

## ВИЗНАЧЕННЯ КІЛЬКІСНОГО ВМІСТУ АМІНОКИСЛОТ У РІДКОМУ ЕКСТРАКТІ ЧЕБРЕЦЮ ПОВЗУЧОГО, ВИБІР КРИТЕРІЇВ ПРИЙНЯТНОСТІ

**Вступ.** Згідно з даними літератури, відомо, що чебрець повзучий (ЧП) містить різноманітний комплекс біологічно активних речовин. Серед біологічно активних речовин трави чебрецю вагомо представлені флавоноїди, фенолкарбонові кислоти, полісахариди, яким властива протизапальна, муколітична, секретолітична, протівірусна та антимікробна дія. У попередніх дослідженнях встановлено також наявність у сировині амінокислот, які виконують важливі функції в організмі людини. В останні роки суттєво зросла кількість досліджень, пов'язаних з їх вивченням. Фармацевтична розробка нового фармакологічного засобу на основі густого екстракту ЧП і ефірної олії чебрецю звичайного передбачала одержання рідкого екстракту ЧП, який отримали відповідно підібраним способом з максимальним збереженням і відтворенням біологічно активних речовин цієї лікарської рослинної сировини. У попередній роботі висвітлено питання щодо ідентифікації амінокислот у досліджуваному екстракті й обрано ідентифікаційний маркер якості рідкого екстракту ЧП – гліцин. Проте для його стандартизації необхідно визначити не тільки їх якісний склад, а й кількісний вміст, що дозволить у подальшому запропонувати показники якості рідкого екстракту ЧП і обрати відповідні критерії прийнятності.

**Мета дослідження** – провести кількісне визначення амінокислот у рідкому екстракті чебрецю повзучого, вибрати відповідні критерії прийнятності.

**Методи дослідження.** Під час дослідження використано спектрофотометр "Сary-50", рідкий екстракт чебрецю повзучого, ФСЗ глюкози ("Sigma"), 0,2 % розчин нінгідрину Р, водяну баню. Кількісне визначення амінокислот у досліджуваному екстракті чебрецю повзучого проводили методом спектрофотометрії у видимій ділянці спектра із застосуванням відомої і використовуваної фотометричної реакції утворення забарвленої сполуки амінокислот з нінгідрином.

**Результати й обговорення.** Встановлено, що вміст амінокислот коливається у певних межах та визначається їх вмістом у вихідній сировині. Тому для стандартизації рідкого екстракту ЧП можна обрати кількісним критерієм якості вміст амінокислот і запропонувати відповідні критерії прийнятності – не менше 0,03 % у перерахунку на гліцин.

**Висновки.** Проведено кількісне визначення амінокислот у рідкому екстракті чебрецю повзучого. У результаті виконаного експерименту визначено їх вміст і запропоновано відповідні критерії прийнятності.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: чебрець повзучий; рідкий екстракт; спектрофотометрія; амінокислоти; критерій прийнятності.

ВСТУП. Аналізуючи джерела літератури, ми відмітили, що лікарські засоби на основі чебрецю повзучого (ЧП) широко використовують для лікування кашлю при захворюваннях органів дихання [1–3]. Трава чебрецю повзучого містить флавоноїди, фенолкарбонові кислоти, полісахариди, амінокислоти, яким властива різнобічна фармакологічна дія [3, 4]. Відомо, що останні виконують важливі функції в організмі людини [4, 5]. Тому, враховуючи різноманітний склад біологічно активних речовин, а також різнопланову фармакологічну дію, чебрець повзучий

© Н. О. Зарівна, Н. В. Горлачук, 2022.

можна вважати досить перспективним джерелом для розробки нових вітчизняних препаратів [1, 4].

