

ДОСЛІДЖЕННЯ АМІНОКИСЛОТНОГО СКЛАДУ СИРОВИНИ РЕЙНУТРИЇ САХАЛІНСЬКОЇ

Алрікабі Абдулраззак Ясір, Процька В. В.,
Журавель І. О.

Національний фармацевтичний університет

Вступ

Рейнурія сахалінська (*Reynoutria sachalinensis* (F. Schmidt) Nakai) була завезена до Європи із Далекого Сходу у другій половині XIX століття і введена в культуру багатьох країн як декоративна і кормова рослина. Сьогодні види роду Рейнурія вирощують у Німеччині, Молдові, Китаї, Казахстані, Росії та Білорусі також і як сировину для фармацевтичної та біоенергетичної промисловості [1].

За даними літератури, представники роду Рейнурія накопичують гідроксикоричні кислоти (цикорієву, неохлорогенову, кофейну, ферулову), флавоноїди (рутин, дигідрокверцетин, катехін, епікатехін), антоціани (похідні ціанідину), таніни, ефірну олію, стилібени (ресвератрол, піцеатанол, піцеїд, астрингін) та антраценпохідні (емодин, хризофанол, реїн, фалацінол, цитреорозеїн, квестин, квестинол) [2, 3]. Трава рейнурії сахалінської є джерелом каротиноїдів (33,30 мг/кг), феруму (99,46 мг/кг), стронцію (31,98 мг/кг) та кальцію (27,91 мг/кг), а вміст протеїнів у свіжій сировині сягає понад 300 мг/кг [1]. У листі та стеблах рейнурії сахалінської міститься до 16 та 13 % відповідно водорозчинних полісахаридів, 236,5 мг% аскорбінової кислоти накопичується у листі, 94,6 мг% – у стеблах [4]. Надземна частина рейнурії японської накопичує від 20 до 50 мг/кг емодину. Корені цієї рослини, за даними літератури, містять хлорогенову кислоту, глікозиди кверцетину, кемпферолу та апігеніну, у її листі було виявлено 18 летких сполук [3].

Традиційно як ліки види рейнурії використовують в Китаї, Кореї, Тайвані та Японії. Екстракт з коренів рейнурії японської застосовують як легкий проносний засіб. Надземні та підземні органи цієї рослини проявляють антибактеріальну, протизапальну, імуносупресивну, протипухлинну, болезаспокійливу, жарознижувальну, сечогінну та протикашльову дію. За допомогою цих рослин лікують хронічний бронхіт, інфекційний гепатит, остеомієліт, діарею, жовчнокам'яну хворобу, артеріальну гіпертензію, атеросклероз, гіперліпідемію, бактеріальний вагініт, меноксенію, дисменорею, лейкорею, укуси змії, опіки шкіри, алергічні та запальні захворювання [2, 3]. Метанольні екстракти коренів рейнурії японської використовуються у стоматології як протистафілококові засоби [3].

Фармакологічна активність рейнурії сахалінської обумовлена комплексом БАР, серед яких важливе значення мають амінокислоти, які є основним структурним матеріалом для синтезу білків. Більшість біологічних функцій в організмі проходять за безпосередньою участю цих сполук [4]. Амінокислоти

також є важливими компонентами протоплазми всіх тканин живих організмів. Наявність нітрогену відрізняє ці сполуки від вуглеводнів та ліпідів. Амінокислоти, які можуть синтезуватися в організмі називаються «замінними». Амінокислоти, які не виробляються в організмі в достатній кількості для задоволення його потреб відносять до «незамінних». Для ефективного функціонування людському організму необхідний повний набір амінокислот [5].

