

УДК 577.1

И.В. СЕМАК, В.П. КУРЧЕНКО, М.В. ШОЛУХ

БИОХИМИЯ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ

Research achievements of Department of Biochemistry in the field of biochemistry of biologically active compounds are reviewed.

Мелатонин и серотонин

Серотонин (5-гидрокситриптамин) и мелатонин (N-ацетил-5-метокситриптамин) контролируют многие жизненно важные физиологические и биохимические процессы, протекающие в организме позвоночных. Проведенные на кафедре биохимии исследования позволили расширить существующие представления о метаболизме данных соединений и биологической активности их метаболитов [1–11]. На молекулярно-биологическом и биохимическом уровнях были изучены серотонин- и мелатонинэргические системы в коже млекопитающих [2, 4–11], открыты новые пути метаболизма нейрого르몬а мелатонина [1, 3]. Экспериментально доказано, что при физиологических условиях метаболизм мелатонина в митохондриях печени обеспечивается благодаря цитохром Р-450-опосредованным реакциям деметилирования и гидроксирования. В митохондриях и микросомах печени крыс образуется шесть метаболитов мелатонина, четыре из которых идентифицированы как N-ацетилсеротонин, 2-гидроксимелатонин, 6-гидроксимелатонин и N₁-ацетил-N₂-формил-5-метоксикинурамин (АФМК). В метаболизм мелатонина в митохондриях печени крыс кроме СYP1A2 вовлечены дополнительно СYP3A и СYP2E1, в то время как СYP3A и СYP2C6 отвечают главным образом за метаболизм мелатонина в микросомах печени [1].

Установлено, что в условиях окислительного стресса мелатонин в митохондриях подвергается реакциям псевдопероксидазного окисления, катализируемым цитохромом *c*. Псевдопероксидазное окисление мелатонина цитохромом *c* до N₁-ацетил-N₂-формил-5-метоксикинурамина и N₁-ацетил-5-метоксикинурамина проходит через последовательное образование в качестве основных интермедиатов 2-гидроксимелатонина и 2,3-дигидроксимелатонина [3].

Получены данные, подтверждающие высокую вероятность реакции псевдопероксидазного окисления мелатонина цитохромом *c* в условиях *in vivo*. АФМК и 2-гидроксимелатонин были обнаружены в эпифизе и митохондриях сердца крыс [3].

Установлено, что мелатонин и его метаболиты оказывают модулирующее действие на ферменты антиоксидантной защиты и комплексы дыхательной цепи митохондрий, препятствуют развитию перекисного окисления липидов и окислительному повреждению митохондриальных белков.

Изучена биотрансформация серотонина в коже грызунов (хомяков, мышей и крыс). Установлено, что серотонин может подвергаться реакциям ацетилирования и окислительного дезаминирования, ка-

тализируемым арилалкиламин N-ацетилтрансферазой и моноаминоксидазой соответственно [2, 11]. Полученные результаты свидетельствуют о том, что кожа может активно участвовать в нейтрализации циркулирующего в крови серотонина в результате его включения в процессы биосинтеза мелатонина либо благодаря ферментативной деградации до биологически неактивных продуктов.

Обнаружено, что арилалкиламин N-ацетилтрансферазная активность варьирует в зависимости от вида животного, анатомической локализации анализируемого образца кожи, стадии роста волос и наличия патологии [2, 6, 8]. Очевидно, что метаболические превращения серотонина являются важным звеном целого ряда процессов, происходящих в коже как в естественных условиях, так и при различных заболеваниях.

Стероиды

Цитохром P450scс (CYP11A1) митохондрий надпочечников играет ключевую роль в биосинтезе стероидных гормонов из холестерина в организме млекопитающих. В результате исследований, проведенных в рамках совместного с университетом Теннесси (США) научного проекта, обнаружены альтернативные каталитические активности цитохрома P450scс [12–16]. Получены экспериментальные доказательства участия цитохрома P450scс в метаболизме эргостерола, витамина D₂, а также витамина D₃ и его предшественника 7-дегидрохолестерола.

Установлено, что цитохром P450scс катализирует реакции 22- и 20-гидроксирования и реакцию расщепления связи C20–C22 с удалением боковой цепи 7-дегидрохолестерола:

7-дегидрохолестерол → 22(OH)-7-дегидрохолестерол → 20,22(OH)₂-7-дегидрохолестерол → 7-дегидропрегненолон.

В свою очередь, 7-дегидропрегненолон подвергается дальнейшему метаболизму в эндоплазматическом ретикулуме с образованием 17(OH)-7-дегидропрегненолона и 7-дегидропрогестерона в реакциях, катализируемых цитохромом P450c17 и 3β-гидроксистероиддегидрогеназой.

