

ИЗУЧЕНИЕ ПРОФИЛЯ АМИНОКИСЛОТ ГОРЦА ПОЧЕЧУЙНОГО ТРАВЫ (*POLYGONI PERSICARIAE HERBA*)

А. А. Гудкова¹, А. С. Чистякова¹, А. А. Сорокина², А. И. Сливкин¹, И. М. Коренская¹

1 - ФГБОУ ВО "Воронежский государственный университет"

2 - ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России

Поступила в редакцию 05.07.2018 г.

Аннотация. Аминокислоты являются важнейшими веществами, выполняющими в организме ряд жизненно-важных функций. Пути поступления их различны, часть аминокислот способна синтезироваться организмом человека и животных, а часть поступает извне. Основными источниками аминокислот являются пищевые продукты, как животного, так и растительного происхождения, где аминокислоты находятся как в связанном, так и свободном виде. Аминокислоты принимают участие в процессе нервной регуляции, влияют на тонус сосудов, применяются для лечения повреждений печени, язвенной болезни желудка, оказывают седативное действие и др. Учитывая немаловажную роль аминокислот в регулировании и протекании процессов жизнедеятельности живых организмов, изучение растительных объектов, как перспективных источников данной группы соединений, содержащихся в легко усваиваемой форме, является на сегодня актуальным.

Целью настоящего исследования является изучение профиля аминокислот травы горца почечуйного.

Для достижения поставленной цели в работе были использованы современные физико – химические методы анализа (ТСХ, спектрофотометрия, капиллярный электрофорез).

Методом ТСХ был изучен состав профиля свободных аминокислот травы горца почечуйного. В качестве подвижной фазы использовали систему бутанол:уксусная кислота:вода (4:1:2), проявитель 0,2% раствор нингидрина. Показано, что в свободном виде в сырье встречается лизин, глицин, метионин, глутаминовая кислота, треонин, валин, фенилаланин и неидентифицированное вещество. Содержание суммы свободных аминокислот (спектрофотометрический метод) в пересчете на глутаминовую составило 0.61%.

Методом капиллярного электрофореза показано, что преобладающей группой (суммарно) являются моноаминомонокарбоновые аминокислоты (50.31%), среди которых преобладают незаменимые: треонин, лейцин, фенилаланин и валин. Кроме того, наблюдается достаточно высокое содержание аргинина, глутаминовой кислоты, аспарагиновой кислоты.

Полученные данные дают возможность предположить перспективность использования травы горца почечуйного и лекарственных растительных препаратов на ее основе в качестве альтернативного источника аминокислот.

Ключевые слова: аминокислоты, горец почечуйный, ТСХ, спектрофотометрия, капиллярный электрофорез.

Аминокислоты (АК) как основные составные части белков участвуют во всех жизненных процессах наряду с нуклеиновыми кислотами, углеводами и липидами. Кроме аминокислот, входящих в состав белков, живые организмы обладают постоянным резервом «свободных» аминокислот, содержащихся в тканях и в клеточном соке [1,2].

АК придают другим биологическим активным веществам легко усвояемую и безвредную

форму, потенцируют их фармакологический эффект [3]. АК принимают участие в процессе нервной регуляции, влияют на тонус сосудов, применяются для лечения повреждений печени, язвенной болезни желудка, оказывают седативное действие и др. [4,5]. Например, аргинин является молекулярным биорегулятором, участвует в экспрессии генов. Аспарагиновая кислота и глицин входят в состав нуклеотидов и нуклеиновых кислот. Глутаминовая кислота, серин, тирозин, триптофан и др. являются нейромедиаторами. Метионин и серин входят в состав фос-

фолипидов. Лизин выступает составной частью коллагена [6].

В настоящее время прослеживается увеличение интереса ученых к исследованию АК состава растительных объектов, как веществ первичного метаболизма, вклад которых в проявление фармакологической активности лекарственных растительных препаратов нельзя не отметить, что отражено в ряде публикаций [7-12].

