

Біологія та фармація

Изучен жирнокислотный состав травы и корней и аминокислотный состав корней сельдерея пахучего (*Apium graveolens* L.). Методом газовой хроматографии установлено наличие 18 жирных кислот в исследуемом сырье. Среди идентифицированных компонентов преобладают ненасыщенные жирные кислоты (73,09% и 65,25% соответственно). С помощью аминокислотного анализатора Т339М Mikrotechna-Praha в корнях сельдерея обнаружено 16 аминокислот, в том числе 6 незаменимых и 3 частично заменимых. Содержание незаменимых аминокислот в корнях составляет 26,53% от общего количества. Установлено, что доминирующими аминокислотами в корнях сельдерея являются глутаминовая кислота (0,450 мг/100мг) и аргинин (0,27 мг/100мг).

I.I. Terninko, V.S. Kysfychenko
**STUDY OF THE AMINO AND FATTY ACID
COMPOSITION OF APIUM GRAVEOLENS L.**

УДК 615.451.16:577.112.3

- Л.І. Шульга, к.фарм.н., доц. каф. технол. та безпеки ліків
- *Інститут підвищення кваліфікації спеціалістів фармації
Національного фармацевтичного університету, м. Харків*

ДОСЛІДЖЕННЯ АМІНОКИСЛОТНОГО СКЛАДУ НАСТОЙКИ КОМПЛЕКСНОЇ ДІЇ

Серед актуальних проблем сучасної стоматології захворювання пародонту посідають одне з головних місць. Для їх лікування у переважній більшості застосовуються хіміотерапевтичні препарати, яким притаманна низка побічних ефектів, несприятливих для організму взагалі [11].

Альтернативними лікарськими засобами для включення до комплексної терапії означеної патології можуть бути фітопрепарати. У зв'язку з цим доцільними є дослідження, спрямовані на опрацювання нових лікарських засобів рослинного походження [3,10,13,14].

При місцевому лікуванні захворювань пародонту проводиться обробка порожнини рота пацієнтів у вигляді зрошень, інстиляцій у пародонтальні кишені розчинів лікарських засобів тощо. Тобто біологічно активні речовини фітозасобів певний час знаходяться у тісному контакті з тканинами зубів, пародонтом, слизовою оболонкою [9,11].

Клінічне застосування препаратів амінокислот порушує широке коло проблем сучасної медицини, але відсутність узагальнених відомостей щодо ролі амінокислот у стоматологічній практиці, а саме їх наявності у лікарських засобах місцевої дії для лікування захворювань ротової порожнини визначило вибір напрямку даного дослідження.

Проникність емалі живого зуба розцінюється як фізіологічний процес. За допомогою мічених атомів було виявлено, що у тверді тканини зубів у певних межах можуть проникати неорганічні та органічні сполуки, серед яких - і амінокислоти [4].

Головним нерозчинним білком у тканинах зуба є колаген, який має унікальну структуру - лівозакручену спіраль, яка істотно відрізняється від структури а-спіралі

Keywords: Celery, fatty acids, amino acids, aminoacid analyzer, gas chromatography

The fatty acids composition of the grass and roots and the amino acid composition of roots of celery (*Apium graveolens* L.) is studied. The presence of 18 fat acids in the probed raw material is set by the method of gas chromatography. The unsaturated fat acids predominate among the identified components (73,09% and 65,25% accordingly). By the amino acid analyzer of T339M Mikrotechna-praha 16 amino acid, including 6 irreplaceable and 3 partly replaceable, were found out in the roots of celery. The content of irreplaceable amino acids in roots is 26,53% from a general amount. It is set that the dominant amino acids in the roots of celery are glutamic acid (0,450 mg/100mg) and arginine (0,27 mg/100mg).

білків: крок спіралі є значно більшим, на один виток колагенової спіралі припадає 3 амінокислотних залишки [2]. Дана структура зумовлена специфічною послідовністю амінокислот: кожна третя - це гліцин (30%), вміст аланіну становить 11%, а проліну та гідроксипроліну - 21%. Надзвичайно високий вміст амінокислот проліну та гідроксипроліну перешкоджає утворенню класичної а-спіралі, надає ланцюгу колагену жорсткої вигнутої конформації.

Незамінна амінокислота лізин сприяє абсорбції кальцію, утворенню колагену та відтворенню тканин [5].

