

УДК 547.478.7:582.998.16

**ИЗУЧЕНИЕ АЗОТСОДЕРЖАЩИХ СОЕДИНЕНИЙ ГОРЛЮХИ
ЯСТРЕБИНКОВОЙ (PICRIS HIERACIOIDES L.)****Бубенчикова В.Н., Степнова И.В.***ФГБОУ ВО «Курский государственный медицинский университет», Курск,**e-mail: bubenjikova.ksmu@yandex.ru*

Объектом исследования явилась воздушно-сухая трава горлюхи ястребинковой (*Picris hieracioides* L.), заготовленной в 2016 году в Курской области в период цветения растения. Изучен качественный и количественный состав азотсодержащих соединений травы горлюхи ястребинковой. Наличие азотистых оснований в траве определяли в водных экстрактах с помощью качественных реакций и бумажной хроматографии. Методом бумажной хроматографии обнаружено 4 соединения, отнесенные к азотистым основаниям с Rf 0,19, Rf 0,29, Rf 0,35, Rf 0,51. Для количественного определения азотистых оснований использовали метод Г.А. Луковниковой и А.И. Есютиной. Этот метод основан на определении оптической плотности азотистых оснований с солью Рейнеке. Содержание суммы азотистых оснований в траве горлюхи ястребинковой составляет 0,048%, в том числе холина – 0,014%. Аминокислотный состав представлен 16 соединениями: аспарагиновой кислотой, треонином, серином, глутаминовой кислотой, пролином, глицином, аланином, валином, метионином, изолейцином, лейцином, тирозином, фенилаланином, гистидином, лизином, аргинином; 7 из которых относятся к незаменимым.

Ключевые слова: горлюха ястребинковая, азотистые основания, аминокислоты**INVESTIGATION OF NITROGEN-CONTAINING
COMPOUNDS OF PICRIS HIERACIOIDES L.****Bubenjikova V.N., Stepnova I.V.***Kursk State Medical University, Kursk,**e-mail: bubenjikova.ksmu@yandex.ru*

The object of the study was crushed air-dry herb of *Picris hieracioides* L., harvested in 2016 in Kursk region during the period of flowering. It has been investigated the qualitative and quantitative composition of the nitrogen-containing compounds of *Picris hieracioides* L. herb. The presence of nitrogen compounds in the herb was defined in aqueous extracts with using qualitative reactions and paper chromatography. 4 nitrogenous bases were revealed by paper chromatography with Rf 0,19, Rf 0,29, Rf 0,35, Rf 0,51. To determine the quantity of nitrogenous bases in the herb modified method of G.A. Lukovnikova and A.I. Esyutina was used. The method based on measurement of the optical density of the colored complexes formed by the interaction of nitrogenous bases with salt Reinecke. The total content of nitrogen bases in the *Leontodon hispidus* L. herb is 0.048%, including choline – 0.014%. The amino acid composition is represented by 16 compounds: asparaginic acid, threonine, serine, glutamic acid, proline, glycine, alanine, valine, methionine, isoleucine, leucine, tyrosine, phenylalanine, histidine, lysine, arginine; 7 of which are irreplaceable.

Keywords: *Picris hieracioides* L., nitrogenous bases, amino acids

Горлюха ястребинковая (*Picris hieracioides* L.) – дву- или многолетнее травянистое растение, широко распространенное в областях Центрального Черноземья [4].

Горлюха ястребинковая широко применяется в народной медицине в качестве мягчительного, потогонного, легкого слабительного средства [3]. Фармакологические исследования показали наличие антиоксидантной, противовоспалительной, антибактериальной и цитотоксической активности, у водно-спиртовых экстрактов из надземной части горлюхи ястребинковой [6].

Однако, химический состав горлюхи ястребинковой мало изучен недостаточно, имеются только отдельные сведения о качественном содержании биологически активных веществ, так в надземной и подземной частях растения найдены сесквитерпеновые лактоны, в листьях идентифицирован β -ситостерин [6], в частности не изучены азотсодержащие соединения.

Азотсодержащие соединения имеют важное значение для организма человека. Азотистые основания участвуют в иммунных реакциях организма человека. Холин входит в состав фосфолипидов: лецитина и сфингомиелина, оказывает липотропное действие, являются составной частью лекарственных препаратов, применяемых для лечения и профилактики заболеваний нервной, сердечно-сосудистой систем.