Фармацевтична розробка нового фармакологічного засобу на основі густого екстракту ЧП і ефірної олії чебрецю звичайного передбачала підбір відповідного способу одержання рідкого екстракту ЧП, що дозволив отримати його з відтворюваним вмістом аналізованих біологічно активних речовин сировини ЧП [6]. У попередніх дослідженнях встановлено, що трава ЧП багата на амінокислоти [4], а також те, що досвід ефективного застосування лікарських засобів на основі ЧП нашоєму на пошук цих біологічно ак-

тивних речовин в одержаному екстракті, що дозволить прослідкувати їх у запропонованому ланцюзі: трава ЧП – рідкий екстракт – густий екстракт – готовий лікарський засіб. Крім того, в попередній роботі [7] ми досліджували якісний склад амінокислот у рідкому екстракті ЧП, тому доречно визначити їх кількісний вміст, що є важливим етапом для проведення його стандартизації.

Мета дослідження – провести кількісне визначення амінокислот у рідкому екстракті чебрецю повзучого, вибрати відповідні критерії прийнятності.

**МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.** Кількісне визначення амінокислот у рідкому екстракті ЧП проводили методом спектрофотометрії у видимій ділянці спектра із застосуванням відомої і використовованої фотометричної реакції утворення забарвленої сполуки амінокислот з нінгідрином. При цьому застосовували спектрофотометр "Cary-50".

**РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ.** Спектрофотометричне визначення амінокислот у рідкому екстракті ЧП проводили за допомогою чутливого і селективного методу аналізу – спектрофотометрії у видимій ділянці спектра [8].

Оскільки стандартом для розрахунку вмісту даних біологічно активних речовин у сировині ЧП був гліцин, а також його обрано ідентифікаційним маркером у рідкому екстракті, їх кількість у досліджуваному екстракті визначали в перерахунку на цю ж речовину [7].

Для кількісного визначення амінокислот у рідкому екстракті ЧП було адаптовано таку методику.

**Випробовуваний розчин.** До 1,0 мл (точна наважка) рідкого екстракту ЧП, поміщеного у пробірку, додають 1,1 мл свіжоприготовленого 0,2 % розчину нінгідрину Р і нагрівають на киплячій водяній бані протягом 20 хв. Після повного охолодження розчин кількісно переносять у мірну колбу місткістю 100 мл і розбавляють водою Р до позначки, перемішують.

**Розчин порівняння.** 0,059 г (точна наважка) ФСЗ гліцину поміщають у мірну колбу місткістю 100 мл, додають 70 мл води Р, розчиняють протягом 5–10 хв, нагріваючи на водяній бані при

температурі 50 °С. Охолоджують і доводять об'єм розчину водою Р до 100 мл, перемішують.

До 1,0 мл отриманого розчину, поміщеного у пробірку, додають 1,1 мл 0,2 % розчину нінгідрину Р і нагрівають на киплячій водяній бані протягом 20 хв. Після повного охолодження розчин кількісно переносять у мірну колбу місткістю 100 мл і розбавляють водою Р до позначки, перемішують.

**Компенсаційний розчин.** Поміщають у пробірку 1 мл води Р, додають 1,1 мл 0,2 % розчину нінгідрину Р і нагрівають на киплячій водяній бані протягом 20 хв. Після повного охолодження розчин кількісно переносять у мірну колбу місткістю 100 мл і розбавляють водою Р до позначки, перемішують.

0,2 % розчин нінгідрину Р. У мірну колбу місткістю 50 мл поміщають 0,1 г нінгідрину, розчиняють у 30 мл води Р, доводять об'єм розчину тим же розчинником до позначки, перемішують.

Через 1 год вимірюють оптичну густину випробовуваного розчину і розчину порівняння на спектрофотометрі при довжині хвилі (567±2) нм у кюветі з товщиною шару 10 мм відносно компенсаційного розчину.

Вміст амінокислот у рідкому екстракті ЧП, у відсотках, у перерахунку на гліцин розраховують за формулою:

$$X_1 = \frac{A_x \cdot m_0}{A_0 \cdot m} \cdot 100,$$

де  $A_x$  – оптична густина випробовуваного розчину;

$A_0$  – оптична густина стандартного зразка гліцину;

$m_0$  – маса наважки стандартного зразка гліцину, г;

$m$  – маса екстракту, взятого для аналізу, г.

