

Ю.С. Кахерская, Е.Г. Горячкина, Г.М. Федосеева

ИЗУЧЕНИЕ АМИНОКИСЛОТ ГРУШАНКИ КРУГЛОЛИСТНОЙ И ОРТИЛИИ ОДНОБОКОЙ

ГБОУ ВПО «Иркутский государственный медицинский университет» Минздрава России (Иркутск)

В статье представлены результаты изучения аминокислотного состава *Orthilia secunda* L. и *Pyrola rotundifolia* L., произрастающих на территории Восточной Сибири. Установлено, что исследуемые растения содержат 15 заменимых и 9 незаменимых аминокислот. Содержание аминокислот в надземной части ортилии однобокой составило 55,92 мг/г, в траве грушанки круглолистной – 64,02 мг/г. Наибольшую часть аминокислот ортилии однобокой и грушанки круглолистной составляют аналогичные представители данного класса. Среди заменимых выражено содержание глютаминовой (6,66 и 7,40 мг/г), аспарагиновой кислот (3,93 и 4,92 мг/г), глицина (2,96 и 3,43 мг/г). Незаменимые аминокислоты представлены следующим рядом: лейцин – 4,49 и 4,76 мг/г, лизин – 4,19 и 4,30 мг/г, фенилаланин – 3,05 и 3,08 мг/г.

Ключевые слова: *Pyrola rotundifolia* L., *Orthilia secunda* L., аминокислоты

STUDY OF AMINO ACIDS OF THE PYROLA ROTUNDIFOLIA L. AND ORTHILIA SECUNDA L.

Yu.S. Kakherskaya, E.G. Goryachkina, G.M. Fedoseeva

Irkutsk State Medical University, Irkutsk

The article presents the results of study of amino acid composition of *Orthilia secunda* L. and *Pyrola rotundifolia* L. in Eastern Siberia. It was established that studied plants contain 15 nonessential and 9 essential amino acids. Concentration of amino acids in the aboveground part of *Orthilia secunda* L. was 55,92 mg/g, in the grass of *Pyrola rotundifolia* L. – 64,02 mg/g. The largest part of amino acids of *Orthilia secunda* L. and *Pyrola rotundifolia* L. are similar representatives of this class. Among nonessential amino acids content of glutamic (6,66 and 7,40 mg/g), aspartic acid (3,93 and 4,92 mg/g), glycine (2,96 and 3,43 mg/g) is expressed. Essential amino acids are represented by the following series: leucine – 4,49 and 4,76 mg/g, lysine – 4,19 and 4,30 mg/g, phenylalanine – 3,05 and 3,08 mg/g.

Key words: *Pyrola rotundifolia* L., *Orthilia secunda* L., amino acids

Грушанка круглолистная и ортилия однобокая – популярные растения народной медицины Восточной Сибири. В составе различных технологических форм эти виды заняли своё прочное место в аптечной практике как биологически активные добавки к пище.

Исследователями-фармакологами в листьях грушанки круглолистной установлено содержание арбутина, сахарозы, инвертина, немного эмульсина, флавоноидов, гидрохинона, аскорбиновой кислоты. Среди нафтохиноновых соединений отмечается наличие химафилина, урсона, таксина. Некоторыми авторами выделены кверцетин, кемпферол, р-кумаровая кислота, метиларбутин, эфирное масло, слизи и смолы.

В народной медицине листья грушанки круглолистной применяют при головной боли, ревматизме, лихорадке, болях в желудке, для полоскания полости рта и глотки кровотечений, гнойных заболеваниях почек, как мочегонное, при катаре (гастрите) желудка, при женских воспалительных заболеваниях. Грушанка круглолистная популярна в тибетской медицине при заболеваниях печени, а в западно-европейской – при водянке, диабете и хроническом воспалении мочевого пузыря. Растение популярно, кроме того, в гинекологической практике, обладая выраженным противовоспалительным эффектом. Его применяют при бесплодии, инфальтильности, маточных кровотечениях, эрозии шейки матки, при нарушениях менструального цикла, при обильных менструациях, при спаечном процессе и непроходимости труб, фибромиомах с обильными кровотечениями. Иногда применяют в качестве мочегонного и антисептического при вос-

палении почек, мочевого пузыря, при воспалении предстательной железы и при низкой потенции [6].