Дослідження показали, що амінокислоти проявляють широкий спектр фармакологічної дії, а їх застосування ефективно при лікуванні багатьох захворювань [5]. Зокрема, гістидин впливає на синтез глікогену в печінці, стимулює еритропоез та синтез мієлінової оболонки нейронів, валін регулює рівень цукру в крові, треонін, глутамін та валін підвищують опірну здатність організму до несприятливих факторів, гістидин, валін, лейцин та ізолейцин регулюють обмін речовин [5, 6]. Амінокислоти застосовують при лікуванні СНІДу, серцевої недостатності, циститу, опіків та виразок, захворювань жовчного міхура та печінки, болю у суглобах [6]. Гістидин ефективний у комплексній терапії артриту, лізин використовують при анемії, застуді, виразках, герпесі, рахіті, діабеті, пневмонії, нефрозі, запаленнях жіночих репродуктивних органів. Валін, гліцин, треонін, глутамін та триптофан мають заспокійливий ефект, підвищують стресостійкість організму, знімають симптоми неврастенії, лікують безсоння. Лейцин та ізолейцин мають доведену ефективність при захворюваннях селезінки, треонін та глутамін сприяють зміцненню кісткової тканини та мають терапевтичний ефект при лікуванні розсіяного склерозу [5-10]. Крім того, за даними літератури, ці сполуки проявляють гепатопротекторну, антиоксидантну, гіпоглікемічну, протівірусну, протигрибкову та антигельмінтну активності [7, 8].

Дослідження амінокислотного складу молдавських зразків трави рейнурії сахалінської показало, що у сировині містилося 16 амінокислот, серед яких превальовали глутамін (21,75 мг/кг), аспарагін (12,32 мг/кг) та лейцин (11,34 мг/кг) [11]. У траві цієї рослини російського походження було виявлено 13 амінокислот. Домінуючими амінокислотами у цій сировині були гліцин та глутамін (4,70 та 4,10 мг/кг відповідно), серед незамінних переважали валін (2,5 мг/кг) і треонін (2,21 мг/кг) [12].

Відомо, що хімічний склад ЛРС може значно варіюватися залежно від місця зростання рослини, що зумовлено впливом кліматичних, едафічних та екологічних факторів [13]. Тому, актуальним є дослідження українських зразків сировини рейнурії сахалінської. Крім того, інформації стосовно якісного складу та кількісного вмісту амінокислот листя, коренів та квіток рейнурії сахалінської у літературі не знайдено.

Мета дослідження

Метою роботи було порівняльне дослідження якісного складу та визначення кількісного вмісту

амінокислот у коренях, листі, траві та квітках рейнутрії сахалінської.

Матеріали і методи

Для дослідження амінокислотного складу використовували повітряно-сухі, подрібнені корені, листя, траву та квітки рейнутрії сахалінської. Сировину заготовляли у 2019-2020 р. р. у Харківській області (Україна).

Ідентифікацію та визначення кількісного вмісту амінокислот проводили методом іонообмінної рідинно-колонкової хроматографії на автоматичному аналізаторі амінокислот Т 339 в гідролізатах сировини рейнутрії сахалінської. До 1,0 г (точна наважка) сировини додавали 6 н розчин хлористоводневої кислоти. Одержану суміш охолоджували у потоці рідкого азоту. Після замерзання вмісту пробірки, з неї видаляли повітря під вакуумом, запаювали і витримували протягом доби в термостаті при температурі 106°C. Потім вміст пробірки охолоджували, хлористоводневу кислоту випарювали на водяній бані. До сухого залишку додавали 3-4 мл деіонізованої води та продовжували упарювання. Одержаний зразок розчиняли у 0,3 н літій цитратному буфері з рН 2,2 і наносили на іонообмінну колонку аналізатора амінокислот, катіонообмінник якої попередньо врівноважували буферним розчином натрію цитрату або літій цитрату. Розділення амінокислот проводили на дрібнозернистих катіонообмінниках сферичної форми, виготовлених із

стиролу і дивінілбензолу з функціональною сульфітною групою [14].

Принцип роботи автоматичного аналізатора амінокислот полягає у проведенні всіх операцій в безперервному потоці елюенту. На виході з колонки за допомогою мікронасоса елюат змішувався з нінгідринним реактивом. Одержана суміш по капілярній трубці подавалась у реактор, нагрітий до 95 – 98°C. Далі вона надходила в проточну кювету для фотоколориметричного вимірювання інтенсивності одержаного забарвлення за довжини хвилі 440 або 560 нм. Сигнали фотоелемента реєструвались самописним потенціометром у вигляді хроматограм. Площа піків на хроматограмах розраховувалась і порівнювалась з площею піків амінокислот з відомою концентрацією, на основі чого обчислювалась абсолютна кількість кожної амінокислоти в аналізованому зразку [14].