Одним из объектов, активно изучаемых на базе фармацевтического факультета ФГБОУ ВО ВГУ [13], является горец почечуйный (*Polygonum persicaria* L.), фармакопейным видом сырья которого является трава. Несмотря на достаточную изученность веществ вторичного метаболизма растения, данные о составе профиля АК разрозненны [14-16].

Целью работы являлось изучение профиля аминокислот травы горца почечуйного, заготовленной в Воронежской области.

МЕТОДИКА ЭКСПЕРИМЕНТА

Объектом исследования являлась высушенная трава горца почечуйного, заготовленная в селе Углянец Воронежской области летом в фазу цветения.

Для идентификации АК методом ТСХ в качестве подвижной фазы использовали систему бутанол : уксусная кислота : вода (4:1:2), проявитель 0,2% раствор нингидрина в спирте [9,14,17], объем наносимой пробы 5 мкл водного извлечения травы горца почечуйного 1:5.

Количественное определение суммы свободных АК в траве горца почечуйного определяли спектрофотометрическим методом, основанном на светопоглощении продуктов реакции АК со спиртовым раствором нингидрина в анализируемом максимуме 568 нм по известной методике [3,16].

Изучение количественного содержания свободных и связанных АК травы горца почечуйного проводили методом капиллярного электрофореза

(«Капель-105/105М», «Люмэкс», СПб, Россия), после гидролиза образцов 6 М кислотой хлороводородной при температуре 110 ± 5 °С в течение 16-18 часов [18,19,20].

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

На хроматографической картине зон, характерных для АК травы горца почечуйного, наблюдается наличие восьми пятен, по характеру окраски и величинам Rf совпадающих со стандартными образцами АК (табл.1.). Цвет пятен, после обработки нингидрином, варьировал от розового до фиолетового. Из восьми зон были идентифицированы семь как лизин, глицин, метионин, глутаминовая кислота, треонин, валин и фенилаланин.

Для количественного определения суммы свободных АК в траве горца почечуйного был получен спектр поглощения рабочего раствора, где были визуализированы три максимума поглощения, при 272 ± 2 нм, 401 ± 2 нм и 568 ± 2 нм (рис.1.), характерных для глутаминовой кислоты. Содержание суммы свободных АК, в пересчете на глутаминовую составило $0.61 \pm 0.03\%$ ($n=6, p=0.95$).

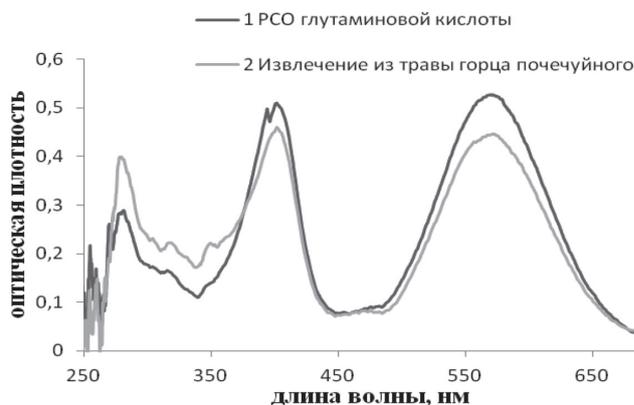


Рис. 1. Фрагмент спектров поглощения РСО глутаминовой кислоты и извлечения из травы горца почечуйного

Полный состав профиля АК был изучен методом капиллярного электрофореза и определено содержание 17 АК, 7 из которых являются незаме-

Таблица 1.

Хроматографическая картина зон АК травы горца почечуйного

Идентифицированные компоненты	Rf зон СО ($\pm 0,02$)	Цвет пятна после обработки нингидрином	Rf зон исследуемого образца
Лизин	0.1	Фиолетовый	0.1
-	-	Фиолетовый	0.27
Глицин	0.31	Розово - фиолетовый	0.32
Метионин	0.36	Розовый	0.36
Глутаминовая кислота	0.37	Розово - фиолетовый	0.38
Треонин	0.4	Розово - фиолетовый	0.44
Валин	0.49	Розовый	0.51
Фенилаланин	0.64	Розовый	0.62

нимыми (3.3%) (табл.2). Суммарное содержание АК составило 9.5%. Электрофореграмма АК травы горца почечуйного приведена на рис.2.

