

Разработка ингибиторного анализа для TcGAL и AtGALDH**Научный руководитель – Кудряшова Елена Вадимовна****Чудин Андрей Алексеевич**

Аспирант

Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Химический факультет, Кафедра химической энзимологии, Москва, Россия

E-mail: andrew_18@inbox.ru

Интенсивное развитие структурной биологии в последние годы позволило определить структуры многих мембранных ферментов, играющих важную роль в живых организмах. Изучение свойств этих ферментов необходимо для детального понимания путей метаболизма, механизмов регуляции и других аспектов жизни. Однако исследования мембранных ферментов затруднены, так как многие из этих ферментов нерастворимы и не функционируют в воде, а методы определения их активности неэффективны. Галактонолактон оксидаза (EC 1.3.3.12) из организма-паразита *Trypanosoma cruzi* (TcGAL) является одним из таких ферментов. TcGAL катализирует финальную стадию синтеза витамина C в *T. cruzi*, вызывающего болезнь Шагаса, поэтому ингибирование TcGAL можно рассматривать как возможный вариант лечения болезни Шагаса, против которой существует всего два препарата - бензнидазол и нифуртимокс, обладающих рядом серьёзных недостатков.

Для разработки ингибиторного анализа TcGAL нами был применён мицеллярный подход, без использования которого регистрация активности не представляется возможным. С учётом нерастворимости TcGAL и возможного влияния мицеллярной матрицы, разработанный ингибиторный анализ был предварительно протестирован на примере модельного водорастворимого фермента L-галактоно-1,4-лактон дегидрогеназы (EC 1.3.2.3) из *Arabidopsis thaliana* (AtGALDH), гомологичного по отношению к TcGAL.

Разработанный метод был применён для анализа ряда потенциальных ингибиторов TcGAL и AtGALDH, подавляющих активность ФАД-зависимых дегидрогеназ, гомологичных изучаемым TcGAL и AtGALDH. С использованием разработанного ингибиторного анализа впервые установлен смешанный механизм ингибирования AtGALDH ликорином - природным алколоидом (с преобладанием конкурентной составляющей), что, учитывая высокую степень гомологичности AtGALDH и других L-галактоно-1,4-лактон дегидрогеназ, позволяет предположить аналогичный механизм ингибирования в отношении большинства L-галактоно-1,4-лактон дегидрогеназ.

С учётом высокой эффективности ликорина, нами проведён анализ ряда соединений, имеющих структурное сродство к ликорину, например апиол и диллапиол. Ингибиторный анализ показал, что апиол и диллапиол обладают гораздо более низким IC₅₀ (20-50 мкМ) в сравнении с таковым у ликорина (500 мкМ), что, вероятно, объясняется влиянием объёмного заместителя. Низкий ингибирующий эффект ликохальконов, по-видимому, также объясняется стерическими затруднениями. Ингибирующий эффект эвгенола, апиола и его производного 1-аллил-5-метокси-3,4-метилendioксибензол, вероятно, связан с общим структурным фрагментом - аллилбензолом.

Таким образом, в рамках данного исследования был разработан ингибиторный анализ мембранотропных ферментов TcGAL и AtGALDH с применением систем обращённых мицелл в случае TcGAL, и проанализирован ряд потенциальных ингибиторов TcGAL и AtGALDH, в том числе обладающих малым IC₅₀ и низкой токсичностью, что может иметь значение при разработке новых лекарств против болезни Шагаса.

Работа выполнена с использованием оборудования (ИК-Фурье-спектрометр Bruker Tensor 27 (Германия) и Jasco J-815 CD Spectrometer) по программе развития МГУ.

Источники и литература

- 1) Chudin AA, Kudryashova EV. Improved Enzymatic Assay and Inhibition Analysis of Redox Membrantropic Enzymes, AtGALDH and TcGAL, Using a Reversed Micellar System. *Analytica*. 2022; 3(1):36-53. <https://doi.org/10.3390/analytica3010004>