Результати кількісного визначення суми амінокислот у рідкому екстракті ЧП наведено у таблиці.

Встановлено, що кількісний вміст амінокислот у досліджуваному екстракті коливається і визначається вмістом у вихідній сировині ЧП та відтворюваністю підбраного способу одержання цього екстракту. В результаті проведеного експерименту запропоновано кількісним критерієм якості в рідкому екстракті ЧП вміст амінокислот не менше 0,03 %.

Таблиця – Результати кількісного визначення суми амінокислот у рідкому екстракті чебрецю повзучого (p=0,95, n=5)

Рідкий екстракт чебрецю $\times 10^{-2}$ , %	Вміст амінокислот у перерахунку на гліцин, %			
	№ 1	№ 2	№ 3	№ 4
	4,40±0,04	5,48±0,03	3,25±0,05	5,10±0,03

ВИСНОВКИ. 1. Проведено кількісне визначення амінокислот у рідкому екстракті чебрецю повзучого.

2. Визначено показник якості рідкого екстракту чебрецю повзучого (вміст амінокислот) та запропоновано відповідний критерій прийнятності – не менше 0,03 % у перерахунку на гліцин.

#### СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Thyme oil. Monograph N: 1374. Concerned also monograph N 865 (Thymi herba) and N 1891 (Serpilli herba). – PA/PH/ Exp. 13A/T (09) 35 1 R. – Strasbourg: European Department for the Quality of Medicines, April 2009.

2. Лікарські рослини і фітотерапія (фітотерапевтична рецептура) : навч. посіб. / Л. В. Бензель, Р. Є. Дармограй, П. В. Олійник, І. Л. Бензель. – К. : Медицина, 2010. – 400 с.

3. Компендіум 2007 – лекарственные препараты / под ред. В. Н. Коваленко, А. П. Викторова. – К. : Моріон, 2007. – 2270 с.

4. Зарівна Н. О. Вивчення амінокислотного складу трави Thymus Serpyllum / Н. О. Зарівна // Укр. біофармац. журн. – 2014. – № 3 (32). – С. 67–70.

5. Борисова Д. А. Амінокислоти сировини первоцвета лекарственного / Д. А. Борисова // Фармація. – 2011. – № 8. – С. 11–13.

6. Пат. 73543 Україна, МПК<sup>51</sup> С 11 В 1/10, А 61 К 9/08, А 61 К 35/00. Спосіб отримання рідкого екстракту чебрецю повзучого / Зарівна Н. О., Вронська Л. В., Грошовий Т. А. ; заявник і патентовласник Терноп. держ. мед. ун-т імені І. Я. Горбачевського. – Заявл. 26.03.12 ; опубл. 25.09.12, Бюл. №18.

7. Зарівна Н. О. Розробка методики визначення якісного складу амінокислот у рідкому екстракті чебрецю повзучого / Н. О. Зарівна, Л. С. Фіра, Т. А. Грошовий // Мед. та клініч. хімія. – 2021. – 23, № 3 (89). – С. 80–83.

8. Державна Фармакопея України : в 3 т. / Державне підприємство “Український науково-експертний фармакопейний центр якості лікарських засобів”. – 2-ге вид. – Харків : Державне підприємство “Український науково-експертний фармакопейний центр якості лікарських засобів”, 2015. – 1. – 1128 с.

#### REFERENCES

1. (2009). *Thyme oil. Monograph N: 1374*. Concerned also monograph N 865 (Thymi herba) and N 1891 (Serpilli herba). PA/PH/ Exp. 13A/T (09) 35 1 R. Strasbourg: European Department for the Quality of Medicines.

2. Benzel, L.V., Darmohrai R.Ye., Oliinyk P.V., & Benzel, I.L. (2010). *Medicinal plants and phytotherapy (phytotherapeutic formulation)*. Kyiv: Medytsyna [in Ukrainian].

