

**НОВЫЕ ПРОТЕОЛИТИЧЕСКИЕ ФЕРМЕНТНЫЕ ПРЕПАРАТЫ НА ОСНОВЕ
БРОМЕЛИНА, ФИЦИНА И ПАПАИНА И 2-(4-АЦЕТАМИДО-2-СУЛЬФАНИЛАМИД)
ХИТОЗАНА**

М.С. Лавлинская^{1,2}, А.В. Сорокин^{1,2}, С.С. Ольшанникова¹, М.Г. Холявка¹, В.Г. Артюхов¹

¹ ФГБОУ ВО «Воронежский государственный университет», Воронеж, Россия

² ФГБОУ ВО «Воронежский государственный университет инженерных технологий», Воронеж, Россия

Поиск, разработка и производство новых веществ с антибактериальной активностью является одной из приоритетных задач современных химии, биомедицины, биофармацевтики и биотехнологии. Обусловлено это развитием резистентности у патогенных микроорганизмов к традиционно применяемым субстанциям, а также широким спектром побочных эффектов последних. Перспективными кандидатами для создания новых препаратов, борющихся с различными патогенами, являются растительные цистеиновые протеазы – бромелин, папаин и фицин. Согласно современным представлениям, основная причина выработки этих энзимов растениями – защита от гельминтов, а применение цистеиновых протеаз в медицине и ветеринарии способствует ускорению процессов ранозаживления за счет антибактериальной активности этих энзимов. Обусловлены эти свойства рассматриваемых ферментов их высокой протеолитической активностью, широкой субстратной специфичностью и оптимумами действия в физиологическом диапазоне значений pH среды и температуры.

2-(4-Ацетиамидо-2-сульфаниламид) хитозан – водорастворимое производное природного полисахарида хитозана, содержащее биологически активные сульфаниламидные группы. Сульфаниламиды – одни из первых соединений, для которых была выявлена их антибактериальная активность. Таким образом, совмещая в одном препарате низкотоксичные природные соединения с антибактериальными свойствами, становится возможным получение новых лекарственных средств с минимальными побочными эффектами. Однако для достижения желаемого эффекта комбинированного препарата необходимо сохранять каталитическую активность цистеиновых протеаз. В связи с чем целью настоящей работы является получение новых препаратов бромелина, папаина и фицина путем комплексообразования с 2-(4-ацетиамидо-2-сульфаниламид) хитозаном с разными молекулярными массами, исследования механизма их взаимодействия и каталитической активности.

В работе использован 2-(4-ацетиамидо-2-сульфаниламид) хитозан с молекулярными массами 200, 350 и 600 кДа и степенями замещения 0.327, 0.286 и 0.167, соответственно. Исследование взаимодействия цистеиновых протеаз с носителем показало, что во взаимодействии принимают участие гидроксильные, сульфо-, аминогруппы, а также бензольные кольца 2-(4-ацетиамидо-2-сульфаниламид) хитозана. Методом молекулярного докинга показано, что для всех ферментов наблюдается участие в процессе комплексообразования каталитически значимых аминокислот. В случае папаина с носителем взаимодействует вся каталитическая триада, а для прочих энзимов только две аминокислоты из активного центра образуют водородные связи с матрицей.

Анализ содержания белка в комплексных препаратах показал, что наибольшее количество фицина и бромелина связывается с 2-(4-ацетиамидо-2-сульфаниламид) хитозаном с молекулярной массой 600 кДа, а для папаина масса полимера существенным образом не влияет на степень связывания фермента. Общая активность фицина оказалась выше при его комплексообразовании с 2-(4-ацетиамидо-2-сульфаниламид) хитозаном с молекулярной массой 600 кДа, а папаина и бромелина – с полимером массой 350 кДа. Наибольшую удельную активность показали препараты всех трех цистеиновых протеаз в комплексе с 2-(4-ацетиамидо-2-сульфаниламид) хитозаном с молекулярной массой 350 кДа, причем для папаина наблюдается ее повышение по сравнению с нативным белком.

Таким образом, комплексные препараты на основе цистеиновых протеаз и 2-(4-ацетиамидо-2-сульфаниламид) хитозаном являются перспективными для их дальнейшего использования в биомедицине и биофармацевтике.

Работа выполнена при финансовой поддержке РНФ, проект № 21–74–20053