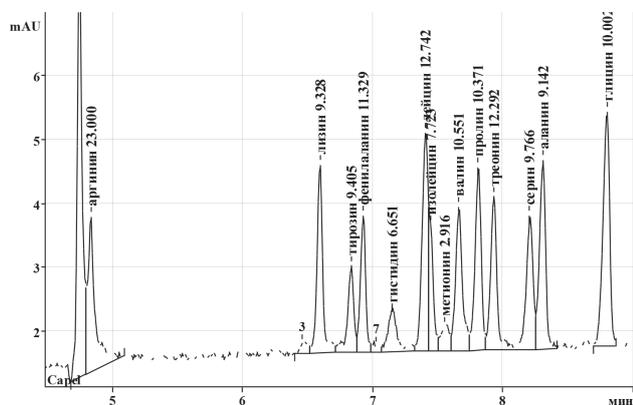


Рис. 2. Электрофореграмма АК, полученная на системе для капиллярного электрофореза «Капель-105/105М»

Анализируя результаты, представленные в табл.2 и на рис.3., видим, что преобладающей группой АК (суммарно) являются моноаминомонокарбоновые АК (50.31%), среди которых преобладают незаменимые АК треонин, лейцин, фенилаланин и валин. Среди индивидуальных АК наблюдается достаточно высокое содержание аргинина (11.89% от суммы), глутаминовой кислоты (11.6%), аспарагиновой кислоты (7.26%).

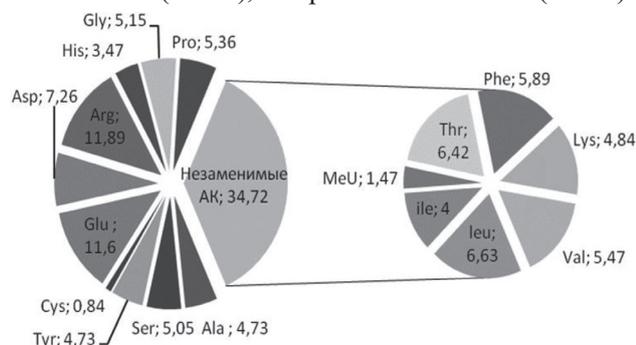


Рис.3. Распределение АК в траве горца почечуйного (% от суммы)

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведено изучение аминокислотного состава травы горца почечуйного. Установлен состав профиля как свободных, так и связанных аминокислот.

С помощью метода ТСХ в траве горца почечуйного идентифицированы лизин, глицин, метионин, глутаминовая кислота, треонин, валин и фенилаланин.

Методом капиллярного электрофореза показано высокое содержание аргинина, глутаминовой кислоты, аспарагиновой кислоты, а также некоторых незаменимых аминокислот (треонин, лейцин, фенилаланин и валин).

Таблица 2.

Содержание суммы АК (свободных и связанных) в траве горца почечуйного

Аминокислота	% в сырье	% от суммы
Моноаминомонокарбоновые АК		
Аланин (Ala)	0.45	4.73
Валин* (Val)	0.52	5.47
Лейцин* (Leu)	0.63	6.63
Изолейцин* (Ile)	0.38	4.0
Метионин* (MeU)	0.14	1.47
Серин (Ser)	0.48	5.05
Тирозин (Tyr)	0.45	4.73
Треонин* (Thr)	0.61	6.42
Фенилаланин* (Phe)	0.56	5.89
Цистеин (Cys)	0.08	0.84
Общее содержание	4.78	50.31
Моноаминодикарбоновые АК		
Глутаминовая кислота (Glu)	1.11	11.60
Аспарагиновая кислота (Asp)	0.69	7.26
Общее содержание	1.80	18.94
Диаминомонокарбоновые АК		
Аргинин (Arg)	1.13	11.89
Лизин* (Lys)	0.46	4.84
Общее содержание	1.59	16.73
Гетероциклические АК		
Пролин (Pro)	0.51	5.36
Гистидин (His)	0.33	3.47
Глицин (Gly)	0.49	5.15
Общее содержание	1.33	14.0
Суммарное содержание АК, %	9.50	-
Содержание незаменимых АК, %	3.30	34.70
Содержание заменимых АК, %	6.20	65.27
Содержание суммы свободных АК, %	0.61	-

