



AMINO ACID AND ELEMENTAL COMPOSITION OF THE LEAVES OF VAIDA DYEING GROWN IN UZBEKISTAN

Nazirov Mukhammadjon Abdulahad ugli¹, Pulatova Dildora Kakhramonovna¹, Urmanova Flura Faridovna¹, Rakhimova Gulrukh Kurkmasovna¹

¹ Tashkent Pharmaceutical Institute, Tashkent, Republic of Uzbekistan

*e-mail: nazirov3323@gmail.com

<https://doi.org/10.5281/zenodo.4902763>

ARTICLE INFO

Received: 20th May 2021

Accepted: 25th May 2021

Online: 30th May 2021

KEY WORDS

vaida dye, proteinogenic amino acids, non-proteinogenic amino acids, macro-and microelements.

ABSTRACT

The amino acid and elemental composition of the leaves of vaida dyeing was studied. As a result of the conducted studies, it was found that the leaves of vaida dyeing contain 20 amino acids, 8 of which are essential, and the presence of 51 mineral elements in them was also noted. The obtained data will be used for the chemical characterization of raw materials and their subsequent standardization.

АМИНОКИСЛОТНЫЙ И ЭЛЕМЕНТНЫЙ СОСТАВ ЛИСТЬЕВ ВАЙДЫ КРАСИЛЬНОЙ, ВЫРАЩИВАЕМОЙ В УЗБЕКИСТАНЕ

Назирова Мухаммаджон Абдулахад угли¹, Пулатова Дилдора Кахрамоновна¹, Урманова Флора Фаридовна¹, Рахимова Гулрух Куркмасовна¹

¹ Ташкентский фармацевтический институт, г. Ташкент, Республика Узбекистан

*e-mail: nazirov3323@gmail.com

ИСТОРИЯ СТАТЬИ

Принято: 20 мая 2021 г.

Утверждено: 25 мая 2021 г.

Опубликовано: 30 мая 2021 г.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА

вайда красильная, протеиногенные аминокислоты, непротеиногенные аминокислоты, макро- и микроэлементы.

АННОТАЦИЯ

Исследован аминокислотный и элементный состав листьев вайды красильной. В результате проведенных исследований установлено, что в листьях вайды красильной содержатся 20 аминокислот, 8 из которых являются незаменимыми, отмечено также наличие в них 51 минерального элемента. Полученные данные будут востребованы для химической характеристики сырья и его последующей стандартизации.

Аминокислоты являются элементарными структурными единицами, из которых построены белки. Некоторые из них не синтезируются в организме

человека, а должны поступать извне. При недостатке этих незаменимых аминокислот или в случае полного отсутствия в пище хотя бы некоторых из них невозможен



синтез полноценных белков, вследствие чего нарушается работа целого ряда систем и возникают различные заболевания. Аминокислоты, синтезируемые растениями, можно подразделить на две категории: протеиногенные и непротеиногенные. Двадцать протеиногенных аминокислот входят в состав белков, из них восемь аминокислот: лизин, валин, треонин, лейцин, изолейцин, метионин, триптофан, фенилаланин являются «незаменимыми», т.е. организм человека не способен к их синтезу и должен получать их извне. Две аминокислоты аргинин и гистидин у взрослых очень медленно, но образуются в достаточных количествах. Поэтому их называют частично заменимыми. Тирозин и цистеин условно заменимые аминокислоты, так как для их синтеза необходимы незаменимые аминокислоты фенилаланин и метионин соответственно[1]. Непротеиногенные аминокислоты (свыше 200 индивидуальных соединений) не входят в состав белков и обеспечивают уникальную особенность аминокислотного обмена у растений. Они обеспечивают азотный фонд (запас); транспортную форму азота по растению; легко подвергаются метаболизму и в случае необходимости снабжают растение NH_4^+ для синтеза белков[2].

