СИНТЕЗ ФОСФАТИДНОЙ КИСЛОТЫ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ БАКТЕРИАЛЬНОЙ ФОСФОЛИПАЗЫ D

SYNTHESIS OF PHOSPHATIDIC ACID USING BACTERIAL PHOSPHOLIPASE D

**Н. С. Бурова¹, Л. Л. Биричевская², М. В. Жукова³, М. А. Кисель³, А. И. Зинченко^{1,2}
N. Burova¹, L. Birichevskaya², M. Zhukova³, M. Kisel³, A. Zinchenko^{1,2}**

¹Белорусский государственный университет, МГЭИ им. А. Д. Сахарова БГУ,

²Институт микробиологии НАН Беларуси

³Институт биоорганической химии НАН Беларуси,

г. Минск, Республика Беларусь

zinch@mbio.bas-net.by

¹International Sakharov Environmental Institute BSU

²Institute of Microbiology, National Academy of Sciences of Belarus

³Institute of Bioorganic Chemistry, National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Republic of Belarus

Исследована возможность использования фосфолипазы D отобранных ранее штаммов *Streptomyces netropsis* БИМ В-235 и *Streptomyces cinnamoneus* БИМ В-236 для получения из соевого лецитина фосфатидной кислоты, которая по литературным данным стимулирует синтез белка в скелетных мышцах человека и животных.

Полученные результаты свидетельствуют о возможности успешного использования фосфолипазы D, продуцируемой изученными штаммами микроорганизмов при синтезе фосфатидной кислоты, перспективной для фармакологического обеспечения спорта высших достижений.

Herein, the enzymatic synthesis of phosphatidic acid from soy bean lecithine was carried out using phospholipase D from earlier selected strains of *Streptomyces netropsis* and *Streptomyces cinnamoneus*. The title substance according to literary data stimulates protein synthesis in human and animals skeleton muscles.

The obtained results indicate attractive prospects of the bacterial phospholipase D produced by studied strains of microorganisms as a biocatalyst for production of phosphatidic acid, which is necessary for elite sport pharmacological providing.

Ключевые слова: фосфатидная кислота, фосфолипаза D, биокаталитический синтез.

Keywords: phosphatidic acid, phospholipase D, biocatalytic synthesis.

Фосфатидная кислота (или 1,2-диацил-*sn*-глицеро-3-фосфат) – природный фосфолипид, молекула которого состоит из глицеринового остова, двух жирнокислотных остатков и фосфатной группы. Жирная кислота в положении *sn*-1 часто является насыщененной, тогда как жирная кислота в положении *sn*-2 обычно ненасыщенная. Фосфатидная кислота в малом количестве содержится во всех клеточных мембранах. При этом она может образовываться в клетках в результате биосинтеза или поступать в организм с пищей.

В последние годы установлено, что при употреблении в качестве пищевой добавки фосфатидной кислоты повышается анаболизм белков в скелетных мышцах с одновременным снижением скорости их катаболизма. При этом в ряде исследований показано, что прием фосфатидной кислоты с пищей в комбинации с выполнением силовых тренировок может стимулировать большее увеличение мышечной силы и рост мышц, чем обычные силовые тренировки [1–3].

Обычно фосфатидную кислоту получают ферментативным путем из доступного животного или растительного лецитина с использованием фосфолипазы D – фермента, изолированного из клеток капусты [4–5]. В настоящем исследовании мы изучили возможность использовать гидролазную активность микробных фосфолипаз D для получения фосфатидной кислоты из лецитина сои.

Сухие ферментные препараты фосфолипазы D из фильтрата культуральной жидкости штаммов *Streptomyces netropsis* БИМ В-235 (далее *S. netropsis*) и *Streptomyces cinnamoneus* БИМ В-236 (далее *S. cinnamoneus*) получали путем осаждения ацетоном, как описано нами ранее [6]. Синтез осуществляли в водно-буферной реакционной среде, а также в двухфазной реакционной системе с добавлением 40 об.% хлороформа. В качестве субстрата использовали препарат соевого лецитина Erikuon 200 («Lucas Meuer», Германия).

Показано, что гидролитическая активность ферментов из обоих микроорганизмов выше в реакционной среде с добавлением хлороформа по сравнению с водно-буферной системой. Однако для фермента из *S. netropsis* разница оказалась гораздо более драматичной. Присутствие хлороформа увеличивает его активность более чем в 100 раз; выход фосфатидной кислоты при этом составляет около 90 % за 2 ч реакции, тогда как в буферной среде – около 20 % за 3 ч реакции при увеличенном в 2 раза содержании ферментного препарата. Фосфолипаза D из *S. cinnamoneus* осуществляет реакцию в среде с добавлением хлороформа несколько медленнее, чем

фермент из *S. netropsis* (525 ед. и 900 ед. соответственно), однако при исключении органического растворителя из реакционной смеси, гидролитическая активность фермента снижается лишь в 15 раз.

