АМИНОКИСЛОТНЫЙ СОСТАВ ТРАВЫ ЧЕРНОБЫЛЬНИКА (ARTEMISIA VULGARIS L.) ФЛОРЫ РОССИИ И КИТАЯ

Т.Л. Киселёва, Люй Годун, А.В. Чаузова

Научно-исследовательский центр НО «Профессиональная ассоциация натуротерапевтов», НИИ питания РАМН (г. Москва)

Amino acid composition of mugwort herb (Artemisia vulgaris L.), grown in Russia and China

T.L. Kiseleva, Lu Guodong, A.V. Chauzova

RAMS Institute of nutrition, Scientific-research center of the «Professional Association of Naturotherapists» (Moscow, Russia)

РЕЗЮМЕ

Разработана методика тонкослойной хроматографии (ТСХ) аминокислот травы полыни обыкновенной (Artemisia vulgaris L.) флоры РФ и КНР. С помощью разработанной методики проведен сравнительный хроматографический анализ аминокислотного состава извлечений из травы полыни обыкновенной: настоя, настойки на 70 % спирте; водно-спиртовых извлечений (40 %, 60 %, 70 %, 90 %). С помощью растворов стандартных образцов в настойке травы чернобыльника обнаружены аргинин, гистидин, аспарагин, пролин, лизин, аланин, аспарагиновая кислота, метионин (КНР); аргинин, гистидин, аспарагин, пролин, лизин (РФ). В настоях травы (КНР и РФ) обнаружены аргинин, гистидин, аспарагин, лизин, аспарагиновая кислота.

Ключевые слова: *трава полыни обыкновенной, Artemisia vulgaris L., аминокислотный состав, тонкослойная хроматография (ТСХ), флора РФ, флора КНР.*

RESUME

The Thin-Layer Chromatography (TLC) technique for amino acid analysis of Mugwort herb (Artemisia vulgaris L.) was developed. Then we conducted a comparative chromatographic analysis of amino acid composition of different sorts of extracts of the Mugwort herb (infusion, tincture at 70% alcohol, hydroalcoholic extracts – 40%, 60 %, 70%, 90%) with the developed method. By using standard solutions of the amino acid samples we have discovered Arginine, Histidine, Asparagine, Proline, Lysine, Alanine, Aspartic acid, Methionine in Mugwort herb tincture (flora China), and Arginine, Aistidine, Asparagine, Proline, Lysine in Mugwort herb tincture (flora Russia). And we have discovered Arginine, Histidine, Asparagine, Lysine, Aspartic acid in Mugwort herb infusion (flora Russia and China).

Keywords: *Artemisia vulgaris L.*

ВВЕДЕНИЕ

Флора некоторых регионов России и КНР по ряду позиций совпадает или характеризуется близкородственными видами растений, которые используются в медицине обеих стран. Одним из таких растений является полынь обыкновенная – Artemisia vulgaris L, семейство астровые (Сложноцветные) – Asteraceae (Compositae). Растение официально в России, но не включено в Государственную Фармакопею КНР, несмотря на широкое распространение на территории КНР и применение в Китайской традиционной медицине.

В РФ до сих пор качество высушенной травы полыни обыкновенной нормируется ФС 42-2094-83; в Китае нормативный документ на сырье отсутствует. С целью гармонизации современных требований к качеству сырья в РФ и КНР актуальной является разработка НД, удовлетворяющей современным требованиям, предъявляемым к такого рода документации в обеих странах.

В современной медицинской практике все более востребованными становятся натуральные лекарственные средства, содержащие аминокислоты, и появляется все больше публикаций, посвященных изучению аминокислотного состава различных видов лекарственного растительного сырья (ЛРС) [3, 4, 5], в том числе методом ТСХ [1, 2].

Целью настоящего исследования являлось сравнительное изучение (методом ТСХ) аминокислотного состава травы чернобыльника флоры РФ и КНР.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Трава полыни обыкновенной (Artemisia vulgaris L.) заготовлена в фазу начала цвете-

ния в РФ (Московская область) и в КНР (в провинции Хэбэй – г. Шицзячжуань, г. Цанчжоу, г. Лантфан и в провинции Шандун - г. Цзыбо и г. Циндао) в 2009–2012 гг. Из высушенной травы получали настой; настойку на 70 % спирте; водно-спиртовые извлечения путем экстракции 40 %, 60 %, 70 %, 90 % спиртом на кипящей водяной бане с обратным холодильником.

Хроматографию в тонком слое проводили на пластинках DC-Alufolien Kieselgel 60 F_{254}, толщиной 0,2 мм (размером 10×10 см и 15×10 см), фирма «Merck», Германия. Для нанесения проб использовали микрошприцы на 10 мкл фирмы «Hamilton», Швейцария. В ходе исследования были отработаны оптимальные условия хроматографирования исследуемых объектов – подобрана подвижная фаза, время насыщения камеры, время активации хроматографических пластинок, способ нанесения проб и др.