Разнообразные виды фармакологической активности аминокислот и лекарственных растительных препаратов на их основе актуализируют задачу современного химико-фармацевтического анализа-разработку точных и доступных методов количественного и качественного определения аминокислот в растительном сырье[3-4], а также в лекарственных

растительных сборах. Однако количественное содержание аминокислот в растениях подвержено изменению в результате влияния различных факторов (суточные, сезонные изменения, видовая, сортовая принадлежность растения, широта местности, фаза развития, сроки хранения, температура и др.), причем различия касаются не только суммарного содержания аминокислот, но и их качественного состава. Следовательно, для стандартизации лекарственного растительного сырья достаточно нормировать сумму свободных аминокислот[5].

Элементный состав растений видоспецифичен и зависит от фазы развития растения, факторов окружающей среды, почвенных, природно-климатических и ландшафтно-геохимических условий произрастания[6-9]. Химические элементы играют в растительном организме субстратную и регуляторную роль, входят в состав органических веществ и контролируют скорость физиологических процессов.

Изучение химического и элементного состава лекарственного растительного сырья приводит к созданию новых высокоэффективных лекарственных средств и открывает новые источники их получения. К таким растениям относится вайда красильная.

Вайда красильная, усьма (*Isatis tinctoria* L.) - представитель рода Вайда из семейства капустных (Brassicaceae). Двулетнее растение высотой до 1 м. Очень известное и распространенное растение. В странах Центральной Азии издавна применяется для окраски бровей и волос. Вайда красильная издавна используется при лечении различных заболеваний в



народной и традиционной медицине многих стран. Еще Абу Али ибн Сино в своем знаменитом трактате “Канон врачебной науки” определил натуру вайды красильной как “горячую в первой степени и сухую во второй”, указал ее вяжущие и очищающие свойства[10].

В старину вайда широко культивировалась в Европе для получения синей краски – индиго, а в китайской народной медицине используется как лекарственное растение. В официальной медицине Китая лист и корни вайды применяются в виде чаев и отваров при различных воспалительных и простудных заболеваниях и включены в государственную фармакопею Китая (Pharmacopoeia of the People’s Republic of China(2005), Vol 1).

В народной медицине вайда издавна используется как антибактериальное, противовоспалительное, противомикробное средство, также обладает антибиотическими и противовирусными свойствами.

Несмотря на отмеченные обстоятельства и богатейшую сырьевую базу, листья вайды красильной из-за малой изученности не нашли должного научного обоснования своего применения. В этой связи всестороннее изучение листьев вайды красильной с целью внедрения их в медицинскую практику является весьма актуальным.

Для решения этой задачи нами проводится комплексное фармакогностическое исследование листьев вайды красильной, выращиваемой в Узбекистане. Как известно, для введения нового лекарственного растительного сырья в медицинскую практику необходимо решение вопросов, связанных с его стандартизацией.

Цель исследования. Настоящая работа направлена на изучение аминокислотного и элементного состава листьев вайды красильной для химической характеристики сырья и последующей его стандартизации.

Материалы и методы. Объектом исследования служили листья вайды красильной, выращенные в Андижанском районе Андижанской области.

Выделение свободных аминокислот. Осаждение белков и пептидов водного экстракта листьев проводили в центрифужных стаканах. Для этого к 1 мл исследуемого образца добавляли по 1 мл (точный объем) 20% ТХУК. Через 10 мин выпавший осадок отделяли центрифугированием при 8000 об/мин в течение 15 мин. Отделив 0,1 мл надосадочной жидкости, лиофильно высушивали.

Анализ ВЭЖХ ФТК-производных аминокислот. Синтез ФТК (фенилтиокарбомамил) производных свободных аминокислот проводили по методу Steven A., Cohen Daviel [11].

Для определений аминокислотного состава 5 мг обезжиренных листьев вайды красильной (по белку) гидролизovali 5 мл 5,7 моль/л HCl при 110°C 24 ч без доступа воздуха. Гидролизат упаривали, сухой остаток растворяли в смеси триэтиламин-ацетонитрил-вода (1:7:1) и высушивали. Эту операцию повторяли дважды для нейтрализации кислоты. Реакцией с фенилтиоизоцианатом получали фенилтиокарбамил-производные (ФТК) аминокислот по методу Steven A., Cohen Daviel. Идентификацию производных аминокислот проводили методом ВЭЖХ. Условия ВЭЖХ: хроматограф Agilent Technologies 1200 cDAD детектором,



колонка 75x4,6 мм Discovery HSC₁₈, 3μm. Раствор А: 0,14М CH₃COONa + 0,05% ТЭА рН 6,4; В: ацетонитрил. Скорость потока- 1,2 мл/мин, детекция – 269 нм.

