

ОПРЕДЕЛЕНИЕ СОДЕРЖАНИЯ АМИНОКИСЛОТ В ЛИСТЬЯХ ЛИЛИИ БЕЛОЙ (LILIUMCANDIDUM(L.))

Вдовенко-Мартынова Н. Н., Кобыльченко Н. В., Блинова Т. И.

Пятигорский медико-фармацевтический институт – филиал ГБОУ ВПО ВолгГМУ Минздрава России, Пятигорск, e-mail: martynovann@yandex.ru

Объект исследований – лилии белой листья, заготовленные с культивируемых производящих растений *Liliumcandidum(L.)* семейства *Liliaceae* в Ботаническом саду Пятигорского медико-фармацевтического института. Цель исследования – определение содержания аминокислот в анализируемом сырье. Исследования проводили на аминокислотном анализаторе AAA 400. Установлено содержание шестнадцати аминокислот, из которых семь являются незаменимыми (треонин, валин, метионин, изолейцин, лейцин, фенилаланин, лизин). Доминирующие моноаминодикарбоновые аминокислоты – аспарагиновая и глутаминовая, и моноаминомонокарбоновая – лейцин. Содержание незаменимых аминокислот в листьях лилии белой 36,96 % от суммы аминокислот, среди которых преобладает лейцин (10,32 %). Проведёнными исследованиями в листьях лилии белой впервые установлен качественный состав и количественное содержание аминокислот. Изучение *Liliumcandidum (L.)* перспективно для использования в официальной медицине и создания фитопрепаратов.

Ключевые слова: *Liliumcandidum (L.)*, листья, аминокислотный анализатор, аминокислоты.

DETERMINATION OF AMINO ACIDS IN THE LEAVES OF LILIUM CANDIDUM (L.)

Vdovenko-Martynova N. N., Kobylchenko N. V., Blinova T. I.

Pyatigorsk Medico-Pharmaceutical Institute – branch of SBEE HPE VolgSMU of the Russian Health Service Ministry, Pyatigorsk, e-mail: martynovann@yandex.ru

The target object is Lily leaves harvested from cultivated plants producing *Liliumcandidum(L.)* of the family *Liliaceae* in the Botanical Garden of Pyatigorsk Medical & Pharmaceutical Institute. The aim of the study was to determine the amino acids quantity in the analyzed raw materials. The investigations were carried out on amino acid analyzer AAA 400. We have found 16 amino acids, among them 7 ones acids are essential (threonine, valine, methionine, isoleucine, leucine, phenylalanine, lysine is an). The dominant monoamino-oxydasy amino acids are aspartic and glutamic, and monoamino-oxydasy is leucine. The quantity of essential amino acids in the leaves of the white Lily is 36,96 % of the amount of amino acids and predominantly leucine (10.32 %) prevails. Thanks to the studies we have established the qualitative composition and quantitative content of amino acids in the leaves of the Lily white.

Keywords: *Liliumcandidum (L.)*, leaves, aminoacid analyzer, amino acids.

Белки имеют важное значение для жизнедеятельности, крайне необходимы для построения клеток, поддержания многих жизненно-необходимых функций наряду с нуклеиновыми кислотами, углеводами и липидами. Структурными единицами белка являются аминокислоты. Аминокислоты являются важнейшими компонентами, участвующими во всех жизненных процессах, выполняющими каталитические, регуляторные, запасные, структурные, транспортные, защитные и другие функции. Кроме аминокислот, входящих в состав белков, живые организмы обладают постоянным резервом свободных аминокислот, содержащихся в тканях и клеточном соке. Современная научная медицина использует широкий спектр фармакологической активности аминокислот, получаемых с помощью химического синтеза. Лекарственное растительное сырье (ЛРС) также может быть источником аминокислот. Как известно, биологически активные вещества (БАВ) в растениях

находятся в легко усваиваемых человеческим организмом комплексах и в биологически доступных концентрациях, поэтому они имеют более высокую физиологическую активность по сравнению с синтетическими аналогами. Кроме того, аминокислоты способствуют более легкому усвоению других биологически активных веществ. Дефицит аминокислот в организме приводит к различным патологическим процессам и нарушениям со стороны всех органов и систем. Широкий спектр фармакологического действия и способность аминокислот усиливать усвояемость других веществ привлекают к ним все большее внимание исследователей как к потенциальным лекарственным средствам [8].