Відомо, що слина у фізіологічних умовах є мінералізуючим розчином, але слід відмітити, що, попри її перенасичений стан, не відбувається відкладення мінеральних компонентів на поверхні зубів [8]. Присутність у ротовій рідині пролін- та тирозинзбагачених білків перешкоджає спонтанній преципітації кальцію та фосфору із розчинів, які перенасичені даними мінеральними компонентами.

Важлива роль у забезпеченні ремінералізуючого потенціалу слини належить амінокислоті аргінін. За рахунок утворення позитивно заряджених агломератів «аргінін-карбонат кальцію», які при нейтральному значенні рН середовища осаджуються на негативно зарядженому дентині, відбувається утворення запечатуючого шару не тільки на поверхні, але й в глибині відкритих дентинних каналців. З огляду на це, для усунення гіперчутливості зубів розроблено та апробовано пасту з Pro-Argin™ технологією (Colgate® Sensitive Pro-Relief™, Colgate-Palmolive, USA) на основі комплексу 8% аргініну та карбонату кальцію [12].

Полярністю бокового ланцюга аргініну пояснюється його антимікробна дія. Зовнішні мембрани бактерій за-

ряджені негативно, а мембрани теплокровних практично нейтральні. Антимікробні пептиди, які містять аргінін, під час взаємодії з мембраною бактерій, змінюють її структуру та проникність. Завдяки цій здатності аргінін затримує ріст патогенної мікрофлори та сприяє тим самим загоєнню гнійних ран [1].

Важливу роль у життєдіяльності організму відіграє глутамінова кислота. Вона використовується, головним чином, при лікуванні захворювань центральної нервової системи. Глутамінова кислота відноситься до групи антиоксидантів непрямої дії, які беруть участь у синтезі біооксидантних ферментів та мають виражені протизапальні властивості.

Клінічно доведена терапевтична ефективність композиції антиоксидантів з есенціальними жирними кислотами (однією з інгредієнтів якої є глутамінова кислота) у комплексному лікуванні хворих на генералізований пародонтит у стадії загострення. Встановлено, що комплекс вітамінів-антиоксидантів з есенціальними жирними кислотами виявляє виражену місцеву протизапальну дію завдяки нормалізації показників вільнорадикального окислення та підвищення рівня місцевого імунітету [6].

У терапевтичній стоматології при гінгівітах, пародонтитах, стоматитах, карієсі застосовується ряд пребіотиків, до яких відносять, окрім вітамінів та ферментів, ще й амінокислоти [7].

Попередніми мікробіологічними та фармакологічними дослідженнями було обґрунтовано склад настойки «Касдент» для місцевого застосування у терапевтичній стоматології. Раціональна комбінація лікарської рослинної сировини розробленого фітозасобу дозволила розширити діапазон його фармакологічної активності - експериментально підтверджено наявність комплексної дії: антимікробної, антифунгальної, протизапальної та мембраностабілізуючої [3,15].

Метою даної роботи є проведення вивчення якісного складу амінокислот та їх кількісного вмісту у складній настойці «Касдент», яка справляє комплексну дію.

Матеріали та методи дослідження

Об'єктом дослідження була складна настойка «Касдент», одержана з лікарської сировини (корені солодки, кореневища і корені родовика, кореневища айру), яка придбана в аптечній мережі.

Вивчення якісного складу та визначення кількісного вмісту вільних та зв'язаних амінокислот настойки «Касдент» проводили за допомогою методу високоефективної рідинної хроматографії на хроматографі «Agilent Technologies» (модель 1100), який дає змогу провадити точний автоматичний аналіз амінокислот.

Для проведення аналізу було застосовано хроматографічну колонку AA 200*2,1 мм та захисну передколонку.

Для хроматографування використано два види рухомих фаз:

- розчин А (20 мМ натрію ацетату та 0,018% триетиламіну, доведений 1-2% оцтовою кислотою до рН 7,2 з додаванням 0,3% тетрагідрофурану);
- розчин В (40% СН₃CN, 40% MeOH та 20% 100

мМ натрію ацетату, доведений до рН 7,2 1-2% оцтовою кислотою).

Стискальність розчину А - 50*10⁻⁶ бар, В - 115*10⁻⁶ бар. Детектування проводили за допомогою УФ-детектору.