Целью нашей работы явилось изучение азотсодержащих соединений травы горлюхи ястребинковой.

Объектом исследования служила измельченная воздушно-сухая, трава горлюхи ястребинковой заготовленная в 2016 г. в окрестностях города Курска в период массового цветения растения.

Материалы и методы исследования

Изучение азотистых оснований проводили в водном извлечении, для чего 5,0 г измельченного сырья

заливали 50 мл воды очищенной и нагревали с обратным холодильником на кипящей водяной бане в течение 1 часа. Извлечение фильтровали, сырье заливали снова 50 мл воды и операцию повторяли. Водные извлечения, полученные после трехкратной экстракции, объединяли, упаривали под вакуумом до 25 мл и использовали для определения азотистых оснований.

Наличие азотистых оснований устанавливали с помощью качественных реакций (с раствором кислоты фосфорновольфрамовой 3%; с реактивом Манделлина; с раствором кислоты хлористоводородной и бриллиантовым зеленым) и методом хроматографии на бумаге в системе растворителей *n*-бутанол – кислота уксусная – вода (4:1:2), в качестве проявителя выступали пары йода [5].

Количественное содержание азотистых оснований определяли по модифицированной методике Г.А. Луквниковой и А.И. Есютиной. В основе методики лежит определение оптической плотности окрашенных комплексов азотистых оснований с солью Рейнеке. Для определения азотистых оснований сырье исчерпывающе экстрагировали горячей водой очищенной и в полученном извлечении определяли холин и сумму азотистых оснований. Для этого к водному извлечению прибавляли раствор кислоты хлористоводородной до pH – 3, раствор охлаждали, далее прибавляли раствор соли Рейнеке и помещали в холодильник на 18 часов для полного осаждения азотистых оснований. Осадок окрашенного комплекса растворяли в ацетоне и не позднее 5 минут колориметрировали на фотоэлектроколориметре при синем светофильтре (при длине волны 400 ± 10 нм), в кювете с толщиной слоя 10 мм. Параллельно в тех же условиях измеряли оптическую плотность раствора стандартного образца холин-стандарта с солью Рейнеке [5].

При определении суммы азотистых оснований к водному извлечению прибавляли 0,1N раствор калия перманганата и нагревали на кипящей водяной бане 10 минут, чтобы азотистые основания окислились до холина. Последующее определение проводили как для холина.

Качественное обнаружение аминокислот проводили в водном извлечении с помощью нингидриновой реакции, а также анализировали их состав хроматографией в тонком слое сорбента [2]. Для хроматографического анализа 0,03–0,05 мл полученного извлечения хроматографировали в тонком слое сорбента на пластинках «Sorbfil» в системе растворителей 96% спирт этиловый – конц. аммиак (16:4,5) с достоверными образцами аминокислот. Хроматограмму высушивали на воздухе, обрабатывали спиртовым раствором нингидрина 0,2% и нагревали в сушильном шкафу при 100–105° С в течение нескольких минут. Аминокислоты проявлялись в виде красно-фиолетовых пятен [2].

Суммарный аминокислотный состав определяли на аминокислотном анализаторе – автоматизированном жидкостном хроматографе (AAA 400), для этого точную навеску сырья (0,2 г), вносили в колбу со шлифом, прибавляли 20 мл раствора 6 М кислоты хлористоводородной, плотно закрывали и термостатировали при температуре 110°С в течение 23 часов. По окончании гидролиза колбу охлаждали до комнатной температуры, фильтровали кислое извлечение и при использовании роторного испарителя выпаривали досуха. К сухому остатку добавляли 5 мл воды очищенной и процедуру повторяли дважды для удаления остатков кислоты хлористоводородной.

К полученному сухому остатку приливали 50 мл загрузочного буфера (pH – 2,2), который готовили сле-

дующим образом: в мерную колбу на 1 литр вносили отвешенные 14 г лимонной кислоты, 11,5 г хлорида натрия, 0,1 г азида натрия, 5 мл тиодигликоля, водой очищенной объем доводили до метки. В подготовленную ионообменную колонку вносили полученный и отфильтрованный раствор.

