

Научно-исследовательский институт биомедицинской химии имени В.Н.Ореховича

Архив журнала

Вопросы медицинской химии

ISSN 0042-8809

1985

Внимание! Распознавание текста проведено в автоматическом режиме для облегчения работы поисковых систем. Будьте внимательны при копировании, возможны ошибки и неточности. Используйте сканированный графический вариант.

Archive of journal

Voprosy meditsinskoj khimii

ISSN 0042-8809

1985

Attention! OCR has been performed automatically for search engines only. Be careful when copying, errors are possible. Use scanned picture as standard.

<http://pbmc.ibmc.msk.ru>

ТОМ XXXI

ВЫПУСК 5

СЕНТЯБРЬ — ОКТЯБРЬ

Двухмесячный научно-теоретический журнал

Основан в 1955 г.

ВОПРОСЫ
МЕДИЦИНСКОЙ
ХИМИИ



МОСКВА. МЕДИЦИНА. 1985



РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ:

Главный редактор С. С. ДЕБОВ

В. И. МАЗУРОВ (зам. главного редактора), Т. Т. БЕРЕЗОВ, Е. Н. ГЕРАСИМОВА, В. З. ГОРКИН, И. Б. ЗБАРСКИЙ, А. Н. КЛИМОВ, Б. Ф. КОРОВКИН, Л. А. ЛОКШИНА, В. Н. ОРЕХОВИЧ, Л. Ф. ПАНЧЕНКО, М. Ш. ПРОМЫСЛОВ, Е. Л. РОЗЕНФЕЛЬД, Ю. А. РОМАКОВ (ответственный секретарь), В. А. САКС, С. Е. СЕВЕРИН, В. Б. СПИРИЧЕВ

РЕДАКЦИОННЫЙ СОВЕТ:

БАЕВ А. А. (Москва)	ТРОИЦКИЙ Г. В. (Симферополь)
БЕЛИЦЕР В. А. (Киев)	ТАРАҚУЛОВ Я. Х. (Ташкент)
БЫЧКОВ С. М. (Москва)	ТЯХЕПЫЛЬД Л. Я. (Тарту)
КОНСТАНТИНОВ А. А. (Хабаровск)	УТЕВСКИЙ А. М. (Харьков)
КУДРЯШОВ Б. А. (Москва)	ШАПОТ В. С. (Москва)
ЛЯХОВИЧ В. В. (Новосибирск)	ЯКОВЛЕВ Н. Н. (Ленинград)
ПАСХИНА Т. С. (Москва)	ЯСАЙТИС А. А. (Вильнюс)

Адрес редакции журнала:

Москва, Солянка, 14

АМН СССР

Тел. 297-16-44

Зав. редакцией Л. А. Фирсова

1983

а также выявленное ранее ингибирование фенолами распада убихинона свидетельствуют о том, что фенолкарбоновые кислоты играют важную роль в обмене этого кофермента, в частности в регуляции его образования.

Биосинтез изопреноидных соединений у животных осуществляется сложной разветвленной системой, при этом регуляция по принципу обратной связи обнаружена только для одного из конечных продуктов, а именно для холестерина [13, 14]. В этом свете трудно преувеличить значение ингибирующего действия ароматических предшественников убихинона на скорость образования биогенетически родственных ему соединений как дополнительного фактора регуляции. Его значение может существенно возрастать при нарушениях обмена ароматических аминокислот [2, 3], а также при приеме больших доз флавоноидов с лечебными целями [8].

В заключение следует отметить, что обнаруженный ингибирующий эффект фенолкарбоновых кислот на биосинтез стероидов позволяет рассматривать их в качестве перспективных препаратов для лечения заболеваний, обусловленных нарушениями обмена этих соединений.