Определение элементного состава проводили с использованием высокочувствительного многоэлементного анализа – масс-спектрального метода с индуктивно связанной плазмой (ICP-MS) [12]. В основе метода лежит использование аргоновой индуктивно связанной плазмы в качестве источника ионов. Поскольку анализируемый образец поступает в плазму в виде раствора, перед проведением измерений анализируемую пробу переводили в раствор. Для этого использовали процедуру полного растворения анализируемого образца в открытой системе в смеси азотной и перхлорной кислот (8:2) в микроволновой печи “Milestone” при программировании мощности от 250 до 500 Вт и температуры от 180 до 220°C. Полученный раствор количественно переносили в мерную колбу вместимостью 100 мл и использовали в дальнейшем для прямого ввода в спрей –

камеру масс – спектрометра с индуктивно – связанной плазмой (ICP-MS) Agilent-7500 СХ, фирмы “Agilent Technologies”. Параметры прибора: мощность плазмы – 1200 Вт, время интегрирования – 0,1 сек, скорость вращения перистальтического насоса – 0,1 об/сек. Остальные параметры прибора установлены в процессе настройки и оставались неизменными между периодами проведения технического обслуживания. В качестве стандарта использовали мультиэлементный стандартный раствор с содержанием целевых компонентов 1,0 мг/л.

Результаты и обсуждение

Качественный анализ и количественный расчет концентрации исследуемых аминокислот проводили сравнением времени удерживания и площадей пиков стандартных и исследуемых ФТК-производных аминокислот. Результаты исследования количественного содержания аминокислот методом ВЭЖХ представлены в таблице 1.

Таблица 1

Содержание аминокислот в листьях вайды красильной

Заменимые аминокислоты	Содержание в мг/гр	Незаменимые аминокислоты	Содержание в мг/гр
Аспарагиновая к-та	0,95236	Валин	3,674695
Аланин	1,373443	Изолейцин	0,63879
Глицин	2,846062	Лейцин	1,305955
Глутаминовая к-та	1,176433	Лизин НС1	0,297392
Аспарагин	2,853382	Метионин	1,437122



Глутамин	14,0135	Тирозин	1,625305
Пролин	2,999018	Триптофан	3,156176
Треонин	2,447778	Фенилаланин	1,309134
Аргенин	4,036341		
Серин	2,398236		
Цистеин	1,761226		
Гистидин	1,005238		
Всего	51,30759		

Как видно из данных, приведенных в таблице, в листьях вайды красильной содержатся 20 аминокислот, 8 из них являются незаменимыми.

Установлено, что листья вайды красильной содержат минеральный 51

элемент, в том числе макро-, микро-, ультрамикроэлементы и элементы, биологическая роль которых в настоящее время не установлена (табл. 2).

Таблица 2

Результаты масс-спектрометрического (ICP-MS) анализа листьев вайды красильной

№ п/п	Элемент	Содержание в мкг/г	№ п/п	Элемент	Содержание в мкг/г
1.	Al	110	26.	As	0,285
2.	Fe	92	27.	Gd	0,190
3.	Sr	53,0	28.	Pr	0,179
4.	Zn	34,0	29.	Sm	0,171
5.	Mn	26,5	30.	Th	0,17
6.	Cu	22,0	31.	Cd	0,157
7.	Cr	18,0	32.	Dy	0,145
8.	Ba	17,5	33.	Nb	0,136
9.	V	11,9	34.	Er	0,097
10.	Ni	10,4	35.	Cs	0,096
11.	Rb	8,2	36.	Tl	0,080
12.	Ti	8,1	37.	Te	0,075
13.	B	8,00	38.	Yb	0,067
14.	Pb	1,900	39.	Eu	0,049



