



УДК 577.32.579

## Соотношение кислых и щелочных аминокислот в различных биологических объектах

Е.О. Данченко

Учреждение образования «Витебский государственный университет им. П.М. Машерова»

Наибольшее содержание кислых аминокислот было обнаружено в гидролизатах эхинацеи, родиолы розовой и копрецитата; в казеине содержание этих аминокислот было почти в 3 раза меньше. Количество свободных аспарагиновой кислоты и глутаминовой кислоты в гемолимфе куколок дубового шелкопряда приближается к уровням этих аминокислот в гидролизате казеина. В сыворотке крови крыс отношение свободных аспарагиновой кислоты к глутаминовой кислоте приближается к 1:3. В печени и сердце крыс суммарное содержание кислых аминокислот было одного порядка – 11,9 и 14,5 мкмоль/г, соответственно. Однако соотношение аспарагиновой кислоты и глутаминовой кислоты носит противоположный характер – 3:1 в печени и 1:2,5 в сердце. В коре, стриатуме, гипоталамусе, среднем мозге и эпифизе головного мозга крыс содержание глутаминовой кислоты превышает уровень аспарагиновой кислоты в 8,3, 7,1, 6,3, 4,9 и 3,6 раза, соответственно. Гидролизаты эхинацеи и родиолы розовой содержат наибольшие количества щелочных аминокислот. Гидролизат казеина существенно отличается от гидролизатов лекарственных растений тем, что в его составе преобладает гистидин. Одинаковое распределение щелочных аминокислот было обнаружено в гемолимфе куколок дубового шелкопряда и в сыворотке крови крыс. Соотношение аргинина, гистидина и лизина в печени и сердце отличается и составляет 6:6:2 и 2:2:3, соответственно. В эпифизе преобладает содержание гистидина, а в гипоталамусе – аргинина. Суммарное распределение щелочных аминокислот в лимфоцитах разных органов аналогично таковому для кислых аминокислот.

**Ключевые слова:** аспарагиновая кислота, глутаминовая кислота, аргинин, гистидин, лизин, лекарственные растения, крысы.

## Correlation of acidic and alkaline amino acids in various biological objects

E.O. Danchenko

Educational establishment «Vitebsk State University named after P.M. Masharov»

The highest content of acidic amino acids was found in hydrolysates of Echinacea, Rhodiola rosea and kopretsipitate; in casein the content of these amino acids was almost 3 times as little. The number of free aspartic acid and glutamic acid in hemolymph of oak silkworm pupae is close to the levels of these amino acids in the hydrolyzate of casein. In blood serum of rats, the ratio of free aspartic acid and glutamic acid is close to 1:3. In rat liver and heart the total content of acidic amino acids was of the same order – 11,9 and 14,5 mkmol/g, respectively. However, the ratio of aspartic acid and glutamic acid is of the opposite character – 3:1 in the liver and 1:2,5 in the heart. In the cortex, striatum, hypothalamus, mid-brain and pineal gland of the rat brain the content of glutamic acid is 8,3, 7,1, 6,3, 4,9 and 3,6 times higher than that of aspartic acid respectively. Hydrolyzates of Echinacea and Rhodiola rosea contain the largest amounts of alkaline amino acids. Casein hydrolyzate differs substantially from hydrolyzate of medicinal plants as in its composition histidine dominates. Equal distribution of alkaline amino acids was found in the hemolymph of the pupae of silkworm oak as well as in rat serum. The ratio of arginine, histidine and lysine in the liver and the heart is different, and is 6:6:2 and 2:2:3, respectively. In the pineal gland predominant is the content of histidine and in the hypothalamus – arginine. The total distribution of alkaline amino acids in the lymphocytes of various organs is similar to that of acidic amino acids.

**Key words:** aspartic acid, glutamic acid, arginine, histidine, lysine, medicinal plants, rats.

Аминокислоты III группы – кислые или отрицательно заряженные (аспарагиновая кислота, глутаминовая кислота) и аминокислоты IV – щелочные или положительно заряженные (аргинин, гистидин, лизин) являются протеиногенными, и их радикалы участвуют в образовании ионных связей при формировании нативной структуры белка. Кроме этого эти аминокислоты являются активными метаболитами.