* незаменимые АК

Полученные данные дают возможность предположить перспективность использования травы горца почечуйного и лекарственных растительных препаратов на ее основе в качестве альтернативного источника аминокислот.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Якубке Х.Д., Ешкайт Х. Аминокислоты. Пептиды. Белки. Москва, Мир, 1985, 82 с.
2. Сырская А.О. Аминокислоты глазами химиков, фармацевтов, биологов: в 2-х т. Том 1. Х, «Щедра садиба плюс», 2014, 228 с.
3. Олешко Г.И., Ярыгина Т.И., Зорина Е.В., Решетникова М.Д. // Фармация. 2011. № 3. С. 14-17.
4. Борисова Д.А. // Фармация. 2011. №8. с. 11-13.
5. Земнухова Л.А., Макаренко Н.В., Тищенко Л.Я., Ковалева Е.В. // Химия растительного сырья. 2009. №3. С. 147-149.
6. Лысыков Ю.А. // Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. 2012. №2. С.88-105.
7. Тринеева О.В., Синкевич А.В., Сливкин А.И. // Сорбционные и хроматографические про-

цессы. 2014. Т. 14. Вып. 3. С.530-536.

8. Дроздова И.Л. Лупилина Т.И. // Вестник ВГУ, Сер. Химия, Биология, Фармация. 2015. № 1. С.125-128.

9. Кхалед Абу Захер, Журавлев Н.С. Аминокислотный состав некоторых видов растений рода *Rumex* L. Режим доступа: <http://www.provisor.com.ua/> (дата обращения 25.05.2018)

10. Разаренова К.Н., Захарова А.М., Протасова И.Д., Жогова Е.В. // Бутлеровские сообщения. 2012. Т.31. №8. С.73-78.

11. Фурса Н.С., Колосова О.А., Коренская И.И. // Вестник ВГУ, Сер. Химия, Биология, Фармация. 2015. № 3. С. 135-139.

12. Тринеева О.В.// Разработка и регистрация лекарственных средств. 2015. №11 (11). - С. 120-140.

13. Чистякова А.С. Дисс.канд.фарм.наук. Воронеж, 2016, 200 с.

14. Чистякова А.С., Мальцева А.А., Ткачева А.С., Сорокина А.А., Сливкин А.И., Шикунова Л.С. // «Молодые ученые и фармация XXI века», сборник научных трудов второй научно-практической конференции, 11-12 декабря 2014 г., Москва, 2014, с. 123-127.

15. Чистякова А.С., Мальцева А.А., Ткачева А.С., Игнатова А.О. // «Разработка, исследование

и маркетинг новой фармацевтической продукции», сборник научных трудов, Пятигорск, 2015, Вып. 70., с. 86-88.

16. Чистякова А.С., Ткачева А.С., Логунова С.А., Мальцева А.А., Сорокина А.А. // «Пути и формы совершенствования фармацевтического образования. Поиск новых физиологически активных веществ», материалы 5-й международной научно-методической конференции «Фармообразование 2013», 16-18 апреля 2013 г., Воронеж, 2013, с. 599-601.

17. Никифоров Л.А., Белоусов М.В., Фурса Н.С. // Биллюетень сибирской медицины. 2011. №5. С. 74 – 77.

18. ГОСТ 31480 Комбикорма, комбикормовое сырье. Определение содержания аминокислот (лизина, метионина, треонина, цистина и триптофана) методом капиллярного электрофореза. – Введ. – 2013.07.01. Москва, Стандартинформ, 16 с.

19. Комарова Н.В., Каменцев Я.С. Практическое руководство по использованию систем капиллярного электрофореза «Капель». СПб, ООО «Веда», 2006, 212 с.