Для проявления хроматограмм применяли 0,25 % спиртовой раствор нингидрина. Нанесение детектирующего раствора проводили опрыскиванием хроматограмм из пульверизатора. Обработку полученных хроматограмм проводили в видимом свете после проявления зон абсорбции.

В качестве растворов сравнения использовали свежеприготовленные водные растворы порошков стандартных образцов (СО) (10 мг/10 мл) следующих АК: L-аспарагиновая кислота «ч» («Реахим», Россия); Аспарагин («Merck», Darmstadt, Германия); L-метионин «чда» («Реахим», Россия); L-пролин «ч», хроматографически гомогенный («Reanal», Будапешт, Венгрия); L-лизина гидрохлорид «ч», хроматографически гомогенный («Reanal», Будапешт, Венгрия); L-Аланин «ч» («Реахим», Россия); аланин («Reanal» Будапешт, Венгрия); L-гистидина моногидрохлорид (для биохимии) («Merck», Darmstadt, Германия); L-Аргинин («Merck», Darmstadt, Германия) [6].

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

При проведении исследований наилучшее разделение зон абсорбции АК всех изучаемых извлечений из травы полыни обыкновенной наблюдали при хроматографировании в системе изопропанол – вода (7:3)

Методика. Хроматографическую камеру предварительно насыщали – 5 мл подвижной фазы – 30 мин., пластинку предварительно промывали и активировали в сушильном шкафу при 110^0 С – 2–5 минут. Линия старта на хроматографической пластинке – на 1,5 см от нижнего края; объем пробы – 5 мкл; нанесение – в виде полосы длиной 0,7 см и толщиной не более 3 мм; фронт растворителей – 7 см. После прохождения фронта и высушивания хроматограмму опрыскивали 0,25 % спиртовым раствором нингидрина, высушивали на воздухе, затем помещали в сушильный шкаф на 2–5 минут при температуре 110 °С до проявления зон адсорбции. Примечание: Обработку хроматограмм следует проводить непосредственно после проявления зон адсорбции, так как соединения, образующиеся при взаимодействии нингидрина с АК, быстро разрушаются.

Полученные результаты представлены в табл. 1–6, схема хроматограммы – на рис. 1.

При хроматографировании настоев травы полыни обыкновенной флоры КНР и РФ было обнаружено по 8 зон адсорбции (рис. 1, табл. 2).

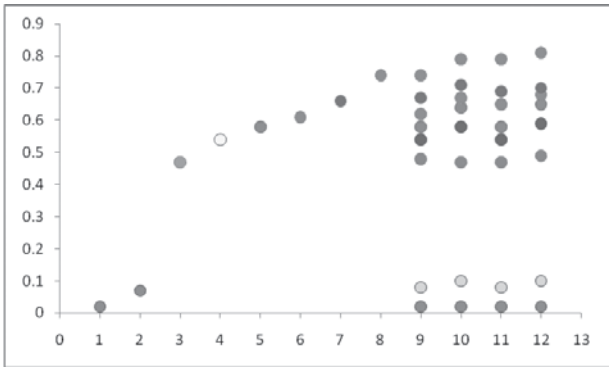

Рис. 1. Хроматограмма аминокислотного состава настойки (70% спирт) и настоя травы чернобыльника флоры РФ и КНР (система – изопропанол-вода 7:3); 1-8 – растворы СО аминокислот: 1 – аргинина; 2 – гистидина; 3 – аспарагина; 4 – пролина; 5 – лизина; 6 – аланина; 7 – аспарагиновой кислоты; 8 – метионина; 9 – настойка травы флоры КНР; 10 – водное извлечение из травы флоры КНР; 11 – настойка травы флоры РФ; 12 – водное извлечение из травы флоры РФ.

Таблица 1

Характеристика зон адсорбции растворов стандартных образцов (СО) аминокислот при ТСХ в системе изопропанол - вода (7:3) (среднее значение Rf из 3-х определений)

Раствор СО	Значение Rf	Цвет зоны
Аргинин	0,02	розовый
Гистидин	0,07	розовый
Аспарагин	0,47	бурый
Пролин	0,54	желтый
Лизин	0,58	розовый
Аланин	0,61	розовый
Аспарагиновая кислота	0,66	фиолетовый
Метионин	0,74	розовый

Значения Rf и цвета зон адсорбции АК настоев практически совпадают.

Как видно из данных рис. 1 и табл. 2, на хроматограмме настоев травы полыни флоры КНР и РФ предположительно обнаружены аргинин, гистидин, аспарагин, лизин, аспарагиновая кислота.

