

К.Н. САЗАНОВА, С.Х. ШАРИПОВА

Самарский государственный медицинский университет

ФРАКЦИОННЫЙ СОСТАВ БЕЛКОВ И МОЛЕКУЛЯРНЫЕ ФОРМЫ МАЛАТДЕГИДРОГЕНАЗЫ В ПЛОДАХ РАСТЕНИЙ РОДА FILIPENDULA

Методом электрофореза в полиакриламидном геле проведено исследование фракционного состава белков и установлен состав молекулярных форм малаатдегидрогеназы свежего и высушенного лекарственного растительного сырья, плодов лабазника вязолистного и шестилепестного в условиях повышенной влажности.

Ключевые слова: малаатдегидрогеназа, молекулярные формы, лекарственное растительное сырье, плоды, лабазник, *Filipendula*

Сазанова Ксения Николаевна – заочный аспирант 1-го года обучения кафедры химии фармацевтического факультета. E-mail: kse-sazanova@yandex.ru

Шарипова Сафия Хакимовна – кандидат химических наук, доцент кафедры химии фармацевтического факультета. E-mail: safiya49@mail.ru

K.N. SAZANOVA, S.KH. SHARIPOVA

Samara State Medical University

PROTEIN FRACTIONAL COMPOSITION AND MOLECULAR FORMS OF MALATE DEHYDROGENASE IN THE PLANT FRUITS OF THE GENUS FILIPENDULA

The investigation of protein fractional composition was performed by means of electrophoresis with polyacrylamide gel. Malate dehydrogenase molecular composition of fresh and dried herbal material of meadowsweet in the humid environment was revealed.

Keywords: malate dehydrogenase, molecular forms, herbal drugs, fruit, meadowsweet, *Filipendula*

Ksenia Sazanova – Postgraduate student of Chemistry Chair, Pharmaceutical Department. E-mail: kse-sazanova@yandex.ru

Safiya Sharipova – Candidate of Chemistry, Associate Professor of Chemistry Chair, Pharmaceutical Department. E-mail: safiya49@mail.ru

К растениям, из которых созданы лекарственные препараты (ЛП), относятся лабазник вязолистный и шестилепестный. При изготовлении ЛП используются различные органы растений указанных видов. Однако препараты на основе плодов лабазника в настоящее время на фармацевтическом рынке Российской Федерации отсутствуют [2]. В связи с этим представляет научный интерес исследование плодов этого растения, и становится актуальным решение вопросов стандартизации лекарственного сырья и препаратов на его основе.

К примеру, в процессе высушивания лекарственного растительного сырья белки, содержащиеся в нём, теряют гидратную оболочку, при этом нарушаются четвертичная, третичная структура молекулы и биологическая активность. При формировании оптимальных значений температуры, pH и влажности происходит ренатурация белка с восстановлением первоначальной конформации и каталитической функции энзима. Это приводит к

снижению количества действующих веществ и терапевтического действия препарата. В связи с этим очевидна актуальность исследования биохимических характеристик ЛРС, в частности, изучение состава и динамики молекулярных форм (МФ) малаатдегидрогеназы (МДГ) [1, 2].

Цель: исследование фракционного состава белков и молекулярных форм малаатдегидрогеназы в плодах двух видов лабазника (вязолистного и шестилепестного) в условиях повышенной влажности.

Материалы и методы исследования

Материалом исследования служили плоды лабазника вязолистного и лабазника шестилепестного, заготовленные в фазу плодоношения в 2015 году в Самарской и Ульяновской областях.

Электрофоретический анализ проводили в камере для электрофореза в плоских блоках полиакриламидного геля с циркуляционной системой охлаждения. Определение проводили с использованием свежего ЛРС, а также сухого ЛРС по-

сле экспозиции во влажных условиях в течение 24, 72 и 120 часов при температуре 20°C.

Для установления фракционного состава неферментных белков клеток растений гелевые пластинки после электрофореза погружали в 1%-ый раствор амидо-черного в 7 %-ой кислоте уксусной на 10 мин.