Вміст амінокислоти в мкМ (X_1) розраховували за формулою:

$$X_1 = S_1 / S_0,$$

де

S_1 – площа піку амінокислоти в досліджуваному зразку;

S_0 – площа піку амінокислоти в розчині стандартних амінокислот, кількість кожної амінокислоти в якому відповідає 1 мкМ.

Для вираження вмісту у мг одержану кількість мкМ амінокислоти множили на відповідну їй молекулярну масу [14].

Таблиця 1 Якісний склад та кількісний вміст амінокислот у сировині рейнутрії сахалінської

| Амінокислота | Вміст у сировині рейнутрії сахалінської, мг/кг | | | |
|----------------------------------|--|--------------|--------------|--------------|
| | корені | листя | трава | квітки |
| Замінні амінокислоти | | | | |
| ГАМК | 0,07 ± 0,01 | 0,65 ± 0,02 | 0,05 ± 0,01 | 1,50 ± 0,04 |
| Аспарагінова кислота | 3,47 ± 0,09 | 8,55 ± 0,21 | 5,51 ± 0,14 | 7,62 ± 0,19 |
| Серин | 1,79 ± 0,04 | 4,18 ± 0,10 | 2,79 ± 0,07 | 4,93 ± 0,12 |
| Глутамінова кислота | 4,76 ± 0,12 | 11,26 ± 0,28 | 8,30 ± 0,21 | 13,87 ± 0,35 |
| Пролін | 0,88 ± 0,02 | 3,04 ± 0,08 | 1,82 ± 0,05 | 3,50 ± 0,09 |
| Гліцин | 2,26 ± 0,06 | 5,71 ± 0,14 | 3,60 ± 0,09 | 4,75 ± 0,12 |
| Аланін | 1,73 ± 0,04 | 5,93 ± 0,15 | 3,47 ± 0,09 | 4,77 ± 0,12 |
| Цистеїн | 0,20 ± 0,01 | 1,56 ± 0,04 | 0,87 ± 0,02 | 1,28 ± 0,03 |
| Тирозин | 0,96 ± 0,02 | 2,88 ± 0,07 | 1,74 ± 0,04 | 2,23 ± 0,06 |
| Незамінні амінокислоти | | | | |
| Лізин | 2,80 ± 0,07 | 5,28 ± 0,13 | 4,45 ± 0,11 | 5,53 ± 0,14 |
| Гістидин | 0,93 ± 0,02 | 1,61 ± 0,04 | 1,18 ± 0,03 | 1,85 ± 0,05 |
| Аргінін | 7,95 ± 0,20 | 4,22 ± 0,11 | 2,69 ± 0,07 | 4,24 ± 0,11 |
| Треонін | 1,12 ± 0,03 | 4,25 ± 0,11 | 2,23 ± 0,06 | 3,47 ± 0,09 |
| Валін | 0,35 ± 0,01 | 1,83 ± 0,05 | 1,21 ± 0,03 | 2,24 ± 0,06 |
| Метіонін | 0,16 ± 0,01 | 1,22 ± 0,03 | 0,78 ± 0,02 | 1,00 ± 0,03 |
| Ізолейцин | 0,19 ± 0,01 | 1,82 ± 0,05 | 1,02 ± 0,03 | 1,98 ± 0,05 |
| Лейцин | 0,91 ± 0,02 | 5,94 ± 0,15 | 3,49 ± 0,09 | 5,00 ± 0,13 |
| Фенілаланін | 0,83 ± 0,02 | 4,14 ± 0,10 | 2,45 ± 0,06 | 3,37 ± 0,08 |
| Сума незамінних амінокислот | 15,24 ± 0,38 | 30,31 ± 0,76 | 19,50 ± 0,49 | 28,68 ± 0,72 |
| Сума ідентифікованих амінокислот | 31,36 ± 0,78 | 74,07 ± 1,85 | 47,65 ± 1,19 | 73,13 ± 1,83 |