Химический состав ортилии однобокой представлен флавоноидами, иридоидами, производными кумарина, фенологликозидами, тритерпеновыми сапонинами, аминокислотами, гидролизруемыми и конденсированными дубильными веществами.

Нашими исследованиями установлено, что в траве данных растений содержатся в достаточных количествах флавоноиды, гидрооксикоричные кислоты, дубильные вещества, а также арбутин [2, 7].

В последнее время внимание исследователей направлено на изучение первичных метаболитов растений не только как сопутствующих в комплексе БАВ, но и как оказывающих заметное влияние на фармакотерапевтическое действие. В частности, аминокислоты являются строительным материалом, а также входят в состав ферментов и коферментов живых организмов.

В растениях аминокислоты содержатся в свободном и связанном состоянии. Важным фактом является то, что именно растения способны синтезировать весь ассортимент аминокислот, в том числе и незаменимых, которые необходимы для построения белковой молекулы [1, 4].

Цель работы: изучить аминокислотный состав надземных органов грушанки круглолистной и ортилии однобокой.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объектами нашего исследования послужили представители семейства грушанковых (*Pyrolaceae*):

грушанка круглолистная (*Pyrola rotundifolia* L.) и ортилия однобокая (*Orthilia secunda* L.).

Грушанка круглолистная – *Pyrola rotundifolia* L., *P. rotundifolia* subsp. *albiflora* Krylov, *P. grandiflora* Radius., *P. daurica* (Andres) Kom. – имеет короткое корневище, дающее многочисленные надземные побеги. Прикорневые листья кожистые, округлые или широкоэллиптические, иногда почковидно-яйцевидные, с длинным черешком, равным по длине или превышающим пластинку, пластинка 1,54 см длиной, неясно городчатая или почти цельнокрайняя, сверху блестящая зелёная, снизу светло-зелёная. Стебли чаще одиночные, более или менее прямые, 10–20 см высотой, с 1–2 чешуевидными листьями, заканчиваются разносторонней кистью. Ось соцветия и цветоножки зелёные, иногда светло-лиловые. Цветоножки по длине равны околоцветнику. Прицветники ланцетные, немного длиннее цветоножек, нередко розовые. Венчик широко раскрытый. Цветки чашевидные, 1,1–1,5–1,8 см в диаметре. Чашелистики узкотриугольные, острые, вдвое короче лепестков, бледно-зелёные или розоватые, по краям почти плёчатые, около 3 мм длиной. Лепестки белые или светло-розовые, обратно-яйцевидные, 6–7 мм длиной. Пыльники жёлтые, обычно 1,8–2 (редко – до 2,5) мм длиной, с короткими рожками. Столбик завязи лиловый, длинный (до 6 мм длиной во время цветения), искривлённый, отклоняющийся из окружения из тычинок, в верхней части постепенно утолщающийся, заканчивается диском с пятилопастным рыльцем.

Места произрастания грушанки круглолистной – хвойные и лиственные леса, более обычны моховые, приречные и долинные леса, особенно заболоченные ельники и лиственничники, встречается также на лесных болотах и полянах, среди заболоченных кустарников, зарослей приречных кустарников.

Ортилия однобокая (рамышья однобокая) или боровая матка – *Orthilia secunda* (L.) House (*Ramischia secunda* (L.) Garcke) – представляет собой многолетнее, травянистое, вечнозеленое растение. Высота 10–15 см. Имеет длинное ветвистое корневище, которое образует стелющиеся стебли. От этих многолетних стеблей отходят низкие, высотой до 5 см, восходящие однолетние. Растение образует дерновинки. Стебель тонкий в диаметре 1–1,5 мм, цилиндрический, голый, не ветвистый. Поверхность ребристая, сильнее выступают два ребра, расположенные напротив друг друга. Стебель усажен в верхней части маленькими (4–8 мм) чешуевидными листиками. Листья обычно 2-, 3-летние, очередные, разделяющиеся между собой по сериям предыдущих лет зелеными чешуями, зеленые, с пильчатым краем. Пластинка листа 2–3 см длиной, яйцевидная или продолговатая, с округло-клиновидным основанием и коротко заостренной (островатой) верхушкой, на тонких, более коротких, чем пластинка листа, черешках. Жилкование перистосетчатое, главная жилка слегка выступает с верхней и нижней стороны листа. Листья сверху – темно-зеленые, нижняя сторона немного светлее. Черешки длиной 1,5 см, сверху желобоватые, голые, зеленые. Цветки в однобокой поникающей кисти, довольно мелкие, зеленовато-белые, обычно в числе 10–20. Цветоножки

