography A. – 2009. – Vol. 1216. – P. 3064–3077.
9. Jambor A. Quantitation of amino acids in plasma by high performance liquid chromatography: Simultaneous deproteinization and derivatization with 9–?uorenylmethyloxycarbonyl chloride / A. Jambor // Journal of Chromatography A. – 2009. – Vol. 1216. – P. 6218–6223.

АМИНОКИСЛОТНЫЙ СОСТАВ ЛИСТЬЕВ ХРИЗАНТЕМЫ НИЗКОРОСЛОЙ

О. Л. Демидяк

Тернопольский государственный медицинский университет имени И. Я. Горбачевского

Резюме: иследовано аминокислотный состав листьев хризантемы низкорослой сортов Finos, Grandeur, Apro, Belgo, Ostora. Идентифицировано 19 аминокислот, 8 из которых незаменимые, 11 – заменимые.

Ключевые слова: аминокислоты, хризантема низкорослоя, листья.

AMINO ACIDS CONTENT OF THE LEAVES FROM CHRYSANTHEMUM SPECIES

O. L. Demydiak

Ternopil State Medical University by I. Ya. Horbachevsky

Summary: determination of amino acids content of the leaves from Chrysanthemum species such as: Finos, Grandeur, Apro, Belgo, Ostora. 19 amino acids was identified, 8 of which are essential, 11 – nonessential amino acids.

Key words: amino acids, Chrysanthemum, leaves.

Отримано 23.05.2014