Результати та обговорення

У ході експерименту в усіх зразках сировини рейнутрії сахалінської ідентифіковано та визначено вміст 18 амінокислот, з яких 9 належать до незамінних. Якісний склад та кількісний вміст амінокислот у коренях, листі, траві та квітках рейнутрії сахалінської амінокислот містилося майже у 1,5 рази менше, у коренях (31,36 мг/кг) – майже вдвічі менше, ніж у листі. Максимальний вміст суми незамінних амінокислот було відмічено в листі рейнутрії сахалінської – 30,31 мг/кг, що становило близько 41 % від загального вмісту амінокислот у цій сировині. У квітках рейнутрії сахалінської вміст цих БАР містилося дещо менше – 28,68 мг/кг. Вміст суми незамінних амінокислот у коренях (15,24 мг/кг) та траві (19,50 мг/кг) рейнутрії сахалінської відрізнявся не значно.

Домінуючою амінокислотою в усіх зразках досліджуваної сировини була глутамінова кислота. Максимальний вміст цієї сполуки був у квітках рейнутрії сахалінської – 13,87 мг/кг, що складало близько 19 % від загального вмісту амінокислот. У листі рейнутрії сахалінської глутамінової кислоти містилося 11,26 мг/кг. У траві (8,30 мг/кг) та коренях (4,76 мг/кг) цієї рослини глутамінової кислоти містилося майже вдвічі та майже втричі менше, ніж у листі відповідно. Вміст аспарагінової кислоти у сировині досліджуваної рослини коливався від 3,47 до 8,55 мг/кг. Найбільше її містилося у листі рейнутрії сахалінської.

Превалюючою незамінною амінокислотою у коренях рейнутрії сахалінської був аргінін – 7,95 мг/кг, що становило майже четвертину від загального вмісту амінокислот у цій сировині. У листі досліджуваної рослини мажоритарними незамінними амінокислотами були лізин та лейцин, вміст яких був майже на одному рівні – 5,28 та 5,94 мг/кг відповідно. У траві (4,45 мг/кг) та квітках (5,53 мг/кг) серед незамінних амінокислот домінував лізин. Крім того, у цих зразках сировини у значній кількості містився лейцин – 3,49 та 5,00 мг/кг відповідно.

За результатами експерименту найбільша кількість гліцину, аланіну, цистеїну, тирозину, треоніну, метіоніну та фенілаланіну накопичувалося у листі рейнутрії сахалінської, ГАМК, серину, проліну, гістидину та валіну – у квітках цієї рослини. Разом з тим, вміст ГАМК, проліну, цистеїну, тирозину, гістидину, валіну, метіоніну, ізолейцину, лейцину та фенілаланіну у коренях, ГАМК, цистеїну, метіоніну та ізолейцину у траві, ГАМК у листі та метіоніну у квітках не перевищував 1 мг/кг.

Порівнюючи одержані результати із даними літератури, слід відмітити, що трава рейнутрії сахалінської українського походження має більш різноманітний якісний склад амінокислот, представлений 18 сполуками. Вміст глутамінової кислоти у вітчизняних і російських зразках трави рейнутрії сахалінської був майже на одному рівні, а в молдовських зразках цієї сполуки містилося у 2,5 рази більше [11]. Вміст аспарагінової кислоти в траві рейнутрії сахалінської, вирощеної в Україні, був

наведено у табл. 1. За результатами експерименту однаково висока кількість амінокислот накопичувалася у листі та квітках рейнутрії сахалінської – 74,07 та 73,13 мг/кг. У траві (47,65 мг/кг) цієї рослини

майже вдвічі нижчий, ніж у траві рейнутрії сахалінської молдовського походження [11] та майже у 1,5 рази вищий ніж у російських зразках цієї сировини [12].

На відмінну від молдовських зразків [11, 12], у вітчизняній сировині вміст лейцину був майже втричі менший [11]. Проте, у траві рейнутрії сахалінської російського походження цієї сполуки містилося у 2,5 рази менше, ніж в українських зразках [12]. Валіну у траві рейнутрії сахалінської молдовського походження містилося майже втричі більше [11], ніж у зразках українського та російського походження [12]. Вміст треоніну в усіх зазначених видах сировини відрізнявся не значно [11, 12].