20. Давитавян Н.А., Сампиев А.М. // Здоровье и образование в XXI веке. 2017. Т.19. №10. С.147 – 150.

Воронежский государственный университет

**Чистякова А. С., канд. фарм. наук, ассистент кафедры фармацевтической химии и фармацевтической технологии*

E-mail: anna081189@yandex.ru

Гудкова А. А., канд. фарм. наук, доцент кафедры управления и экономики фармации и фармакогнозии

E-mail: alinevoroneg@mail.ru

Сливкин А. И., доктор фарм. наук, профессор, зав. кафедрой фармацевтической химии и фармацевтической технологии

E-mail: slivkin@pharm.vsu.ru

Коренская И. М., канд. фарм. наук, доцент кафедры управления и экономики фармации и фармакогнозии

E-mail: irmich65@yandex.ru

Первый МГМУ им. И.М. Сеченова

Сорокина А. А., доктор фарм. наук, профессор, кафедры фармацевтического естествознания

E-mail: sorokinaalla@mail.ru

Voronezh State University

**Chistyakova A. S., PhD., Assistant Professor, dept. of pharmaceutical chemistry and pharmaceutical technology*

E-mail: anna081189@yandex.ru

Gudkova A. A., PhD., Assistant Professor, dept. of management and economics of pharmacy and pharmacognosy

E-mail: alinevoroneg@mail.ru

Slivkin A. I., PhD., DSci., Full Professor, Head of pharmaceutical chemistry and pharmaceutical technology dept.

E-mail: slivkin@pharm.vsu.ru

Korenskaya I. M., PhD., Associate Professor, department of management and economics of pharmacy and pharmacognosy

E-mail: irmich65@yandex.ru

*I.M. Sechenov First Moscow State Medical University
Sorokina A. A., PhD., DSci., Full Professor, dept. of pharmaceutical natural sciences, , Holder in Pharmaceutical sciences, Moscow*

E-mail: sorokinaalla@mail.ru

STUDY OF THE AMINO ACID PROFILE OF *POLYGONUM PERSICARIAE HERBA*

A. A. Gudkova¹, A. S. Chistyakova¹, A. A. Sorokina², A. I. Slivkin¹, I. M. Korenskaya¹

1 - Voronezh State University

2 - I.M. Sechenov First Moscow State Medical University

Abstract. Amino acids are the most important substances that perform a number of vital functions in the body. The ways of their receipt are different, some of the amino acids can be synthesized by the human body and animals, and some come from the outside. The main sources of amino acids are food products, both animal and vegetable origin, where the amino acids are both in bound and free form. Amino acids are involved in the process of nervous regulation, affect vascular tone, are used to treat diseases, gastric ulcer, maintain a sedative effect, etc. Considering the important role of amino acids in the regulation and course of life processes of living organisms, the study of plant objects as promising sources of this group of compounds, contained in an easily digestible form, is relevant for today.

The purpose of this study is to study the amino acid profile of the herb of the *Polygonum persicaria* L.

To achieve this goal, modern physicochemical methods of analysis (TLC, spectrophotometry, capillary electrophoresis) were used in the work.

The TLC method was used to study the composition of the free amino acid profile of *Polygonum persicaria* herb. The butanol: acetic acid: water (4: 1: 2) system, the developer of a 0.2% ninhydrin solution was used as the mobile phase. It is shown that lysine, glycine, methionine, glutamic acid, threonine, valine, phenylalanine and an unidentified substance are found in the free form in the raw material. The content of the sum of free amino acids (spectrophotometric method) in terms of glutamine was 0.61%.

Capillary electrophoresis showed that the predominant group (total) are monoaminomonocarboxylic amino acids (50.31%), among which are essential threonine, leucine, phenylalanine and valine. In addition, a fairly high content of arginine, glutamic acid, aspartic acid is observed.

The obtained data make it possible to assume the prospect of using the herb of the *Polygonum persicaria* L. and herbal medicinal preparations on its basis as an alternative source of amino acids.