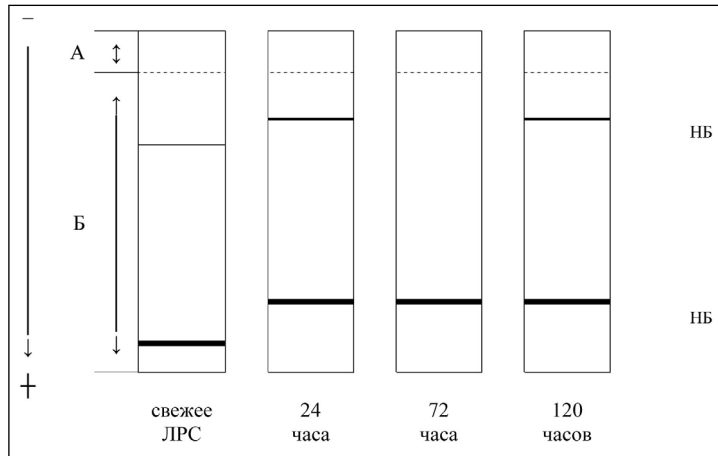
Для определения МДГ использовалась оптимизированная инкубационная среда: водный раствор NAD (1 мг/мл) – 40 мл, нитросиний тетразолиевый (1 мг/мл) – 30 мл, 1 М раствор малата натрия (рН=7,0) – 10 мл, феназинметасульфат (1 мг/мл) - 4 мл, 0,2 М трис-НСl буферный

раствор (рН=7,1) – до 100 мл. Гелевые пластинки инкубировали 12 часов при 37°C.

Определение относительной электрофоретической подвижности белковых фракций проводили с помощью компьютерной программы TLC Manager v.3.12.

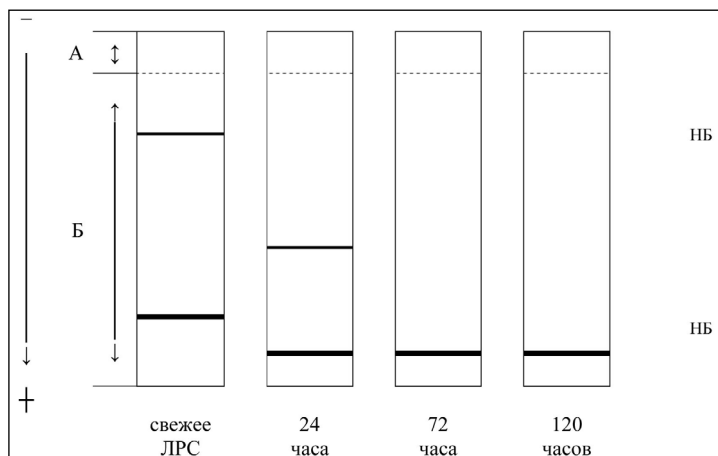
Результаты исследования и их обсуждение

В результате электрофоретического анализа извлечения из свежих плодов лабазника шестилепестного выявлено наличие высокомолекулярных неферментативных белков с относительной электрофоретической подвижностью (ОЭП), равной 0,25, и неферментативных низкомолекулярных белков с ОЭП 0,90.



А – концентрирующий гель; Б – разделяющий гель. НБ - неспецифические белки

Рис. 1. Электрофореграммы неспецифических белков свежих и высушенных плодов лабазника шестилепестного после экспозиции (24, 72, 120 часов) в условиях повышенной влажности при T = 20°C



А – концентрирующий гель; Б – разделяющий гель. НБ - неспецифические белки

Рис. 2. Электрофореграммы неспецифических белков свежих и высушенных плодов лабазника вязолистного после экспозиции (24, 72, 120 часов) в условиях повышенной влажности при T = 20°C

В ходе эксперимента с высушенным лекарственным растительным сырьем, экспозиционированным во влажной среде при комнатной температуре, были установлены следующие закономерности для плодов лабазника шестилепестного: через 24 часа выявляются высокомолекулярные белки с ОЭП 0,19 и неферментативные низкомолекулярные белки с ОЭП 0,75. Фракция с ОЭП 0,75 обнаруживается также через 72 часа и 120 часов. Фракция с ОЭП 0,20 обнаруживается через 120 часов (рис. 1).

В извлечениях из свежих плодов лабазника вязолистного нами были выявлены высокомолекулярные неферментативные белки с ОЭП 0,24 и неферментативные низкомолекулярные белки с ОЭП 0,80.