тонкие, довольно длинные. Чашечка с пятью яйцевидно-треугольными короткими тупыми долями. Венчик из пяти зеленоватых лепестков, сложенных колокольчато. Пыльники лиловато-жёлтые, 1–1,5 мм длиной, едва выдаются из венчика. Столбики лиловые, 4–6 мм длиной, с дисковидным рыльцем, выдаются из венчика. Плод – повислая коробочка, открывающаяся по гнездам, которых 5. Цветет в июне-июле.

Ортилия однобокая произрастает в зеленомошных и травяно-зеленомошных хвойных, а также в лиственных и смешанных лесах, иногда на лесных лугах в кустарниках и в гипновых редколесьях, образует скопления.

Изучаемые растения накапливают наибольшую фитомассу и действующие вещества (арбутин, флавоноиды, дубильные вещества) в период плодоношения.

Сырье, заготовленное с зарослей грушанки круглолистной в августе, представляет собой цельные или частично измельченные кожистые, плотные, блестящие, простые цельнокрайние листья округлойцевидной формы, с остатками черешка длиной не более 5 мм. Листовая пластинка – от темно-зеленого до буровато-зеленого цвета, длиной от 3 до 6 см и шириной от 2 до 5,5 см. Запах отсутствует, вкус сырья слегка вяжущий.

Сырье, заготовленное с зарослей ортилии однобокой в сентябре, представляет собой олиственные четырехгранные стебли и их кусочки (длиной от 4 до 14 см), цельные или частично измельченные, плотные, продолговато-яйцевидные, с острой верхушкой, по краю городчато-пильчатые, светло-зеленые, коротко-черешковые листья. Листовая пластинка – от светло-зеленого до темно-зеленого цвета, длиной от 2 до 3,7 см и шириной от 1 до 3 см. Запах слабый, своеобразный, вкус сырья слегка вяжущий [3].

Изучение качественного состава аминокислот и их количественного содержания проводили анализ на базе химической лаборатории СИФиБР СО РАН (г. Иркутск) на аминокислотном анализаторе Amino Acid Analyzer AAA-T339 (Чехия).

Качественный состав аминокислот определяли с помощью нингидриновой пробы в водных извлечениях.

Методика: 10 г измельченного до размера частиц 2 мм воздушно-сухого сырья (точная навеска) заливали 50 мл воды очищенной, нагревали на водяной бане с обратным холодильником в течение 1 ч. Извлечение фильтровали, сырье вновь заливали очищенной водой и операцию повторяли еще дважды. Полученные водные извлечения объединяли, упаривали под вакуумом до 50 мл и использовали для проведения качественной реакции. Для этого смешивали равные объёмы извлечения и 0,1% спиртового раствора нингидрина и осторожно нагревали.

Методика определения свободных аминокислот: 5 г сырья (точная навеска) экстрагировали 50 мл горячей воды в течение 30 минут, полученное извлечение фильтровали в мерную колбу на 50 мл, и объём доводили до метки горячей водой. Свободные аминокислоты определяли после упаривания извлечения в вакууме досуха. Полученный остаток растворяли в натриево-цитратном буфере (pH = 2.2). Не растворившуюся часть отделяли на центрифуге в течение 30 минут со скоростью 20 000 об./мин, получали сухой остаток.

Методика определения связанных аминокислот: к 25 мг сухого остатка прибавляли 4 мл кислоты хлороводородной 6 М и в течение 24 часов гидролизывали при температуре 110 °С. Полученный гидролизат охлаждали и упаривали досуха, остаток промывали водой и снова упаривали, затем растворяли в 5 мл натрий-цитратного буфера (рН = 2.2), постоянно перемешивая.

Анализ аминокислот проводили в Li⁺-цикле. В качестве стандарта использовали аминокислоты фирмы «Sigma». Количественную оценку идентифицированных аминокислот давали по определению площади пиков. Содержание обнаруженных аминокислот рассчитывали в аликвотной части в мг/г [4].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Данные по идентифицированным аминокислотам и их количественному содержанию представлены в таблице 1.