Одним из важнейших требований к аминокислотным препаратам является наличие в их составе незаменимых аминокислот. В отличие от животных, растения способны синтезировать все аминокислоты, необходимые для построения белковых молекул, поэтому изучение качественного и количественного содержания аминокислот в лекарственном растительном сырье и в полученных из него препаратах имеет большое практическое значение и определенный научный интерес.

Перспективным для создания фитопрепаратов, содержащих в своем составе незаменимые аминокислоты, может стать сырье лилии белой – *Lilium candidum* (L.), семейства *Liliaceae*. Химический состав сырья лилии белой *Lilium candidum* (L.) изучен недостаточно, однако лечебное действие народная медицина знает хорошо. Опыт применения данного растения в народной медицине свидетельствует о его широких терапевтических возможностях [4]. В настоящее время сырье (в основном цветки) *Lilium candidum* (L.) используется в парфюмерно-косметической промышленности, в гомеопатии [7]. Родина *Lilium candidum* (L.) – Средиземноморье, в дикорастущей флоре произрастает в горных районах Кавказа и Закавказья на скалистых склонах, а также в расщелинах известковых гор, можно ее встретить и между кустарниками. Этот вид является древнейшей из культивируемых лилий. В настоящее время *Lilium candidum* (L.) широко выращивается по всей России (за исключением северных районов) в качестве садово-декоративной культуры. Учитывая наличие сырьевой базы, необходимой для удовлетворения возможного роста потребительского спроса и широкого использования в народной медицине, в гомеопатии и традиционной медицине *Lilium candidum* (L.) при различных заболеваниях, нами проводится фармакогностическое изучение данного растения с целью использования в качестве сырья листьев прикорневой розетки, заготовленных в фазу осеннего отрастания. Фитохимическим анализом в листьях лилии белой был определен качественный состав и количественное содержание фенольных соединений в образцах воздушно-сухого сырья. Выявлено восемь соединений, из них идентифицировано пять веществ фенольной природы: галловая кислота, хлорогеновая кислота, ферулловая кислота,

цикориевая кислота, эпигаллокатехингаллат. Содержание суммы идентифицированных фенольных соединений составило 82,37 % от суммы соединений, обнаруженных методом ВЭЖХ [4].

Целью настоящей работы являлось изучение компонентного состава и количественного содержания свободных аминокислот, содержащихся в листьях прикорневой розетки *Lilium candidum* (L.).

Материалы и методы

Lilium candidum (L.) – многолетнее травянистое луковичное растение высотой 80–120 см, с луковицей, состоящей из многочисленных мясистых чешуй; цветочный стебель прямостоячий, голый, облиственный; листья очередные, обратноланцетные; верхние – ланцетные, с дугонервным жилкованием; цветки крупные, белые, душистые, с простым колокольчатым околоцветником из 6 отогнутых листочков собраны в поникающую кисть; плод – коробочка, шестиугольная, с многочисленными сплюснутыми семенами. Цветет в июне-августе. После цветения растение переходит в состояние покоя – отмирает надземная часть. В начале сентября начинает образовываться новая прикорневая розетка листьев, которая уходит под снег зелёная.

Объект нашего исследования – лилии белой листья, заготовленные в фазу осеннего отрастания (сентябрь-октябрь) с прикорневой розетки листьев от производящего растения *Lilium candidum* (L.), семейства *Liliaceae* в Ботаническом саду Пятигорского медико-фармацевтического института – филиала Волгоградского государственного медицинского университета (рисунок 1) [3].

