

АМИНОКИСЛОТЫ БЕРЕСТЫ BETULA PENDULA И BETULA PUBESCENS

[Ю. В. Лигостаева¹](#), [М. А. Ханина²](#), [А. П. Родин²](#)

*¹ГБОУ ВПО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава
России (г. Новосибирск)*

*²ГОУ ВО Московской области «Московский государственный областной гуманитарный
институт» (г. Орехово-Зуево)*

Объектами исследования служили образцы бересты березы повислой и березы пушистой, собранные из различных точек ареала растений и с разных участков ствола, расположенных на разной высоте от основания. Установлено наличие 14-ти аминокислот. Состав компонентов аминокислот в образцах бересты березы повислой и березы пушистой одинаков в пределах одного района заготовки и различается по регионам России. Содержание аминокислот в образцах бересты березы повислой и березы пушистой в зависимости от места произрастания находится в пределах от 2,0 до 3,5 %. Установлено, что возраст растения не оказывает влияние на содержание аминокислот в бересте.

Ключевые слова: береста, береза повислая, береза пушистая, аминокислоты бересты, компоненты и содержание.

Лигостаева Юлия Валерьевна — аспирант кафедры фармакогнозии и ботаники ГБОУ ВПО «Новосибирский государственный медицинский университет», e-mail: benna89@mail.ru

Ханина Миниса Абдуллаевна — доктор фармацевтических наук, профессор, член-корреспондент РАЕ, профессор кафедры фармакологии и фармацевтических дисциплин ГОУ ВО Московской области «Московский государственный областной гуманитарный институт», г. Орехово-Зуево, e-mail: Khanina06@mail.ru

Родин Анатолий Петрович — кандидат медицинских наук, доцент кафедры фармакологии и фармацевтических дисциплин ГОУ ВО Московской области «Московский государственный областной гуманитарный институт», г. Орехово-Зуево, e-mail: RodinAP@yandex.ru

Введение. На территории Российской Федерации, в частности, в Европейской части и Западной Сибири произрастают более 20-ти видов берез [1]. Березовая кора является перспективным сырьем для фармации в связи с тем, что она является крупнотоннажным отходом деревообрабатывающей промышленности [2, 3] и содержит ряд ценных

биологически активных веществ (БАВ) [4].

Исследования, проведенные разными авторами в разные годы, показали высокую антиоксидантную, антигипоксантную, гепатопротекторную, желчегонную, гипополипидемическую, противовоспалительную, противовирусную, противоопухолевую, адаптогенную, антимуtagenную, иммуномодулирующую активность бересты и ее экстрактов [5–7].

Терапевтическая эффективность суммарных извлечений из бересты обусловлена содержанием в них не только вторичных, но и первичных метаболитов, например, аминокислот. В современной медицине для лечения и профилактики многих заболеваний широко используются лекарственные средства, содержащие аминокислоты [8]. Установлено, что большинство аминокислот обладает широким спектром биологической активности: они являются исходными веществами для синтеза антител, гормонов, ферментов (лизин, треонин, фенилаланин, тирозин, аспарагин, глутамин, глицин, серин, аргинин), принимают участие в метаболизме сахаров и органических кислот (аланин), снижении уровня холестерина в крови (метионин, триптофан, лизин, аргинин), выведении тяжелых металлов из организма (метионин, цистеин), влияют на рост и восстановление тканей (гистидин, изолейцин, лейцин, глицин, серин, пролин), являются источниками энергии на клеточном уровне (валин, лейцин, изолейцин, глутамин). Серосодержащие аминокислоты (метионин, цистеин) являются донорами серы, которая предотвращает нарушения формирования волос, кожи и ногтей. Они также играют важную роль в создании вторичной структуры белков за счет образования дисульфидных мостиков [9]. Источниками аминокислот могут служить лекарственные растения. В этом плане представляет интерес береста березы. Исследования зависимости состава аминокислот и их содержания от вида березы, места произрастания растения, возраста бересты (фрагменты бересты, взятые с различной высоты ствола растения) ранее не проводились.