ЛИТЕРАТУРА

1. Natural Substances Formed Biologically From Mevalonic Acid./ Ed. T. W. Goodwin. London, 1970, p. 166.
2. Shah S. N., Peterson N. A., McKean C. M. — Biochim. biophys. Acta, 1968, v. 164, p. 604.
3. Shah S. N., Peterson N. A.,

- McKean C. M. — Ibid., 1969, v. 187, p. 236.
4. Ranganathan S., Ramasarma T. — Biochem. J., 1975, v. 148, p. 35.
 5. Chama Bhat Ch., Ramasarma T. — Ibid., 1979, v. 181, p. 143.
 6. Parson W., Rudney H. — J. biol. Chem., 1965, v. 240, p. 1855.
 7. Nambudiri A. M. D., Brockman D., Alam S. S. et al. — Biochem. biophys. Res. Commun., 1977, v. 76, p. 282.
 8. Шамрай Е. Ф., Федуров В. В., Витамин Р. — Успехи совр. биол., 1968, т. 65, № 4, с. 186.
 9. Федуров В. В. — Вопр. мед. химии, 1978, № 2, с. 232.
 10. Моисевич-Эрингене Е. В. — Пат. физиол., 1964, № 4, с. 71.
 11. Федуров В. В. — Вопр. питания, 1977, № 6, с. 23.
 12. Федуров В. В. — В кн.: Молекулярная биология. Киев, 1979, вып. 25, с. 142.
 13. Финагин Л. К. Обмен холестерина и его регуляция. Киев, 1980.
 14. Федуров В. В. — Вопр. мед. химии, 1980, № 6, с. 759.

Поступила 24.07.84

INHIBITION OF SYNTHESIS OF ISOPRENOID SUBSTANCES BY MEANS OF PHENOL-CONTAINING DERIVATIVES OF BENZOQUINONIC CYCLE OF UBIQUINONE

V. V. Fedurov

A. L. Bogomoletz. Medical School, Kiev

Effects of p-hydroxybenzoic and 3,4-dihydroxybenzoic acids on incorporation of $1-^{14}C$ -acetate into ubiquinone, sterols and nonsaponifiable lipid fraction were studied in liver slices. Inhibition of the label incorporation into all the isoprenoid-containing compounds studied was found, when these phenolic acids were used at 1 mM and higher concentrations. At the same time, inhibition of the ubiquinone biosynthesis was especially distinct although concentration of the substance was increased in mixtures in presence of phenolic acids as compared with controls.

УДК 615.281.8.015.4:578.832.1:578.1:572.152

И. Ф. Правдина, Т. В. Веселовская, В. Д. Смирнов, Г. А. Галегов

ИНГИБИРУЮЩЕЕ ДЕЙСТВИЕ ДЕЗОКСИАДЕНИЛИЛ-(3'—5')-ДЕЗОКСИГУАНОЗИНА НА АКТИВНОСТЬ РНК-ПОЛИМЕРАЗЫ ВИРУСА ГРИППА А

Институт вирусологии им. Д. И. Ивановского АМН СССР, Москва

Целенаправленный поиск ингибиторов РНК-полимеразы (транскриптазы) вируса гриппа А может привести к созданию новых противогриппозных препаратов. В связи с этим нам представляется перспективным изучение действия структурных аналогов известных праймеров (динуклеозидмонофос-

фатов), которые могут явиться ингибиторами процесса инициации транскрипции вирусной РНК.

Ранее было установлено ингибирующее действие аденилил-(3'—5')-рибавирина — аналога аденилил-(3'—5')-гуанозина (АГ) на активность транскриптазы вирусов гриппа А [3, 5].

В настоящем сообщении приводятся результаты изучения действия другого аналога АфГ — дезоксиаденилил-(3'—5')-дезоксигуанозина (дАфГ) на активность РНК-полимеразы вируса гриппа.

Методика

Работу проводили на модели вируса гриппа А (вирус классической чумы птиц, Нав 1N1, штамм «Вейбридж»).

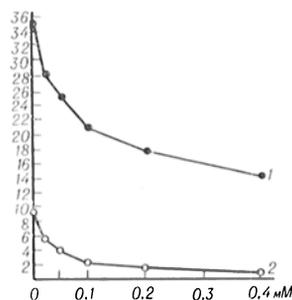
Очистку вируса осуществляли по методу [6] в нашей модификации [4] из алактоиной жидкости зараженных куриных эмбрионов.

