

**ДЕЙСТВИЕ СИНТЕТИЧЕСКИХ СОЕДИНЕНИЙ РЯДА ФЕНИЛПРОПАНОИДОВ
НА РАСЩЕПЛЕНИЕ ЖЕЛАТИНА ПЕПСИНОМ**

Н.В. Жур, 4 курс

Научные руководители – В.Н. Никандров, д.б.н., профессор

Полесский государственный университет

В.Н. Коваленко, к.х.н., доцент

Белорусский государственный педагогический университет

имени Максима Танка

Протеолиз является одним из генеральных механизмов биохимической регуляции в жизнедеятельности практически всех организмов, а также участвует в инициации или проявлении всех основных патологических процессов [1]. Направленная регуляция протеолиза составляет одну из важных проблем ряда современных химических, биологических и медицинских наук.

Среди реакций протеолиза в последние десятилетия пристальное внимание привлекает воздействие на активность аспартильной протеиназы вируса иммунодефицита человека (ЕС 3.4.23.16), которая является по структуре чрезвычайно близкой к пепсину желудка (ЕС 3.4.23.1) [2]. В последнее десятилетие ведется интенсивный поиск специфических ингибиторов этой протеиназы. Одним из направлений было создание квазисубстратов пептидной природы [3].

Вместе с тем, выдвинута концепция кислород-зависимого протеолиза [4,5], давшая импульс разработке создания ингибиторов протеолиза иного плана. Так, показано подавление активности ряда протеолитических энзимов перехватчиками супероксидного радикала [1,6,7], предложено использование для этих целей, модифицированных (диазотированных и сульфатированных) производных соединения полиареновой природы – лигнина [8,9], а также ряда оксидоредуктантов [4,5].

В этой связи целесообразно испытание разнообразных химических аналогов природных соединений на протеолитическую активность пепсина.

Цель настоящей работы – выявить возможность подавления протеолитической активности пепсина соединениями ряда фенилпропаноидов.

Материалы и методы. В работе использованы пепсин свиньи (Sigma, США), желатин (Fluka, Германия), бактоагар (Melford, США). Остальные реактивы были производства стран СНГ квалификации «хч».

Соединения ряда фенилпропаноидов предоставлены научно-образовательной лабораторией биохимии и биотехнологии Белорусского государственного педагогического института имени М. Танка.

Протеолитическую активность пепсина оценивали по расщеплению желатина в тонком слое агарового геля в 0,2 М ацетатном буфере рН 1,5 как подробно описано ранее [11]. На белок-агаровые пластины наносили аликвоты по 10 мкл раствора пепсина в концентрации 0,3 г/л. Зоны лизиса визуализировали обработкой белок-агаровых пластин 1 н трихлоруксусной кислотой. Все эксперименты выполнены четырехкратно, результаты обработаны статистически.

Результаты и обсуждение. Исследования проведены на 13 образцах соединений органического синтеза в диапазоне концентраций 10^{-8} – 10^{-2} М. Интенсивность лизиса желатина в контроле составила $149,8 \pm 14 \text{ мм}^2$.

Оказалось, что только 4 соединения существенно изменяли желатинолитическую активность пепсина. В остальных случаях сдвиги ее во

всем диапазоне концентраций не превышали $\pm 4,05\%$ и не были статистически достоверны.

Соединения №№ 1, 2 и 3 (рисунок) оказали ингибирующее действие на активность пепсина.