В большом количестве аспарагиновая кислота (асп) содержится в растительных белках; участвует в реакциях трансаминирования

и синтезе мочевины, креатина, циклических пептидов; при декарбоксилировании образуются  $\alpha$ - или  $\beta$ -аланин, необходимый для синтеза мышечных дипептидов карнозина, ансерина и кофермента А; амид аспарагиновой кислоты – аспарагин накапливается при прорастании семян бобовых растений в темноте или при избытке аммиака; у высших животных аспарагиновая кислота и аспарагин участвуют в синтезе пуриновых и пиримидиновых оснований, никотиновой кислоты, а у растений являются запасной и транспортной формой азота. Накаплива-

ются сообщения об участии аспарагиновой кислоты как сигнальной молекулы в регуляции экспрессии генов, клеточного цикла, пролиферации лимфоцитов.

Глутаминовая кислота входит в состав фолиевой кислоты и глутатиона; участвует в реакциях трансаминирования, непрямого дезаминирования и реаминирования; при декарбоксилировании глутаминовой кислоты образуется  $\gamma$ -аминомасляная кислота – тормозной медиатор ЦНС, который является предшественником в синтезе порфиринов; глутамин – транспортная форма азота у животных и растений, исходное соединение в синтезе пуриновых и пиримидиновых оснований, никотиновой кислоты; глутамат натрия используется как вкусовая приправа. Глутамин, аспартат, глицин участвуют в синтезе эндогенного антиоксиданта – мочевиной кислоты. Глутамат, глутамин, пролин участвуют в синтезе цитруллина, играющего определенную роль в антиоксидантном потенциале клеток, а также необходимого для синтеза аргинина.

Большое количество аргинина содержится в протаминах и гистонах (молоки рыб); аргинин выполняет функцию, аналогичную функции фосфокреатина у высших животных. Аргинин совместно с пролином и глутамином участвует в синтезе глутамата, глутамина и полиаминов, поддерживает целостность митохондрий. Аргинин, метионин, глицин выполняют антиоксидантную и противовирусную функции, обеспечивают противоопухолевое действие. Аргинин совместно с метионином как сигнальные молекулы участвуют в регуляции экспрессии генов, синтеза ДНК и белка, апоптоза, принимают участие в функционировании ионных каналов, трансдукции сигналов.

Известно высокое содержание гистидина в глобине – белковом компоненте гемоглобина; при декарбоксилировании гистидина образуется гистамин (воспаление, иммунные реакции, вазодилаторный эффект); кроме того гистидин входит в состав активных центров некоторых протеолитических ферментов, участвует в секретиции ацетилхолина.

Лизин содержится в большом количестве в протаминах и гистонах (молоки рыб); является исходным продуктом для синтеза алкалоидов (анабазин, никотин, кониин); участвует  $\epsilon$ -аминогруппой в образовании комплекса между белковой частью фермента и коферментом (биотин-зависимые ферменты). Лизин участвует в регуляции синтеза NO и проявляет противовирусную активность. Имеются сведения об эмбриотоксическом действии лизина.

Таким образом, кислые и щелочные аминокислоты – аспарагиновая кислота, глутаминовая кислота, аргинин, гистидин и лизин – способны участвовать как в формировании третичной и четвертичной структур белков, так и являются метаболически активными веществами и выполняют роль сигнальных молекул [1–2]. Поэтому целью работы явился сравнительный анализ содержания этих аминокислот в различных биологических объектах.

