

Є. В. Базавлук, Р. С. Ванько, Ю. Т. Конечний,
Р. Г. Шикуча, Р. Т. Конечна

РОЗРОБКА АНТИБАКТЕРІАЛЬНОГО СПРЕЮ НА ОСНОВІ ЕКСТРАКТУ *PHLOMIS PUNGENS* WILLD. ТА НАНОЧАСТИНОК СРІБЛА

Ключові слова: *Phlomis pungens*, наночастинки срібла, спрей, антибактеріальна дія.

У статті представлено результати досліджень *Phlomis pungens* та екстрактів на його основі. Підібрано оптимальні умови одержання екстрактів та визначено кількісний вміст біологічно активних речовин у них, а саме фенольних сполук і флавоноїдів. Вивчено фармакологічну активність екстрактів рослини та наночастинок срібла. Розроблено склад та досліджено новий антисептичний засіб у формі спрею на основі екстракту *Phlomis pungens* та наночастинок срібла.

Е. В. Базавлук, Р. С. Ванько, Ю. Т. Конечный,
Р. Г. Шикуча, Р. Т. Конечна

РАЗРАБОТКА АНТИБАКТЕРИАЛЬНОГО СПРЕЯ НА ОСНОВЕ ЭКСТРАКТА *PHLOMIS PUNGENS* WILLD. И НАНОЧАСТИЦ СЕРЕБРА

Ключевые слова: *Phlomis pungens*, наночастицы серебра, спрей, антибактериальное действие.

В статье представлены результаты исследования *Phlomis pungens* и экстрактов на его основе. Подобраны оптимальные условия получения экстрактов и определено количественное содержание биологически активных веществ, а именно фенольных соединений и флавоноидов. Изучена фармакологическая активность экстрактов растения и наночастиц серебра. Разработан состав и исследовано новое антисептическое средство в форме спрея на основе экстракта *Phlomis pungens* и наночастиц серебра.

Ye. Bazavluk, R. Vanko, Yu. Konechnyi, R. Shykula,
R. Konechna

DEVELOPMENT OF AN ANTIBACTERIAL SPRAY BASED ON PHLOMIS PUNGENS EXTRACT AND SILVER NANOPARTICLES

Keywords: *Phlomis pungens*, silver nanoparticles, spray, antibacterial activity.

In the article the results of the study on *Phlomis pungens* and extracts of the plant are presented. The optimum conditions for obtaining the extracts were selected, the content of the biologically active substances (phenols and flavonoids) in the extracts was studied. The pharmacological activity of extracts of the plant and silver nanoparticles were examined. A new antiseptic in the form of spray based on *Phlomis pungens* extract and silver nanoparticles has been developed and studied.

Конфлікт інтересів відсутній.

Внесок авторів.

Є.В. Базавлук – написання основного тексту манускрипту, основний виконавець,

Р.С. Ванько – написання основного тексту манускрипту, переклад,

Ю.Т. Конечний – виконання мікробіологічної частини,

Р.Г. Шикуча – рецензування,

Р.Т. Конечна – куратор проекту.

Електронна адреса для листування з авторами:

Egor.bazavluk@gmail.com (Базавлук Єгор Віталійович).



DOI:10.33617/2522-9680-2020-3-44
УДК615.322:577.112.3:582.991

ВМІСТ АМІНОКИСЛОТ У СИРОВИНІ ДЕЯКИХ ВИДІВ РОДИНИ *ASTERACEAE*

■ ¹ С. М. Марчишин, д. фарм. н., проф., зав. каф. фармакогн. з мед. бот.

¹ Л. В. Слободянюк, к. фарм. н., асист. каф. фармакогн. з мед. бот.

² Р. Ю. Басараба, к. фарм. н., асист. каф. фармації

² Н. А. Гудзь, к. фарм. н., ас. каф. фармації

² Л. В. Костишин, асист. каф. фармацевт. ботаніки та фармакогн.

■ ¹ Тернопільський Національний медичний університет ім. І. Я. Горбачевського МОЗ України.

² Буковинський державний медичний університет, м. Чернівці

Амінокислоти (АК) є мономерами білків, які широко розповсюджені у живій природі і є основою будови організму. Усього відкрито майже 300 рослинних АК; до складу білків входять лише 20 [2].

Всі АК, які входять до складу білка, синтезуються рослинами, що відрізняє їх від білків тваринного і людського організму, в яких не всі АК синтезуються. Половину з 20 відомих АК людський організм поповнює за рахунок рослинної їжі.

