

Е.А. Занемонец

**СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ СУММЫ СВОБОДНЫХ АМИНОКИСЛОТ
В ЛЕКАРСТВЕННОМ РАСТИТЕЛЬНОМ СЫРЬЕ «НОГОТКОВ ЦВЕТКИ»**

Научный руководитель: ст. преп. Л.Э. Зайтуллаева

Кафедра биоорганической химии

Белорусский государственный медицинский университет, г. Минск

E.A. Zanemonec

**COMPARATIVE ANALYSIS OF THE SUM OF FREE AMINO ACIDS
IN MEDICINAL PLANT RAW MATERIALS "MARIGOLD FLOWERS"**

Tutor: senior lecture L.E. Zaitullaeva

Department of Bioorganic Chemistry

Belarusian State Medical University, Minsk

Резюме. Проведен сравнительный анализ суммы свободных аминокислот в лекарственном растительном сырье «Ноготков цветки», с применением нингидриновой реакции спектрофотометрическим методом.

Ключевые слова: аминокислоты, спектрофотометрический метод, нингидриновая реакция.

Resume. A comparative analysis of the amount of free amino acids in the "Marigold Flowers" was carried out using the ninhydrin reaction by the spectrophotometric method.

Keywords: amino acids, spectrophotometric method, ninhydrin reaction.

Актуальность. Аминокислоты принимают участие в работе различных систем и органов человека, участвуют в синтезе белков, что определяет их значимость и потребность для организма. Лекарственное растительное сырье (ЛРС) является одним из источников аминокислот.

В растениях биологически активные вещества находятся в легко усваиваемых организмом человека комплексах, что определяет их более высокую физиологическую активность и доступность по сравнению с синтетическими аналогами.

Календула является природным средством, применяемым при нервных расстройствах, заболеваниях полости рта, болезнях внутренних органов (желудка, печени, почек, желчного пузыря). Ее используют в качестве седативного, отхаркивающего, общеукрепляющего, болеутоляющего средства. Наличие в цветках ноготков таких органических соединений как каротиноиды, моно-, сескви-, тритерпеноиды, сесквиерпеновые гликозиды, стероиды, флавоноиды и обуславливает широчайший диапазон фармакологического действия. Кроме того, в соцветиях ноготков найдены аминокислоты. Аминокислотами, преобладающими в исследованном водном извлечении цветков календулы, являются аспарагиновая кислота, глутаминовая кислота, глицин [1].

Количественное содержание аминокислот в растениях зависит от видовой и сортовой принадлежности растения. Значительное влияние на их кумуляцию оказывает широта местности, состав почвы.

Цель: проведение сравнительного анализа количественного содержания суммы свободных аминокислот (в пересчете на глутаминовую кислоту)

спектрофотометрическим методом из лекарственного растительного сырья «Ноготков цветки», выпускаемого в пачках.

Задачи:

1. Получить водные извлечения из ЛРС «Ноготков цветки» несколькими способами;
2. Выполнить количественное определение суммы свободных аминокислот (в пересчете на глутаминовую кислоту), используя нингидриновую реакцию.

Материалы и методы. Объектом исследования выступили цветки ноготков двух производителей ООО «Падис С» и ООО «Калина», реагентами – нингидрин квалификации «х.ч.» (химически чистый), хлорид натрия квалификации «х.ч.», дигидроортофосфат калия квалификации «х.ч.», гидрофосфат натрия квалификации «х.ч.», аскорбиновая кислота квалификации «х.ч.», глутаминовая кислота квалификации «х.ч.». Для проведения реакции и определения оптической плотности продуктов было использовано оборудование: спектрофотометр «SOLAR» РВ 2201, водяная баня с микропроцессорным контролем WB-12, лабораторные аналитические весы ОНАУС EX125D, мерная стеклянная посуда 2 класса точности.

Извлечения из лекарственного растительного сырья, содержащего аминокислоты, получали 2 способами. Точную навеску сырья помещали в круглодонную колбу, прибавляли 25 мл дистиллированной воды, устанавливали дефлегматор и нагревали содержимое на водяной бане. Первое извлечение получали после 15-минутного кипячения, что рекомендовано производителями; второе извлечение получали двойным кипячением сырья в течение 30 мин. Таким образом, получали по два извлечения для каждого образца.

Для количественного определения суммы аминокислот применяли нингидриновую реакцию. Методика проведения анализа заключалась в следующем: 2 мл настоя цветков ноготков помещали в пробирку, добавляли 2 мл 1% раствора нингидрина и 2 мл 0,05% раствора аскорбиновой кислоты, а также 4 мл фосфатного буфера с рН 6,4. Параллельно проводили аналогичные опыты с 2 мл раствора рабочего стандартного образца глутаминовой кислоты и 2 мл воды (контрольный опыт). Полученные растворы выдерживали на водяной бане в течении 30 мин; после их охлаждали и количественно переносили в мерные колбы, доводили до метки дистиллированной водой [2].