**Материал и методы.** Учитывая, что стандартом по содержанию аминокислот являются гидролизаты белков молока, на первом этапе работы были исследованы аминокислотные спектры белковых препаратов молока (казеинаты, копреципитаты), а также экстракты растительных компонентов широко распространенных пищевых добавок. Гидролиз образцов производился в десятикратном объеме концентрированной соляной кислоты в запаянных ампулах при 110°C в течение 24 часов. После выпаривания соляной кислоты осадок гомогенизировали в 10-кратном объеме 0,2М HClO<sub>4</sub> с добавлением внутреннего стандарта (норлейцин). Количественная и качественная идентификация свободных аминокислот и их дериватов проводилась катионообменной хроматографией одноколоночным методом на автоанализаторе аминокислот Т-339М (Чехия) по модифицированному методу J.V. Benson, J.A. Paterson [3]. Принцип метода заключается в элюции аминокислот и родственных им соединений ступенчатым градиентом Li-цитратных буферных растворов. После нанесения кислотного экстракта на аналитическую колонку (22,0×0,35 см), заполненную сферическим катионообменником LGAN 2B (размер частиц 8 мкм) («Lachema», Чехия) хроматографическое разделение исследуемых соединений последовательно осуществляли Li-цитратными буферами. Количественное содержание каждого компонента спектра исследуемых соединений оценивали по реакции с 1% раствором нингидрина (скорость потока 12 мл/час) в капиллярной бане при 100°C при длине волны 520 нм после прохождения через проточную кювету однолучевого фотометра. Сигнал с выхода фотометра поступает на программно-аппаратный комплекс «Мультихром-1», где происходят регистрация, обработка, идентификация пиков и вычисление концентраций по площадям пиков. Воспроизводимость метода  $\pm 1,5\%$ , чувствительность –  $10^{-9}$  моль. На втором этапе работы определение свободных аминокислот проводили в хлорнокислых экстрактах плазмы крови, гомогенатов тканей и лизатов

лимфоцитов методом обращеннофазной ВЭЖХ с о-фталевым альдегидом и 3-меркаптопропионовой кислотой с изократическим элюированием и детектированием по флуоресценции (231/445 нм). Условия определения: колонка Диасорб 130 C<sub>16</sub>T, 3×150 мм; подвижная фаза: 0,1 М Na-ацетатный буфер pH 5,7:50% раствор метанола в соотношении 100:54 (об/об). Скорость потока 0,8 мл/мин, температура колонки 30°C. Дериватизация: смешивание пробы с 5 объемами 0,4% раствора о-фталевого альдегида и 0,3% 3-меркаптопропионовой кислоты в 0,4 М Na-боратном буфере, pH 9,4, затем нейтрализация добавлением равного объема 0,1 М хлорной кислоты. Все определения проводили с помощью хроматографической системы Agilent 1200, прием и обработка данных – с помощью программы Agilent ChemStation A10.01. Статистическая обработка данных: t-тест с учетом различий дисперсий в группах с помощью программы Statistica 7.0.

**Результаты и их обсуждение.** Результаты проведенных исследований представлены в табл. 1–2.

Из данных, приведенных в табл. 1, следует, что наибольшее содержание кислых аминокислот обнаружено в гидролизатах эхинацеи (*Echinacea purpurea*), родиолы розовой (*Rhodiola rosea*) и копреципитате; в казеине содержание этих аминокислот почти в 3 раза меньше. Количество свободных аспарагиновой кислоты и глутаминовой кислоты в гемолимфе куколок дубового шелкопряда (*Antheraea pernyi* G.-M.) приближается к уровням этих аминокислот в гидролизате казеина. Однако имеется существенное отличие. Если в гидролизате казеина аспарагиновая кислота и глутаминовая кислота присутствуют в соотношении 3:5, то в гемолимфе куколок дубового шелкопряда примерно 5:1. Это связано с тем, что при питании листьями дуба в организме гусеницы V возраста в большей степени накапливается более характерная для растений аспарагиновая кислота, а в продукте животного происхождения преобладает глутаминовая кислота. Особый интерес представляет гидролизат водоросли спирулины (*Spirulina platensis*): в нем содержится мало кислых аминокислот, но соотношение аспарагиновой кислоты к глутаминовой кислоте примерно 1:3, что ближе к казеину, чем к другим исследованным лекарственным растениям. Не исключено, что в этом заключается одна из возможных причин высокой биологической значимости белка спирулины как пищевого продукта.