3. Kovalenko, V.N., & Viktorova, A.P. (2015). *Compendium – medicines*. Kyiv: MORION [in Ukrainian].

4. Zarivna, N.O. (2014). Study of the amino acid composition of the herb Thymus Serpyllum. *Ukrainian Biopharmaceutical Journal*, 3 (32), 67-70 [in Ukrainian].

5. Borysova, D.A. (2011). Amino acids of raw primrose medicinal. *Pharmacy*, 8, 11-13 [in Ukrainian].

6. Zarivna, N.O., Vronska, L.V., & Hroshovyi, T.A. Patent of Ukraine. *The method of obtaining liquid creeping thyme extract*. No. 73543 MPK51 S 11 V 1/10, A 61 K 9/08, A 61 K 35/00; Bul. No.18 [in Ukrainian].

7. Zarivna, N.O. (2021). Development of a method for determining the qualitative composition of amino acids in liquid extract of creeping thyme. *Medical and Clinical Chemistry*, 3 (23), 80-83 [in Ukrainian].

8. *State Pharmacopoeia of Ukraine: in 3 vol.* State Enterprise “Ukrainian Scientific Pharmacopoeia Center for the Quality Medicines” [in Ukrainian].

N. O. Zarivna, N. V. Horlachuk

I. HORBACHEVSKY TERNOPIL NATIONAL MEDICAL UNIVERSITY

## DETERMINATION OF QUANTITATIVE CONTENT OF AMINO ACIDS IN LIQUID EXTRACT OF CREEPING THYME, CHOICE OF CRITERIA OF ACCEPTABILITY

### Summary

**Introduction.** According to the literature, it is known that creeping thyme (CT) contains a diverse complex of biologically active substances (BAS). Important flavonoids, phenolic acids, polysaccharides characterized by anti-inflammatory, mucolytic, secretolytic, antiviral and antimicrobial action are among the BAS of thyme herb. Previous

studies have also established the presence of amino acids in raw materials that perform important functions in the human body. In recent years, the number of studies related to their study has increased significantly. Pharmaceutical development on the basis of thick extract of CT and essential oil of thyme involved obtaining a liquid extract of CT, which was obtained by a suitably selected method with maximum preservation and reproduction of BAS of this medicinal plant material. In the previous work, we covered the issue of identification of amino acids in the studied extract and selected the identification marker of the quality of liquid extract of CT – glycine. However, for its standardization it is necessary to determine not only their qualitative composition, but also the quantitative content, which will further offer indicators of quality of liquid extract of the state of emergency and choose the appropriate eligibility criteria.

**The aim of the study** – quantitative determination of amino acids in liquid extract of CT, selection of appropriate acceptance criteria.

**Research Methods.** Spectrophotometer “Cary-50”, liquid extract of creeping thyme, FSE: glycine (Sigma), 0.2 % ninhydrin solution R, water bath.

**Results and Discussion.** Determination of amino acids in the studied extract of creeping thyme was performed by spectrophotometry in the visible part of the spectrum using the known and used photometric reaction to form a colored compound of amino acids with ninhydrin. It was found that the content of amino acids varies within certain limits and is determined by their content in the raw material. Therefore, in order to standardize the liquid extract of CT, you can choose a quantitative quality criterion – the content of amino acids and offer appropriate acceptance criteria – not less than 0.03 % in terms of glycine.

**Conclusions.** Quantitative determination of amino acids in liquid extract of CT was performed. As a result of the experiment, their quantitative content was determined and appropriate eligibility criteria were proposed.

KEY WORDS: creeping thyme; liquid extract; spectrophotometry; amino acids; acceptability criteria.

Отримано 18.02.22

Адреса для листування: Н. О. Зарівна, Тернопільський національний медичний університет імені І. Я. Горбачевського МОЗ України, майдан Воли, 1, Тернопіль, 46001, Україна, e-mail: zarivna@tdmu.edu.ua.