Реакционная смесь (0,2 мл) для определения активности вирионной РНК-полимеразы содержала трис-НСI рН 8,0—65 мМ, ^3H -УТФ (удельная активность 25 Ки/ммоль, СССР) — 5 мкКи, АТФ, ЦТФ и ГТФ («Серва», ФРГ) — по 1,5 мМ, MgCl_2 — 5 мМ, дитиотреитол («Calbiochem», США) — 2,5 мМ, АфГ («Sigma», США) — 0,1 мМ, неионный детергент NP40 (BDH, Англия) — 0,2%. В качестве источника фермента использовали суспензию очищенного вируса (30 мкг белка в пробе).

дАфГ синтезирован по описанной ранее методике [1, 7]; удаление защитных групп проведено по схеме, представленной в работе [2], деблокированный динуклеозидфосфат выделяли хроматографией на бумаге (Whatman 3MM) в системе изопропанол — NH_3 — H_2O (7 : 1 : 2) с последующей элюцией зоны с R_f 0,12 водой.

Результаты и обсуждение

Результаты исследований показали, что активность РНК-полимеразы вируса гриппа А стимулируется 0,1 мМ АфГ в 8—10 раз. Внесение дАфГ в систему, содержащую праймер, ингибирует активность фермента в зависимости от количества введенного препарата (см. рисунок). дАфГ в концентрации 0,025 мМ снижает активность транскриптазы на 20%. Увеличение содержания препарата в реакционной смеси до 0,2 и 0,4 мМ приводит к инги-



Действие дАфГ на активность РНК-полимеразы вируса гриппа А.

По оси абсцисс — концентрация дАфГ (в мМ), по оси ординат — включение ^3H -УМФ (в имоль/мин). 1 — в присутствии АфГ (0,1 мМ), 2 — без АфГ.

Зависимость активности РНК-полимеразы вируса гриппа А от времени внесения дАфГ (время инкубации 120 мин)

Состав пробы	Время внесения препарата, мин	Включение ^3H -УМФ, имоль/мин	
		— АфГ	+ АфГ
Контроль	—	4,3	25,2
дАфГ (0,1 мМ)	0	1,3	15,9
	15	1,6	17,7
	30	2,5	20,8

бированию транскрипции на 50 и 60% соответственно.

При внесении дАфГ в реакционную смесь, не содержащую АфГ, ингибиторный эффект препарата выявляется при меньших концентрациях: 50% ингибирование наблюдали при 0,05 мМ дАфГ. Содержание препарата в концентрации 0,2 и 0,4 мМ приводит к ингибированию транскрипции на 80—85%.

Ингибитор проявляет свою активность независимо от времени введения его в инкубационную смесь (см. таблицу). Ингибирующее действие дАфГ выявляется при внесении его через 15 и 30 мин после начала реакции.

На основании полученных данных можно полагать, что изучаемый ингибитор действует как на стадии инициации, так и на стадии элонгации транскрипции РНК вируса гриппа А.

Дезоксигуанилилдезоксигуанозин (дГфГ) оказывает еще более сильно выраженное ингибирующее действие на активность транскриптазы вируса гриппа (50% ингибирование наблюдается при концентрации дГфГ 0,04 мМ).

Изучение действия дАфГ в культуре фибробластов куриного эмбриона, зараженных вирусом гриппа А, показало, что введение в культуральную среду ингибитора в концентрации 0,5 мМ приводит к подавлению репродукции вируса гриппа А. Через 24 ч после инфицирования титр гемагглютининов вируса снижается на 5 \log_2 , а титр инфекционного вируса — на 2,0 lg.

Известно, что фосфорилированные нуклеозиды и динуклеозидфосфаты проникают в клетки значительно менее эффективно, чем соответствующие нуклеозиды. Это может определяться наличием заряженной фосфатной группы. Сня-

тие заряда с фосфатных групп (например, путем синтеза метилированных и этилированных производных) может обеспечить лучшую проницаемость динуклеозидфосфатов и соответственно привести к усилению противовирусного эффекта этих соединений.

