

АМИНОКИСЛОТНЫЙ СОСТАВ АЛЬФРЕДИИ ПОНИКШЕЙ

И.В. Шилова^{1*}, доктор фармацевтических наук,

Н.В. Кувачёва², кандидат фармацевтических наук,

И.А. Самылина³, доктор фармацевтических наук, профессор, член-корреспондент РАН

¹НИИ фармакологии и регенеративной медицины им. Е.Д. Гольдберга;

Российская Федерация, 634028, Томск, пр. Ленина, д. 3

²Красноярский государственный медицинский университет им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого;

Российская Федерация, 660022, Красноярск, ул. Партизана Железняка, д. 1

³Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова;

Российская Федерация, 119991, Москва, ул. Трубецкая, д. 8, стр. 2

Ведение. Экстракты травы альфредии обладают ноотропными, антидепрессантными, анксиолитическими, антиоксидантными, диуретическими, антигрибковыми свойствами. Аминокислоты в таких экстрактах могут вносить весомый вклад в фармакологическую активность.

Цель работы – изучение аминокислотного состава надземной части растения альфредия поникшая (*Alfredia cernua* (L.) Cass.) семейства астровых.

Материал и методы. Объектом исследования служила надземная часть альфредии поникшей, заготовленная в фазу цветения – начала плодоношения в Усть-Канском районе Республики Алтай. Работа осуществлена с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ), хроматографии в тонком слое силикагеля (ТСХ), метода Кьельдаля. Содержание свободных и связанных аминокислот устанавливали с использованием аминокислотного анализатора А0326V2.

Результаты и обсуждение. В надземной части альфредии определено общее количество азотсодержащих соединений (13,75±2,45%). С применением аминокислотного анализатора установлено наличие 15 аминокислот (2,98±0,13%), в том числе 7 – незаменимых (1,02%; валин, гистидин, изолейцин, лейцин, лизин, треонин, фенилаланин). В преобладающей концентрации присутствуют глутаминовая и аспарагиновая кислоты, аланин, валин, глицин, лизин, лейцин и пролин.

Заключение. Результаты свидетельствуют о перспективности использования растения в качестве источника аминокислот, участвующих в процессах нервной и сосудистой регуляции различных функций организма, улучшающих биодоступность других биологически активных веществ (БАВ), образующих их безопасные формы, одновременно потенцирующих их эффект.

Ключевые слова: альфредия поникшая, *Alfredia cernua* (L.) Cass., трава, качественный состав, содержание, аминокислоты, глутаминовая кислота.

*E-mail: inessashilova@gmail.com

ВВЕДЕНИЕ

Альфредия поникшая (*Alfredia cernua* (L.) Cass.) – многолетнее травянистое растение семейства астровых (*Asteraceae*), произрастающее на высокогорных лугах и в разреженных пихтово-еловых лесах в южной части Западной Сибири и Средней Азии. Исследования фармакологической активности показали, что водный и водно-этанольные экстракты травы альфредии обладают ноотропными, антидепрессантными, анксиолитическими, антиоксидантными, диуретическими, антигрибковыми свойствами [1]. В надземной части растения установлено присутствие простых фенолов, флавоноидов (0,81±0,08%; кверцетин, кемпферол, таксифолин, апигенин, лютеолин, изокверцитрин, лютеолин-7-глюкозид, рутин), лигнанов (арктиин), органических кислот (3,33±0,49%; бензойная, салициловая, ванилиновая, коричная, кофейная, хлорогеновая,

