

АНАЛИЗ МОДИФИЦИРОВАННОГО ХЛОРНОВАТИСТОЙ КИСЛОТОЙ ГИДРОЛИЗАТА ГОЛУБЫХ МИДИЙ СПЕКТРОСКОПИЧЕСКИМИ МЕТОДАМИ

И. В. Горудко ^{1*}, Д. В. Григорьева ¹, В. А. Янчарский ¹, О. В. Королик ¹,
А. В. Симакин ², Р. М. Саримов ², А. В. Соколов ^{3,4}, Г. А. Гусаков ⁵

УДК 535.375.5;543.42.062:577.3

¹ Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь; e-mail: irinagorudko@gmail.com

² Федеральный исследовательский центр “Институт общей физики им. А. М. Прохорова Российской академии наук”, Москва, Россия; e-mail: asimakin@gmail.com

³ Научно-исследовательский институт гриппа имени А. А. Смородинцева, Санкт-Петербург, Россия; e-mail: biochemsokolov@gmail.com

⁴ Федеральный научно-клинический центр физико-химической медицины имени академика Ю. М. Лопухина Федерального медико-биологического агентства, Москва, Россия; e-mail: biochemsokolov@gmail.com

⁵ Институт прикладных физических проблем им. А. Н. Севченко Белорусского государственного университета, Минск, Беларусь; e-mail: gga68@rambler.ru

(Поступила 17 февраля 2025, в окончательной редакции 3 июня 2025,
принята к печати 12 июля 2025)

Методами спектроскопии гигантского комбинационного рассеяния и инфракрасной спектроскопии охарактеризован состав кислотного гидролизата голубых мидий *Mytilus edulis* (*M. edulis*) после модификации HOCl. Показано, что молекулярными мишенями для HOCl в гидролизате *M. edulis* являются остатки метионина, гистидина и NH₂-группы аминокислот, а также меланоидины, обеспечивающие антиоксидантный эффект гидролизата *M. edulis*, что продемонстрировано в модельной системе с эритроцитами. Так, гидролизат *M. edulis* в концентрации 0.05—0.25 об.% дозозависимым образом ингибировал гемолиз, инициированный внесением HOCl (200 мкМ) в суспензию эритроцитов, а в концентрации 0.5 об.% полностью препятствовал HOCl-индуцированному гемолизу. При более высоких концентрациях (10 об.%) гидролизат *M. edulis* проявлял защитный эффект также от кислотного гемолиза. Показано, что гидролизат *M. edulis* наряду с антиоксидантным действием может выступать в качестве биодоступного препарата для профилактики гемолиза различной этиологии.

Ключевые слова: гидролизат *M. edulis*, инфракрасная спектроскопия, гигантское комбинационное рассеяние, спектрофотометрия, хлорноватистая кислота, гемолиз.

Using surface-enhanced Raman and infrared spectroscopy, the composition of blue mussel *Mytilus edulis* (*M. edulis*) acid hydrolysate after modification with HOCl has been characterized. It has been shown that the molecular targets for HOCl in *M. edulis* hydrolysate are methionine, histidine and NH₂-group amino acid residues, as well as melanoidins, that provide the antioxidant effect of *M. edulis* hydrolysate, which is demonstrated in a model system with erythrocytes. Thus, *M. edulis* hydrolysate at a concentration of 0.05—0.25% (v/v) dose-dependently inhibited hemolysis initiated by the addition of HOCl (200 μM) to a suspension of erythrocytes, and it completely prevented HOCl-induced hemolysis at a concentration of 0.5% (v/v).

ANALYSIS OF BLUE MUSSEL HYDROLYZATE MODIFIED WITH HYPOCHLOROUS ACID USING SPECTROSCOPIC METHODS

I. V. Gorudko ^{1*}, D. V. Grigorieva ¹, V. A. Yancharsky ¹, O. V. Korolik ¹, A. V. Simakin ², R. M. Sarimov ², A. V. Sokolov ^{3,4}, G. A. Gusakov ⁵ (¹ Belarusian State University, Minsk, Belarus; e-mail: irinagorudko@gmail.com; ² Prokhorov General Physics Institute of the Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia; e-mail: asimakin@gmail.com; ³ Smorodintsev Research Institute of Influenza, St. Petersburg, Russia; e-mail: biochemsokolov@gmail.com; ⁴ Lopukhin Federal Research and Clinical Center of Physical-Chemical Medicine of Federal Medical Biological Agency, Moscow, Russia; e-mail: biochemsokolov@gmail.com; ⁵ A. N. Sevchenko Institute of Applied Physical Problems of Belarusian State University, Minsk, Belarus; e-mail: gga68@rambler.ru)

At higher concentrations (10% (v/v)), M. edulis hydrolysate also exhibited a protective effect against acid hemolysis. Thus, the hydrolysate of M. edulis can act as a bioavailable substance for the prevention of hemolysis of various etiologies.