АК беруть участь у синтезі білків, коферментів, флавоноїдів, стероїдних сполук, поліфенолів, складних вуглеводів, жирів, вітамінів і пігментів [7]. Також АК сприяють швидшому засвоєнню та потенціюють дію інших наявних у рослинах біологічно активних сполук [2].

Сучасна медицина використовує широкий спектр фармакологічної активності АК. Вони запобігають передчасному старінню організму, впливають на обмінні процеси, їх застосовують при негативному впливі на організм іонізуючого випромінювання, гострому та хронічному отруєнні різними речовинами [3]. АК позитивно впливають на серцево-судинну і мозкову діяльність людини, сприяють відновленню роботи печінки та нирок. Маючи широкий спектр фармакологічної дії і здатність посилювати засвоюваність інших речовин, АК привертають до себе все більше уваги як потенційні лікарські засоби. Оскільки АК впливають на фармакологічну активність рослин, необхідно враховувати їх вміст у рослинних об'єктах [1, 5, 6, 10].

Метою роботи було вивчення вмісту амінокислот у сировині деяких видів рослин родини *Asteraceae*.

Матеріали та методи дослідження

Об'єктами для досліджень були: трава **котячих лапок дводомних** (*Antennaria dioica* (L.) Gaertner), листки **якона** (*Smallanthus sonchifolius* (Poepp. and Endl.) H. Robinson) і **стевії** (*Stevia rebaudiana* (Bertoni) Hemsley) та трава **чорнобривців золотистих** (*Tagetes lucida* Cav.).

Сировину котячих лапок дводомних заготовляли в період цвітіння на території Вишницького району Чернівецької області, траву чорнобривців золотистих і листки стевії – на дослідних ділянках Національного ботанічного саду ім. М. М. Гришка НАН України в м. Києві під час масового цвітіння рослин. Сировина якона запропонована проф. Міщенко Л.Т. – провідним науковим співробітником ННЦ «Інститут біології та медицини» Київського національного університету ім. Тараса Шевченка.

Для виявлення АК у досліджуваній сировині використовували водні витяжки. Проведено якісне виявлення АК – з 0,1 % розчином нінгідрину Р при нагріванні [4].

Дослідження амінокислотного складу проводили методом ВЕРХ [8, 9].

Метод заснований на екстракції вільних аміно-

кислот із рослинної сировини та кислотному гідролізі рослинних препаратів з наступним аналізом гідролізатів методом ВЕРХ з передколунковою дериватизацією 9-флуоренілметоксикарбоніл хлоридом (FMOC) та о-фталевим альдегідом (OPA) з наступною детекцією флуоресцентним детектором.

Хроматографічне розділення проводили на рідинному хроматографі Agilent 1200 (Agilent technologies, USA). Колонка Zorbax AAA довжиною 150 мм, внутрішнім діаметром 4,6 мм, діаметром зерна сорбента 3 мкм. Мобільна фаза А – 40 mM Na₂HPO₄ pH 7.8; В – ACN: MeOH: water (45:45:10, v/v/v). Режим розділення градієнтний із постійною швидкістю потоку 1,5 мл/хв. Температура термостату колонки 40 °С. Передколункову дериватизацію проводили в автоматичному програмованому режимі з використанням FMOC реагенту (Agilent 5061-3337) та OPA реагенту (Agilent 5061-3335). Детекція дериватизованих амінокислот реалізовувалася за допомогою флуоресцентного детектора.

Пробопідготовка рослинної сировини:

1. Визначення вільних амінокислот: наважку перетертої до порошкоподібного стану сировини поміщали у віалу, додавали 2 мл водного розчину 1М кислоти хлористоводневої та витримували на ультразвуковій бані при 50 °С протягом 3 год.

2. Визначення загальних амінокислот: наважку препарату поміщали у віалу, додавали 2 мл водного розчину 6М кислоти хлористоводневої та поміщали в термостат при температурі 110 °С. Гідроліз проводили протягом 24 год. Потім 0,5 мл відцентрифугованого екстракту/гідролізату упарювали на роторному випарувачі, тричі промиваючи водою очищеною Р для видалення кислоти хлористоводневої. Ресуспендували в 0,5 мл води очищеної Р та фільтрували крізь мембранні фільтри із регенованої целюлози з порами 0,2 мкм.

Отримання флуоресцентних похідних проводили в автоматичному програмованому режимі перед введенням проби хроматографічну колонку.

Ідентифікацію АК проводили шляхом порівняння часу утримання з сумішшю стандартів амінокислот (Agilent 5061-3334) (рис. 1). Кількісний вміст АК розраховували за площею її хроматографічного піку. Вміст зв'язаних амінокислот визначали шляхом віднімання вмісту вільних амінокислот від їх загального вмісту.