При хроматографировании настоек на 70 % спирте травы полыни обыкновенной флоры КНР и РФ было обнаружено по 8 зон адсорбции (табл. 3).

Как видно из данных табл. 3, на хроматограмме настойки (70 % спирт) травы полыни обыкновенной флоры КНР предположительно обнаружены аргинин, гистидин, аспарагин, пролин, лизин, аланин, аспарагиновая кислота, метионин; флоры РФ – аргинин, гистидин, аспарагин, пролин, лизин.

При хроматографировании водно-спиртовых извлечений 40 % спиртом и 60 % спиртом из травы полыни обыкновенной флоры КНР и РФ было обнаружено по 9 зон адсорбции (табл. 4).

Как видно из данных табл. 4, нами были получены аналогичные хроматограммы водно-спиртовых извлечений 40 % и 60 % спиртом для травы полыни из РФ и из КНР. На хроматограмме водно-спиртового извлечения 40 % и 60 % спиртом из травы полыни обыкновенной флоры КНР предположительно обнаружены аргинин, гистидин, аспарагин, метионин; флоры РФ – аргинин, гистидин, аспарагиновая кислота.

Таблица 2

Характеристика наиболее четко определяемых зон адсорбции при ТСХ настоев травы полыни обыкновенной флоры КНР и РФ в системе изопропанол - вода (7:3) (среднее значение Rf из 3-х определений)

Настой травы полыни			Раствор СО	Значение Rf	Цвет зоны
Значение Rf		Цвет зоны			
КНР	РФ				
0,02	0,02	розовый	Аргинин	0,02	розовый
0,1	0,1	розовый	Гистидин	0,07	розовый
0,47	0,49	бурый	Аспарагин	0,47	бурый
0,58	0,59	розовый	Лизин	0,58	розовый
0,64	0,65	фиолетовый	Аспарагиновая кислота	0,66	фиолетовый
0,67	0,68	розовый			
0,71	0,7	фиолетовый			
0,79	0,81	розовый			

Таблица 3

Характеристика наиболее четко определяемых зон адсорбции при ТСХ настоек на 70 % спирте травы полыни обыкновенной флоры КНР и РФ в системе изопропанол - вода (7:3) (среднее значение Rf из 3-х определений)

Настойка травы полыни на 70 % спирте			Раствор СО	Значение Rf	Цвет зоны
Значение Rf		Цвет зоны			
КНР	РФ				
0,02	0,02	розовый	Аргинин	0,02	розовый
0,08	0,08	розовый	Гистидин	0,07	розовый
0,48	0,47	бурый	Аспарагин	0,47	бурый
0,54	0,54	желтый	Пролин	0,54	желтый
0,58	0,58	розовый	Лизин	0,58	розовый
0,62	0,65	розовый	Аланин	0,61	розовый
0,67	0,69	фиолетовый	Аспарагиновая кислота	0,66	фиолетовый
0,74	0,79	розовый	Метионин	0,74	розовый

При хроматографировании водно-спиртовых извлечений 70 % спиртом из травы полыни обыкновенной флоры КНР и РФ было обнаружено 10 и 8 зон адсорбции, соответственно (табл. 5).

Как видно из данных табл. 5, на хроматограмме водно-спиртового извлечения 70 % спиртом из травы полыни обыкновенной флоры КНР предположительно обнаружены аргинин, гистидин, аспарагин, пролин, лизин, аланин, аспарагиновая кислота, метионин; флоры РФ – аргинин, гистидин, аспарагин, пролин, лизин; аспарагиновая кислота, метионин.

При хроматографировании водно-спиртовых извлечений 90 % спиртом из травы полыни обыкновенной флоры КНР и РФ было обнаружено по 9 зон адсорбции (табл. 6). Значения Rf и цвета зон адсорбции АК экстрактов совпадают.

Как видно из данных табл. 6, на хроматограмме водно-спиртовых извлечений 90 % спиртом из травы полыни обыкновенной флоры КНР и РФ предположительно обнаружены аргинин, гистидин, аспарагин, метионин.

ВЫВОДЫ:

1. Разработана методика ТСХ для анализа суммы аминокислот (АК), содержащихся в траве полыни обыкновенной. С помощью разработанной методики проведен сравнительный хроматографический анализ АК-состава различных спирто-водных извлечений из травы полыни обыкновенной флоры КНР и РФ.