Установлено, что в реконструированной стероидгидроксильрующей системе, содержащей цитохром P450scс, из эргостерола образуются 24-гидроксиэргостерол и 17,24-дигидроксиэргостерол, из витамина D₂ – 20-гидрокси витамин D₂ и 17,20-дигидрокси витамин D₂, а основным продуктом биотрансформации витамина D₃ является 20S-гидрокси холекальциферол, который затем метаболизируется в 20,22-дигидрокси холекальциферол и тригидрокси кальциферол.

Флавоноиды

Получены новые данные об особенностях биотрансформации флавоноидов [17–19]. Установлено, что флавоноиды, имеющие свободную OH-группу в положении 3, кетогруппу в положении 4 и двойную связь C2–C3, способны окисляться в реакциях пероксидазного типа, катализируемых лактопероксидазой и пероксидазой хрена. В свою очередь, продукты окисления могут неферментативно взаимодействовать с восстановленным глутатионом с образованием гидратированных моноглутатионовых конъюгатов [17, 18].

Глутатион S-трансферазы человека и крысы способны катализировать реакции конъюгации GSH с флавоноидами, имеющими в своей структуре OH-группы в положениях 3, 5 и 7. Глутатион S-трансферазы катализируют образование моноглутатионовых конъюгатов кверцетина и галангина нескольких типов. Кроме гидратированных конъюгатов, в обоих случаях наблюдается образование негидратированных форм конъюгата, что нехарактерно для продуктов пероксидазного окисления флавоноидов [17, 18].

Изучена окислительная модификация кверцетина различными гемопротейнами [19]. Установлено, что одним из продуктов окисления является димер кверцетина. Олигомерные продукты окисления кверцетина обнаружены в чешуе лука репчатого (*Allium cepa* L.) [19].

Простаноиды

В сотрудничестве с лабораторией химии простагландинов Института биоорганической химии НАН Беларуси проведен анализ биохимических свойств и механизмов действия природных простагландинов и их синтетических аналогов с целью выявления перспективных соединений, пригодных для использования в качестве лекарственных препаратов для медицины и ветеринарии [20–26].

Проанализированы свыше 70 новых синтетических структур, среди которых выявлено 8 соединений, обладающих высокой цитопротекторной активностью на клеточных моделях повреждения клеток печени галогензамещенными углеводородами, 3 соединения простааноида с выраженной антигистаминной активностью. Установлена способность 5 простааноидов группы В подавлять рост опухолевых клеток (эпителиальная карцинома шейки матки) в культуре.

Проведенный анализ биохимических механизмов наблюдаемых эффектов простааноидов позволил установить ряд соединений, которые могут снижать интенсивность свободнорадикальных процессов

в клетке, регулировать активность цитохрома P4502E1, стабилизировать внутриклеточный кальциевый гомеостаз и оказывать рецептор-опосредованное действие на различные изоферменты аденилатциклазы. Показана способность некоторых простаноидов и природных простагландинов подавлять активирующее действие катехоламинов на нервные окончания, что свидетельствует о конкурентных взаимодействиях между простагландиновой и адренергической системами сигнальной трансдукции в нервной системе.

Детальный структурно-функциональный анализ перспективных соединений позволил выявить структурные особенности простаноидов, обеспечивающие проявления указанных свойств, и создать необходимые предпосылки для разработки рекомендаций для синтеза простаноидов нового поколения, обладающих полезными для фармакологического использования свойствами.

Лигноидные соединения

Исследованы лигноидные соединения расторопши пятнистой и льна масличного. Разработаны методические подходы их выделения и очистки, описаны некоторые физико-химические и биологические свойства.

Обнаружены различия в компонентном составе индивидуальных флаволигнанов в плодах расторопши пятнистой, выращенных в различных географических регионах Европы, что позволило выделить две хеморасы этого лекарственного растения – силибининовую и силидианиновую.

Установлен антипролиферативный эффект для секоизоларицирезинола и секоизоларицирезинол-4',4''-диацетата из семян льна масличного по отношению к опухолевым В-лимфобластоидным клеткам линии Raji. Впервые выявлена индукция апоптоза для секоизоларицирезинола и секоизоларицирезинол-4',4''-диацетата, сопоставимая с действием противоопухолевого препарата эпопозид [27–30].

Терпеноиды

Обнаружен ряд терпеноидных веществ, обладающих церкарицидным действием [31].

На их основе разработаны индивидуальные средства защиты от внедрения в кожу человека церкарий – водных личинок трематод семейства Schistosomatidae: *Trichobilharzia szidati*, *Trichobilharzia franki* и *Bilharziella polonica*.