В ходе эксперимента с высушенным лекарственным растительным сырьем, экспозиционированным во влажной среде при комнатной температуре, были установлены следующие закономерности для плодов лабазника вязолистного: через 24 часа выявляются неферментативные низкомолекулярные белки с ОЭП 0,57 и ОЭП 0,85. Фракция с ОЭП 0,75 обнаруживается также через 72 часа и 120 часов (рис. 2).

Результаты относительной электрофоретической подвижности извлечений из плодов лабазника вязолистного и лабазника шестилепестного представлены в таблице 1.

Проведенный нами электрофоретический анализ молекулярных форм ма-

латдегидрогеназы, основанный на способности заряженных молекул фермента перемещаться в электрическом поле, позволил обнаружить в свежих плодах лабазника шестилепестного две молекулярные формы этого фермента – МДГ-1 и МДГ-3 (табл. 2).

Таблица 1

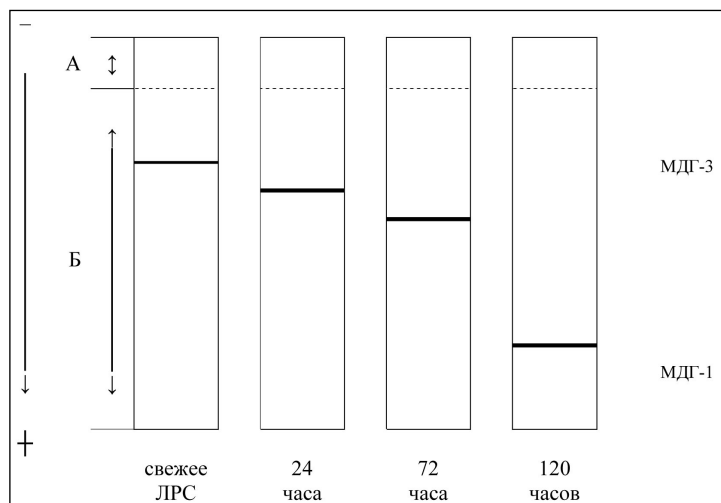
Относительная электрофоретическая подвижность (ОЭП) фракций плодов лабазника

Лекарственное растительное сырье	Свежее ЛРС	Время экспозиции сухого ЛРС в условиях повышенной влажности при T=200C		
		24 час	72 час	120 час
	ОЭП*, (M±m)	ОЭП*, (M±m)	ОЭП*, (M±m)	ОЭП*, (M±m)
Плоды лабазника вязолистного	0,24 ± 0,02	0,57 ± 0,03	-	-
	0,80 ± 0,03	0,85 ± 0,03	0,85 ± 0,03	0,85 ± 0,03
Плоды лабазника шестилепестного	0,25 ± 0,02	0,19 ± 0,03	-	0,20 ± 0,02
	0,90 ± 0,03	0,75 ± 0,03	0,75 ± 0,03	0,75 ± 0,03

Таблица 2

Относительная электрофоретическая подвижность (ОЭП) МФ МДГ плодов лабазника вязолистного и шестилепестного

Лекарственное растительное сырье	МФ МДГ	Свежее ЛРС	Время экспозиции сухого ЛРС в условиях повышенной влажности при T=200C		
			24 час	72 час	120 час
	ОЭП*, (M±m)	ОЭП*, (M±m)	ОЭП*, (M±m)	ОЭП*, (M±m)	
Плоды лабазника вязолистного	МДГ 3	0,28 ± 0,02	0,25 ± 0,03	0,30 ± 0,03	-
	МДГ 1	-	-	-	0,75 ± 0,03
Плоды лабазника шестилепестного	МДГ 3	0,25 ± 0,02	-	0,25 ± 0,03	0,65 ± 0,03
	МДГ 1	-	0,70 ± 0,02	-	-



А – концентрирующий гель; Б – разделяющий гель.