Висновки

Методом іонообмінної рідинно-колоноквої хроматографії в коренях, листі, траві та квітках рейнутрії сахалінської ідентифіковано по 18 амінокислот, з яких 9 є незамінними. Встановлено, що максимальна кількість амінокислот накопичувалася у листі рейнутрії сахалінської – 74,07 мг/кг.

Домінуючою амінокислотою в усіх зразках сировини була глутамінова кислота. Її вміст в сировині рейнутрії сахалінської коливався від 4,76 до 13,87 мг/кг. Серед незамінних амінокислот у коренях досліджуваної рослини переважав аргінін (7,95 мг/кг), у листі – лейцин (5,94 мг/кг), у траві та квітках – лізин (4,45 та 5,53 мг/кг відповідно).

Одержані результати свідчать про перспективність використання сировини рейнутрії сахалінської як потенційного джерела БАР, зокрема амінокислот, та будуть використані для розробки лікарських засобів на основі цієї сировини.

The study of *Reynoutria sachalinensis* plant raw material amino acid composition

Abdulrazzaq Yasir Hussain Alrikabi, Viktoriia Protska, Iryna Zhuravel

Introduction. Sakhalin (giant) knotweed (*Reynoutria sachalinensis* (F. Schmidt) Nakai) is grown in Ukraine as a fodder, ornamental and honey plant. In other countries, species of the genus *Reynoutria* are grown as raw materials for the pharmaceutical and bioenergy industries. According to the literature, species of the genus *Reynoutria* accumulate hydroxycinnamic acids, flavonoids, anthocyanins, tannins, essential oil, stilbene and anthrachinone derivatives. Sakhalin (giant) knotweed is a source of carotenoids, ascorbic acid, iron, strontium and calcium, and the protein content in fresh raw materials reaches more than 300 mg / kg. Traditionally, types of *reynoutria* are used as medicine in China, Korea, Taiwan and Japan. These plants are used to treat chronic bronchitis, infectious hepatitis, osteomyelitis, diarrhea, gallstones, hypertension, atherosclerosis, hyperlipidemia,

bacterial vaginitis, menoxenia, dysmenorrhea, leukorrhea, snake bites, skin burns, skin burns. The pharmacological activity of Sakhalin (giant) knotweed is dependent to a complex of biological activity compounds, among which amino acids are important. Some data of the amino acid composition of Sakhalin (giant) knotweed herb have been found in the literature. This data vary considerably depending on the plant's place of growth. In addition, information on the qualitative composition and quantitative content of amino acids in the leaves, roots and flowers of Sakhalin (giant) knotweed has not been found in the literature. Therefore, the study of the amino acid composition of the raw materials of *Reynoutria sachalinensis* (F. Schmidt) Nakai is relevant. **The aim of the work** was a comparative study of the qualitative composition and determination of the quantitative content of amino acids in the roots, grass, leaves and flowers of *Reynoutria sachalinensis* (F. Schmidt) Nakai. **Materials and methods.** The study of the qualitative composition and determination of the amino acid composition of the roots, leaves, herb and flowers of Sakhalin (giant) knotweed was performed by ion-exchange liquid-column chromatography. Raw materials were harvested in 2019-2020 in the Kharkiv region (Ukraine). Identification and quantification of amino acids was performed by ion exchange liquid column chromatography on an automatic amino acid analyzer T 339. **Results and discussion.** According to the results of the experiment, the content of 18 amino acids was identified and determined in all samples of raw materials of Sakhalin (giant) knotweed, 9 of which are essential. The results of the experiment showed that almost the same amount of amino acids accumulated in the leaves (74.07 mg / kg) and flowers (73.13 mg / kg) of Sakhalin (giant) knotweed. In herb (47.65 mg / kg) they contained almost 1.5 times less, in roots (31.36 mg / kg) almost twice less than in leaves. The maximum content of the sum of essential amino acids was noted in the Sakhalin (giant) knotweed leaf (30.31 mg / kg). The glutamic acid dominated in all samples of the studied raw material was. The maximum content of this compound was in the flowers of Sakhalin (giant) knotweed (13.87 mg / kg). The content of aspartic acid in the raw material of this plant ranged from 3.47 to 8.55 mg / kg. Most of it was contained in the leaf of the Sakhalin (giant) knotweed. Arginine (7.95 mg / kg) prevailed in the roots of Sakhalin (giant) knotweed among essential amino acid. Lysine and leucine were the major essential amino acids in the leaf of the studied plant. The content of them was almost at the same level and was 5.28 and 5.94 mg / kg, respectively. Lysine dominated in herb (4.45 mg / kg) and flowers (5.53 mg / kg) among essential amino acids. **Conclusions.** The obtained results indicate the prospects of using raw materials of Sakhalin reynoutria as a potential source of biological active compounds, in particular amino acids, and will be used for the development of drugs based on these raw materials.