Белки

Изучены механизмы агрегации и денатурации олигомерных белков – ведущих ферментов азотистого обмена. Показано, что оксидативный стресс инициирует агрегацию белков и препятствует их рефолдингу, что подтверждает участие простых неамилоидных белков в развитии болезни Альцгеймера и других конденсированных заболеваний. Работа проводилась в рамках проекта INTAS при сотрудничестве с учеными Франции, России, Швеции и Италии [32–34].

Выделены рекомбинантный человеческий лактоферрин из молока трансгенных коз, природный лактоферрин из козьего молока и лактоферрин из женского молока. Проведен сравнительный анализ физико-химических характеристик выделенных лактоферринов с помощью ферментативного дегликозилирования, пептидного картирования, электронного парамагнитного резонанса, дифференциальной сканирующей калориметрии, спектрофотометрии, электрофореза и иммунохимии. Получены экспериментальные доказательства идентичности основных физико-химических свойств и биологической активности лактоферрина из женского молока и рекомбинантного человеческого лактоферрина из молока трансгенных коз, полученных в Научно-практическом центре НАН Беларуси по животноводству в рамках научно-технической программы Союзного государства «БелРосТрансген» [35, 36].

Аналитическая биохимия

Разработаны методики количественного определения целого ряда лекарственных соединений и их метаболитов в биоматериале с помощью высокоэффективной жидкостной хромато-масс-спектрометрии [37].

Разработаны методики контроля подлинности и качества алкоголь содержащей и иной продукции биологического происхождения [38].

1. Semak I., Korik E., Antonova M. et al. // J. Pineal Res. 2008. Vol. 45. № 4. P. 515.
2. Semak I., Korik E., Naumova M. et al. // Arch. Biochem. Biophys. 2004. Vol. 421. P. 61.
3. Semak I., Korik E., Naumova M. et al. // Biochemistry. 2005. Vol. 44. № 26. P. 9300.
4. Slominski A., Semak I., Pisarchik A. et al. // FEBS Lett. 2002. Vol. 511. P. 102.
5. Slominski A., Pisarchik A., Semak I. et al. // FASEB J. 2002. Vol. 16. P. 896.
6. Slominski A., Pisarchik A., Semak I. et al. // J. Invest. Dermatol. 2002. Vol. 119. P. 934.
7. Slominski A., Pisarchik A., Johansson O. et al. // Biochim. Biophys. Acta. 2003. Vol. 1639. P. 80.
8. Slominski A., Pisarchik A., Semak I., Sweatman T., Wortsman J. // Eur. J. Biochem. 2003. Vol. 270. P. 3335.

