

**В. А. Ходаковский**  
**АМИНОКИСЛОТНЫЙ АНАЛИЗ ЛЕКАРСТВЕННОГО**  
**РАСТИТЕЛЬНОГО СЫРЬЯ НА ПРИМЕРЕ CHELIDONII HERBA**

*Научный руководитель ассист. К. Г. Бурдашкина*

*Кафедра биоорганической химии,*

*Белорусский государственный медицинский университет, г. Минск*

***Резюме.** В наши дни представляет интерес изучение состава водных извлечений лекарственного растительного сырья. *Chelidonii herba*, как лекарственное средство, обладает широким спектром применения. Согласно литературным данным, водные извлечения *Chelidonii herba* содержат ряд различных органических соединений, однако аминокислотный состав не достаточно глубоко изучен, что и послужило целью нашей работы.*

***Ключевые слова:** *Chelidonii herba*, водные извлечения, аминокислотный анализ, высокоэффективная-жидкостная хроматография (ВЭЖХ).*

***Resume.** Today, it is interesting to study of the composition of medicinal plant water extracts. *Chelidonii herba*, as the drug has a wide spectrum of applications. According to the literature, water extractions of *Chelidonii herba* contain a number of different organic compounds, however, the amino acid composition is not studied deeply enough, that was the purpose of our investidation.*

***Keywords:** *Chelidonii herba*, aqueous extraction, amino acid analysis, high performance-liquid chromatography (HPLC).*

**Актуальность.** Водные извлечения ЛРС обеспечивают хорошую доступность лекарственных веществ, и их приготовление не требует применения специальной аппаратуры. По сравнению с индивидуальными лекарственными средствами они вызывают более мягкое действие на организм, лучше переносятся, имеют низкий уровень проявления побочного эффекта, могут применяться длительно.

*Chelidonii herba*, как ЛРС, широко применяется как в народной, так и в традиционной медицине. Состав *Chelidonii herba*, в основном представлен алкалоидами, флавоноидами, органическими кислотами и другими соединениями. Аминокислотный состав водных извлечений *Chelidonii herba* не достаточно глубоко изучен.

**Цель:** Изучить возможность аминокислотного анализа водных извлечений *Chelidonii herbae* методом высокоэффективной жидкостной хроматографии.

**Материал и методы.** Объектом исследования служат свободные аминокислоты в водных извлечениях (настоях) *Chelidonii herba*. Пробоподготовка водных извлечений проводилась согласно Государственной Фармакопее Республики Беларусь в инфундирном аппарате с соблюдением температурного и временного режи-

мов. Анализ аминокислот проводился с использованием техники обращенно-фазовой ВЭЖХ.

**Результаты и их обсуждение.** Из образцов стандартизированного сухо-воздушного сырья *Chelidonii herba* готовили настой с использованием инфундирного аппарата. Среди факторов, влияющих на динамику извлечения действующих веществ учитывали степень измельченности сырья, режим перемешивания, соотношение сырья и реагента, степень водопоглощения, продолжительность нагревания и охлаждения, значение pH среды. Для обеспечения полноты извлечения действующих веществ соотношение сырья и экстрагента (воды) составило 1:400. Продолжительность нагревания и охлаждения соответственно составило 15 и 50 минут. Для депротеинизации крупных белковых комплексов применяли 0,1 н раствор хлорной кислоты.

Условиями хроматографирования были следующие. Использовался хроматограф Aligent 1100 HP, хроматографическая колонка AA-ODS Hypersil, размеры колонки: 2,1x200 mm, размер зерна: 5  $\mu$ m. Колонка содержит протестированный сорбент с обращенной фазой. Скорость потока 0,45 мл/мин.

В качестве подвижных фаз использовались А-фаза и В-фаза. Состав А-фазы: 0,018% ацетатный буфер с концентрацией 20 mM; триэтиламин, доведенный до pH 7,2 с добавлением 1-2% уксусной кислоты. Состав В-фазы: 20% ацетата натрия с концентрацией 100 mM, доведенного до pH 7,2 раствором 1-2% уксусной кислоты + 40% ацетонитрила + 40% метанола [1,2]

Для регистрации первичных аминокислот, их необходимо подвергнуть реакции с ортофталевым альдегидом (ОФА).

Установлено, что при образовании дериватов, ее адсорбционный спектр изменяется и регистрируется дополнительная полоса поглощения с максимумом при длине волны 338 нм.

Образование ОФА-дериватизированных аминокислот осуществляется по механизму нуклеофильного присоединения и проводится в щелочной среде, т.к. в этой реакции аминогруппа аминокислоты выступает в роли нуклеофила и должна находиться в депротонированной форме (рисунок 1-3).