В сыворотке крови крыс отношение свободных аспарагиновой кислоты к глутаминовой кислоте приближается 1:3. В печени и сердце крыс суммарное содержание кислых аминокислот одного порядка – 11,9 и 14,5 мкмоль/г, соответственно. Однако соотношение аспарагиновой кислоты и глутаминовой кислоты носит противоположный характер – 3:1 в печени и 1:2,5 в сердце. Очевидно, что такие различия связаны с особенностями метаболизма и выполнения специфических функций этими органами.

В различных отделах головного мозга крыс отмечено явное преобладание глутаминовой кислоты над аспарагиновой. Так, в коре, стриатуме, гипоталамусе, среднем мозге и эпифизе головного мозга крыс содержание глутаминовой кислоты превышает уровень аспарагиновой кислоты в 8,3, 7,1, 6,3, 4,9 и 3,6 раза, соответственно.

По суммарному содержанию кислых аминокислот лимфоциты органов расположились в следующей последовательности: лимфоциты печени > лимфоциты тимуса > лимфоциты селезенки. Достоверных различий в уровнях аспарагиновой кислоты и глутаминовой кислоты в лимфоцитах каждого из исследованных органов не было обнаружено.

В табл. 2 приведено содержание щелочных аминокислот в различных биологических объектах.

Из анализа данных табл. 2 следует, что эхинацея и родиола розовая содержат наибольшие количества щелочных аминокислот. В гидролизатах спирулины содержание аргинина и гистидина низкое, а содержание лизина приближается к значениям, характерным для эхинацеи и родиолы розовой. Гидролизат казеина существенно отличается от гидролизатов лекарственных растений тем, что в его составе преобладает гистидин. В спектре свободных аминокислот гемолимфы куколок дубового шелкопряда содержится мало аргинина, а по содержанию гистидина и лизина гемолимфа куколок превосходит гидролизаты эхинацеи и родиолы розовой. Аналогичное распределение щелочных аминокислот выявлено и в плазме крови крыс. Полученные результаты могут свидетельствовать о том, что гемолимфа куколок дубового шелкопряда может явиться малозатратным источником свободных аминокислот, полученным в процессе эндогенного протеолиза тканей. В ряде исследований доказана возможность использования куколок дубового шелкопряда в качестве эффективного биофармацевтического сырья [4–5].

**Содержание аспарагиновой и глутаминовой кислот в различных биологических объектах**

Объект исследования	Аспарагиновая кислота	Глутаминовая кислота
Общие аминокислоты (гидролизаты)		
Спирулина, ммоль/л	0,69±0,05	1,95±0,12 <sup>1</sup>
Эхинацея, ммоль/л	15,7±1,24	11,2±0,86 <sup>1</sup>
Родиола розовая, ммоль/л	16,2±1,34	17,2±1,35
Казеин, ммоль/л	3,28±0,31	5,28±0,48
Казеинат натрия, ммоль/л	2,07±0,17	2,20±0,16
Копреципитат, ммоль/л	9,34±0,78	9,89±0,84
Пенообразователь, ммоль/л	4,29±0,32	3,06±0,30 <sup>1</sup>
Свободные аминокислоты		
Гемолимфа куколок дубового шелкопряда, ммоль/л	4,70±0,56	0,90±0,08 <sup>1</sup>
Плазма крови крыс, мкмоль/л	70,4±3,16	187±9,83 <sup>1</sup>
Печень крыс, нмоль/г	8983±1287	2932±303 <sup>1</sup>
Сердце крыс, нмоль/г	4132±295	10409±363 <sup>1</sup>
Эпифиз крыс, нмоль/г	473±55	1729±179 <sup>1</sup>
Средний мозг крыс, нмоль/г	2308±165	11303±927,5 <sup>1</sup>
Стриатум мозга крыс, нмоль/г	1759±178	12434±1020 <sup>1</sup>
Гипоталамус крыс, нмоль/г	1822±140	11542±823 <sup>1</sup>
Кора мозга, нмоль/г	1874±74,7	15572±663 <sup>1</sup>
Лимфоциты селезенки, мкмоль/10 <sup>6</sup>	1,91±0,40	1,46±0,26
Лимфоциты тимуса, мкмоль/10 <sup>6</sup>	4,09±0,15	4,61±1,14
Лимфоциты печени, мкмоль/10 <sup>6</sup>	10,4±2,04	17,2±3,03