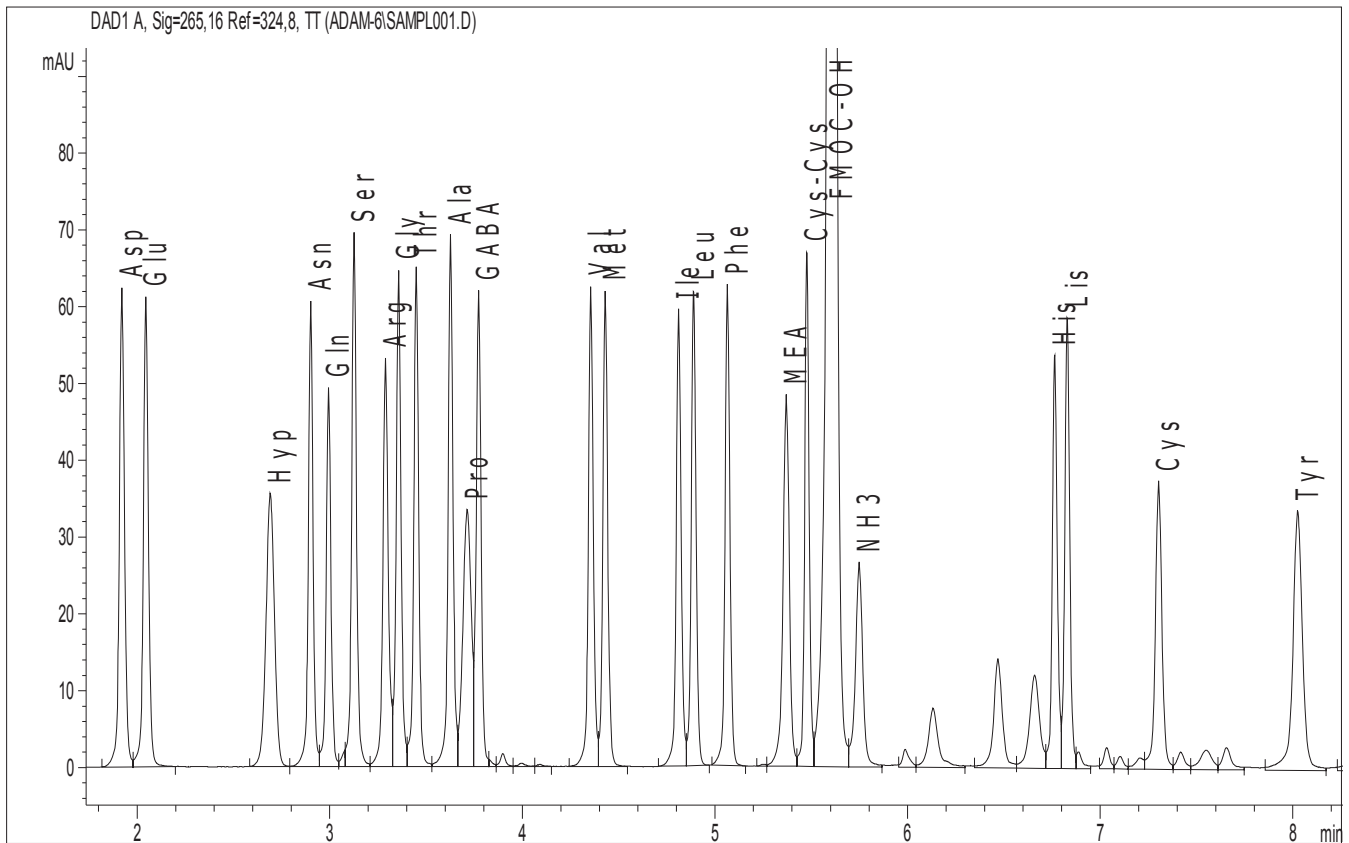


Рис. 1. Хроматограма стандартів амінокислот: Asp — кислота аспарагінова, Glu — кислота глутамінова, Hyp — 4-гідроксипролін, Asn — аспарагін, Gln — глутамін, Ser — серин, Arg — аргінін, Gly — гліцин, Thr — треонін, Ala — аланін, Pro — пролін, GABA — кислота гамма-аміномасляна, Val — валін, Met — метіонін, Ile — ізoleyцин, Leu — лейцин, Phe — фенілаланін, Cys-cys — цистин, His — гістидин, Lis — лізин, Cys — цистеїн, Tyr — тирозин.