Хроматографування здійснювали у наступному режимі: об'ємна швидкість потоку - 0,450 мл/хв.; температура колонки - 40 °С.

Для визначення зв'язаних амінокислот зразок складної настойки піддавали кислотному гідролізу.

З метою оцінки точності часу утримання та площі, меж виявлення використовували розчини стандартів амінокислот.

Якісну та кількісну оцінку вмісту амінокислот у досліджуваних зразках настойки проводили шляхом порівняння часу утримання та площі одержаних піків амінокислот у пробах з відповідними параметрами вірогідних стандартних зразків амінокислот.

Результати дослідження та їх обговорення

Результати підтвердження якісного складу і визначення кількісного вмісту вільних та зв'язаних амінокислот складної настойки «Касдент» представлені у таблиці.

За даними вивчення ідентифіковано 18 амінокислот, з яких у вільному стані міститься 16, а у зв'язаному - 17 речовин цієї природи. Серед загальної кількості визначених амінокислот у вільному стані відсутні метіонін та валін, а з-поміж зв'язаних - серин.

Відмітимо, що загальний вміст зв'язаних амінокислот (1730,4 мг/л) перевищує вміст вільних (548,8 мг/л) - у 3,15 рази.

Слід також зазначити, що кількість вільних ациклічних (369,2 мг/л) менше ніж зв'язаних (1560,2 мг/л) у 4,23 рази при майже однаковому вмісті циклічних вільних (179,6 мг/л) та циклічних зв'язаних (170,2 мг/л) амінокислот.

У досліджуваній настойці, значно переважаючи решту вільних амінокислот, серед циклічних амінокислот превалює пролін (165,2 мг/л), а серед ациклічних - аліфатична заміщена амінокислота аспарагін (157,7 мг/л). Також серед вільних, але у меншій кількості, ідентифіковано аліфатичні заміщені амінокислоти: глутамін (62,2 мг/л), глутамінову кислоту (30,7 мг/л), аспарагінову кислоту (20,8 мг/л) та аліфатичну незаміщену амінокислоту аланін (35,5 мг/л).

Варто звернути увагу, що у найменшій кількості (по 1,9 мг/л) визначено аліфатичну незаміщену амінокислоту гліцин та гетероциклічну гістидин.

Домінують за вмістом у зв'язаному стані серед аліфатичних заміщених амінокислот глутамін (439,3 мг/л), аспарагінова кислота (366,1 мг/л) та глутамінова кислота (118,7 мг/л), поміж аліфатичних незаміщених - валін (393,7 мг/л), а серед циклічних - амінокислота пролін (128,1 мг/л).

Аналізуючи одержані дані відзначимо, що у складі досліджуваної настойки присутні 7 незамінних амінокислот: треонін, метіонін, валін, фенілаланін, ізолейцин, лейцин, лізин і 2 частково-замінні - аргінін та гістидин.

Слід відмітити, що хоча загальний вміст зв'язаних незамінних амінокислот у складній настойці «Касдент» і переважає вільні незамінні у 14,6 раз, для ряду незамінних

Результати визначення якісного складу та кількісного вмісту вільних та зв'язаних амінокислот у настійці «Касдент»