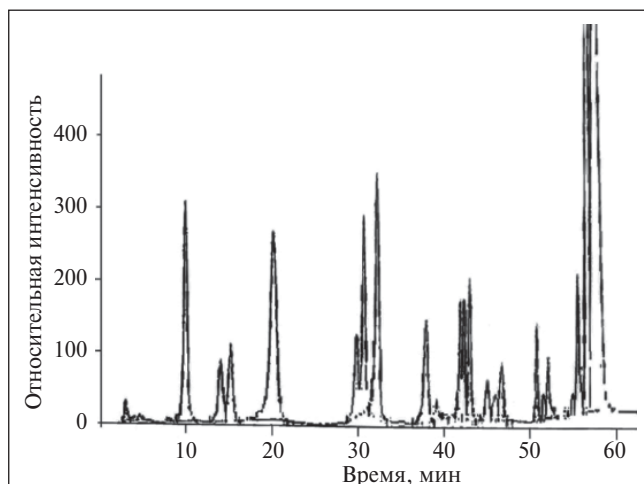
хинная), дубильных веществ (следовые количества), кумаринов (эскулетин), тритерпеновых соединений (1,05±0,17%; α- и β-амирин, моретенол, лупеол), стеридов (β-ситостерин), водорастворимых полисахаридов (2,27±0,33%; состоящих из D-глюкозы, D-галактозы, L-арабинозы, D-глюкуроновой кислоты), каротиноидов и азотсодержащих соединений, в том числе аминокислот [1,2]. Учитывая, что аминокислоты в таких экстрактах могут вносить весомый вклад в фармакологическую активность, целью работы явилось изучение аминокислотного состава травы альфредии поникшей.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Траву альфредии поникшей собирали в фазу цветения – начала плодоношения в окрестностях перевала Ябочанский Усть-Канского района Республики Алтай. Высушенное воздушным способом сырье измельчали и просеивали через сито с диаметром отверстий 2–4 мм (влажность 11,6%).

Экстракт получали обработкой измельченной надземной части растения водой очищенной трижды на водяной бане с обратным холодильником в течение 30 мин при температуре 60°C и соотношении сырье—экстрагент 1:15. Полученные извлечения объединяли, фильтровали и упаривали при температуре не выше 60°C. Полученный экстракт (влажность 5%) подвергали химическому исследованию.

Определение количества общего азота осуществляли с помощью метода Кельдаля. Предварительное обнаружение аминокислот проводили в сравнении с



Хроматограмма аминокислот водного экстракта травы альфредии поникшей

СОДЕРЖАНИЕ СУММЫ СВОБОДНЫХ И СВЯЗАННЫХ АМИНОКИСЛОТ В ТРАВЕ АЛЬФРЕДИИ ПОНИКШЕЙ

Аминокислота	Время удерживания на хроматограмме, мин	Количественное содержание, %
Аспарагиновая кислота	9,25	0,39
Треонин	13,12	0,13
Серин	15,36	0,13
Глутаминовая кислота	19,15	0,70
Пролин	29,11	0,16
Глицин	30,18	0,17
Аланин	32,54	0,28
Валин	38,32	0,18
Цистеин	40,46	0,03
Изолейцин	42,24	0,14
Лейцин	43,38	0,17
Тирозин	45,45	0,10
Фенилаланин	47,61	0,13
Гистидин	52,10	0,10
Лизин	55,44	0,17

достоверными образцами с помощью ТСХ на пластинках Silufol UV-254 в системах растворителей бутанол-1 – уксусная кислота – вода 40:10:5 и 10:2:5, применяя в качестве детектора свежеприготовленный 0,2% раствор нингидрина с последующим прогреванием пластинки при температуре 60°C в течение 30 мин.

Детальное исследование суммы свободных и связанных аминокислот альфредии поникшей выполняли с помощью аминокислотного анализатора А0326V2. 50 мг пробы переносили в ампулу из толстого стекла 12×120 мм и добавляли 20 мл 6N хлороводородной кислоты. Ампулу запаивали, затем осуществляли гидролиз в термостате при температуре 110°C в течение 22 ч. После гидролиза содержимое охлаждали, фильтровали и переносили в выпарительную чашку. Выпаривание проводили на кипящей водяной бане. Сухой остаток растворяли в 20 мл буфера (рН 2,2), отбирали 1 900 мкл и добавляли 100 мкл диметилсульфоксида (ДМСО). 100 мкл раствора пропускали через специальный патрон для очистки от примесей. Патрон промывали 1000 мкл буфера (с рН 2,2) с 5% ДМСО. На колонку А0992-13vl наносили 20 мкл образца, в качестве подвижной фазы использовали последовательно 4 цитратных буферных раствора различной кислотности и ионной силы (скорость потока буфера – 0,22 мл/мин, реагента – 0,2 мл/мин). Детектирование выполняли постколоночным окрашиванием раствором нингидрина при длине волны 570 нм с применением стандартных растворов аминокислот.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В результате исследования в траве альфредии поникшей установлено наличие азотсодержащих соединений, количество которых составляет 13,75±2,45%. В состав этой группы соединений входят аминокислоты. В предварительном исследовании с помощью ТСХ-анализа в траве растения обнаружено не менее 6 пятен аминокислот, включая метионин и триптофан.