**Примечание:** <sup>1</sup> – P < 0,05 по сравнению с аспарагиновой кислотой.

**Содержание аргинина, гистидина и лизина в различных биологических объектах**

Объект исследования	Аргинин	Гистидин	Лизин
Общие аминокислоты (гидролизаты)			
Спирулина, ммоль/л	0,17±0,02	0,18±0,02	4,29±0,35 <sup>1</sup>
Эхинацея, ммоль/л	3,42±0,33	3,61±0,23	6,54±0,56 <sup>1</sup>
Родиола розовая, ммоль/л	3,52±0,43	4,01±0,44	6,75±0,66 <sup>1</sup>
Казеин, ммоль/л	0,71±0,07	4,02±0,34 <sup>1</sup>	1,37±0,12 <sup>1</sup>
Казеинат натрия, ммоль/л	0,45±0,04	3,84±0,33 <sup>1</sup>	0,86±0,67
Копреципитат, ммоль/л	2,03±0,29	2,68±0,22	3,89±0,32 <sup>1</sup>
Пенообразователь, ммоль/л	0,93±0,07	2,75±0,23 <sup>1</sup>	1,78±0,99
Свободные аминокислоты			
Гемолимфа куколок дубового шелкопряда, ммоль/л	0,15±0,02	10,3±0,37 <sup>1</sup>	8,70±0,59 <sup>1</sup>
Плазма крови крыс, мкмоль/л	56±5,0	136±6,67 <sup>1</sup>	271±19,6 <sup>1</sup>
Печень крыс, нмоль/г	685±47	654±54,0	224±29,6 <sup>1</sup>
Сердце крыс, нмоль/г	173±18	189±12,3	344±27,5 <sup>1</sup>
Эпифиз крыс, нмоль/г	26±7,0	54±13,0	–
Средний мозг крыс, нмоль/г	152±14,0	96,0±13,1 <sup>1</sup>	–
Стриатум мозга крыс, нмоль/г	125±7,72	106±9,53	–
Гипоталамус крыс, нмоль/г	122±17,3	8,75±2,67 <sup>1</sup>	–
Кора мозга, нмоль/г	109±13,5	93,4±14,8	–
Лимфоциты селезенки, мкмоль/10 <sup>6</sup>	0,80±0,16	0,21±0,04 <sup>1</sup>	4,30±0,86 <sup>1</sup>
Лимфоциты тимуса, мкмоль/10 <sup>6</sup>	1,55±0,41	0,38±0,09 <sup>1</sup>	3,97±1,13
Лимфоциты печени, мкмоль/10 <sup>6</sup>	1,18±0,13	4,09±0,63 <sup>1</sup>	20,6±5,57 <sup>1</sup>

**Примечание:** <sup>1</sup> – P < 0,05 по сравнению с аргинином.

Как уже было отмечено для кислых аминокислот, соотношение аргинина, гистидина и лизина в печени и сердце отличается и составляет 6:6:2 и 2:2:3, соответственно. В различных отделах головного мозга крыс практически не определялось содержание лизина, а соотношения аргинина и гистидина не имели закономерных особенностей. Так, величины отношений содержания аргинина к уровню гистидина в гипоталамусе, среднем мозге, стриатуме, коре и эпифизе составили 13,9, 1,58, 1,18, 1,17 и 0,48, соответственно. Это значит, что в различных отделах головного мозга крыс щелочные аминокислоты играют специфическую роль. В связи с этим следует обратить особое внимание на тот факт, что в эпифизе преобладает гистидин, а в гипоталамусе – аргинин. Суммарное распределение щелочных аминокислот в лимфоцитах разных органов аналогично таковому для кислых аминокислот. Функциональная активность этих клеток в разных органах сопряжена с некоторыми особенностями распределения щелочных аминокислот: в селезенке и тимусе лимфоциты содержат небольшое количество гистидина, а в лимфоцитах печени выявлена высокая концентрация лизина, превышающая уровень аргинина почти в 20 раз.