Keywords: amino acids, *Polygonum persicaria* L., TLC, spectrophotometry, capillary electrophoresis.

REFERENCES

1. Yakubke Kh.D., Eshkajt Kh. Aminokisloty. Peptidy. Belki. Moskva, Mir, 1985, 82 p.
2. Syrovaya A.O. Aminokisloty glazami khimikov, farmatsevtov, biologov: v 2. T. 1. X, «SHHedra sadiba plyus», 2014, 228 p.
3. Oleshko G.I., Yarygina T.I., Zorina E.V., Reshetnikova M.D. of Pharmacy, 2011, No. 3, pp. 14-17.
4. Borisova D.A. of Pharmacy. 2011, No. 8, pp. 11-13.
5. Zemnukhova L.A., Makarenko N.V., Tishhenko L.Ya., Kovaleva E.V. of Chemistry of plant raw materials. 2009, No. 3, pp. 147-149.
6. Lysikov Yu.A. of Experimental and clinical gastroenterology, 2012, No 2, pp. 88-105.
7. Trineeva O.V., Sinkevich A.V., Slivkin A.I. of Sorption and chromatographic processes, 2014, Vol. 14, No. 3, pp. 530-536.
8. Drozdova I.L., Lupilina T.I. of Vestnik VGU, Ser. Chemistry, Biology, Pharmacy, 2015, No. 1, pp. 125-128.
9. Kkhaled Abu Zakher, Zhuravlev N.S. Aminokislottyj sostav nekotorykh vidov rastenij roda Rumex L. Available at: <http://www.provisor.com.ua/> (accessed 25 May 2018)
10. Razarenova K.N., Zakharova A.M., Protasova I.D., Zhogova E.V. of Butlerovskie soobshheniya, 2012, Vol. 31, No. 8, pp. 73-78.
11. Fursa N.S., Kolosova O.A., Korenskaya I.I. of Vestnik VGU, Ser. Chemistry, Biology, Pharmacy, 2015, No. 3, pp. 135-139.
12. Trineeva O.V. of Development and registration of medicines, 2015, No. 11 (11), pp. 120-140.
13. Chistyakova A.S. Diss.kand.farm.nauk. Voronezh, 2016, 200 p.

14. Chistyakova A.S., Mal'tseva A.A., Tkacheva A.S., Sorokina A.A., Slivkin A.I., Shikunova L.S. "Young scientists and pharmacy of the XXI century", a collection of scientific papers of the second scientific and practical conference, 11-12 december 2014, Moskva, 2014, pp. 123-127.
15. Chistyakova A.S., Mal'tseva A.A., Tkacheva A.S., Ignatova A.O. "Development, research and marketing of new pharmaceutical products", a collection of scientific papers, Pyatigorsk, 2015, Vyp. 70., pp. 86-88.
16. Chistyakova A.S., Tkacheva A.S., Logunova S.A., Mal'tseva A.A., Sorokina A.A. "Ways and forms of improving pharmaceutical education. Search for new physiologically active substances ", materials of the 5th International Scientific and Methodical Conference «Farmobrazovanie 2013», 16-18 april 2013, Voronezh, 2013, pp. 599-601.
17. Nikiforov L.A., Belousov M.V., Fursa N.S. // Billyuten' sibirian medicine. 2011. №5. S. 74 – 77.
18. GOST 31480 Kombikorma, kombikormovoe syr'e. Opredelenie soderzhaniya aminokislot (lizina, metionina, treonina, tsistina i triptofana) metodom kapillyarnogo ehlektroforeza. – Vved. – 2013.07.01. – Moskva. Standartinform. 16 p.
19. Komarova N.V., Kamentsev YA.S. Prakticheskoe rukovodstvo po ispol'zovaniyu sistem kapillyarnogo ehlektroforeza «Kapel'». SPb, OOO «Veda», 2006, 212 p.
20. Davitavyan N.A., Sampiyev A.M. // Health and education in the XXI century. 2017. V.19. №10. С.147 - 150.