В связи с вышеизложенным основной *целью настоящего исследования* является установление компонентного состава и количественного содержания аминокислот бересты березы повислой и березы пушистой.

Материалы и методы исследования. Объектами исследования служили образцы бересты березы повислой и березы пушистой, собранные из различных точек ареала растений и с разных участков ствола, расположенных на разной высоте от основания (табл. 1).

Таблица 1

Образцы бересты *Betula pendula* и *B. pubescens*, взятые для исследования

№ образца	Вид березы	Место сбора
1	Береза повислая	Тогучинский район, Новосибирская область (НСО), «Буготагские сопки», березовый колок
2	Береза повислая	Колыванский район, НСО, березовый лес, 60 км от г. Новосибирска
3	Береза повислая	п. Лесогорск, Чунский район, Иркутская область, березовый лес
4	Береза повислая	Венгеровский район, НСО, березовый колок
5	Береза пушистая	Колыванский район, НСО, Кудряшовский бор, 30 км от г. Новосибирска

6	Береза пушистая	Прибрежная зона озера Сикачи, Волчихинский район, Алтайский край, хвойно-широколиственный лес
7	Береза пушистая	Костромская область, Кологривский район, хвойно-широколиственный лес
8	Береза пушистая	Пермский край, Верещагинский район, опушка леса
9	Береза повислая	Тогучинский район, НСО, «Буготагские сопки», березовый колок. Образец бересты, взятый со ствола растущего дерева на высоте 1,2 м от основания
10		Тогучинский район, НСО, «Буготагские сопки», березовый колок. Образец бересты, взятый со ствола растущего дерева на высоте 2 м от основания
11		Тогучинский район, НСО, «Буготагские сопки», березовый колок. Образец бересты, взятый со ствола растущего дерева на высоте 3,2 м от основания
12		Тогучинский район, НСО, «Буготагские сопки», березовый колок. Образец бересты, взятый со ствола растущего дерева на высоте 5,7 м от основания
13		Тогучинский район, НСО, «Буготагские сопки», березовый колок. Образец бересты, взятый со ствола растущего дерева на высоте 12 м от основания
14		Тогучинский район, НСО, «Буготагские сопки», березовый колок. Образец бересты, взятый со ствола растущего дерева на высоте 14 м от основания

Суммарные извлечения из образцов бересты получали последовательной экстракцией различными экстрагентами (96, 70, 40, 20 % спиртом этиловым и водой очищенной) при нагревании на водяной бане (при кипении экстрагента). Компонентный состав аминокислот анализировали методом одномерной бумажной (FN6) хроматографии с использованием системы бутанол — диэтиловый эфир — уксусная кислота — вода (9 : 6 : 3 : 1). Система проходит дважды. Идентификацию веществ проводили по величинам R_f , окраске пятен в видимом свете при обработке хроматограмм 0,2 % спиртовым раствором нингидрина (при нагревании при 105 °С в течение 10 мин) в сравнении с достоверными образцами аминокислот. Количественное содержание суммы аминокислот определяли методом спектрофотометрии (СФ-56) по продуктам их реакции с 0,2 % спиртовым раствором нингидрина в пересчете на основную аминокислоту, что подтверждалось совпадением их электронных спектров поглощения в УФ области света.

Результаты и обсуждения. Хроматографический анализ суммарных извлечений, полученных из исследуемых образцов бересты двух видов березы, показал наличие 14-ти аминокислот, из которых были идентифицировано 12, среди них незаменимые аминокислоты: метионин, треонин, фенилаланин, триптофан, лизин и аминокислоты, которые синтезируются в печени человека: орнитин, аланин, серин, пролин, глутаминовая кислота, аспарагиновая кислота, глутамин (табл. 2).