Результати дослідження та їх обговорення

У результаті взаємодії з розчином нінгідрину спостерігали появу синьо-фіолетового забарвлен-

ня розчинів, що свідчило про наявність вільних амінокислот у сировині досліджуваних видів.

Якісний склад та кількісний вміст вільних і

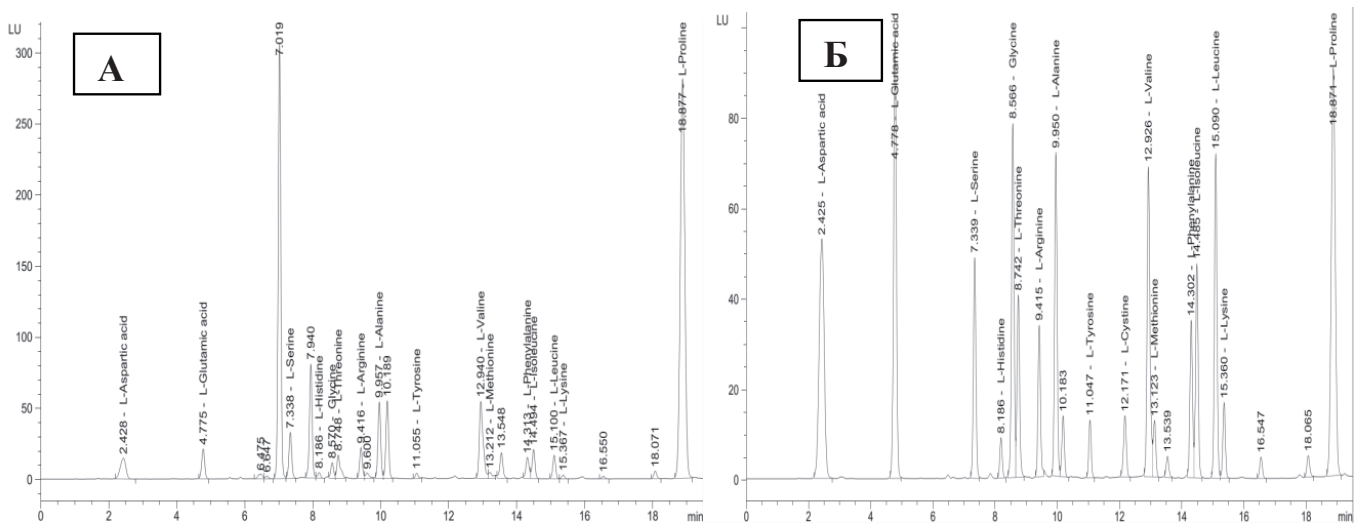


Рис. 2. Хроматограма вільних (А) та зв'язаних (Б) амінокислот трави котячих лапок дводомних

Таблиця

Амінокислотний склад сировини котячих лапок дводомних, якона, стевії та чорнобривців золотистих

№ з/п	Сировина		ЛЯ		ЛС		ТКЛ		ТЧЗ	
	зв'язаних АК, мкг/мг	вільних АК, мкг/мг	зв'язаних АК, мкг/мг	вільних АК, мкг/мг	зв'язаних АК, мкг/мг	вільних АК, мкг/мг	зв'язаних АК, мкг/мг	вільних АК, мкг/мг	зв'язаних АК, мкг/мг	вільних АК, мкг/мг
Незамінні АК										
1.	2,36	0,22	5,16	0,49	1,59	0,24	н/в	н/в	н/в	н/в
2.	1,22	0,84	4,88	0,29	1,62	0,40	1,94	н/в	н/в	н/в
3.	1,82	н/в	1,07	0,43	1,05	0,12	н/в	н/в	н/в	н/в
4.	2,59	н/в	5,35	0,11	1,74	0,17	0,22	0,22	0,25	0,25
5.	1,40	н/в	9,03	0,10	2,74	0,14	3,00	н/в	н/в	н/в
6.	5,86	0,10	6,81	0,10	3,31	0,11	1,38	н/в	1,02	1,02
7.	0,32	н/в	1,49	0,05	0,52	0,06	н/в	н/в	н/в	н/в
8.	2,78	0,26	5,25	0,14	1,57	0,19	н/в	н/в	н/в	н/в
9.	2,67	0,17	6,00	0,24	1,69	0,19	1,48	н/в	0,10	0,10
Загальний вміст незамінних АК										
	21,02	1,59	45,04	1,95	15,83	1,62	6,64	н/в	1,37	1,37
Замінні АК										
10.	1,58	1,50	6,61	0,42	1,86	0,34	0,66	н/в	н/в	н/в
11.	4,48	0,52	10,73	н/в	5,38	0,33	2,57	0,83	0,83	0,83
12.	2,16	0,51	6,30	0,10	2,10	0,06	0,66	н/в	н/в	н/в
13.	1,19	2,30	17,38	н/в	7,38	0,34	0,95	н/в	н/в	н/в
14.	0,66	1,39	11,99	3,70	1,52	3,06	18,82	6,46	6,46	6,46
15.	4,22	0,95	12,83	7,04	1,56	0,25	1,49	н/в	н/в	н/в
16.	1,43	н/в	2,63	0,17	0,72	0,05	0,40	н/в	н/в	н/в
17.	10,29	н/в	н/в	н/в	3,29	н/в	н/в	н/в	н/в	н/в
Загальний вміст замінних АК										
	26,01	7,17	68,47	11,43	23,81	4,43	25,55	7,29	7,29	7,29