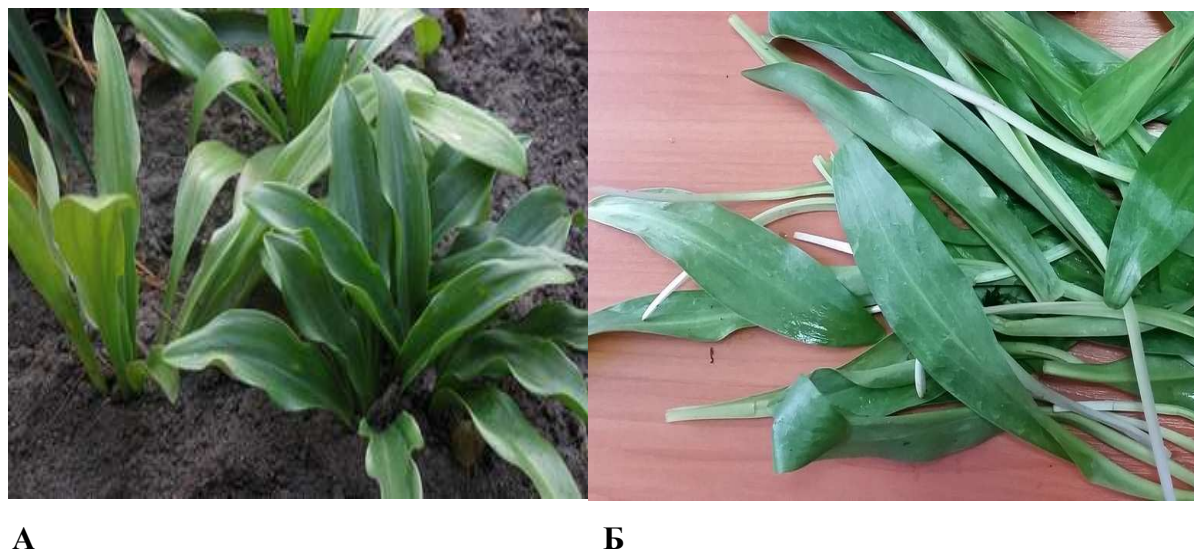


Рис.1. Лилия белая Lilium candidum (L.)

А – прикорневая розетка, Б – листья

Исследования аминокислотного состава проводили в аккредитованной научной лаборатории «Корма и обмен веществ» ФГБОУ ВПО «Ставропольский государственный

аграрный университет». Для качественного обнаружения аминокислот в водном извлечении листьев лилии белой использовали нингидриновую реакцию. Водные извлечения из воздушно-сухого измельчённого сырья *Lilium candidum* (L.), для проведения качественных реакций и хроматографического определения, готовили трёхкратной экстракцией с последующим упариванием под вакуумом. Далее для качественного определения аминокислот смешивали равные объёмы полученного извлечения и 0,1 % свежеприготовленного раствора нингидрина, осторожно нагревали. В процессе охлаждения наблюдалось красно-фиолетовое окрашивание, что характеризовало наличие аминокислот в листьях лилии белой [6]. Для хроматографического анализа аминокислот использовали пластинки «Сорбфил». Определение проводили методом восходящей тонкослойной хроматографии в системах растворителей: н-бутанол – уксусная кислота ледяная – вода в соотношении 4:1:2 ; 96 % спирт этиловый-концентрированный аммиак в соотношении 16:4 параллельно со стандартными образцами аминокислот. Хроматограммы высушивали на воздухе, обрабатывали 0,2 % спиртовым раствором нингидрина, нагревали в сушильном шкафу при температуре 100–105 °С. Аминокислоты в видимом свете проявлялись в виде красно-фиолетовых пятен [5].

Для более глубокого изучения содержания свободных и связанных аминокислот, их количественной оценки использовали аминокислотный анализатор (AminoAcidAnalyzer ААА-400, Чехия) – узкоспециализированный автоматизированный жидкостный хроматограф с компьютерным управлением, оснащенный постколоночной детекторной системой. Для анализа аминокислот 0,2 г измельченных листьев (точная навеска) помещали в специальные ампулы, добавляли 20 мл раствора 6Н кислоты хлористоводородной, ампулы запаивали и проводили гидролиз в сушильном шкафу в течение 23 часов при температуре 110 °С. После гидролиза ампулы охлаждали до комнатной температуры, извлечение фильтровали, выпаривали досуха в ротационном испарителе, добавляли 5 мл воды и снова выпаривали, операцию повторяли 2 раза. Сухой остаток растворяли в 50 мл загрузочного натриево-цитратного буфера (рН 2,2). Анализ аминокислот проводили на аминокислотном анализаторе в стандартных условиях (ступенчатый градиент, скорость потока буферных растворов 0,3 мл/мин, скорость потока нингидринового реактива 0,2 мл/ мин, детектирование в УФ областях 440 и 570 нм, температура термостата реактора 121°С). Заданные количества стандартного и испытуемого растворов через дозирочную петлю (100 мкл) вводили в колонку аминокислотного анализатора. Для количественной оценки использовали площади пиков идентифицированных аминокислот, рассчитанные прибором [1,2].