**Заключение.** В результате проведенных исследований установлено, что наибольшее содержание кислых аминокислот было обнаружено в гидролизатах эхинацеи, родиолы розовой и копреципитате; в казеине содержание этих аминокислот было почти в 3 раза меньше. Количество свободных аспарагиновой кислоты и глутаминовой кислоты в гемолимфе куколок дубового шелкопряда приближается к уровням этих аминокислот в гидролизате казеина. В сыворотке крови крыс отношение свободных аспарагиновой кислоты к глутаминовой кислоте приближается к 1:3. В печени и сердце крыс суммарное содержание кислых аминокислот было одного порядка – 11,9 и 14,5 мкмоль/г, соответственно. Однако соотношение аспарагиновой кислоты и глутаминовой кислоты носит противоположный характер – 3:1 в печени и 1:2,5 в сердце. В коре, стриатуме, гипоталамусе,

среднем мозге и эпифизе головного мозга крыс содержание глутаминовой кислоты превышает уровень аспарагиновой кислоты в 8,3, 7,1, 6,3, 4,9 и 3,6 раза, соответственно. Гидролизаты эхинацеи и родиолы розовой содержат наибольшие количества щелочных аминокислот. Гидролизат казеина существенно отличается от гидролизатов лекарственных растений тем, что в его составе преобладает гистидин. Одинаковое распределение щелочных аминокислот было обнаружено в гемолимфе куколок дубового шелкопряда и в сыворотке крови крыс. Соотношение аргинина, гистидина и лизина в печени и сердце отличается и составляет 6:6:2 и 2:2:3, соответственно. В эпифизе преобладает содержание гистидина, а в гипоталамусе – аргинина. Суммарное распределение щелочных аминокислот в лимфоцитах разных органов аналогично таковому для кислых аминокислот. Можно сделать заключение о вероятном наличии зависимости биологических и фармакодинамических эффектов кислых и щелочных аминокислот от их соотношения в различных биологических объектах.

*Автор статьи выражает благодарность кандидату биологических наук, доценту Е.М. Дорошенко за содействие в методической части работы.*

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Чиркин, А.А. Биохимия: учеб. руководство / А.А. Чиркин, Е.О. Данченко. – М.: Медицинская литература, 2010. – 624 с.
2. Чиркин, А.А. Содержание свободных аминокислот в безбелковых фракциях гемолимфы куколок дубового шелкопряда / А.А. Чиркин [и др.] // Вестн. Віцебск. дзярж. ун-та. – 2011. – № 6(66). – С. 46–53.
3. Бенсон, Дж. Хроматографический анализ аминокислот и пептидов на сферических смолах и его применение в биологии и медицине / Дж. Бенсон, Дж. Патерсон // Новые методы анализа аминокислот, пептидов и белков. – М., 1974. – С. 9–84.
4. Трокоз, В.А. Биологически активные продукты из дубового шелкопряда: аспекты использования с лечебно-профилактической целью / В.А. Трокоз, Т.Б. Аретинская, Н.В. Трокоз // Сборник тезисов 2 Всероссийской конференции по вопросам онкологии и анестезиологии мелких домашних животных. – М., 2006. – С. 21–28.
5. Чиркин, А.А. Функциональные и биохимические характеристики гемолимфы куколок дубового шелкопряда / А.А. Чиркин [и др.] // Медико-социальная экология личности: состояние и перспективы: материалы VIII Международ. конф., 1–2 апр. 2010 г. – Минск, 2010. – С. 130–132.

*Поступила в редакцию 12.03.2012. Принята в печать 14.06.2012  
Адрес для корреспонденции: e-mail: elena.danch@gmail.com – Данченко Е.О.*