Примітка:

1. н/в – не визначено; 2. ЛЯ – листки якона; 3. ЛС – листки стевії; 4. ТКЛ – трава котячих лапок дводомних; 5. ТЧЗ – трава чорнобривців золотистих.

зв'язаних амінокислот визначали методом ВЕРХ. Хроматограми наведено на рисунках 2-5.

Вміст ідентифікованих АК представлений у таблиці.

У результаті досліджень було встановлено у траві котячих лапок дводомних наявність 17 зв'язаних та 16 вільних амінокислот, у траві чорнобривців золотистих, листках якона і листках стевії – по 12 і 5, 17 і 11 та 16 і 14 амінокислот відповідно. Найбільша кількість суми незамінних і

замінних амінокислот міститься у листках стевії і становить 46,99 мкг/мг і 79,90 мкг/мг, найменший вміст суми незамінних амінокислот спостерігали у траві чорнобривців золотистих (9,39 мкг/мг), суми замінних амінокислот – у траві котячих лапок дводомних, що становило 28,24 мкг/мг.

З вільних амінокислот у траві котячих лапок дводомних переважає пролін (3,06 мкг/мг); не виявлено замінної амінокислоти цистину. Аналіз зв'язаних амінокислот показав, що у траві дослід-

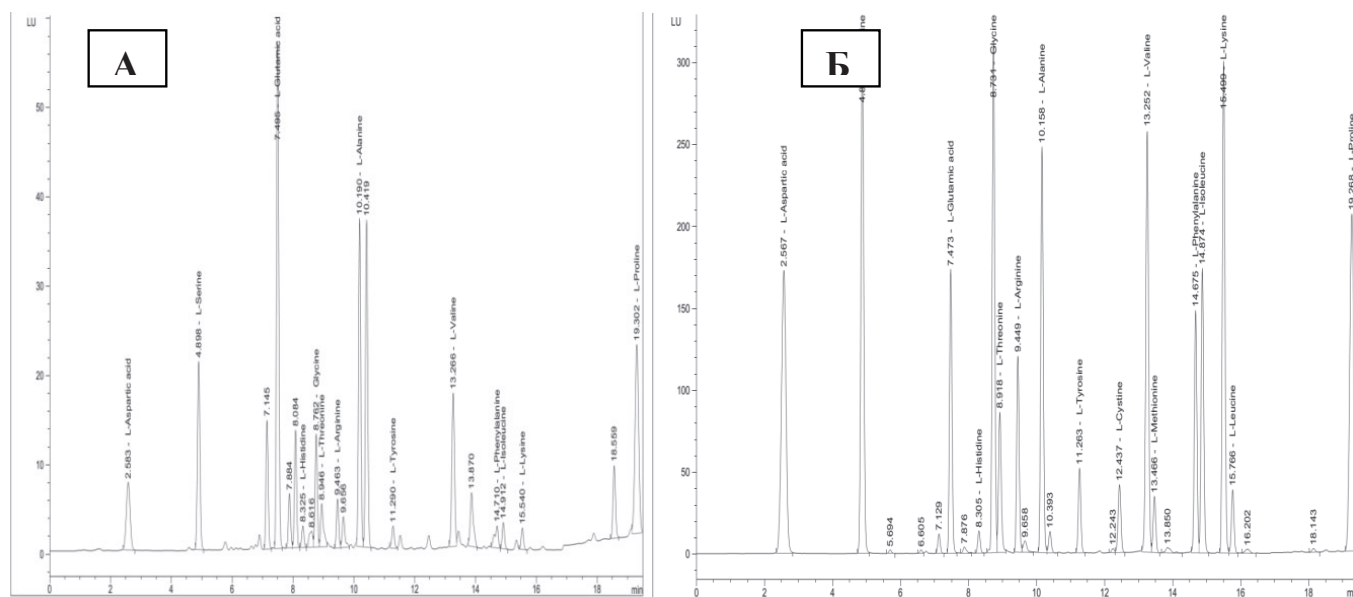


Рис. 3. Хроматограма вільних (А) та зв'язаних (Б) амінокислот листків якона

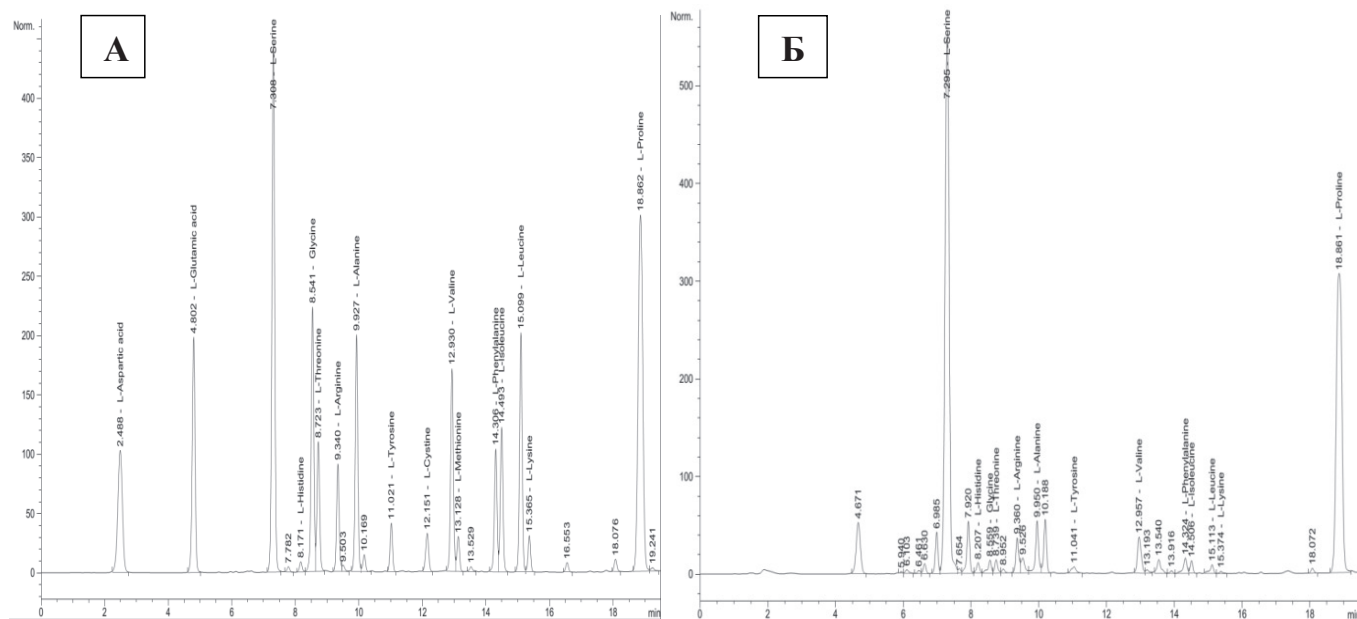


Рис. 4. Хроматограма вільних (А) та зв'язаних (Б) амінокислот листків стевії

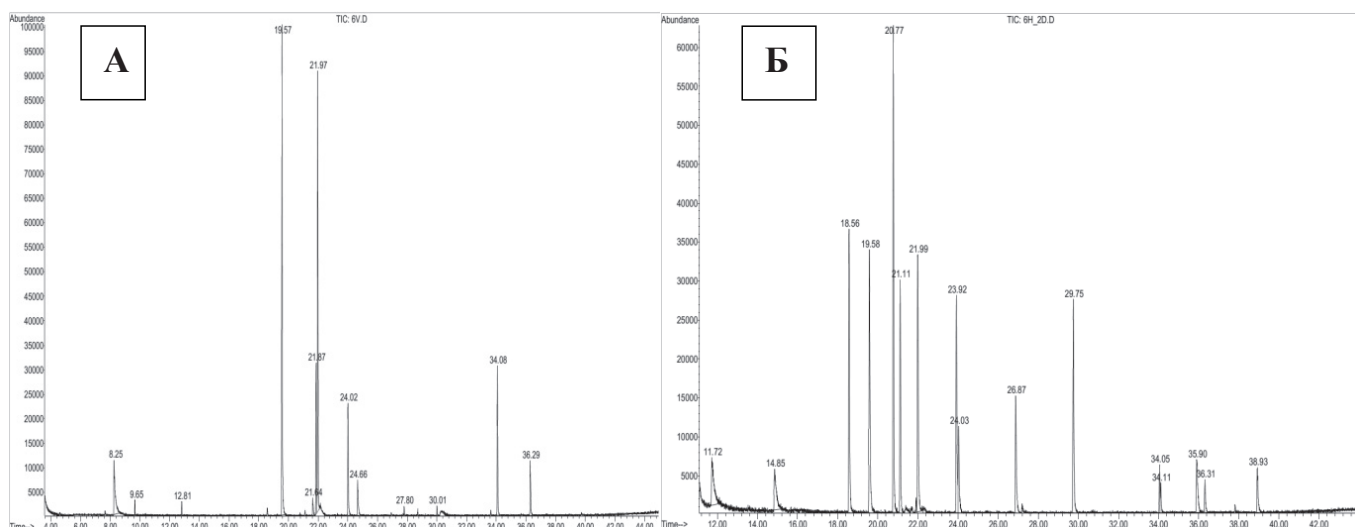


Рис. 5. Хроматограма вільних (А) та зв'язаних (Б) амінокислот трави чорнобривців золотистих