С применением аминокислотного анализатора в надземной части альфредии установлено наличие 15 аминокислот (см. рисунок, таблицу), из них 7 – незаменимые (валин, гистидин, изолейцин, лейцин, лизин, треонин, фенилаланин). Общее содержание аминокислот в траве альфредии поникшей составило 2,98±0,13%, в том числе 1,02% – незаменимые аминокислоты, что является достаточно высоким показателем для растений. В преобладающей концентрации присутствуют глутаминовая и аспарагиновая кислоты, аланин, валин, глицин, лизин, лейцин и пролин, которые чаще всего входят в состав лекарственных средств ноотропного действия [3–5]. Следует обратить внимание на то, что содержание глутаминовой кислоты превалирует [6]. Последняя относится к группе нейромедиаторных аминокислот, которые стимулируют передачу возбуждения

в синапсах ЦНС. Глутаминовая кислота принимает участие в обмене углеводов, белков, окислительных процессах, сокращении скелетных мышц, детоксикации и элиминации из организма аммиака; способствует синтезу ацетилхолина и АТФ, переносу ионов калия; повышает резистентность организма к гипоксии. Эндогенная глутаминовая кислота содержится в значительных количествах в белках серого и белого вещества мозга [4, 7–9]. В медицинской практике ее применяют в терапии заболеваний ЦНС (эпилепсии, психозов различного происхождения, реактивных состояний с явлениями истощения, депрессии, у детей – при задержке психического развития различной этиологии, церебральных параличах, болезни Дауна, полиомиелите в остром и восстановительном периодах) [3, 4].

Аминокислоты необходимы для функционирования всего организма. Они являются строительным компонентом мозга и ЦНС, выступают в роли нейромедиаторов и напрямую воздействуют на функции мозга (улучшают краткосрочную и долгосрочную память, повышают интеллект и способность к обучению). Для работы мозга и ЦНС особенно важны триптофан, глицин, глутаминовая кислота и тирозин. Головной мозг характеризуется высокой концентрацией аминокислот глутаминовой группы (глутаминовая, γ -аминомасляная, аспарагиновая и N-ацетиласпарагиновая кислоты, глутамин), составляющей 75% пула свободных аминокислот мозга. Изолейцин, фенилаланин, валин, аргинин, аспарагин, глутамин отвечают за устойчивость психики, настроение и внимание. Лейцин, аланин, таурин влияют на выносливость нервной системы, в том числе при длительных нагрузках [3, 4, 8, 10]. Ароматические аминокислоты имеют особое значение как предшественники катехоламинов и серотонина. При нарушениях в энзиматической системе метаболизма и транспорта аминокислот наблюдаются неврологические расстройства [3, 4, 9, 10]. Таким образом, аминокислоты обладают широким спектром фармакологического действия, улучшают биодоступность других БАВ, образуют их безопасные формы, одновременно потенцируя их эффект, участвуют в процессах нервной и сосудистой регуляции различных функций организма.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В траве альфредии поникшей с использованием аминокислотного анализатора установлено наличие 15 аминокислот ($2,98 \pm 0,13\%$), 7 из которых – незаменимые, причем преобладает глутаминовая кислота. Полученные результаты позволяют рассматривать альфредию поникшую как перспективное лекарственное растительное сырье – источник получения аминокислот, обладающих широким спектром фармакологического действия и улучшающих биодоступность других БАВ.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Шилова И.В., Самылина И.А., Суслов Н.И. Разработка ноотропных средств на основе растений Сибири. Томск: «Печатная мануфактура», 2013; 268. (Shilova I.V., Samylina I.A., Suslov N.I. Development of nootropic drugs on the basis of Siberian plants. Tomsk: «Pechatnaja manufaktura», 2013; 268) (in Russian).
2. Шилова И.В. Рациональные подходы к поиску и созданию ноотропных средств растительного происхождения. Вестник РУДН. Серия Медицина., 2007; 6: 236–40. (Shilova I.V. Efficient approaches to the search and creation of nootropic preparations of vegetable origin. Vestnik RUDN. Serija Medicina., 2007; 6: 236–40) (in Russian).
3. Воронина Т.А., Середенин С.Б. Ноотропные и нейропротекторные средства. Экспериментальная и клиническая фармакология, 2007; 70. (4): 44–58. (Voronina T.A., Seredenin S.B. Nootropic and neuroprotective agents. Jeksperimental'naja i klinicheseskaja farmakologija, 2007; 70 (4): 44) (in Russian).
4. Ковалев Г.В. Ноотропные средства. Волгоград: Нижне-Волжское книжное издательство, 1990; 368. (Kovalev G.V. Nootropic drugs. Volgograd: Lower Volga book publishing house, 1990; 368) (in Russian).
5. Shilova I.V., Krasnov E.A., Baranovskaya N.V., Pyak A.I., Nekratov N.F. Amino acid and mineral composition of the above-ground part of *Atragene speciosa* Weinm. Pharmaceutical Chemistry Journal, 2002; 36 (11): 613–6.
6. Amino Acids: Chemistry, Biology and Medicine (ed. by G. Lubec and G.A. Rosenthal). Leiden: ESCOM, 1990; 1209.
7. Kolluri V.R. Sastry, Lakshmi G.Y.C.V.S. Changes in regional levels of putative neurotransmitter amino acids in brain under unilateral fore-brain ischemia. Neurochemical Research., 1989; 14 (7): 621–5.
8. Cianca R.C.C., Barbosa R.D., Faro L.R.F., Adana L.V., Gago-Martinez A., Pallares M.A. Differential changes of neuroactive amino acids in samples obtained from discrete rat brain regions after systemic administration of saxitoxin. Neurochemistry International, 2009; 54 (5–6): 308–13.
9. Lu Y.-R., Fu X.-Y., Shi Li-G. Decreased plasma neuroactive amino acids and increased nitric oxide levels in melancholic major depressive disorder. BMC Psychiatry., 2014; 14: 123.
10. Löscher W., Hörstermann D. Abnormalities in Amino Acid Neurotransmitters in Discrete Brain Regions of Genetically Dystonic Hamsters. Journal of Neurochemistry., 1992; 59 (2): 689–94.