Таблица 2

**Аминокислоты бересты березы повислой и березы пушистой
и их хроматографическое поведение**

№	R_f	Стандартные вещества	Окраска продуктов реакции с 0,2 % спиртовым раствором нингидрина	Береста березы повислой				Береста березы пушистой			
				1 об.	2 об.	3 об.	4 об.	5 об.	6 об.	7 об.	8 об.

1	0,02	Орнитин	Фиоле- тово- розовый	+	+	+	+	+	+	+	+
2	0,05	Пролин	Желтый	+	+	+	+	+	+	+	+
3	0,07	Лизин	Фиоле- товый	+	+	+	—	+	—	—	—
4	0,1	Серин	Сиреневый	+	—	+	+	—	—	+	—
5	0,12	Не иден- тифи- циро- вано	Розовый	—	—	—	—	—	+	—	—
6	0,14	Аспа- раги- новая кислота	Розовый	+	+	—	—	+	+	—	—
7	0,18	Глутамин	Фиоле- товый	+	—	—	+	—	—	+	—
8	0,22	Глута- миновая кислота	Сире- невый	+	+	+	+	+	—	+	+
9	0,27	Треонин	Фиоле- товый	+	+	+	—	+	+	—	—
10	0,33	Аланин	Фиоле- товый	+	+	+	+	+	+	+	+
11	0,37	Не иден- тифи- циро- вано	Розовый	+	—	—	+	—	+	—	+
12	0,42	Трип- тофан	Розовый	+	+	+	+	+	+	+	+
13	0,54	Метионин	Розово- фиоле- товый	—	—	—	+	—	—	—	—
14	0,62	Фенила- ланин	Розовый	+	—	—	+	—	—	—	—
Общее количество веществ				12 вещ-в	8 вещ-в	8 вещ-в	10 вещ-в	8 вещ-в	8 вещ-в	7 вещ-в	6 вещ-в

Сравнительный хроматографический анализ аминокислот исследуемых образцов бересты, собранных из разных точек ареала, показал, что состав компонентов суммы аминокислот в образцах бересты березы повислой и березы пушистой (образцы № 2 и 5) одинаков в пределах одного района заготовки и различается по регионам России.

На основании проведенных исследований аминокислотного состава видно, что во всех образцах бересты содержатся орнитин, пролин, аланин и триптофан (табл. 2). Доминирующим компонентом в сумме аминокислот является аланин. Данный факт подтверждается результатами сравнительного хроматографического исследования аминокислот и совпадением рисунка спектров поглощения продуктов взаимодействия суммы аминокислот, содержащихся в извлечениях, полученных из исследуемых образцов бересты и индивидуальной аминокислоты — аланина (рис. 1, 2). Поэтому при анализе количественного содержания суммы аминокислот в извлечениях расчет количественного содержания проводили в пересчете на аланин.

Дальнейшим этапом исследования был подбор экстрагента, максимально извлекающего аминокислоты из бересты.

Проведено исследование содержания аминокислот в извлечениях, полученных с использованием различных экстрагентов (вода очищенная и водно-этанольные смеси с содержанием спирта этилового 20, 40, 70, 96 %) (табл. 3).

**Содержание аминокислот в извлечениях, полученных из бересты березы пушистой с использованием различных экстрагентов (образец № 5)
(в % в пересчете на абсолютно сухое сырье)**

Экстрагент	Сумма аминокислот (в пересчете на аланин)
Вода очищенная	$2,74 \pm 0,14$
20 % спирт этиловый	$1,83 \pm 0,09$
40 % спирт этиловый	$1,63 \pm 0,08$
70 % спирт этиловый	$2,10 \pm 0,11$
96 % спирт этиловый	$1,85 \pm 0,09$