Таблица 1
Аминокислотный состав грушанки круглолистной и ортилии однобокой*

№	Аминокислоты*	Количественное содержание в образце, мг/г	
		Листья грушанки	Трава ортилии
1	Цистеиновая кислота	1,6	1,9
2	Таурин	0,84	0,8
3	Фосфозаноламин	1,4	1,6
4	Аспарагиновая кислота	3,93	4,92
5	Гидроксипролин	–	–
6	Треонин	2,49	2,77
7	Серин	2,66	2,46
8	Глутаминовая кислота	6,66	7,40
9	Пролин	3,21	3,23
10	Глицин	2,96	3,43
11	Аланин	2,83	3,16
12	Валин	2,10	4,20
13	Цистин	1,19	2,30
14	Метионин	0,40	0,81
15	Изолейцин	2,33	2,48
16	Лейцин	4,49	4,76
17	Тирозин	2,93	2,68
18	Фенилаланин	3,05	3,08
19	Бета-аланин	–	–
20	Гамма-аминомасляная	0,45	0,82
21	Этаноламин	0,93	1,20
22	Орнитин	–	0,26
23	Лизин	4,19	4,30
24	Гистидин	1,76	2,04
25	3-метилгистидин	1,27	0,86
26	Аргинин	2,25	2,56
Общее содержание		55,92	64,02

Примечание: жирным шрифтом выделены незаменимые аминокислоты

Полученные результаты показали, что из 26 аминокислотных образцов для грушанки круглолистной характерно наличие 23, а для ортилии однобокой – 24, 9 из которых относятся к незаменимым – валин, изолейцин, лейцин, лизин, метионин, треонин, фенилаланин, а также аргинин и гистидин, являющиеся незаменимыми для детского организма. Общее же содержание аминокислот в траве ортилии однобокой (ОО) несколько выше, чем в грушанке круглолистной (ГК).

В общей сумме выделенных аминокислот преобладает содержание глутаминовой кислоты (для ОО – 7,40 мг/г; ГК – 6,66 мг/г), на втором месте содержание аспарагиновой кислоты (для ОО – 4,92 мг/г; ГК – 3,93 мг/г) и лейцина (ОО – 4,76 мг/г; ГК – 4,49 мг/г), на третьем – лизина (ОО – 4,30 мг/г; ГК – 4,19 мг/г).

Среди многочисленных функций этих кислот наиболее значимыми являются такие, как регенерирующая и иммуномодулирующая, а также благотворное влияние на гормональный фон.

Содержание валина в траве ортилии однобокой (4,20 мг/г) в два раза превосходит его содержание в листьях грушанки круглолистной (2,10 мг/г). Роль этой аминокислоты заключается в поддержании нормального обмена азота, а также в восстановлении поврежденных тканей [1, 4].

Таким образом, в результате исследования впервые изучен качественный состав и количественное содержание свободных и связанных аминокислот в надземных органах грушанки круглолистной и ортилии однобокой.

Результаты проведенных исследований подтверждают целесообразность применения исследуемых объектов в качестве иммуномодулирующих, противовоспалительных и ранозаживляющих средств.

ЛИТЕРАТУРА REFERENCES

1. Журавлев Н.С., Кхалед А.З. Аминокислотный состав некоторых видов растений рода *Rumex* L. // Провизор. – 2001. – № 21. – С. 23–24.

Zhuravlev N.S., Khaled A.Z. Amino-acid composition of some species of plants of *Rumex* L. // Pharmacist. – 2001. – N 21. – P. 23–24. (in Russian)

2. Каропова Т.В., Федосеева Г.М., Федосеев А.П., Горячкина Е.Г. Изучение химического состава ортилии однобокой // 3-й международ. конгресс молодых ученых и специалистов. – Томск, 2002. – С. 219–220.

Karepova T.V., Fedoseeva G.M., Fedoseev A.P., Goryachkina E.G. Study of chemical composition of *Orthilia secunda* L. // 3rd International Congress of Young Researchers and Specialists. – Tomsk, 2002. – P. 219–220. (in Russian)

3. Кахерская Ю.С., Горячкина Е.Г., Федосеева Г.М., Бочарова Г.И. Товароведческие показатели качества сырья лекарственных растений грушанки круглолистной (*Pyrola rotundifolia* L.) и ортилии однобокой (*Orthilia secunda* (L.) House) семейства грушанковых (*Pyrolaceae*) // Фармация Казахстана: интеграция науки, образования и производства: Матер. науч.-практ. конф. – Казахстан, Шымкент, 2009. – Т. 1. – С. 256–258.