9. Slominski A., Fischer T.W., Zmijewski M.A. et al. // *Endocrine*. 2005. Vol. 27. № 2. P. 137.
10. Fischer T.W., Sweatman T.W., Semak I. et al. // *FASEB J*. 2006. Vol. 20. № 9. P. 1564.
11. Семак И.В., Корик Е.О., Наумова М.В. // *Вестні НАН Беларусі. Сер. мед.-біял. навук*. 2004. № 4. С. 69.
12. Slominski A., Zjawiony J., Wortsman J. et al. // *Eur. J. Biochem*. 2004. Vol. 271. № 21. P. 4178.
13. Slominski A., Semak I., Zjawiony J. et al. // *FEBS J*. 2005. Vol. 272. № 16. P. 4080.
14. Slominski A., Semak I., Zjawiony J. et al. // *Chem. Biol*. 2005. Vol. 12. № 8. P. 931.
15. Slominski A., Semak I., Wortsman J. et al. // *FEBS J*. 2006. Vol. 273. № 13. P. 2891.
16. Slominski A.T., Zmijewski M.A., Semak I.V. et al. // *PLoS*. 2009. Vol. 4. № 2. P. 4309.
17. Семак И.В., Корик Е.О., Наумова М. В., Сломински А. // *Вестні НАН Беларусі. Сер. мед.-біял. навук*. 2003. № 4. С. 50.
18. Корик Е.О., Наумова М.В., Сломински А., Семак И.В. // *Там же*. 2003. № 4. С. 62.
19. Cherviakovsky E.M., Bolibrukh D.A., Baranovsky A.V. et al. // *Biochem. Biophys. Res. Commun*. 2006. Vol. 342. P. 459.
20. Шолух М.В., Губич О.И., Королева Е.В. и др. // *Вестні НАН Беларусі. Сер. хім. навук*. 2004. № 2. С. 115.
21. Губич О.И., Королева Е.В., Чернихова Т.В., Шолух М.В. // *Новости мед.-биол. наук*. 2004. № 4. С. 64.
22. Губич О.И., Шолух М.В. // *Биохимия*. 2006. Т. 71. № 3. С. 293.
23. Hübich A.I., Zheldakova T.A., Chernikhova T.V. et al. // *Biochem. Biophys. Res. Commun*. 2006. Vol. 341. P. 357.
24. Hübich A.I., Bondar A.Y., Kastuik T.U. et al. // *Hepato. Res*. 2007. Vol. 37. № 6. P. 416.
25. Sholukh M.V., Hübich A.I., Pashkovsky F.S., Lakhvich F.A. // *Prostanoids and other lipid mediators*. 2010. Vol. 93. P. 134.
26. Hübich A.I., Lakhvich F.A., Sholukh M.V. // *Prostaglandins and Other lipid mediators*. 2009. Vol. 89. P. 16.
27. Шутова А.Г., Спиридович Е.В., Гаранович И.М. и др. // *Растительные ресурсы*. 2011. Вып. 1. С. 72.
28. Стасевич О.В., Михаленок С.Г., Курченко В.П. // *Химия природ. соединений*. 2009. № 1. С. 21.
29. Стасевич О.В., Михаленок С.Г., Курченко В.П. // *Хим.-фарм. журн*. 2009. Т. 43. № 7. С. 41.
30. Матвеев А.В., Коняева Е.И., Курченко В.П., Щекатихина А.С. // *Эксперим. и клин. гастроэнтерология*. 2011. № 2. С. 130.
31. Ризевский С.В., Курченко В.П. // *Докл. НАН Беларусі*. 2010. Т. 54. № 6. С. 72.
32. Golub N.V., Markossian K.A., Kasilovich N.V. et al. // *Biophysical Chemistry*. 2008. Vol. 135. P. 125.
33. Markossian K.A., Golub N.V., Kleymenov S.Yu. et al. // *International J. of Biological Macromolecules*. 2009. Vol. 44. P. 441.
34. Golub N.V., Markossian K.A., Sholukh M.V. et al. // *European Biophysics J*. 2009. Vol. 38. P. 547.
35. Semak I., Budzevich A., Korik E. et al. // *The Xth International Conference on Lactoferrin, Structure, Function and applications*. 08–12 May, 2011. Mazatlan, Mexico. P-VI-6. P. 74.
36. Budzevich A., Semak I., Papkou M. et al. // *The Xth International Conference on Lactoferrin, Structure, Function and applications*. 08–12 May, 2011. Mazatlan, Mexico. O-VI-2. P. 66.
37. Semak I.V., Alekseev N.A., Korik E.O. et al. // *J. of Analytical Chem*. 2011. Vol. 66. № 2. P. 194.
38. Курченко В.П., Урсул О.Н., Власова Т.М. и др. // *Вестн. БГУ. Сер. 2*. 2009. № 3. С. 46.

Поступила в редакцию 18.07.11.

Игорь Викторович Семак – кандидат биологических наук, доцент, заведующий кафедрой биохимии. Научная деятельность связана с анализом патобиохимических механизмов заболеваний печени и поиском путей их направленной коррекции с помощью биологически активных веществ природного происхождения; моделированием *in vitro* патобиохимических процессов, инициирующих окислительный стресс при эндогенной интоксикации организма; исследованием особенностей метаболизма триптофана, мелатонина и серотонина в различных органах и тканях млекопитающих; выяснением биохимических механизмов биологической активности мелатонина и его метаболитов; использованием высокоэффективной жидкостной хроматографии и масс-спектрометрии для анализа природных соединений и изучения фармакокинетики лекарственных препаратов; выделением и анализом физико-химических свойств рекомбинантного человеческого лактоферина, а также созданием на его основе высокоэффективных и биологически безопасных лекарственных средств и пищевых добавок. Имеет более 150 научных и учебно-методических публикаций, в том числе 3 патента.

Владимир Петрович Курченко – кандидат биологических наук, доцент, заведующий НИЛ прикладных проблем биохимии. Основные направления научной деятельности связаны с выделением и очисткой биологически активных веществ природного происхождения, исследованием их физико-химических и фармакологических свойств, разработкой новых лекарственных препаратов и лечебно-профилактических средств. Имеет 178 научных публикаций.

Михаил Васильевич Шолух – кандидат биологических наук, доцент, заведующий НИЛ биохимии обмена веществ. Научные интересы связаны с изучением механизмов действия простаноидов на систему сигнальной трансдукции, включающую рецептор, G-белки и аденилатциклазу, поиском и идентификацией агонистов и блокаторов соответствующих рецепторов простаноидов для последующих экспериментально-теоретических исследований и биологических испытаний в качестве потенциальных лекарственных веществ, механизмов регуляции метаболизма глутамата эйкозаноидами, изучением взаимосвязи между окислением ферментов и индукцией апоптоза и нейродегенеративных заболеваний. Имеет более 110 научных публикаций.