Результаты исследования и их обсуждение

Результаты проведенного исследования аминокислотного состава представлены на рисунке 2 и в таблице 1.

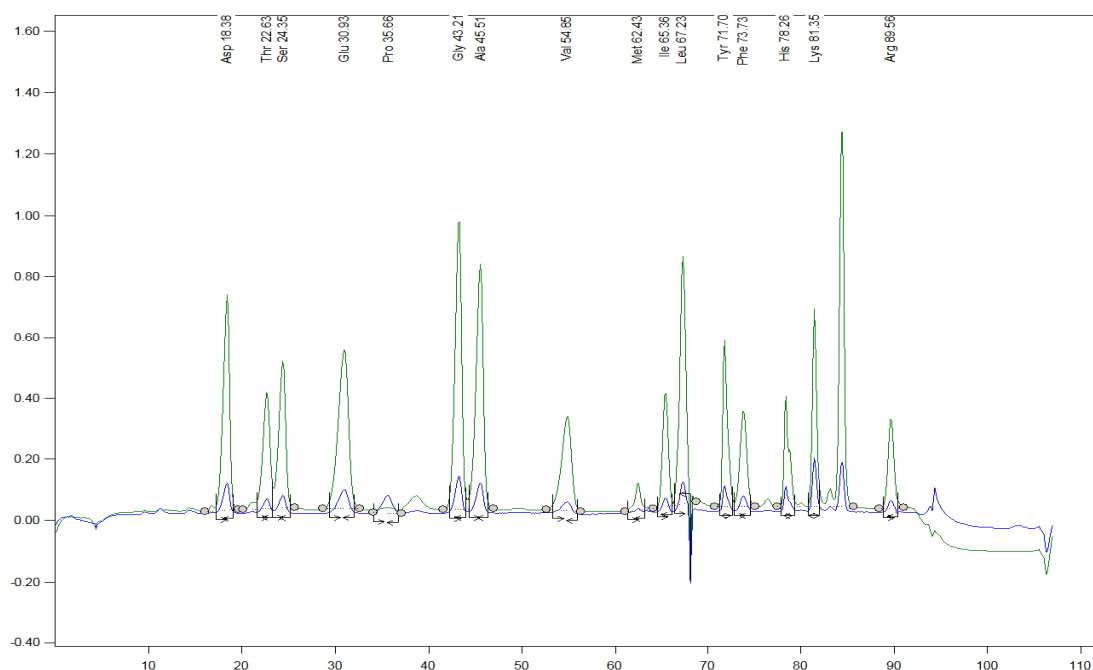


Рис. 2. Аминограмма лилии белой (листья), выданная прибором – ААА 400

Таблица 1

Содержание аминокислот в листьях лилии белой

№ п/п	Аминокислота	Содержание, % от суммы
1	Аспарагиновая кислота(Asp)	1,09
2	Треонин(Thr)	0,54
3	Серин(Ser)	0,58
4	Глютаминовая кислота (Glu)	1,28
5	Пролин(Pro)	0,67
6	Глицин (Gly)	0,70
7	Аланин(Ala)	0,88
8	Валин (Val)	0,67
9	Метионин (Met)	0,18
10	Изолейцин (Ile)	0,49
11	Лейцин (Leu)	1,05
12	Фенилаланин(Phe)	0,62
13	Тирозин (Tyr)	0,80
14	Гистидин (His)	0,45
15	Лизин (Lys)	0,63
16	Аргинин (Arg)	0,66
	Сумма аминокислот	11,31%

В результате исследований в листьях лилии белой установлено содержание шестнадцати аминокислот, из которых семь являются незаменимыми (треонин, валин, метионин, изолейцин, лейцин, фенилаланин, лизин). По мере убывания содержания в лилии белой листьях установленные аминокислоты: Glu>Asp>Leu>Ala>Tyr>Gly>Pro=Val>Arg>Lys>Phe>Ser>Thr>Ile>His>Met. Алифатические аминокислоты представлены

