

Следует отметить, что ЦП оказался наиболее стабильным из препаратов Пх. Тем не менее, он и использованная технология иммобилизации мало пригодны для практического применения, т. к. ПА ЦП низка и не очевиден способ ее повышения. Напротив, на основе гелей возможно получать препараты иммобилизованной пероксидазы с заданной активностью, а их хранение осуществлять при 100 % влажности.

Литература

1. Введение в прикладную энзимологию. Иммобилизованные ферменты. /под. ред. Березина И.В. и Мартинека К. М. МГУ. – 1982. – 382 с.
2. Гавриленко В.Ф., Ладыгина М.Е., Хандобина Л.М. Большой практикум по физиологии растений. М. Высшая школа. – 1975. – 392 с.

КАТАЛИЗ ПАРАЦЕТАМОЛОМ И ТИРОЗИНОМ ОКИСЛЕНИЯ ТИАМИНА, ПРОТЕКАЮЩЕГО ПОД ДЕЙСТВИЕМ МЕТМИОГЛОБИНА ИЛИ МЕТГЕМОГЛОБИНА И ПЕРОКСИДА ВОДОРОДА

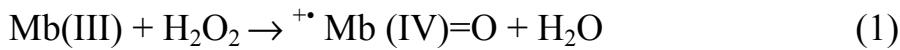
**Лабор С.А.¹, Опарин А.Ю.¹, Степуро В.И.², Степуро И.И.¹,
Пархоменко Ю.М.³, Донченко Г.В.³**

¹*Институт биоорганической химии НАН Беларусь, г. Гродно (филиал)
biophys@biochem.unibel.by*

²*Гродненский госуниверситет им. Янки Купалы, Гродно, Беларусь*

³*Институт биохимии им. А.В.Палладина НАН Украины, Киев, Украина*

Гем содержащие белки гемоглобин (Hb) и миоглобин (Mb) обратимо связывают молекулярный кислород. Hb обеспечивает транспорт кислорода во все части организма. Mb запасает кислород в мышцах. В дополнение к своей главной функции Hb и Mb катализируют различные редокс реакции связанные со стадиями одно или двух электронных реакций. В присутствии пероксида водорода ферри-формы Hb и Mb окисляются в оксоферрильные формы содержащие гемо центрированные радикалы и радикалы, центрированные на белковой глобуле. В реакции между ферри-Mb и пероксидом водорода в результате двух электронного окисления образуется оксоферрил порфирий радикал (соединение I), протеин Fe(IV=O) с радикалом, локализованным на порфириновом цикле и молекула воды:



Один эквивалент окислителя расходуется на образование оксоферрильной формы гема (Fe(IV=O)), а другой эквивалент окислителя расходуется на образование порфиринового катиона π -радикала. Оксоферрильные формы Mb и Hb являются сильными окислителями и по своей окислительной активности сходны с пероксидазами. Под действием низкомолекулярных доноров AH или вследствие переноса электрона с аминокислотных остатков белка на порфириновый цикл происходит образование соответственно Mb (IV)=O (соединение II) и оксоферрильной формы с радикалом локализованном на белковой глобуле Mb (IV)=O *:



Для тиольной формы тиамина (T) и трициклической формы T невозможно или сильно затруднено, вероятно, из-за стерических причин, непосредственное взаимодействие с ионом железа гема или порфириновым радикалом. Напротив, тирозин (Тир) или парацетамол (ПА) легко проникают в гемовый карман гемопротеинов и взаимодействуют с порфириновым катионом π -радикала или оксоферрильным комплексом гема (Fe(IV=O)) [1]. Оксоферрильные формы Hb и Mb в присутствии Тир или димера ПА с высокой скоростью восстанавливаются в соответствующие ферри-формы гемопротеинов. Кинетика образования, например, метHb вследствие разрушения оксоферрильных форм Hb и кинетика образования дитирозина или димера ПА регистрируемая флуоресцентным методом, изменяются практически симбатно. Мы показали, что T инактивирует свободные радикалы ПА и свободные радикалы Тир, восстанавливая их до ПА и Тир, соответственно. В присутствии T и его фосфорных эфиров наблюдали снижение образование димеров ПА и димеров Тир в реакции окисления данных фенолов оксоферрильными формами гемопротеинов. В свою очередь, под действием свободных радикалов Тир и свободных радикалов ПА, T окисляется с образованием тиохрома (Tx) и тиаминдисульфида (TDC). Мы использовали в своих экспериментах Mb из сердца лошади и Hb человека. Выход дитирозина снижался симбатно с возрастанием концентрации T. При концентрации T равной концентрации Тир выход дитирозина снизился более чем вдвое (Табл.1). При концентрации T 0,01M, на порядок превышающей концентрацию Тир, выход