Аминокислотный анализ проводили при следующих условиях: поток буферных растворов 0,3 мл/мин, скорость потока нингидринового реактива 0,2 мл/мин, детектирование проводили в УФ областях при 440 и 570 нм, температура термостата реактора 121°С [2].

Результаты исследования и их обсуждение

С помощью качественных реакций установили наличие азотистых оснований в траве горлюхи ястребинковой. Хроматографический анализ извлечения из травы горлюхи ястребинковой показал наличие 4 пятен имеющих темно-оранжевую окраску, отнесенные к азотистым основаниям, со значениями Rf 0,19, Rf 0,29, Rf 0,35, Rf 0,51.

Результаты количественного определения, проведенного методом фотоэлектроколориметрии показывают, что содержание суммы азотистых оснований в траве горлюхи ястребинковой составляет 0,048%, в том числе холина 0,014%;

Результаты качественного анализа аминокислот позволили установить их наличие в траве горлюхи ястребинковой. При хроматографическом анализе аминокислоты проявлялись в виде красно-фиолетовых пятен. Методом хроматографического анализа на бумаге установили аминокислотный состав горлюхи ястребинковой. Аминокислотный состав травы горлюхи ястребинковой представлен 16 аминокислотами: аспарагиновой кислотой, треонином, серином, глутаминовой кислотой, пролином, глицином, аланином, валином, метионином, изолейцином, лейцином, тирозином, фенилаланином, гистидином, лизином, аргинином. Среди идентифицированных аминокислот 7 являются незаменимыми (таблица).

Наибольшее содержание отмечено для аспарагиновой кислоты (1,44%) и глутаминовой кислоты (1,36%).

Выводы

Изучен качественный и количественный состав азотсодержащих соединений травы горлюхи ястребинковой (*Picris hieracioides* L.)

Содержание суммы азотистых оснований в траве горлюхи ястребинковой составляет 0,048%, в том числе холина – 0,014%.

Изучен качественный и количественный состав аминокислот травы горлюхи ястребинковой. Всего обнаружено 16 аминокислот, из них 7 – незаменимых. Наибольшее содержание отмечено у аспарагиновой кислоты и глутаминовой кислоты.

Содержание связанных аминокислот в траве горлюхи ястребинковой, %

Наименование аминокислоты	Содержание связанных аминокислот, мг/100 мг в пересчете на абсолютно сухое сырье
Аспарагиновая кислота	1,44
Треонин*	0,50
Серин	0,48
Глутаминовая кислота	1,36
Пролин	1,26
Глицин	0,52
Аланин	0,55
Валин*	0,64
Метионин*	0,05
Изолейцин*	0,51
Лейцин*	0,80
Тирозин	0,25
Фенилаланин*	0,52
Гистидин	0,40
Лизин*	0,63
Аргинин	0,63

Примечание. * – незаменимые аминокислоты.

Список литературы

1. Бубенчиков Р.А., Позднякова Т.А. Изучение азотсодержащих соединений травы герани сибирской (*Geranium sibiricum* L.) // Вопросы обеспечения качества лекарственных средств. – 2013. – № 1. – С. 27–28.

2. Бубенчикова, В.Н., Левченко В.Н. Аминокислотный и минеральный состав травы хондриллы ситниковидной // Современные проблемы науки и образования [Электронный ресурс]: электрон. науч. журн. – 2015. – № 5 (61). – Режим доступа: <http://science-education.ru/128-21450>, свободный.

3. Дикорастущие полезные растения России / под ред. А.Л. Буданцева, С.П. Лесиовской. – СПб., 2001. – 663 с.

4. Иллюстрированный определитель растений Средней России. Т. 3: Покрывосеменные (двудомные: раздельнолепестные) / И.А. Губанов, К.В. Киселева, В.С. Новиков, В.Н. Тихомиров. – М.: Товарищество науч. изд. КМК, Ин-т технологических исследований, 2004. – С. 465.

5. Позднякова Т.А., Бубенчиков Р.А. Изучение азотсодержащих соединений герани болотной // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. – 2015. – № 11. – С. 37–39.

6. Растительные ресурсы России: Дикорастущие цветковые растения, их компонентный состав и биологическая активность. Т. 5. Семейство Asteraceae (Compositae). Часть 2. Роды *Echinops* – *Youngia* / Отв. ред. А.Л. Буданцева. – СПб.; М.: Товарищество науч. изд. КМК, 2013. – 312 с.