

ИССЛЕДОВАНИЕ ХИМИЧЕСКОГО СОСТАВА AMARANTHUS RETROFLEXUS L.

О.В. Сошникова, В.Я. Яцюк

ГОУ ВПО Курский государственный медицинский университет Росздрава, г.Курск

В статье приведены результаты исследования качественного состава и количественного содержания некоторых классов биологически активных веществ содержащихся в траве амаранта запрокинутого. С помощью классических методов органической химии установлено наличие в траве амаранта запрокинутого углеводов, органических кислот, дубильных веществ, флавоноидов. Методом тонкослойной хроматографии с достоверными образцами идентифицировано ряд моно- и дисахаридов, органических кислот, в том числе аминокислот. Изучение фенольного состава травы амаранта запрокинутого методом ВЭЖХ позволило установить присутствие в исследуемом сырье как минимум 15 веществ фенольной природы. Впервые определено суммарное содержание органических кислот, в том числе аминокислот и аскорбиновой кислоты, водорастворимого полисахаридного комплекса, пектиновых веществ, дубильных веществ, флавоноидов.

Ключевые слова: качественный состав, биологически активные вещества, трава амаранта запрокинутого

В настоящее время пришло понимание, что лекарственные растения имеют огромное значение, и их не могут полностью заменить синтетические лекарственные препараты.

Химический состав лекарственных растений не ограничивается одним - двумя классами биологически активных веществ, а представляет собой совокупность различных веществ (углеводов, аминов, карбоновых кислот и их гетерофункциональных производных, фенольных соединений, омыляемых и неомыляемых липидов и др.) сочетание которых является индивидуальным для каждого отдельного растения и определяет его фармакологическую активность. В связи с многообразием веществ, содержащихся в лекарственных растениях, их действие на организм более разностороннее, чем действие любого лекарства, полученного химическим путем.

Кроме активного лекарственного начала растения содержат необходимые для жизни питательные вещества: белки, жиры, углеводы, микроэлементы, витамины, биологически активные вещества. Поэтому многие лекарственные растения являются одновременно и пищевыми (свекла, морковь, греча, картофель, петрушка, амарант и т. д.) [4].

Проблема поиска новых эффективных лекарственных средств волнует специалистов разных стран не один десяток лет, однако данный вопрос остается открытым, на основании этого в последние годы в России активно проводятся мероприятия по изучению дикорастущих лекарственных растений, которые позиционировались как сорные.

Одним из возможных источников биологически активных веществ можно рассматривать амарант запрокинутый (*Amaranthus retroflexus* L.), семейство амарантовые — *Amaranthaceae*.

На территории России встречается 15 видов амаранта, но наиболее распространен амарант запрокинутый, или щирица обыкновенная (*Amaranthus retroflexus*). Данное растение известно как злостный сорняк, с одной стороны, и как одна из лучших кормовых культур — с другой. Благодаря широкому распространению в диком виде практически по всей России, неприхотливости, он быстро завоевал популярность у животноводов. Добавка амаранта в рационы домашних животных оказывает стимулирующее влияние на процессы белкового метаболизма.

В настоящее время некоторые амаранты используются как зерновые, овощные, кормовые и, разумеется, декоративные растения.

Несмотря на широкую известность и распространение амаранта запрокинутого химический состав и фармакологическая активность данного растения изучены недостаточно.

В рецептах народной медицины водный настой травы применяют при поносах — простом и дизентерийном, кишечных коликах, при запорах в качестве слабительного, как

кровоостанавливающее средство при кровохарканье, сильных менструальных и упорных геморроидальных кровотечениях [1].

В настоящее время масло из семян амаранта широко используется как биологически активная добавка. Это обусловлено главным образом высоким содержанием в ней сквалена, а также полиненасыщенных жирных кислот, витаминов [5]. Имеются данные что в листьях содержатся до 184 мг% витамина С, каротин, азотсодержащие соединения (0,96% бетаина), жирное масло, крахмал, соли кальция, фосфор. В семенах 8,6% воды, 10% клетчатки, 19% протеина, 7,9% жирного масла, 41% крахмала, 2% сахара, 4,5% золы и незначительное количество танина [1].