№ з/п	Амінокислота	Загальна формула	Час утримання, хв.	Вміст амінокислот (У мг/л)	
				вільні	зв'язані
I. Ациклічні амінокислоти					
Аліфатичні незаміщені					
1.	Гліцин	$C_2H_5O_2N$	2,50	1,9	6,4
2.	Аланін	$C_3H_7O_2N$	2,86	35,5	52,3
3.	Валін*	$C_6H_{11}O_2N$	3,62	0,0	393,7
4.	Лейцин*	$C_6H_{13}O_2N$	4,06	5,8	5,5
5.	Ізолейцин*	$C_6H_{13}O_2N$	4,02	14,5	6,1
	Сума			57,7	464,0
Аліфатичні заміщені					
1.	Серин	$C_3H_7O_3N$	2,11	14,8	0,0
2.	Треонін*	$C_4H_9O_2N$	2,31	7,7	3,6
3.	Метіонін*	$C_5H_{10}O_2NS$	3,40	0,0	97,5
4.	Аспарагінова кислота	$C_4H_6O_4N$	2,08	20,8	366,1
5.	Глутамінова кислота	$C_5H_8O_4N$	2,20	30,7	118,7
6.	Аспарагін	$C_4H_8O_3N_2$	1,92	157,7	2,5
7.	Глутамін	$QH_{10}O_3N_2$	2,00	62,2	439,3
8.	Лізин*	$C_6H_{13}O_2N_2$	5,13	3,9	26,2
9.	Аргінін**	$C_6H_{15}O_2N_4$	2,43	13,7	42,3
	Сума			311,5	1096,2
II. Циклічні амінокислоти					
Ароматичні					
1.	Фенілаланін*	$C_9H_{12}O_2N$	3,83	6,8	32,3
2.	Тирозин	$C_9H_{13}O_3N$	2,91	5,7	7,1
	Сума			12,5	39,4
Гетероциклічні					
1.	Гістидин**	$C_6H_7O_2N_3$	5,05	1,9	2,7
	Сума			1,9	2,7
Циклічні амінокислоти					
1.	Пролін	$C_5H_9O_2N$	3,23	165,2	128,1
	Сума			165,2	128,1
Загальний вміст амінокислот				548,8	1730,4

Примітки: * - незамінна амінокислота;
• - частково-замінна амінокислота

речовин спостерігаємо навпаки: треоніну більше у 2,14 раз, а ізолейцину - у 2,38 у вільному стані. А для амінокислоти лейцину характерний лише дещо більший вміст (5,8 мг/л) серед вільних у порівнянні із відповідним значенням (5,5 мг/л) у ряду зв'язаних.

Для частково-замінних аргініну, гістидину характерним є присутність у фітозасобі «Касдент» у більшій кількості у зв'язаному стані, ніж у вільному (у 3,1 та 1,4 рази відповідно).

Висновки

1. Присутність амінокислот у лікарських засобах рослинного походження має чимале практичне значен-

ня як для сучасної медицини у цілому, так і для стоматології зокрема.

2. За допомогою методу високоефективної рідинної хроматографії досліджено склад біологічно активних вільних та зв'язаних амінокислот та їх кількісний вміст у складній настійці «Касдент». У результаті проведеного вивчення ототожнено та кількісно визначено 18 амінокислот, у тому числі 7 незамінних та 2 частково-замінні.

3. Наявність амінокислот у досліджуваній настійці комплексної дії передбачає терапевтичну ефективність розробленого фітозасобу при лікуванні захворювань ротової порожнини.