восемью моноаминомонокарбоновыми кислотами (аланин, валин, глицин, изолейцин, лейцин), содержащими оксигруппу (серин, треонин) и серусодержащей (метионин). Моноаминодикарбоновые кислоты представлены аспарагиновой и глутаминовой кислотами, а диаминодикарбоновые кислоты – аргинином и лизином. Из ароматических аминокислот в листьях лилии белой установлено содержание тирозина и фенилаланина, а из гетероциклических – пролина и гистадина. Таким образом, из идентифицированных аминокислот большинство относится к группе алифатических (двенадцать соединений). Преобладающими в исследуемом сырье являются глутаминовая кислота, аспарагиновая кислота, лейцин, аланин, тирозин (11.32 %, 9.64 %, 9.28 %, 7.78 %, 7.07 % от суммы аминокислот соответственно). Содержание незаменимых аминокислот в листьях лилии белой 36,96 % от суммы аминокислот, среди которых преобладает лейцин (10,32 %).

Выводы

В листьях лилии белой, заготовленных в фазу осеннего отрастания с прикорневой розетки от производящего растения *Lilium candidum* (L.) семейства *Liliaceae*, выращиваемого в Ботаническом саду Пятигорского медико-фармацевтического института, идентифицировано шестнадцать аминокислот, семь из которых являются незаменимыми. В составе аминокислот доминируют: моноаминодикарбоновые – аспарагиновая и глутаминовая, моноаминомонокарбоновая – лейцин, ароматическая – тирозин. Около 37 % от суммы всех аминокислот составляют незаменимые.

Таким образом, проведенными фитохимическими исследованиями листьев лилии белой впервые установлен качественный состав и количественное содержание аминокислот. Учитывая, что аминокислоты способствуют быстрому усвоению и потенцированию действия микроэлементов и других биологически активных соединений, содержащихся в растительном сырье, изучение *Lilium candidum* (L.) семейства *Liliaceae* перспективно для использования в официальной медицине и создания фитопрепаратов.

Список литературы

1. Аминокислотный состав шиповника собачего *Rosacanina* (L.) корней / Н. Н. Вдовенко-Мартынова, В. Н. Киселёва, А. Н. Сепп и др. // Разработка, исследование и маркетинг новой фармацевтической продукции: сб. науч. тр. / Пятигорская ГФА. – Пятигорск, 2009. – Вып. 64. – С. 61-62.
2. Анализатор аминокислот автоматический «AAA 400», INGOS – Laboratory Instruments (Чехия). Руководство по обслуживанию. – 97с.

3. Ботанический сад – исторический экскурс и перспективы развития / В. Л. Аджиенко, А. В. Воронков, Н. Н. Вдовенко-Мартынова и др. // Фармация и фармакология. – 2013. – № 1. – С. 24-28.
4. Вдовенко-Мартынова Н. Н., Кобыльченко Н. В., Блинова Т. И. Исследование фенольного комплекса листьев лилии белой (*Lilium candidum* (L.)) // Успехи современного естествознания. – 2015. – № 9-1. – С. 100-102.
5. Копытько Я. Ф., Костеникова З. П., Тимохина Е. А. Исследование аминокислотного состава настоек гомеопатических матричных мяты перечной, Melissa лекарственной, душицы обыкновенной и шалфея лекарственного // Фармация. – 1997. – № 6. – С. 31-34.
6. Круглая А. А., Пшукова И. В. Аминокислотный состав травы репейничка аптечного (репешка) (*Agrimonia officinalis* Lam.), произрастающего на Северном Кавказе // Научное обозрение. Москва: Издат. дом «Наука образования», 2009. – № 3. – С. 20-22.
7. Мельниченко Т. А. Товароведение парфюмерно-косметических товаров (для средних специальных учебных заведений). – Ростов: Феникс, 2002. – С. 19.
8. Якубке Х. Д., Ешкайт Х. Аминокислоты. Пептиды. Белки. – М.: Мир, 1985. – 82 с.