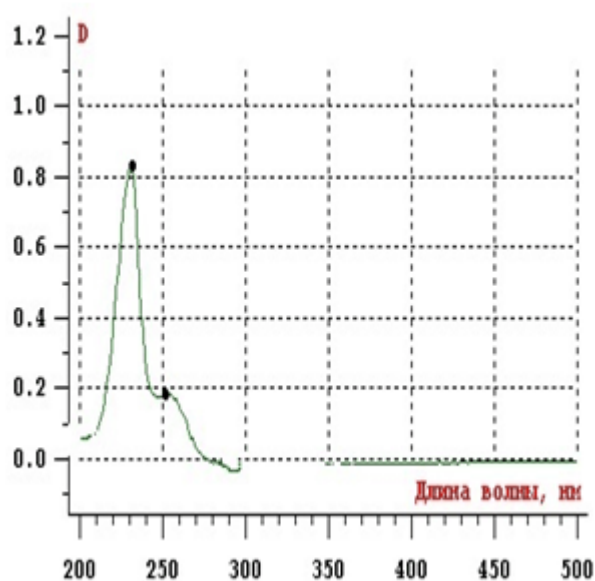


Рис. 1. Спектр продуктов взаимодействия аланина с 0,2 % спиртовым раствором нингидрина

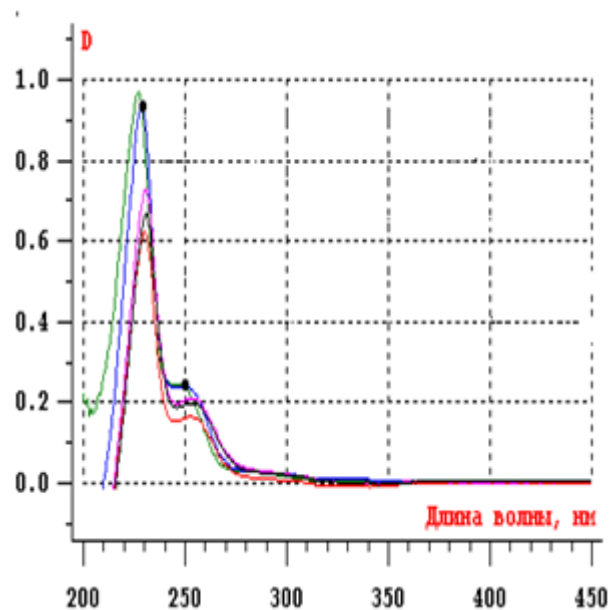


Рис. 2. Спектры продуктов взаимодействия суммы α-аминокислот с 0,2 % спиртовым раствором нингидрина

(водным) раствором нингидрина (водное, 20, 40, 70, 96 % спиртовые извлечения образца бересты № 5)

Исследование содержания суммы аминокислот в извлечениях из бересты, полученных с использованием воды очищенной, спирта этилового и водно-спиртовых смесей с содержанием этанола 20, 40, 70 %, показало, что вода очищенная извлекает из бересты наибольшее количество аминокислот.

Для проведения сравнительного анализа содержания суммы аминокислот в исследуемых образцах бересты образцы сырья последовательно экстрагировали 96 % спиртом этиловым, затем водно-спиртовыми смесями с содержанием спирта этилового 70, 40, 20 % и завершали экстракцию водой очищенной. В полученных суммарных извлечениях определяли содержание аминокислот.

Установлено, что содержание аминокислот в образцах № 2-7, 1 и 8 приблизительно одинаковое. Наибольшее содержание аминокислот наблюдается в образцах № 1 и 8 (табл. 4).

Таблица 4

Содержание суммы аминокислот в суммарных извлечениях, полученных последовательной экстракцией образцов бересты березы повислой и березы пушистой (в % в пересчете на абсолютно сухое сырье)

Образцы бересты	№ 1	№ 2	№ 3	№ 4	№ 5	№ 6	№ 7	№ 8
Сумма аминокислот в пересчете на аланин	3,50 ± 0,18	2,56 ± 0,13	2,69 ± 0,13	2,06 ± 0,1	2,67 ± 0,13	2,80 ± 0,14	2,34 ± 0,12	3,75 ± 0,19

Известно, что возраст березы может достигать более 100 лет. Возникает вопрос — влияет ли возраст растения на содержание аминокислот в бересте. Для проведения данного исследования были собраны образцы бересты со ствола одного растения на разной высоте. Анализ показал, что возраст бересты не оказывает существенного влияния на содержание суммы исследуемых веществ (табл. 5).