В зарубежной литературе приводятся сведения об антиоксидантной и антиноцицептивной активности водно-спиртового извлечения полученного с использованием 50% спирта этилового, а также гепатопротекторных свойствах аминопуринов, цитокинетической активности белковой фракции извлеченной из амаранта [20,21,22].

Целью настоящих исследований являлось изучение качественного состава и количественного содержания отдельных классов биологически активных веществ травы амаранта запрокинутого.

Материалы и методы

Объектом исследования являлось воздушно-сухое измельченное сырье (трава) амаранта запрокинутого, заготовленное в 2008 г. на территории Курской области, в период обильного цветения – начала плодоношения.

Предварительные исследования заключались в обнаружении биологически активных веществ в сырье с помощью классических методов органической химии [6,14,19].

Результаты качественных реакции были подтверждены бумажной хроматографией с использованием хроматографической бумаги "Ленинградская N 2", а так же хроматографией в тонком слое сорбента на пластинках «Silufol», с применением систем растворителей: изопропанол-вода (4:1), н-бутанол - кислота уксусная ледяная - вода (4:1:2), 95% этиловый спирт – аммиак концентрированный (16:4,5), гексан – диэтиловый эфир (8:2); хлороформ – спирт этиловый (9:1) [13,15,17,18]. После обработки хроматограмм соответствующими детектирующими реактивами были идентифицированы углеводы: глюкоза, лактоза, фруктоза, сахароза, ряд органических кислот: аскорбиновая, молочная, яблочная, а так же α -аминокислоты, среди которых – заменимые: аланин, тирозин, глутаминовая кислота и ряд незаменимых α -аминокислоты: валин, лейцин, треонин, фенилаланин.

Исследования фенольных соединений осуществляли хроматографией в тонком слое сорбента на пластинках «Silufol» с использованием систем растворителей н-бутанол - кислота уксусная ледяная - вода (4:1:2), хлороформ – метанол – вода (61:32:7), хлороформ - бензол (1:2) и методом ВЭЖХ на высокоэффективном жидкостном хроматографе фирмы «Waters», с последующей компьютерной обработкой результатов с помощью программы «Millenium 32» [13,15].

Для разделения компонентов была использована металлическая колонка размером 150×4,6 мм, заполненная обращеннофазным сорбентом С-18, с размером частиц 5 мкм. При анализе использовали метод градиентного элюирования. Подвижной фазой служила смесь ацетонитрил – вода – о-фосфорная кислота в соотношении (400:600:5) соответственно. Скорость подачи элюента 1мл/мин. Продолжительность анализа 65 мин. Детектирование проводилось с помощью УФ-детектора при длине волны 254 нм. Параллельно готовили серию 0,05% растворов стандартных образцов (РСО) в 95% спирте этиловом. Исследуемые растворы и РСО вводили по 10 мкл в хроматограф и хроматографировали по выше приведенной методике.

Идентификацию разделенных веществ проводили путем сопоставления времен удерживания пиков, полученных на хроматограмме пробы, с временами удерживания модельной смеси стандартных растворов (РСО). Расчет количественного содержания веществ полифенольной природы производили методом математических расчетов и абсолютной калибровки.

Результаты и их обсуждение

В ходе исследований было установлено, что трава амаранта запрокинутого содержит не менее 15 веществ фенольной природы, среди которых идентифицированы и количественно определены следующие соединения представленные в таблице 1.

Таблица 1

*Содержание фенольных соединений в траве *Amaranthus retroflexus* L.*

<i>Наименование веществ</i>	<i>Время удерживания PCO, мин</i>	<i>Содержание, % (10^{-2})</i>
<i>Кофейная кислота</i>	14,4	0,2
<i>Хлорогеновая кислота</i>	12,7	0,1
<i>Рутин</i>	25,1	2,1
<i>Цинарозид</i>	26,4	0,3
<i>Гиперозид</i>	26,0	0,4
<i>Арабенин</i>	28,2	0,1

По методике Кочеткова из травы амаранта запрокинутого выделены водорастворимый полисахаридный комплекс и пектиновые вещества. Количественное содержание отдельных фракций полисахаридов определяли гравиметрическим методом [8, 11,16].

Для установления количественного содержания свободных органических кислот, аскорбиновой кислоты и дубильных веществ использовали методики, приведенные в ГФ XI [9,10].