Таблица 4

Характеристика наиболее четко определяемых зон адсорбции при ТСХ водно-спиртовых извлечений 40 % и 60 % спиртом из травы полыни обыкновенной флоры КНР и РФ в системе изопропанол - вода (7:3) (среднее значение Rf из 3-х определений)

Водно-спиртовые извлечения 40 % спиртом и 60 % спиртом			
из травы полыни обыкновенной флоры КНР		из травы полыни обыкновенной флоры РФ	
значение Rf	цвет зоны	значение Rf	цвет зоны
0,02	Розовый	0,02	Розовый
0,08	Розовый	0,1	Розовый
0,41	Розовый		
0,47	Бурый	0,47	Розовый
0,55	Фиолетовый		
		0,58	Бурый
0,64	Розовый	0,64	Фиолетовый
		0,71	Розовый
0,75	Розовый	0,77	Розовый
0,82	Розовый	0,82	Розовый
0,87	Желтый	0,87	Желтый

Таблица 5

Характеристика наиболее четко определяемых зон адсорбции при ТСХ водно-спиртовых извлечений 70 % спиртом из травы полыни обыкновенной флоры КНР и РФ в системе изопропанол - вода (7:3) (среднее значение Rf из 3-х определений)

Водно-спиртовые извлечения 70 % спиртом			
из травы полыни обыкновенной флоры КНР		из травы полыни обыкновенной флоры РФ	
значение Rf	цвет зоны	значение Rf	цвет зоны
0,02	Розовый	0,02	Розовый
0,08	Розовый	0,08	Розовый
0,48	Бурый	0,47	Бурый
0,54	Желтый	0,54	Желтый
0,58	Розовый	0,58	Розовый
0,62	Серый		
0,67	Фиолетовый	0,65	Фиолетовый
0,74	Розовый	0,74	Розовый
0,81	Желтый		
		0,84	Желтый
0,87	зеленый		

2. Установлено, что настои и водно-спиртовые экстракты (90 %-ным этанолом) из травы полыни обыкновенной флоры КНР и РФ аналогичны, а остальные извлечения различаются по АК-составу незначительно. С использованием растворов стандартных образцов высокой долей вероятности нами идентифицировано большинство АК, присутствующих на хроматограммах изучаемых объектов.

3. В траве полыни обыкновенной флоры КНР показано наличие аргинина, гистидина, аспарагина, пролина, лизина, аланина, аспарагиновой кислоты, метионина; флоры РФ – аргинина, гистидина, аспарагина, пролина, лизина, аспарагиновой кислоты, метионина (не удалось обнаружить аланин, в отличие от травы полыни из КНР).

Таблица 6

Характеристика наиболее четко определяемых зон адсорбции при ТСХ водно-спиртовых извлечений 90 % спиртом из травы полыни обыкновенной флоры КНР и РФ в системе изопропанол - вода (7:3) (среднее значение Rf из 3-х определений)

Водно-спиртовые извлечения 90 % спиртом			
из травы полыни обыкновенной флоры КНР		из травы полыни обыкновенной флоры РФ	
значение Rf	цвет зоны	значение Rf	цвет зоны
0,02	Розовый	0,02	Розовый
0,08	Розовый	0,08	Розовый
0,41	Розовый	0,41	Розовый
0,47	Бурый	0,47	Бурый
0,55	Фиолетовый	0,55	Фиолетовый
0,64	Розовый	0,64	Розовый
0,75	Розовый	0,75	Розовый
0,82	Розовый	0,82	Розовый
0,87	Желтый	0,87	Желтый

ЛИТЕРАТУРА

1. Алековский И.Б., Бардин И.И., Булатов М.И. Физико-химические методы анализа. Практическое руководство. – Л.: Химия, 2001. – С.376.

2. Бондаренко Б.Н. Количественное определение аминокислот при хроматографии в тонком слое// Лаб. дело. – 1984. – № 2. – С.118–120.

3. Граник В.Г. Метаболизм L-аргинина (обзор)// Хим.-фарм. журн. – 2003. – Т. 37.– № 3. – С.3–20.

4. Изучение аминокислотной фракции экстракта мумие сухого/ Т.Л. Киселева, Л.Н. Фролова, Л.А. Баратова и др.// Хим.-фарм. журн. – 1998. – Т. 32. – № 2. – С.47–51.

5. Изучение компонентного состава аминокислот в гомеопатических матричных настойках арники горной/ Е.И. Яковлева, З.П. Костенникова, Л.А. Баратова и др.// Фармация. – 2002. – Т. 52. – № 5. – С.11–14.

6. Шаршунова М., Шварц В., Михалец Ч. Тонкослойная хроматография в фармации и клинической биохимии. – Т. 2. – М., 1980. – С.379–382.

Адрес автора

Д. фарм. н., проф. Киселёва Т.Л., директор Научно-исследовательского центра, президент НО «Профессиональная ассоциация натуротерапевтов», ведущий научный сотрудник НИИ питания РАМН.

KiselevaTL@yandex.ru