Kakherskaya Yu.S., Goryachkina E.G., Fedoseeva G.M., Bocharova G.I. Merchandising indices of the quality of

crude drugs of *Pyrola rotundifolia* L. and *Orthilia secunda* (L.) House of *Pyrolaceae* // Pharmacy of Kazakhstan: Integration of Science, Education and Production: Proceedings of Research-to-Practice Conference. – Kazakhstan, Shymkent, 2009. – Vol. 1. – P. 256–258. (in Russian)

4. Пецуха В.С., Собенин А.М., Федосеева Г.М. Исследование аминокислотного состава крапивы коноплевой (*Urtica cannabina* L.) // Разработка, исследование и маркетинг новой фармацевтической продукции: Сб. науч. тр. / Под ред. М.В. Гаврилина. – Пятигорск: Пятигорская ГФА, 2009. – С. 93–94.

Petsukha V.S., Sobenin A.M., Fedoseeva G.M. Study of amino acid composition of *Urtica cannabina* L. // Development, Research and Marketing of New Pharmaceutical Production: Proceedings / Ed. by M.V. Gavrillin. – Pyatigorsk: Pyatigorsk State Pharmaceutical Academy, 2009. – P. 93–94.

5. Соболева В.А., Чушенко В.Н., Коломиец А.А. Исследование аминокислотного состава гомеопатической матричной настойки каштана конского // Провизор. – 2010. – № 17. – С. 19–21.

Soboleva V.A., Chushenko V.N., Kolomiets A.A. Study of amino acid composition of homeopathic mother tincture of horse chestnut // Pharmaceutist. – 2010. – N 17. – P. 19–21.

6. Телятьев В.В. Целебные клады Центральной Сибири. – Иркутск: Изд-во Института географии СО РАН, 2004. – С. 257–259.

Telyatjev V.V. Vulnerary treasures of Central Siberia. – Irkutsk: Publishing House of Institute of Geography SB RAS, 2004. – P. 257–259.

7. Федосеева Г.М., Лаврушина Д.А., Федосеев А.П., Горячкина Е.Г. и др. Флавоноидные соединения грушанки круглолистной, произрастающей в Прибайкалье // Матер. 58-й межрегион. конф. – Пятигорск, 2003. – С. 49–52.

Fedoseeva G.M., Lavrushina D.A., Fedoseev A.P., Goryachkina E.G. et al. Flavanoid combinations of European pyrola growing in the Baikal region // Proceedings of 58th Trans-Regional Conference. – Pyatigorsk, 2003. – P. 49–52. (in Russian)

Сведения об авторах

Кахерская Юлия Сергеевна – соискатель кафедры фармакогнозии и ботаники ГБОУ ВПО «Иркутский государственный медицинский университет» Минздрава России (664003, г. Иркутск, ул. Красного восстания, 1; тел.: 8 (3952) 24-34-47)
Горячкина Елена Геннадьевна – кандидат фармацевтических наук, доцент кафедры фармакогнозии и ботаники ГБОУ ВПО «Иркутский государственный медицинский университет» Минздрава России (тел.: 8 (3952) 61-31-74; e-mail: rosforest@mail.ru)
Федосеева Галина Михайловна – доктор фармацевтических наук, профессор кафедры фармакогнозии и ботаники ГБОУ ВПО «Иркутский государственный медицинский университет» Минздрава России

Information about the authors

Kakherskaya Yulia Sergeevna – candidate for a degree of the department of pharmacognosy and farmakognozy of Irkutsk State Medical University (Krasnogo Vosstaniya Str., 1, Irkutsk, 664003; tel: + 7 (3952) 24-34-47)
Goryachkina Elena Gennadjevna – candidate of pharmaceutical science, assistant professor of the department of pharmacognosy and farmakognozy of Irkutsk State Medical University (tel: +7 (3952) 61-31-74; e-mail: rosforest@mail.ru)
Fedoseeva Galina Mikhaylovna – doctor of pharmaceutical science, professor of the department of pharmacognosy and farmakognozy of Irkutsk State Medical University