ЛИТЕРАТУРА

1. Берлин Ю. А., Звонок Н. М., Каюшин А. Л. — Биорган. химия, 1980, т. 6, № 8, с. 1182—1195.
2. Берлин Ю. А., Тактакишвили М. О., Колосов М. Н. и др. — Там же, 1981, т. 7, № 5, с. 710—720.
3. Галегов Г. А., Правдина Н. Ф. — Вопр. вирусол., 1982, № 5, с. 104—106.
4. Правдина Н. Ф., Веселовская Т. В., Пушкарская Н. Л. и др. — Вопр. мед. химии, 1972, т. 17, с. 158—161.
5. Правдина Н. Ф., Шобухов В. М., Галегов Г. А. — Докл. АН СССР, 1984, т. 274, № 4, с. 975—978.
6. Kingsbury D. W. — J. molec. Biol., 1966, v. 18, p. 195—203.

7. Stawinski J., Hozumi T., Narang S. A. et al. — Nucl. Acids Res., 1977, v. 4, p. 353—371.

Поступила 24.05.84

INHIBITORY EFFECT OF DEOXYADENYL- (3,5)-DEOXYGUANOSINE ON THE ACTIVITY OF RNA POLYMERASE FROM THE INFLUENZA A VIRUS

N. F. Pravdina, T. V. Veselovskaya, V. D. Smirnov, G. A. Galegov

D. I. Ivanovsky Institute of Virology, Academy of Medical Sciences of the USSR, Moscow

Deoxyadenilylguanosine (dAdG, 0.2–0.4 mM), affecting the RNA polymerase activity, caused inhibition of transcription of the influenza A virus in presence of precursor AdG by 50–60% and a 80–85% inhibition in absence of the precursor. The inhibitor exhibited its effect independently on the time of addition into an incubation mixture. Addition of 0.5 mM inhibitor into a cultural medium inhibited reproduction of the influenza A virus in a culture of chicken embryonal fibroblasts.

УДК 612.411.015.1:577.152.3441-088.1

Л. А. Локшина, О. Н. Лубкова, Т. А. Гуреева, В. Н. Орехович

ИЗУЧЕНИЕ СВОЙСТВ И СПЕЦИФИЧНОСТИ КАТЕПСИНА Н ИЗ СЕЛЕЗЕНКИ БЫКА

Институт биологической и медицинской химии АМН СССР, Москва

На протяжении ряда лет в Институте биологической и медицинской химии проводятся исследования активных в нейтральной среде тиоловых протеиназ селезенки быка [4—8]. Два фермента, обозначенные как протеиназа I и II, выделены в практически гомогенном виде [6]. Изучение свойств протеиназы II, обладающей как аминокнотидазной, так и эндопептидазной активностью, позволило заключить, что она является катепсином Н селезенки [6, 7]. Катепсин Н выделен в последние годы из ряда тканей животных и человека [11—13, 17—19, 21]. Этот фермент гидролизует некоторые белки и низкомолекулярные синтетические субстраты. Биологические функции катепсина Н пока не ясны. Показано, что фермент образует биологически активные пептиды из компонентов комплекса [16] и вызывает трансформацию лейкотриенов — медленно реагирующих субстанций анафилаксии [20]. Учитывая эти данные и полагая, что катепсин Н может участвовать в процес-

сах воспаления, мы исследовали его действие на ряд физиологически активных пептидов, изучали специфичность фермента и его распространение в некоторых тканях. Кроме того, мы считали целесообразным суммировать данные о свойствах этой протеиназы, представленные ранее в работах [6—8], и сопоставить их со свойствами катепсинов Н, выделенных из разных источников [11—13, 17—19, 21].

Методика

Выделение катепсина Н из селезенки быка проводили по методу, описанному ранее [6]. Активность фермента по гидролизу гистона, азоказина и β-нафтиламидов L-лейцина (Leu NA)¹ и других аминокислот («Serva») опре-

¹ Сокращения: Leu NA, Arg NA, Lys NA, Ala NA, ValNA, — β-нафтиламиды L-лейцина, L-аргинина, L-лизина, L-аланина, N-бензоил-L-аргинина; «БЛЭЭ»-этиловый эфир N-бензоил-L-аргинина; БАНА, БЛНА, LeuNA-n-нитроанилиды N-бензоил-L-аргинина, N-бензоил-L-лизина, L-лейцина; n-XMB-n-хлормеркурийбензоат, ДТТ-дитиотреитол