Поскольку технология получения фосфатидной кислоты в реакционной среде без добавления хлороформа является гораздо более привлекательной, нами была изучена динамика накопления целевого продукта в данных условиях с использованием фосфолипазы D из *S. cinnamoneus*. По литературным данным, большое значение для проявления активности ферментов из группы фосфолипаз D имеет наличие или отсутствие ионов Ca^{2+} . Показано, что фермент из *S. cinnamoneus* является Ca^{2+} -независимым, однако присутствие ионов Ca^{2+} незначительно ускоряет реакцию синтеза фосфатидной кислоты на начальной стадии (активность фермента составляет 34 ед. и 26 ед. в присутствии и в отсутствии ионов Ca^{2+} соответственно) и существенно увеличивает конечный выход продукта (с 52 % до 97–99 %).

Таким образом, сухие ферментные препараты фосфолипазы D из *S. cinnamoneus* и *S. netropsis* могут применяться в качестве катализаторов при получении фосфатидной кислоты биотехнологическим способом. Перспективным, на наш взгляд, является использование фермента из *S. cinnamoneus* в реакционной среде без органических растворителей, в присутствии ионов Ca^{2+} , что позволяет достичь выхода целевого продукта более 98 % за 3,5–4 ч реакции.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Shad, B. J.* The mechanistic and ergogenic effects of phosphatidic acid in skeletal muscle / B. J. Shad [et al.] // *Appl. Physiol. Nutr. Metab.* – 2015. – Vol. 40, № 12. – P. 1233–1241.
2. *Escalante, G.* The effects of phosphatidic acid supplementation on strength, body composition, muscular endurance, power, agility, and vertical jump in resistance trained men / G. Escalante [et al.] // *J. Int. Soc. Sports Nutr.* – 2016. – Vol. 13.:24.
3. *Bond, P.* Phosphatidic acid: biosynthesis, pharmacokinetics, mechanisms of action and effect on strength and body composition in resistance-trained individuals / P. Bond // *Nutr. Metab.* – 2017. – Vol. 14.:12.
4. *Бергельсон Л. Д.* Препаративная биохимия липидов / Л. Д. Бергельсон [и др.]. – М. : Наука, 1981. – 256 с.
5. *Микулович Ю. Л.* Антибактериальная активность экзогенных анионных фосфолипидов в отношении *Mycobacterium tuberculosis* и *Escherichia coli* / Ю. Л. Микулович [и др.] // *Тонкие химические технологии.* – 2016. – Т. 11, № 3. – С. 64–73.
6. *Birichevskaja, L. L.* Application of *Streptomyces netropsis* phospholipase D for synthesis of phosphatidylserine / L. L. Birichevskaja [et al.] // *Biotechnology, biodegradation, water and foodstuffs* / Eds. G. E. Zaikov and L. P. Krylova. – New York, 2009. – P. 65–71.

ГИГИЕНИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ УСТОЙЧИВОСТИ ОТДЕЛОЧНЫХ И ИНТЕРЬЕРНЫХ МАТЕРИАЛОВ ПРИ ПРИМЕНЕНИИ ДЕЗИНФИЦИРУЮЩИХ СРЕДСТВ

HYGIENIC ASPECTS OF SUSTAINABILITY OF FINISHING AND INTERIOR MATERIALS IN APPLICATION OF DISINFECTANTS

V. M. Василькевич, Ю. А. Соболев, Р. В. Богданов.
V. Vasilkevich, Y. Sobol, R. Bogdanov

*Республиканское унитарное предприятие «Научно-практический центр гигиены»,
г. Минск, Республика Беларусь
sabas2004@mail.ru*

Republican unitary enterprise «Scientific practical centre of hygiene», Minsk, Republic of Belarus

Разработана методика, которая позволяет оценить устойчивость отделочных и интерьерных материалов к действию дезсредств, дать заключение о возможности использования материалов по назначению в помещениях с повышенными требованиями к дезрежиму.

The developed method, which allows to assess the stability of the finishing and interior materials to the action of disinfectants, to give an opinion on the possibility of using materials on the premises with high requirements to disinfection.

Ключевые слова: отделочные материалы, устойчивость, дезинфицирующие средства.

Keywords: finishing materials, stability, disinfectants.

По данным ВОЗ, более 80 % всех регистрируемых в мире случаев инфекционных заболеваний составляют иммунологически неуправляемые инфекции, которые не поддаются эффективным методам вакцинопрофилактики. В связи с этим борьба с микроорганизмами требует разработки и применения неспецифических средств антимикробной профилактики, среди которых ведущую роль играют дезинфектологические технологии. Необходимо отметить, что основным методом дезинфекции в настоящее время является химический, основанный на применении химических веществ и соединений.