Таблица 5

Содержание суммы аминокислот в образцах бересты березы повислой в зависимости от локализации на стволе (от возраста бересты) (в % в пересчете на абсолютно сухое сырье)

№ образца	Высота от основания ствола (м)	Сумма аминокислот (в пересчете на аланин)
9	1,2	2,66 ± 0,13
10	2	2,42 ± 0,12
11	3,2	2,72 ± 0,14
12	5,7	2,83 ± 0,14
13	12	2,97 ± 0,15
14	14	2,51 ± 0,13

Выводы

1. В образцах бересты березы повислой и березы пушистой обнаружено 14 аминокислот, из которых были идентифицировано 12, среди них незаменимые аминокислоты: метионин, треонин, фенилаланин, триптофан, лизин и аминокислоты, которые

синтезируются в печени человека: орнитин, аланин, серин, пролин, глутаминовая кислота, аспарагиновая кислота, глутамин.

2. Состав компонентов аминокислот в образцах бересты березы повислой и березы пушистой одинаков в пределах одного района заготовки и различается по регионам России.
3. Установлено, что оптимальным экстрагентом для извлечения суммы аминокислот из бересты является вода очищенная.
4. Содержание аминокислот в образцах бересты березы повислой и березы пушистой в зависимости от места произрастания находится в пределах от 2,0 до 3,5 %.
5. Установлено, что береста на всей поверхности ствола березы повислой по содержанию аминокислот однородна.

Список литературы

1. Растительные ресурсы СССР : цветковые растения, их химический состав, использование ; семейства Magnoliaceae-Limnaceae. — Ленинград : Изд-во «Наука», 1984. — С. 154-164.
2. Кулагин Е. П. Использование отходов химической переработки коры в качестве удобрений / Е. П. Кулагин, А. Н. Кислицын, В. В. Рябков // Хвойные бореальной зоны. — 2003. — Вып. I. — С. 128-129.
3. Изучение экстракции коры березы гексаном, этилацетатом, изопропиловым спиртом и водой / В. А. Левданский, Н. И. Полежаева, А. В. Левданский [и др.] // Химия растительного сырья. — 2004. — № 2. — С. 17-20.
4. Абышев А. З. Исследование химического состава экстракта коры березы Cortex Betula сем. Betulaceae / А. З. Абышев, Э. М. Агаев, А. Б. Гусейнов // Хим.-фармацевт. журн. — 2007. — Т. 41, № 8. — С. 22-26.
5. Ведерников Д. Н. Состав жирных и тритерпеновых кислот углеводородного экстракта из бересты Betula pendula (Betulaceae) / Д. Н. Ведерников, В. И. Рощин // Растительные ресурсы. — 2008. — Т. 44, № 3. — С. 75-82.
6. Выделение бетулина и суберина из коры березы, активированной в условиях «взрывного автогидролиза» / Б.Н. Кузнецов, В.А. Левданский, А.П. Еськин [и др.] // Химия растительного сырья. — 1998. — № 1. — С. 5-9.
7. Получение диацетат бетулина из бересты коры березы и изучение его антиоксидантной активности / С. А. Кузнецова, Н. Ю. Васильева, Г. С. Калачева [и др.] // Фармация. — 2008. — № 2. — С. 152-165.
8. Производные природных аминокислот в роли радиопротекторов / К. П. Григорян, С. Н. Айрапетян [и др.] // Хим.-фармацевт. журн. — 1995. — Т. 29, № 7. — С. 11-15.
9. Грин Н. Биология : В 3-х т. / Н. Грин, У. Стаут, Д. Тейлор ; пер. с англ. Е. Р. Наумовой, М. С. Морозовой, О. В. Протасовой. — М. : Мир, 1996. — Т. 1. — 368 с.