Поступила 15 декабря 2015 г.

THE AMINO ACID COMPOSITION OF ALFREDIA CERNUA

I.V. Shilova¹, PhD; N.V. Kuvacheva², PhD; Professor I.A. Samylina³, PhD, Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences

¹E.D. Goldberg Research Institute of Pharmacology and Regenerative Medicine, 3, Lenin Pr., Tomsk 634028, Russian Federation

²Prof. V.F. Voino-Yasenetsky Krasnoyarsk State Medical University; 1, Partisan Zheleznyak St. Krasnoyarsk 600022, Russian Federation

³I.M. Sechenov First Moscow State Medical University; 8, Trubetskaya St., Build. 2, Moscow 119991, Russian Federation

SUMMARY

Background. Alfredia herb extracts have nootropic, antidepressant, anxiolytic, antioxidant, diuretic, and antifungal properties. Amino acids in these extract may contribute a weighty contribution to pharmacological activity.

Фармацевтическая химия и фармакогнозия

Objective: to investigate the amino acid composition of the above-ground part of the plant *Alfredia cernua* (L.) Cas.) of the Aster family (*Asteraceae*).

Material and methods. The above-ground *Alfredia cernua* part stored in the period of flowering to the onset of fruiting in the Ust-Kansky District of the Republic of Altai was the subject of the investigation. The latter was conducted using high performance liquid chromatography, thin-layer chromatography in silica gel, and Kjeldahl method. The content of free and bound amino acids was determined using an A0326V2 amino acid analyzer (Germany).

Results and discussion. The total amount of nitrogen-containing compounds ($13.75 \pm 2.45\%$) was determined in the above-ground part of *Alfredia*. The use of the amino acid analyzer could establish the presence of 15 amino acids ($2.98 \pm 0.13\%$), including 7 essential ones (1.02%): valine, histidine, isoleucine, leucine, lysine, threonine, and phenylalanine. Glutamic and aspartic acids, alanine, valine, glycine, lysine, leucine, and proline were present in a predominant concentration.

Conclusion. The results suggest that it is promising to use the plant as a source of amino acids involved in the processes of nervous and vascular regulation of different functions of the body, which improve the bioavailability of other biological active substances that form their safe formulations simultaneously potentiating their effect.

Key words: *Alfredia cernua* (L.) Cass, herb, qualitative composition, content, amino acids, glutamic acid.