Keywords: *M. edulis hydrolysate, infrared spectroscopy, surface-enhanced Raman scattering, spectrophotometry, hypochlorous acid, hemolysis.*

Введение. Изучение химического состава веществ биологического происхождения, которые традиционно считаются полезными для здоровья, выявило способность некоторых пищевых компонентов действовать как потенциальные модуляторы физиологических и патологических процессов. В последнее время большое внимание привлекают биологически активные вещества, полученные из гидробионтов, в частности из голубых мидий *Mytilus edulis* (*M. edulis*) — типичных морских двусторчатых моллюсков, населяющих прибрежные скалы [1, 2].

В настоящее время широко распространенным способом получения биологически активных компонентов, в первую очередь пептидов *M. edulis*, является метод ферментативного гидролиза [2]. Полученные таким способом пептиды, как правило, имеют достаточно большой размер и могут быть потенциально иммуногенными, что значительно ограничивает возможность их применения в качестве лекарственных препаратов. Поэтому альтернативным способом получения препаратов пептидов из *M. edulis* является кислотный гидролиз, в результате которого возможно получение коротких пептидов, более подходящих для разработки лекарственных средств [3].

В составе гидролизата *M. edulis* выявлены компоненты, обладающие антиоксидантной [4], противомикробной [5], противовирусной [6] и рядом других активностей [2, 7—10], способные регулировать иммунный ответ и оказывать противовоспалительное действие [11—13]. Однако для создания на основе производных гидролизата *M. edulis* фармакологических средств необходимо учитывать не только их биологическую активность, но и биосовместимость, которая во многом зависит от способа получения гидролизата.

В недавних исследованиях *in vivo* показано, что введение гидролизата *M. edulis* крысам снижает вероятность развития тромбоза [14]. В работе [15] выявлено положительное действие гидролизата *M. edulis* на эндотелиальные клетки линии EA.hy926, что проявилось в усилении их пролиферации и улучшении выживаемости в присутствии хлорноватистой кислоты (НОСІ) — одного из наиболее важных молекулярных предшественников свободных радикалов в организме, повышенная продукция которой приводит к развитию окислительного/галогенирующего стресса [16—18]. В организме человека НОСІ образуется в реакции пероксида водорода с ионом хлора, катализируемой ферментом азурофильных гранул нейтрофилов — миелопероксидазой (КФ 1.11.2.2), благодаря чему нейтрофилы в очаге воспаления выполняют свою бактерицидную функцию [19]. Наряду с другими окислителями НОСІ, взаимодействуя с молекулами собственного организма, может приводить к повреждению клеток и тканей, что способствует развитию различных заболеваний [16—19]. В связи с этим важной задачей является изучение структуры и свойств гидролизата *M. edulis* в условиях развития воспалительной реакции, которая, как правило, ассоциирована с повышенной активностью нейтрофилов и развитием окислительного/галогенирующего стресса.

Для анализа структуры биологических молекул после модификации окислителями используют различные физические методы (хроматографию, масс-спектроскопию, иммуноферментный анализ, спектрально-люминесцентный анализ и др.). В последнее время для идентификации окислительных повреждений в структуре молекул популярность приобретают неинвазивные методы колебательной спектроскопии, такие как инфракрасная (ИК) спектроскопия и спектроскопия гигантского комбинационного рассеяния света (ГКР). Эти методы (прежде всего ГКР-спектроскопия) обладают высокими чувствительностью и пространственным разрешением, а значит, могут предоставить большое количество информации об анализируемых объектах [20].

Цель данной работы — характеристика препарата кислотного гидролизата *M. edulis* после взаимодействия с НОСІ методами ИК- и ГКР-спектроскопии, а также анализ его антиоксидантной активности в модели НОСІ-индуцированного гемолиза.

Материалы и методы. Использованы препарат *M. edulis*, полученный методом кислотного гидролиза [13], NaOCl (Sigma-Aldrich, США), D-глюкоза (“Пять океанов”, Беларусь). Фосфатно-солевой буфер (ФСБ: 137 мМ NaCl, 10 мМ Na₂HPO₄/KH₂PO₄, 2.7 мМ KCl, pH 7.4) и фосфат-цитратный буфер (4.1 мМ Na₂HPO₄, 7.9 мМ лимонной кислоты, 155 мМ NaCl, pH 2.9) приготовлены из реактивов фирм “Реахим” (Россия) и “Белмедпрепараты” (Беларусь).