Література

1. Аргинин в медичинській практиці (обзор літератури) / Ю.М. Степанов, І.Н. Кононов, А.І. Журбіна, А.Ю. Філіпцова // Журн. АМН України. - 2004. - Т. 10, № 2. - С. 339-351.
2. Вавилова Т.П. Биохимия тканей и жидкостей полости рта: учебное пособие. 2-е изд., испр. и доп. / Т.П. Вавилова. - М.: ГЭОТАР-Медиа, 2011. - 208 с.
3. Вивчення мембраностабілізуючої активності рослинного лікарського засобу / Л.І. Шульга, О.А. Щербак, Л.М. Малоштан, О.Ф. Пімінюв // Фармац. часопис. - 2011. - № 3. - С. 99-101.
4. Крихели Н.И. Влияние отбеливающих препаратов на проницаемость эмали, ее минеральный состав и структуру твердых тканей зуба / Н.И. Крихели, О.О. Янушевич // Рос. стоматол. - 2009. - № 3. - С. 20-25.
5. Лизин - одна из важнейших незаменимых аминокислот в обеспечении полноценного питания / А.С. Фаустов, М.И. Чубирко, О.В. Борошева [и др.] - Воронеж: Воронежский государственный университет, 2003. - 88 с.
6. Новикова М.А. Местное применение композиции антиоксидантов с эссенциальными жирными кислотами в комплексном лечении больных генерализованным пародонитом в стадии обострения / М.А. Новикова // Вісн. стоматол. - 2010. - № 4. - С. 22-25.
7. Применение пребиотиков в стоматологии / А.П. Левицкий, О.В. Деньга, И.А. Селиванская, О.А. Макаренко // Вісн. стоматол. - 2010. - № 2. - С. 21-22.
8. Сидельникова Л. Ф. Влияние жевательной нагрузки на состав и свойства ротовой жидкости и ткани пародонта. Сообщение II / Л. Ф. Сидельникова, С.М. Захарова, Ж.И. Рахний // Современ. стоматол. - 2010. - № 2. - С. 14-16.
9. Сучасні принципи та способи місцевого медикаментозного лікування хворих на генералізований пародонтит / С.М. Рябоконт, М.Б. Худякова, Ю.А. Черепинська [та ін.] // Стоматолог. - 2010. - № 6. - С. 33-36.
10. Цуркан О.О. Вивчення амінокислотного складу листя та кори шовковиці білої (*Morus alba* L.) і шовковиці чорної (*Morus nigra* L.) / О.О. Цуркан, Т.В. Ковальчук, О.В. Гергель // Фітотерапія. Часопис. - 2010. - № 3. - С. 56-58.
11. Чумакова Ю.Г. Рациональная антибиотикотерапия в комплексном лечении больных с генерализованным пародонитом / Ю.Г. Чумакова, С.П. Басова, В.В. Перекрест // Укр. мед. часопис. - 2000. - № 6. - С. 69-74.
12. A breakthrough therapy for dentin hypersensitivity: how dental products containing 8% arginine and calcium carbonate work to deliver effective relief of sensitive teeth / I. Petrou, R. Heu, M. Stranick, S. Lavender // J. Clin. Dent. - 2009. - № 20 (1). - P. 23-31.
13. Dahanukar S.A. Pharmacology of medicinal plants and natural products / S.A. Dahanukar, R.A. Kulkarni, N.N. Rege // Ind. J. Pharmacol. - 2000. - Vol. 32. - S. 81-118.
14. Phytomedicine: An ancient approach turning into future potential source of therapeutics / Mukeshwar Pandey, Mousumi Debnath, Shobit Gupta, Surender K. Chikara // J. Pharmacogn. Phytother. - 2011. - Vol. 3 (3). - P. 27-37.
15. Shulga L.I. Experimental substantiation of herb material selection in the making of complex tincture for periodontics / L.I. Shulga, S.V. Biriukova, O.F. Piminov // Annals of Mechnikov Inst. - 2011. - № 1. - P. 30-33.

Надійшла до редакції 21.12.2011

УДК: 615.451.16:577.112.3

Л.І. Шульга

ДОСЛІДЖЕННЯ АМІНОКИСЛОТНОГО СКЛАДУ НАСТОЙКИ КОМПЛЕКСНОЇ ДІЇ

Ключові слова: складна настойка, амінокислоти, якісний склад, кількісний вміст

З позиції сучасних уявлень щодо ролі амінокислот підкреслено значущість їх наявності у стоматологічних лікарських засобах місцевої дії. Проведено визначення якісного складу та кількісного вмісту амінокислот у складній настійці. Дослідженням ідентифіковано 18 речовин, серед яких незамінні (треонін, метіонін, валін, фенілаланін, ізолейцин, лейцин, лизин) та частково-замінні (аргінин, гістидин) амінокислоти.

Л.И. Шульга

ИССЛЕДОВАНИЕ АМИНОКИСЛОТНОГО СОСТАВА НАСТОЙКИ КОМПЛЕКСНОГО ДЕЙСТВИЯ

Ключевые слова: сложная настойка, аминокислоты, качественный состав, количественное содержание

С точки зрения современных представлений о роли аминокислот, акцентирована важность их присутствия в стоматологических лекарственных средствах местного действия. Проведено определение качественного состава и количественного содержания аминокислот в сложной настійке. Исследованием идентифицированы 18 веществ, среди которых незаменимые (треонин, метионин, валин, фенилаланин, изолейцин, лейцин, лизин) и частично заменимые (аргинин, гистидин) аминокислоты.

L.I. Shulga

INVESTIGATION OF THE AMINOACID COMPOSITION OF TINCTURE WITH COMPLEX ACTION

Keywords: complex tincture, aminoacids, qualitative composition, quantitative content

The importance of aminoacids presence in stomatological drugs for local actions were accentuated in terms of up-to-date conceptions about the significance of aminoacids. The qualitative composition and quantitative content of the aminoacids in the complex tincture were determined. Eighteen substances were identified by the study, among them there were irreplaceable (threonine, methionine, valine, phenylalanine, isoleucine, leucine, lysine) and partially replaceable (arginine, histidine) aminoacids.