Key words: Sakhalin (giant) knotweed, *Reynoutria sachalinensis* (F. Schmidt) Nakai, amino acids, ion-exchange liquid-column chromatography.

References

1. Teleuta A., Titei V. & Cosman S. (2013). Biological Characteristics and Fodder Value of Some Species of Plants of the Genus Polygonum L. Under the Conditions of the Republic of Moldova. Bulletin UASMV serie Agriculture, 70(1), 258-257.
2. Kovarova M., Bartunkova K., Frantik T., Koblihova H., Prchalova K. & Vosatka M. (2010). Factors influencing the production of stilbenes by the knotweed, *Reynoutria × bohemica*. BMC Plant Biol., 10, 19-35.
3. El-Readi M. Z., Eid S. Y., Al-Amodi H. S. & Wink M. (2016). Fallopia japonica: Bioactive Secondary Metabolites and Molecular Mode of Anticancer. J Tradit Med Clin Natur., 5(3), 1000193-1000213. Retrieved from: <https://www.omicsonline.org/open-access/fallopia-japonica-bioactive-secondary-metabolites-and-molecular-modeof-anticancer-.php?aid=80920>
4. Filatova L. A., Yakimova A. V. & Zorina N. A. (2005). Physiology-biochemical performance of *Polygonum sachalinensis*. Bulletin of Perm University. Biology, 6, 64-67.
5. Nisreen H., Trak T. H. & Lata M. (2019). Amino acids as Medical food and their Therapeutic uses. International Journal of Scientific Research and Reviews., 8 (2), 579-585.
6. Riaz N. N., Fazal-ur-Rehman M. & Ahmad M. M. (2017). Amino Acids: Role in Human Biology and Medicinal Chemistry - A Review. Medicinal Chemistry, 7(10), 302-307. <https://doi.org/10.4172/2161-0444.1000472>
7. Hou Y., Yin Y. & Wu G. (2015). Dietary essentiality of "nutritionally non-essential amino acids" for animals and humans. Exp Biol Med (Maywood), 240(8), 997-1007. <https://doi.org/10.1177/1535370215587913>
8. Hou Y. & Wu G. (2018). Nutritionally Essential Amino Acids. Adv Nutr., 9(6), 849-851. <https://doi.org/10.1093/advances/nmy054>
9. Rahmonov O., Czylok A., Orczewska A., Majgier L. & Parusel T. (2014). Chemical composition of the leaves of *Reynoutria japonica* Houtt. and soil features in polluted areas. Central European Journal of Biology, 9(3), 320-330. <https://doi.org/10.2478/s11535-013-0267-9>
10. Patocka J., Navratilova Z. & Ovando M. (2017). Biologically active compounds of Knotweed (*Reynoutria* spp.). Mil. Med. Sci. Lett. (Voj. Zdrav. Listy), 86(1), 17-31. <https://doi.org/10.31482/mmsl.2017.004>
11. Tiței V., Cirlig N., Stavarache M., Guțu A. & Coșman S. (2018) Some biological features and the biochemical composition of *Polygonum sachalinense* in Moldova. Research Journal of Agricultural Science, 50(3), 26-32.
12. Ivanov V.V. & Denisenko O.N. (2013). Polyphenol compound of polygonum (*reynoutria*) sachalinense. Fundamental Research., 10, 374-377.
13. Smetanina K. (2011). About the need of introduction of European certification of herbal medicines in Ukraine. Phytoterapy. Chasopys, 1, 69-71.
14. Kyslychenko O., Protska V. & Zhuravel I. (2019). Phytochemical research of Vagrant *Parmelia thalli* as a prospective source of certain nutrients. Norwegian Journal of development of the International Science, 30 (1), 44-49.