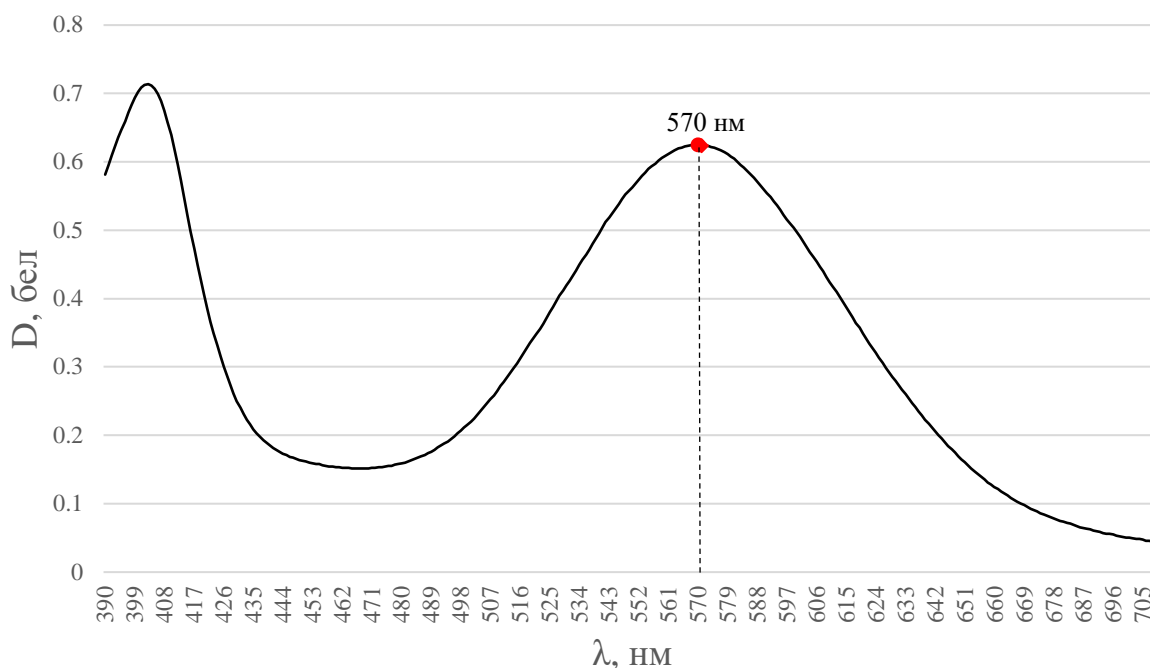
Результаты и их обсуждение. Для выбора аналитической длины волны был построен спектр поглощения продукта реакции Glu с нингидрином. Спектр поглощения имеет 2 максимума в районах 408 нм и 570 нм (график 1).

В качестве аналитической выбрали длину волны 570 нм, так как при 408 нм происходит поглощение света не только продуктов реакции аминокислот, но и других биологически активных веществ, содержащихся в цветках ноготков, таких как флавоноиды, каротиноиды.

Содержание суммы свободных аминокислот в пересчете на Glu и абсолютно сухое сырье (X) вычисляли в % по формуле 1:

$$X = \frac{A * 100 * 100 * a_0 * 2 * 100 * 100}{A_0 * a * 2 * 200 * 100 * (100 - W)} = \frac{A * A_0 * 50 * 100}{A_0 * a * (100 - W)}, \quad (1)$$

где A – оптическая плотность испытуемого раствора, A_0 – оптическая плотность раствора РСО Glu, a – навеска сырья, г, a_0 – навеска РСО Glu, г, W – потеря в массе при высушивании сырья, %.



Граф. 1 – Спектр поглощения продукта реакции РСО Glu с нингидрином

В результате исследования получили, что процентное содержание суммы свободных аминокислот в сырье от производителя «Калина» при однократном извлечении составило 2,61%, что на 0,34 % меньше чем при двойном извлечении; также процентное содержание суммы свободных аминокислот в сырье от производителя «Падис С» составило 2,93% при однократном извлечении и 3,17% при двойном. Разница между этими значениями составила равное значение, как для сырья от производителя «Калина», так и для сырья от производителя «Падис С». Процентное содержание суммы свободных аминокислот в сырье от производителя «ФармГрупп» при двойном извлечении оказалось равным 3,47%, при однократном извлечении – 2,91%. Таким образом, наибольшее процентное содержание имеет сырье от производителя «ФармГрупп» (таблица 1).

Табл. 1. Количественное содержание суммы свободных аминокислот в сырье «Нюотков лекарственных цветки».

| Производитель | Процентное содержание, % | |
|---------------------|--------------------------|--------|
| | 30 мин*2 | 15 мин |
| ООО «Калина», РБ | 2,95 | 2,61 |
| ООО «Падис С», РБ | 3,17 | 2,83 |
| ООО «ФармГрупп», РФ | 3,47 | 2,91 |

Выводы:

1. В зависимости от места произрастания растений, а также степени измельчения, количественное содержание аминокислот в растительном сырье может существенно различаться.

2. На территории Республики Беларусь, которая имеет небольшую площадь, имеются незначительные амплитуды климатических показателей, поэтому процентное содержание суммы свободных аминокислот отличается в пределах десятых долей: от производителя ООО «Падис С» составило 3,17%, а в образце от производителя «Калина» – 2,95%, по сравнению с образцом от производителя от ООО «ФармГрупп», где количественное содержание - 3,47%.

3. Было установлено, что длительность извлечения экстрактивных веществ из ЛРС «Ноготков цветки» влияет на результат в сторону уменьшения содержания аминокислот.

Литература

1. Афанасьева, П. В. Комплексное фармакогностическое исследование календулы лекарственной (*Calendula officinalis* L.) : дисс. канд. фарм. наук : 14.04.02/ П. В. Афанасьева. – Самара, 2017 – 198 с.

2. Разработка унифицированной методики количественного определения суммы свободных аминокислот в лекарственном растительном сырье и экстракционных препаратах / Г. И. Олешко, Т. И. Ярыгина, Е. В. Зорина, М. Д. Решетникова // Фармация. – 2011. – № 3. – С. 14-16.