жуваної рослини в найбільшій кількості виявлено моноамінодикарбонові кислоти глутамінову (7,38 мкг/мг) і аспарагінову (5,38 мкг/мг), а також лізину (3,31 мкг/мг) та цистину (3,29 мкг/мг). У листках якона зі зв'язаних амінокислот домінували кислота аспарагінова і серин (4,48 мкг/мг і 4,42 мкг/мг відповідно), з вільних – кислота глутамінова і аланін (2,30 мкг/мг і 1,50 мкг/мг відповідно); у листках стевії – лізин (6,81 мкг/мг), фенілаланін (6,00 мкг/мг) та ізолейцин (5,35 мкг/мг) зі зв'язаних та серин (7,04 мкг/мг) і пролін (3,70 мкг/мг) з вільних амінокислот. У траві чорнобривців золотистих зі зв'язаних і вільних амінокислот найбільшу кількість представляв пролін – 18,82 мкг/мг і 6,46 мкг/мг відповідно. Відомо, що пролін є одним з важливих компонентів колагенового білка.

У листках якона не виявлено з вільних амінокислот гістидину, ізолейцину, лейцину, метіоніну, цистину і тирозину; у листках стевії – кислоту аспарагінову і глутамінову та цистину. Значну кількість зв'язаних амінокислот не виявлено у траві чорнобривців золотистих – аргініну, гістидину, метіоніну, треоніну, цистину. З вільних амінокислот у сировині чорнобривців золотистих виявлено лише 5 амінокислот – ізолейцин (0,25 мкг/мг), лізин (1,02 мкг/мг), фенілаланін (0,10 мкг/мг), кислота аспарагіно-

ва (0,83 мкг/мг), пролін (6,46 мкг/мг).