дитирозина снизился в 9,0 раз. Снижение образования дитирозина и возрастание выхода Tx свидетельствует о том, что в регенерации тирозильных радикалов до Тир, наряду с тиольной формой Т участвует и трициклическая форма Т, которая окисляется в Tx. Т также ингибировал образование димеров ПА. Как известно, ПА достаточно широко используется в медицине в качестве жаропонижающего и обезболивающего средства, часто вместо аспирина. Применение высоких доз ПА (1-2мМ/литр) в течение длительного периода времени может вызывать токсическое поражение почек, печени, вызывать метгемоглобинемию. Мы предполагаем, что токсическое действие высоких доз ПА может быть вызвано образованием свободных радикалов парацетамола, которые инициируют процессы ПОЛ клеточных мембран.

Полученные результаты позволяют заключить, что при окислительном стрессе, когда резко возрастает уровень активных форм кислорода и возрастає содержание оксоферрильных форм гемопротеинов, ПА усиливает катаболизм Т, окисляя его в Tx и ТДС. Tx, в отличие от ТДС, не способен восстанавливаться в организме в Т. Следовательно, при применении ПА, особенно при длительном его использовании, необходимо дополнительное поступление в организм Т или производных Т как для снижения токсического действия свободных радикалов ПА, так и для ускорения разрушения пероксидов водорода и возмещения концентрации Т, окисленного в Tx.

Таблица 1 – Ингибиование образования дитирозина и димеров ПА в присутствии Т в пероксидазной реакции, катализируемой метMb. Раствор содержал метMb-10мкМ, L-Тир и пероксид водорода в концентрации 1,0мМ, фосфатный буфер 0,05М pH=7,0. Время инкубации 30 мин

Состав раствора	Дитирозин (мкМ)	Tx (мкМ)	ТДС (мкМ)	Димер ПА (мкМ)
метMb +L- Тир + H ₂ O ₂	72,0	-	-	-
метMb +L- Тир + Т +H ₂ O ₂	29,0	35,0	9,0	-
Mb(III) + Т + H ₂ O ₂	-	0,45	-	-
метMb + ПА + H ₂ O ₂	-		-	252
метMb + ПА + Т + H ₂ O ₂	-	17,5	15,0	212

Работа выполнена в рамках белорусско-украинского сотрудничества при поддержке Белорусского Фонда фундаментальных исследований (грант № Б11К-081) и министерства образования РБ (проект 03-09), Фонда фундаментальных исследований Украины (грант Ф 41.4/023).

Литература

1. Степуро И.И., Опарин А.Ю. и соавторы Окисление тиамина под действием диоксида азота, генерируемого ферри-формами миоглобина и гемоглобина в присутствии нитрита и пероксида водорода // Биохимия. – 2012. - Т. 77, № 1. - С. 53-70.

ОБРАЗОВАНИЕ БИОАКТИВНОГО ТРАНС-2-ГЕКСАДЕЦЕНАЛЯ В РЕЗУЛЬТАТЕ СВОБОДНОРАДИКАЛЬНОЙ ФРАГМЕНТАЦИИ СФИНГОЛИПИДОВ

**Лисовская А.Г., Шадыро О.И., Едимечева И.П.,
Семенкова Г.Н., Дивакова Н.В.**

Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь

Сфинголипиды представляют собой класс липидов, основу которых составляет алифатический аминоспирт сфингозин. В последние годы получены убедительные доказательства того, что сфинголипиды такие, как церамид, сфингозин и сфингозин-1-fosфат (S1P) являются сигнальными молекулами и регулируют процессы, ответственные за апоптоз, пролиферацию, старение и воспаление [1].

Ключевую роль в метаболизме сфинголипидов играет сфингозин-1-фосфат лиаза (SPL), которая катализирует конечную стадию их катаболизма в результате расщепления сфингозин-1-фосфата до фосфата этаноламина и *транс*-2-гексадециналь [2]. Ранее считалось, что SPL уводит S1P из сфинголипидного метаболического цикла и образующиеся продукты катаболизма не проявляют активности. Однако в работе [3] показано, что *транс*-2-гексадециналь обладает широким спектром биологической активности, вызывает реорганизацию клеточного цитоскелета и индуцирует апоптоз в JNK-зависимым способом.

Важная роль *транс*-2-гексадециналя в функционировании клетки обуславливает целесообразность исследования неферментативных механизмов его образования.

В настоящей работе показана возможность реализации нового процесса свободнорадикальной фрагментации сфинголипидов, в результате которого образуется *транс*-2-гексадециналь.

При действии γ -излучения на сфингозин и сфингозилфосфорилхолин наряду с процессом дезаминирования происходит деструкция ис-