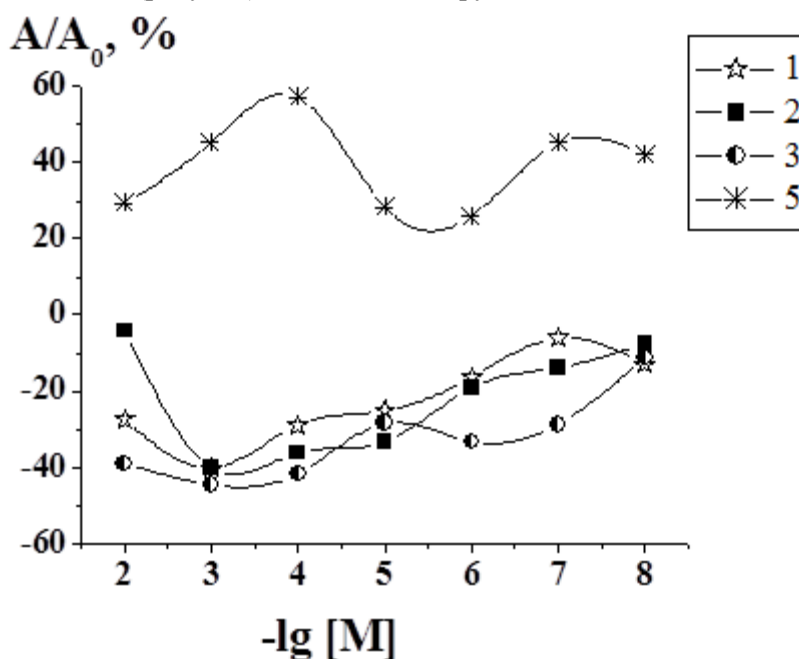


Рисунок – Изменения расщепления желатина под действием пепсина при добавлении в реакционную систему синтетических соединений ряда фенилпропаноидов (в % к контролю, принятому за 100%)

Наиболее выраженное действие исследуемых соединений было выявлено в концентрации 10^{-3} М. Так, вещество № 1 угнетало активность пепсина на 40,4%, вещество № 2 на 40,4%, а вещество № 3 оказало несколько более выраженное влияние на активность энзима, снизив ее на 44,7% (ри-

сунок). Неожиданным был эффект соединения № 5, вызвавшее увеличение активности пепсина на 44,2% и 57,2% в концентрациях 10^{-3} и 10^{-4} М соответственно.

Выводы. Таким образом, отдельные представители синтетических фенилпропаноидов способны оказывать умеренной силы разнонаправленное действие на активность пепсина. Полученные результаты открывают перспективы для дальнейших работ по созданию более сильных ингибиторов на каталитическую активность пепсина, а также изучения специфичности и характера ингибиторного действия подобных соединений.

Список использованных источников

1. Никандров, В.Н. Протеолиз как универсальный механизм регуляции биохимических и биологических процессов. Дискуссионные аспекты. / В.Н. Никандров, Н.С. Пыжова // известия НАН Беларуси сер. мед. наук. – 2008. – № 1. – С. 4-22.
2. Cascella, M. Et al. Evolutionarily conserved functional mechanics across pepsin-like and retroviral aspartic proteases./ M. Cascella et al.// J. Am. Chem. Soc. 2005, 127, P. 3734.
3. Ghosh, A. K. Design and Development of Highly Potent HIV-1 Protease Inhibitors with a Crown-Like Oxotricyclic Core as the P2-Ligand To Combat Multidrug-Resistant HIV Variants./ A.K. Ghosh, K.V. Rao et al. // Journal of Medicinal Chemistry, 2017, 60(10), P. 4267-4278.
4. Пыжова, Н.С. Участие активных форм кислорода в процессах протеолиза : дис. канд. биол. наук 03,00,04/ Пыжова Н.С. – Минск, 1990. – 193 с.
5. Pyzhova, N.S. The conception of oxygen-dependent pathway of plasminogen activation and the streptokinase (SK) inhibitors creation (In: “Second Internat. Sumposium on Biochemical Engineering) /N.S. Pyzhova, V.N. Nikandrov //Abstracts. “Stuttgart”, – 1991 – p. 50
6. Nikandrov, V.N. On the plasminogen-activating function of streptokinase./ V.N. Nikandrov // Intern. J. Biochem. Vol. 24, № 1, 1992. P. 47-53.
7. Никандров, В.Н. Нетривиальные проявления протеолиза на молекулярном и клеточном уровнях, их фундаментальное и прикладное значение/ В.Н. Никандров, Н.С. Пыжова// Новости медико-биол. наук, 2010, № 3, с. 14–28. – 1990.
8. Способ получения ингибитора стрептокиназы: Авт. свид. № 1631982 /В.Н. Никандров, М.А. Зильберглейт, Н.С. Пыжова, В.С. Лисова, Т.В. Корнейчик, В.М. Резников.
9. Средство для ингибирования стрептокиназы: патент ВУ 5821/ М.А. Зильберглейт, В.С. Лисова, Н.С. Пыжова, В.Н. Никандров. Оpubл. – 29.08.2003.
10. Никандров, В.Н. Методы исследования протеолиза. Глава 5 / В.Н. Никандров, Н.С. Пыжова // Современные проблемы биохимии. Методы исследований. – Минск: Выш. шк. – 2013. – С. 132-157.