Таким чином, результати проведених досліджень розширюють існуючі відомості щодо якісного складу і кількісного вмісту АК у сировині деяких представників родини *Asteraceae* і можуть бути використані при розробці нових лікарських засобів.

Висновки

1. Уперше досліджено якісний склад та визначено кількісний вміст амінокислот у сировині досліджуваних видів родини *Asteraceae* (*Antennaria dioica* (L.) Gaertner, *Smallanthus sonchifolius* (Poepp. and Endl.) H. Robinson, *Stevia rebaudiana* (Bertoni) Hemsley, *Tagetes lucida* Cav.

2. Ідентифіковано у траві котячих лапок дводомних 17 зв'язаних та 16 вільних амінокислот, у траві чорнобривців золотистих, листках якона і листках стевії – по 12 і 5, 17 і 11 та 16 і 14 амінокислот відповідно.

3. Встановлено що найбільший вміст суми незамінних і замінних амінокислот міститься у листках стевії і 46,99 мкг/мг і 79,90 мкг/мг; найменший вміст суми незамінних амінокислот – у траві чорнобривців золотистих (9,39 мкг/мг), суми замінних амінокислот – у траві котячих лапок дводомних (28,24 мкг/мг).

Литература

1. Амінокислотний склад рослинної сировини *Plantago media* L. та *Plantago altissima* L. флори України / Т. В. Хортецька, О. В. Ма-

зулін, Г. П. Смойловська [та ін.]. Запорізький мед. журн. 2012. – № 3 (72). – С. 132-134.

2. Делян Є. П. Амінокислотний склад надземних органів рослин роду *Sonchus*. *Фармакол. та лікар. Токсикоз.* 2016. – № 1 (47). – С. 102-106.