15.	Sn	1,55	40.	Hf	0,046
16.	Mo	1,40	41.	Be	0,040
17.	Sb	1,40	42.	Ho	0,033
18.	Zr	1,24	43.	Tb	0,028
19.	U	1,105	44.	Ag	0,019
20.	Ce	1,06	45.	Tm	0,014
21.	Y	1,00	46.	Lu	0,012
22.	Bi	0,905	47.	In	0,008
23.	Nd	0,80	48.	Re	0,005
24.	Se	0,675	49.	Ta	0,004
25.	Ga	0,625	50.	Pt	0,001
			51.	Au	0,001

Обнаруженные в листьях вайды красильной калий, кальций, магний, фосфор, цинк, медь, марганец и др., оказывающие положительное действие на жизнедеятельность организма, в определенной степени способствуют повышению фармакологической ценности данного лекарственного растительного сырья благодаря сочетанию с его основными биологически активными веществами. Содержание токсичных элементов не превышает ПДК.

Выводы: изучен аминокислотный и элементный состав листьев вайды красильной, выращиваемой в Узбекистане. В исследуемом сырье определен набор 20 аминокислот, 8 из которых являются незаменимыми. Установлено также наличие 51 минеральных элемента. Таким образом, показано что листья вайды красильной являются источником аминокислот и элементов, и их можно рассматривать как средство коррекции дисбаланса этих соединений и элементов в организме.

Литературы:

1. Северин Е.С. Биохимия: учебник. -М., -2004. -С. 784
2. Филиппова Г.Г., Смолич И.И.. Основы биохимии растений: курс лекций. -Минск, 2014. -С. 31-45.
3. Киселева Т.Л., Самылина И.А., Баратова Л.А. и др. Аминокислотный состав цветков фармакопейных и нефармакопейных видов *Grataegus L.* // Растительные ресурсы. -1989. -Т. 25, вып. 1. -С. 92-97.
4. Юсупов Б.А., Муллажонова М.Т. Изучение аминокислотного состава плодов Дерезы обыкновенного (Годжи)-*Lyсium barbarum (L.)*. // Специальный выпуск научно- практического журнала "Фармация". Сборник материалов X Всероссийской научной конференции студентов и аспирантов с международным участием «Молодая фармация - потенциал будущего», Санкт-Петербург, -2020. -С. 157-159.



5. Асланова М.С., Магеррамов М.А. Физико-химические показатели и аминокислотный состав новых помолологических сортов плодов граната // Химия растительного сырья, - 2012. - №1. -С. 165-169.
6. Сафорзада Р.Ш., Халифаев Д.Р., Попов Д.М., Шарапов Ф.С. Исследование аминокислотного состава травы топинамбура, культивируемого в Таджикистане
// Разработка и регистрация лекарственных средств. -2014. - №3(8). -С. 134-136
7. Барановская Н.В., Черненькая Е.В. Особенности накопления химических элементов в чернике обыкновенной (*Vaccinium myrtillus*) на территории Западной Сибири // Фундаментальные исследования. -2015. -№2. -С. 299-306.
8. Перельман А.И. Геохимия ландшафта. -М.: Гос. изд-во геогр. лит-ры, 1961. -С. 496.
9. Mohn T., Plitzko I., Hamburger M. A comprehensive metabolite profiling of *Isatis tinctoria* leaf extracts // *Phytochemistry*. – 2009, -May, 70 (7), -С. 924-934.
10. Абу Али ибн Сино. Канон врачебной науки. II том. - Ташкент, 1996.
11. Steven A., Cohen David J. Amino acid analysis utilizing phenylisothiocyanate derivatives // *Jour. Analytical Biochemistry*. – 1988. – V.17. – № 1. –Р. 1-16.
12. Определение элементного состава почв, грунтов и донных отложений атомно-эмиссионным и масс-спектральным методами анализа. Отраслевая методика III категории точности. – Москва, 2009.