



НАЦИОНАЛЬНАЯ АКАДЕМИЯ НАУК БЕЛАРУСИ
ОТДЕЛЕНИЕ ХИМИИ И НАУК О ЗЕМЛЕ
ГОСУДАРСТВЕННОЕ НАУЧНО-ПРОИЗВОДСТВЕННОЕ
ОБЪЕДИНЕНИЕ «ХИМИЧЕСКИЙ СИНТЕЗ И БИОТЕХНОЛОГИИ»
ИНСТИТУТ БИООРГАНИЧЕСКОЙ ХИМИИ НАН БЕЛАРУСИ
БЕЛОРУССКИЙ РЕСПУБЛИКАНСКИЙ ФОНД ФУНДАМЕН-
ТАЛЬНЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ



III МЕЖДУНАРОДНАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ
80-ЛЕТИЮ НАЦИОНАЛЬНОЙ АКАДЕМИИ НАУК БЕЛАРУСИ
И 95-ЛЕТИЮ АКАДЕМИКА А.А.АХРЕМА ПОСВЯЩАЕТСЯ

ХИМИЯ, СТРУКТУРА И ФУНКЦИЯ БИОМОЛЕКУЛ



г. Минск
1–3 октября 2008 г.

Минск
ИООО «Право и экономика»
2008

ВЛИЯНИЕ ИОННОЙ СИЛЫ РЕАКЦИОННОЙ СРЕДЫ НА ИНГИБИТОРНОЕ
ДЕЙСТВИЕ 2-(ЦИС,ЦИС-9,12-ОКТАДЕКАДИЕНОИЛ)-ЦИКЛОГЕКСАН-1,3-ДИОНА
ПО ОТНОШЕНИЮ К ПАНКРЕАТИЧЕСКОЙ ФОСФОЛИПАЗЕ А₂

Г.Н. Антончик, Н.М. Литвинко, Н.Г. Огейко, И.И. Петрусевич

Институт биоорганической химии НАН Беларуси, Республика Беларусь, antonchik@gmail.com

Процесс торможения активности фермента может изменяться под влиянием многих факторов. Исследования такого рода изменений часто дают сведения о природе молекулярных процессов, происходящих при взаимодействии фермента с ингибитором. В данной работе в качестве такого фактора использовали ионную силу. Изменение ионной силы в реакционной среде обычно оказывает влияние на кинетику ферментативных реакций и на восприимчивость ферментов к действию ингибиторов. С изменением количества фосфолипазы А₂ (ФЛА₂, КФ 3.1.1.4) связан ряд патологических состояний организма, таких как псориаз, ишемический инсульт, острый некротический панкреатит, ревматоидный артрит [1]. Фосфолипаза А₂ – липолитический фермент, который катализирует гидролиз эфирной связи по *sn*-2 положению фосфолипидов [2]. Таким образом, одной из проблем, которые необходимо решить при исследовании ФЛА₂, является поиск эффективных ингибиторов и активаторов данного фермента с целью лечения и профилактики ряда заболеваний.

Целью настоящей работы было изучение влияния ионной силы реакционной среды на активность панкреатической фосфолипазы А₂ под воздействием 2-ацилциклогексан-1,3-дионон.

Среди 6 исследованных соединений ряда 2-ацилциклогексан-1,3-дионон, различающихся по структуре ацильного радикала, выявлено соединение 2-(*цис,цис*-9,12-октадекадиеноил)-циклогексан-1,3-дион (№ 4), обладающее ингибиторным действием по отношению к панкреатической ФЛА₂.

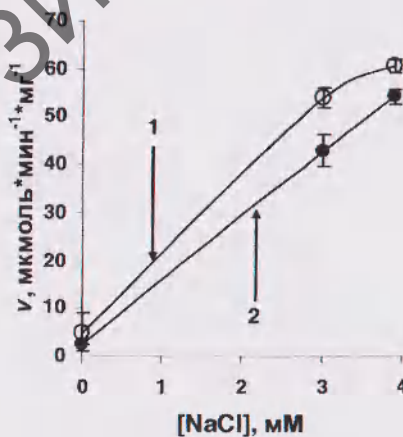


Рисунок 1 – Зависимость скорости гидролиза ФХ ФЛА₂ от концентрации NaCl в реакционной среде ([ФХ]=0,5 мМ, [ФХ]:[детергент]=Na 1:2, [ФЛА₂]=5 мкг/мл): 1 – контрольная реакция, 2 – реакция в присутствии соединения № 4

Известно, что увеличение ионной силы реакционной среды экранирует электростатические взаимодействия. С целью установления роли электростатических сил при взаимодействии ингибитора с ферментом проводили измерение активности фермента при различных значениях ионной силы раствора. Изменение ионной силы реакционной среды осуществлялось посредством добавления различного количества NaCl.

В качестве субстрата для ФЛА₂ использовали смешанные мицеллы фосфатидилхолина (ФХ) с анионным детергентом дезоксихолатом натрия в соотношении 1:2. Исследуемое соединение №4 добавляли в реакционную среду до начала реакции в количестве 0,4 мкмоль/мл. Реакцию начинали внесением фермента. Реакцию останавливали с помощью трехкратного избытка этилендиаминтетраацетата (ЭДТА) по сравнению с CaCl₂. Фосфолипид и его лизоформу экстрагировали смесью хлороформ:метанол (1:2). Содержание ФХ и лизо-ФХ определяли с помощью реактива Васьковского [3].

Скорость гидролиза субстрата оценивали по образованию лизопродукта в мкмоль/мин на 1 мг белка (v_0 – начальная скорость реакции фермента в контроле, v – в присутствии эффектора) (рисунок 1).

О влиянии исследуемых веществ на ФЛА₂ судили по соотношению начальной скорости реакции в присутствии эффектора и без (v/v_0). В результате было установлено, что при увеличении содержания NaCl в реакционной среде от 0 до 3,9 М ингибирование активности панкреатической ФЛА₂ ($1 - v/v_0$, %) соединением №4 снижалось с 31,2 % (0 М NaCl) до 10,7 % (3,9 М NaCl). Таким образом, с увеличением ионной силы средство фермента к ингибитору уменьшается, что свидетельствует об электростатической природе связывания фермента с ингибитором. Это можно объяснить, исходя из предположения о взаимодействии отрицательно заряженного ингибитора с положительно заряженными группами активного центра.

Представленная работа выполнена при финансовой поддержке Белорусского республиканского фонда фундаментальных исследований по проекту № Б07М-188.

ЛИТЕРАТУРА

- [1] Кучуро, С.В., Бабицкая С.В., Рубиной Д.Б., Желдакова Т.А., Жукова М.В., Литвинко Н.М. *Биорегуляторы: исследование и применение: сб. науч. тр.* 2004. 159.
- [2] Six D., Dennis E. *Bioch. Biophys. Acta*, 2000. 1488. 1.
- [3] Vaskovsky V.E., Kostetsky E.Y., Vasculdin J.M. *Journal of Chromatography*. 1975. 114,129.