3. Іосипенко О. О., Кисличенко В. С., Омельченко З. І. Вивчення амінокислотного складу листя кабачків. *Мед. та клін. хім.* 2020. – Т. 22. – № 2. – С. 72-80.

4. Ісюк М. В., Бензель І. Л., Бензель Л. В. Дослідження амінокислотного складу герані сибірської. *Акт. пун. фармац. і мед. науки та практик.* 2012. – № 3 (10). – С. 4-6.

5. Кініченко О. А. Дослідження амінокислотного складу *Portulaca oleracea L.* та *Portulaca grandiflora Hook.* *Фармац. час.* 2016. – № 4. – С. 5-7.

6. Федосов А. І. Дослідження амінокислотного складу артишоку суцвітть. *Фармацевтичний часопис.* 2017. – № 3. – С. 25-30.

7. Determination of amino acids in medicinal plants from Southern Sonora, Mexico / Edgar F. Moran-Palacio, Orlando Tortoledo-Ortiz, Greda A. Yanez-Farias [et al.]. *Tropic. J. of Pharmac. Res.* 2014. – Vol. 13 (4). – P. 601-606.

8. Jámbor A., Molnar-Perl I. Amino acids analysis by high-performance liquid chromatography after derivatization with 9-fluorenylmethylloxycarbonyl chloride. *Literature overview and further study.* *J. of Chromatogr. A.* 2009. – № 1216. – P. 3064-3077.

9. Jámbor A., Molnar-Perl I. Quantitation of amino acids in plasma by high performance liquid chromatography: Simultaneous deproteinization and derivatization with 9-fluorenylmethylloxycarbonyl chloride. *J. of Chromatogr. A.* 2009. – № 1216. – P. 6218-6223.

10. The carbohydrates and aminoacids study in common lilac of Charles Joile variety flowers and leaves / A. Popyk, V. Kyslychenko, V. Korol [et al.]. *Americ. J. of Sci. and Technolo.* 2015. – №2 (20). – С. 779-785.

Надійшла до редакції 19 листопада 2020 р.

Прийнято до друку 22 грудня 2020 р.

УДК 615.322:577.112.3:582.991

DOI:10.33617/2522-9680-2020-3-44

С. М. Марчишин, Л. В. Слободянюк, Р. Ю. Басараба, Н. А. Гудзь, Л. В. Костишин

ВМІСТ АМІНОКИСЛОТ У СИРОВИНІ ДЕЯКИХ ВИДІВ РОДИНИ *ASTERACEAE*

Ключові слова: амінокислоти, котячі лапки дводомні, якон, стевія, чорнобривці золотисті, листки, трава, родина айстрові, високоефективна рідина хроматографія.

Вперше вивчено якісний склад та визначено кількісний вміст амінокислот у траві котячих лапок дводомних, листках якона, листках стевії, траві чорнобривців золотистих методом ВЕРХ. Ідентифіковано у траві котячих лапок дводомних 17 зв'язаних та 16 вільних амінокислот, у траві чорнобривців золотистих, листках якона і листках стевії – по 12 і 5, 17 і 11 та 16 і 14 амінокислот відповідно. Найбільший вміст суми незамінних і замінних амінокислот міститься у листках стевії; найменший вміст суми незамінних амінокислот – у траві чорнобривців золотистих, суми замінних амінокислот – у траві котячих лапок дводомних.

С. М. Марчишин, Л. В. Слободянюк, Р. Ю. Басараба, Н. А. Гудзь, Л. В. Костишин

СОДЕРЖАНИЕ АМИНОКИСЛОТ В СЫРЬЕ НЕКОТОРЫХ ВИДОВ СЕМЕЙСТВА *ASTERACEAE*

Ключевые слова: амінокислоти, кошацька лапка дводомна, якон, стевія, бархатці золотисті, листя, трава, семейство астровые, высокоэффективная жидкостная хроматография

Впервые изучен качественный состав и определено коли-

Конфлікт інтересів відсутній.

Підтвердження авторства (відсотковий вклад у написання статті)

Категорії	Марчишин С. М.	Слободянюк Л. В.	Басараба Р. Ю.	Гудзь Н. А.	Костишин Л. В.
Концепція та модель	40%	30%	10%	10%	10%
Збір даних	40%	20%	20%	10%	10%
Аналіз та інтерпретація даних	40%	30%	10%	10%	10%
Складання рукопису	40%	20%	15%	15%	10%
Статистичний аналіз	30%	30%	20%	10%	10%

Електронна адреса для листування з авторами: e-mail: svitlanafarm@ukr.net (Марчишин Світлана Михайлівна)