Суммарное содержание аминокислот устанавливали спектрофотометрически на спектрофотометре марки СФ-2000 после реакции взаимодействия аминокислот с раствором нингидрина, в результате которой образуется соль енольной формы дикетогидринденкетогидринамина, имеющая фиолетовую окраску и поглощающая свет в области 550-570 нм [2,12].

Количественное определение суммы флавоноидов проводили методом дифференциальной спектрофотометрии на спектрофотометре марки СФ-2000, основанном на реакции комплексообразования с раствором алюминия хлорида и раствором натрия ацетата [3]. Данный метод предусматривает использование в качестве контроля испытуемый раствор без реактивов, что позволяет исключить влияние окрашенных и сопутствующих веществ, а также веществ, не образующих комплексов с реактивами [11,17].

В результате проведенных исследований методом ВЭЖХ было установлено, что одним из компонентов в сумме производных фенилбензо- γ -пирона является рутин, на основании чего определение суммы флавоноидов осуществляли в пересчете на данное соединение.

Результаты исследований количественного состава биологически активных веществ в траве амаранта запрокинутого представлены в таблице 2.

Таблица 2

Содержание БАВ в траве *Amaranthus retroflexus L.*

<i>Группа БАВ</i>	<i>Вид сырья</i>	<i>Количественное содержание БАВ в траве <i>Amaranthus retroflexus L.</i></i>
Водорастворимый полисахаридный комплекс, %		9,48±0,28
Пектиновые вещества, %		0,35±0,08
Органические кислоты, %		1,73±0,04
Аскорбиновая кислота, %		0,15±0,01
Аминокислоты, %		3,08±0,09
Дубильные вещества, %		3,2±0,10
Флавоноиды, %		1,12±0,03

Результаты полученные в ходе эксперимента свидетельствуют о том, что амарант запрокинутый является перспективным сырьем для дальнейшего изучения состава биологически активных веществ и их фармакологической активности с целью создания новых лекарственных средств.

ЛИТЕРАТУРА

1. Баландина И.А. Лекарственные растения: справочное пособие / И.А. Баландина, Н.И. Гриневич, В.А. Ермакова.- М.: Высш.шк. , 1991. – С. 152-164.
2. Исследование аминокислотного состава сфагнома бурого / Н.А. Баркина [и др.] // Химия растит. Сырья.- 2000.- №1.- С.81-83.
3. Барковский В.Ф. Дифференциальный спектрофотометрический анализ / В.Ф. Барковский, В.И. Ганапольский.- М., 1989. – 245 с.