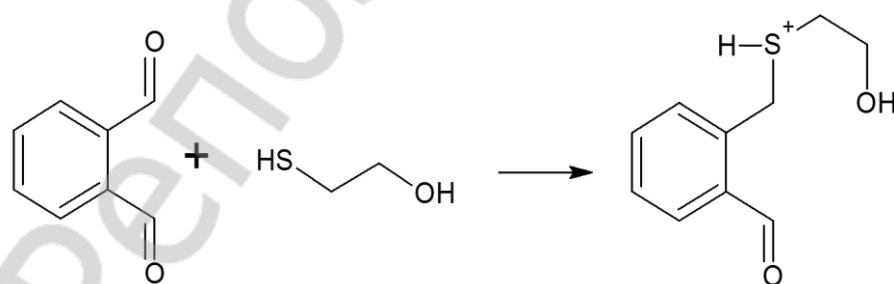


Рисунок 1 – Взаимодействие ортофталевого альдегида с меркаптоэтанолом

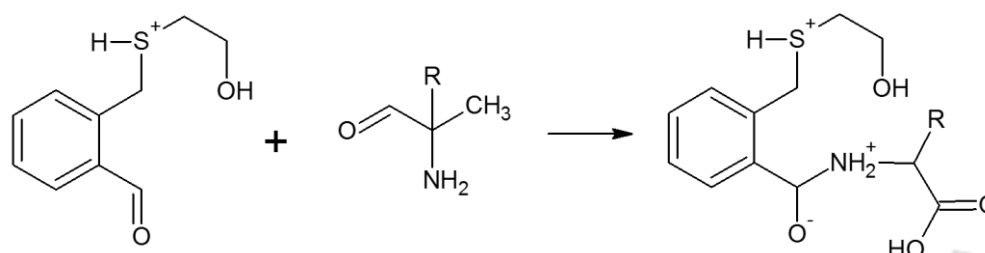


Рисунок 2 – Взаимодействие продукта первой реакции с аминокислотой

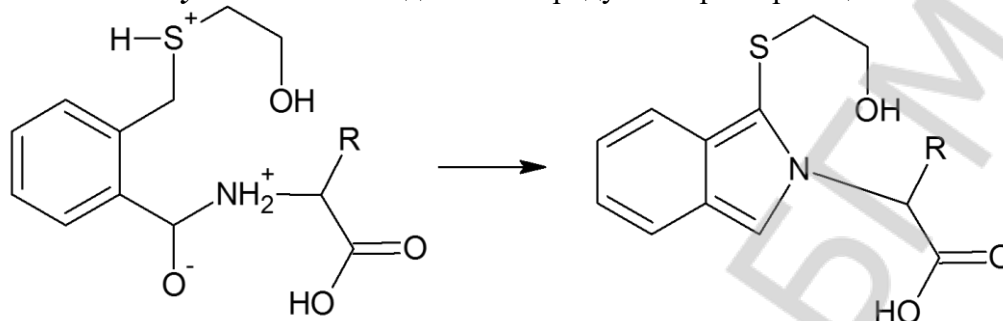


Рисунок 3 – Образование дериватизированной аминокислоты

В результате была получена хроматограмма с хроматографическими пиками, соответствующими зонам выхода аминокислот или их производным. Идентификация соединений проводилась программой Chemstation 09.03 путем сравнения зон выхода аминокислот с калибровочной кривой смеси аминокислот. Так, аспарагиновая и глутаминовая кислоты имели время удерживания 2-3 минуты, а аргинин и аланин – 7-8 минут.

#### Выводы:

1 Исследованы оптимальные условия пробоподготовки водных извлечений *Chelidonii herba* с депротеинизацией белковых соединений 0,1М HClO<sub>4</sub>.

2 Установлена возможность применения методики обращенно-фазовой хроматографии для анализа свободных аминокислот (глутаминовой, аспарагиновой, аргинина и аланина) по реакции с орто-фталевым альдегидом.

*V. A. Khadakouski*

### AMINO ACID ANALYSIS OF MEDICINAL PLANTS ON THE EXAMPLE OF CHELIDONII HERBA

*Tutor assistant K. G. Burdashkina*

*Department of Bioorganic Chemistry,  
Belarusian State Medical University, Minsk*

#### Литература

1. Гиндуллина, Т. М. Хроматографические методы анализа: учебно-методическое пособие /Т. М. Гиндуллина, Н. М. Дубова. – Томск: Изд-во Томского политехнического университета, 2010. – 80 с.

2. Rapid, Accurate, Sensitive, and Reproducible HPLC Analysis of Amino Acids / John W. Henderson, Robert D. Ricker, Brian A. Bidlingmeyer, Cliff Woodward // Aligent Technologies. – USA, 2000. –P.13-20