Молекулярные формы малатдегидрогеназы:

МДГ-1 - малатдегидрогеназа 1;

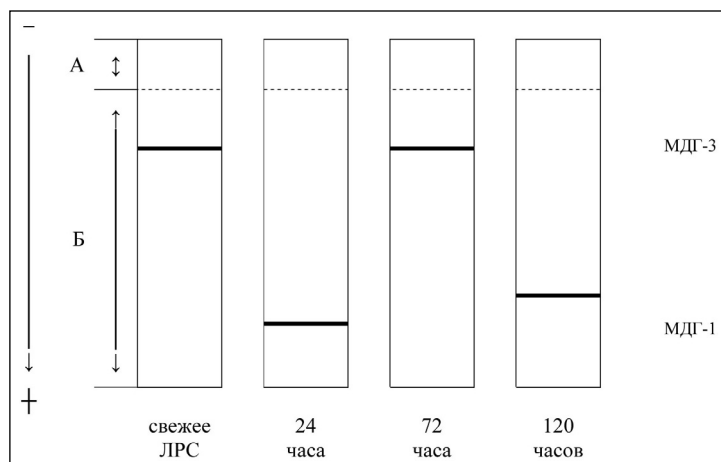
МДГ-3 - малатдегидрогеназа 3.

Рис. 3. Электрофореграммы малатдегидрогеназы свежих и высушенных плодов лабазника вязолистного после экспозиции (24, 72, 120 часов) в условиях повышенной влажности при T = 20°C

МДГ-3 в плодах лабазника вязолистного активна в свежем сырье и в воздушно-сухом сырье, после предварительной инкубации его в течение 3-х суток во влажной среде (рис. 3).

При инкубации воздушно-сухого сырья во влажной среде менее и более трёх суток МДГ-3 не определяется, активна МДГ-1. В плодах лабазника вязолистного наибольшую активность проявляет МДГ-3 как в свежем сырье, так и при инкубации сырья 24 и 72 часа. Через 5 суток свою активность проявляет МДГ-1.

В плодах лабазника шестилепестного проявляют свою активность МДГ-1 и МДГ-3. В свежем сырье, а также при инку-



А – концентрирующий гель; Б – разделяющий гель. Молекулярные формы малатдегидрогеназы: МДГ-1 - малатдегидрогеназа 1; МДГ-3 - малатдегидрогеназа 3

Рис. 4. Электрофореграммы малатдегидрогеназы свежих и высушенных плодов лабазника шестилепестного после экспозиции (24, 72, 120 часов) в условиях повышенной влажности при T = 20°C

бации высушенного сырья в течение 72 часов активна МДГ-3 (рис. 4).

Полосы МДГ-1 наблюдаются лишь в высушенном сырье плодов при инкубации сырья в течение 24 часов и 120 часов.

Заключение

В плодах лабазника вязолистного и лабазника шестилепестного выявлено наличие высокомолекулярных и низкомолекулярных неферментативных белковых фракций. Изменение числа фракций неферментативных белков в растениях семейства *Filipendula* в условиях повышенной влажности отличается специфичностью для каждого растения и является показателем качества лекарственного растительного сырья.

В плодах лабазника вязолистного и лабазника шестилепестного выявлены две молекулярные формы фермента малатдегидрогеназы – МДГ-1 и МДГ-3. Динамика активности молекулярных форм малатдегидрогеназы в вышеуказанных растениях в условиях повышенной влажности носит индивидуальный характер и может быть использована как критерий подлинности и качества ЛРС.

Показано, что сушку данного лекарственного растительного сырья следует проводить при оптимально повышенной температуре для ингибирования ферментов и сохранения действующих веществ. Получено экспериментальное подтверждение необходимости хранения лекарственного растительного сырья в сухих и прохладных помещениях.

Список литературы

1. Иванищев В.В., Курганов Б.И. Ферменты метаболизма малата: характеристика, регуляция активности и биологическая роль // Биохимия. – 1992. – Т. 57. – Вып. 5. – С. 653-661.
2. Сазанова К.Н., Шарипова С.Х. Фракционный состав белков и молекулярные формы малатдегидрогеназы в траве лабазника вязолистного и шестилепестного // Аспирантский вестник Поволжья. – 2015. – № 5-6. – Часть II. – С. 347-349.
3. Eprintsev A.T., Fedorina O.S. Function of malatdehydrogenase complex of Maize mesophyll fnd bundle sheath cell under salt stress condition // Journal of Stress Physiology & Biochemistry. – 2006. – Vol. 2. – № 2. – P. 4-9.