4. Буренин В.И. Основные и малораспространенные овощные растения / В.И. Буренин.- М.: Росинформагротех, 2003. – 188 с.
5. Основные физико-химические показатели масла амаранта / М.В. Гаврилин [и др.] // Разработка, исследование и маркетинг новой фармацевтической продукции: сб.к науч. тр. – Пятигорск, 2008. – Вып. 63. – С.270-272.
6. Георгиевский В.П. Биологически активные вещества лекарственных растений / В.П. Георгиевский, Н.Ф. Комисаренко, С.Е. Дмитрук.- Новосибирск: Наука. Сиб. отд-ние, 1990. – 333 с.
7. Гольщенко П.П. Лекарственные растения и их использование / П.П. Гольщенко. – Саранск: Мордовское книжное изд-во, 1996. – 291 с.
8. Гончаров А.Г. Исследование растительного полисахаридного комплекса / А.Г. Гончаров, Т.И. Исакова, Л.Д. Халеева // Тез. докл. Респ. науч. конф. «Актуальные вопросы поиска и технологии лекарств». – Харьков, 1981. – С.139.
9. Государственная фармакопея СССР. Вып.1. Общие методы анализа / МЗ СССР. – 11-е изд., доп.– М.: Медицина, 1987.– 336 с.
10. Государственная фармакопея СССР. Вып. 2. Общие методы анализа. Лекарственное растительное сырье / МЗ СССР. – 11-е изд., доп. – М.: Медицина, 1987. – 400 с.
11. Горбунова Т.А. Стандартизация сухого сока коланхоэ / Т.А. Горбунова, Т.Д. Дергач // Ресурсоведческое и фитохимическое изучение лекарственной флоры СССР. – М., 1991. – Т.29. – С.190-195.
12. Количественное определение аминокислот в пыльце (обножке) / И.В. Духанина [и др.] // Хим.- фармац. журн.- 2006.-Т.40, №2.- С.22-23.
13. Еремина А.В. Определение полифенольного состава сухого экстракта гребней винограда методом ВЭЖХ / А.В. Еремина, М.О. Решетняк, М.О. Везиришвили // Хим.-фармац. журн. – 2004. – №3. – С.26-28.
14. Запрометов С.В. Выделение и анализ природных биологически активных веществ / С.В. Запрометов, Е.Е. Сироткина, Е.А. Краснов.- Томск.: Изд-во Томск. ун-та, 1987. – 184 с.
15. Беликов В.В. Избирательный метод анализа флавоноидов в фитохимических препаратах / В.В. Беликов, Т.В. Точкова, Л.Г. Колесник // Материалы докл. Всесоюз. конф. «Проблемы стандартизации и контроля качества лекарственных средств». – М., 1991. – Т.2. – С.142.
16. Кочетков Н.К. Химия биологически активных природных соединений / Н.К. Кочетков. – М., 1970. – 486 с.
17. Петриченко В.М. Спектрофотометрический метод определения содержания флавоноидов в *Euphrasia brevipila* Burn. et Greml / В.М. Петриченко, Т.В. Сухина, Н.С. Фурса // Растит. ресурсы. – 2002. – Вып.2. – С.104-109.
18. Степаненко Б.Н. Химия и биохимия углеводов: моносахариды: учеб. пособие / Б.Н. Степаненко. – М.: Высш.шк., 1997. – 222 с.
19. Химический анализ лекарственных растений / под ред. Н.И. Гринкевич, Л.Н. Сафронич. – М.: Высш. шк., 1984. – 75 с.
20. Cytokinin activity of disubstituted aminopurines in *Amaranthus* / A. García-Raso [et al.] // Grup de Química Bioinorgànica i Bioorgànica, Departament de Química, Universitat de les Illes Balears, Ctra. Valldemossa km 7.5, 07122 Palma de Mallorca, Spain; Inst Hlth Sci Res IUNICS, Ctra. Valldemossa km 7.5, 07122 Palma de Mallorca, Spain // Plant Physiol. – 2009.- May 16.
21. Hepatoprotective and antioxidant activity of *Amaranthus spinosus* against CCl₄ induced toxicity / H. Zeashan [et al.] // Pharmacognosy and Ethnopharmacology Division / National Botanical Research Institute, Lucknow, Uttar Pradesh 226001.- India, 2009. - May 22.
22. Antinociceptive activity of *Amaranthus spinosus* in experimental animals / H. Zeashan [et al.] // Pharmacognosy and Ethnopharmacology Division, National Botanical Research Institute Rana Pratap Marg, Lucknow, Uttar Pradesh, India // Ethnopharmacol.- 2009.- Apr 21.- Vol.122,N3.- P.492-496.

**THE INVESTIGATIONS OF THE CHEMICAL COMPOSITION
OF *AMARANTHUS RETROFLEXUS L.***

V.Y. Yatsuk, O.V. Soshnikova

The article describes the results of the investigations of the quality composition and quantity content of some classes of biologically active substances contained in the herb of *Amaranthus retroflexus L.* The classical methods allowed determining the presence of carbohydrates, organic acids, tannins, flavonoids in the herb of *Amaranthus retroflexus L.* The number of organic acids, including amino acids, monosaccharides and disaccharides, were identified by the method of thin-layer chromatography with the significant samples. The study of phenol composition of the herb of *Amaranthus retroflexus L.* by the method of HPLC allowed determining the presence of 15 substances of phenol origin as a minimum. For the first time the total content of organic acids including amino acids and ascorbic acid, water-soluble polysaccharides complex, pectins, tannins, flavonoids was determined.

Key words: qualitative composition of biologically active substances, the grass is thrown back amaranth

Яцюк Валентина Яковлевна – заведующая кафедрой биоорганической химии, д. фарм. наук, профессор
Курского государственного медицинского университета; main@kgmu.kursknet.ru