AMINO ACIDS OF BETULA PENDULA BIRCH BARK AND BETULA PUBESCENS

[Y. V. Ligostayeva¹](#), [M. A. Hanina²](#), [A. P. Rodin²](#)

¹*SBEI HPE «Novosibirsk State Medical University of Ministry of Health» (Novosibirsk c.)*

²*SEI HE of Moscow region «Moscow state regional humanitarian institute»
(Orekhovo-Zuyevo c.)*

The objects of research were samples of birch bark of weeping birch and white birches, collected from various points of planting area of and from the different sites of trunk located at different height. Availability of 14 amino acids is established. The structure of components of amino acids in samples of birch bark of weeping birch and white birches is identical within one area of preparation and differs from regions of Russia. The content of amino acids of weeping and white birches depending on a place of growth in samples of weeping and white birches ranges from 2,0 to 3,5%. It is established that the age of a plant has no impact on the content of amino acids in birch bark.

Keywords: birch bark, weeping birch, white birch, birch bark amino acids, components and contents.

About authors:

Ligostayeva Julia Valerievna — post-graduate student of pharmacognosy and botany chair at SBEI HPE «Novosibirsk State Medical University of Ministry of Health», e-mail: benna89@mail.ru

Khanina Minisa Abdullayevna — doctor of pharmaceutical science, professor, corresponding member RAS, professor of pharmacology and pharmaceutical disciplines chair at SEI HE of Moscow region «Moscow state regional humanitarian institute», e-mail: Khanina06@mail.ru

Rodin Anatoly Petrovich — candidate of medical sciences, assistant professor of pharmacology and pharmaceutical disciplines chair at SEI HE of Moscow region «Moscow state regional humanitarian institute», e-mail: RodinAP@yandex.ru

List of the Literature:

1. Vegetable resources of the USSR: floral plants, their chemical composition, use; Magnoliaceae-Limoniaceae families. — Leningrad: Publishing house «Science», 1984. — P. 154-164.
2. Kulagin E. P. Use of waste of chemical processing of bark as fertilizers / E. P. Kulagin, A. N. Kislitsyn, V. V. Ryabkov // Coniferous boreal zone. — 2003. — Iss. I. — P. 128-129.
3. Birch bark extraction studying hexane, ethyl acetate, isopropyl alcohol and water / V. A. Levdansky, N. I. Polezhayeva, A. V. Levdansky [etc.] // Chemistry of vegetable raw materials. — 2004. — № 2. — P. 17-20.
4. Abyshev A. Z. Research of chemical composition of extract of birch bark of Cortex Betula. Betulaceae / A. Z. Abyshev, E. M. Agayev, A. B. Guseynov // Chemical — pharm. journal. — 2007. — V. 41, № 8. — P. 22-26.

5. Vedernikov D. N. Context of fat and tetraterpenic acids of hydrocarbonic extract from *Betula pendula* birch bark (Betulaceae) / D. N. Vedernikov, V. I. Roshchin // Vegetable resources. — 2008. — V. 44, № 3. — P. 75-82.
6. Allocation of a betulin and suberin from bark of the birch activated in the conditions of «explosive autohydrolysis» / B. N. Kuznetsov, V.A. Levdansky, A.P. Eskin [etc.] // Chemistry of vegetable raw materials. — 1998. — № 1. — P. 5-9.
7. Receiving betulin diacetate from birch bark and studying of its antioxidant activity / S. A. Kuznetsova, N. Y. Vasilyev, G. S. Kalachev [etc.] // Pharmacy. — 2008. — № 2. — P. 152-165.
8. Derivatives of natural amino acids as radio protectors / K. P. Grigoryan, S. N. Ayrapetyan [etc.] // Chemical — pharm. journal. — 1995. — V. 29, № 7. — P. 11-15.
9. Greene N. Biologiya: In 3 V. / N. Green, U. Stout, D. Taylor; translation from English E. R. Naumova, M. S. Morozova, O. V. Protasova. — M.: World, 1996. — V. 1. — 368 P.