

К.Н. САЗАНОВА, С.Х. ШАРИПОВА

Самарский государственный медицинский университет

ФРАКЦИОННЫЙ СОСТАВ БЕЛКОВ И МОЛЕКУЛЯРНЫЕ ФОРМЫ МАЛАТДЕГИДРОГЕНАЗЫ В ТРАВЕ ЛАБАЗНИКА ВЯЗОЛИСТНОГО И ШЕСТИЛЕПЕСТНОГО

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

Ключевые слова: ферменты, малатдегидрогеназа, молекулярные формы, лекарственное растительное сырье, лабазник

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

Шарипова Сафия Хакимовна - к.х.н., доцент кафедры химии фармацевтического факультета СамГМУ. E-mail: safiya49@mail.ru

K.N. SAZANOVA, S.KH. SHARIPOVA

Samara State Medical University

FRACTIONAL COMPOSITION OF PROTEINS AND MOLECULAR FORMS OF MALATE DEHYDROGENASE IN THE GRASS OF MEADOWSWEET

The paper presents a study of the fractional composition and structure of the set of molecular forms of malate dehydrogenase in fresh and dried medicinal plants - herbs of meadowsweet - in humid environment.

Keywords: enzymes, malate dehydrogenase, molecular forms, herbal drugs, meadowsweet

Ksenia Sazanova - postgraduate student of the Chair of Chemistry of Pharmaceutical Department. E-mail: kse-sazanova@yandex.ru

Safiya Sharipova - candidate of Chemistry, associate professor of the Chair of Chemistry of Pharmaceutical Department. E-mail: safiya49@mail.ru

В настоящее время до 40% всех лекарственных препаратов, применяемых в современной медицине, получают из растительного материала. По своей фармакологической активности фитопрепараты не уступают своим синтетическим аналогам, а благодаря сбалансированному комплексу биологически активных веществ, они благоприятно действуют на организм человека, практически не давая побочных эффектов [2]. Стандартизация лекарственных средств растительного происхождения имеет свои особенности, а проблема сохранения действующих веществ в лекарственном растительном сырье в процессе его сушки и хранения не полностью решена. Однако в процессе высушивания лекарственного растительного сырья (ЛРС) белки теряют гидратную оболочку, при этом нарушаются четвертичная, третичная структура молекулы и биологическая активность. При формировании оптимальных значений

температуры, pH и влажности происходит денатурация белка с восстановлением первоначальной конформации и каталитической функции энзима [3]. Это приводит к снижению количества действующих веществ и терапевтического действия препарата [1,4]. В связи с этим становится актуальным исследование биохимических характеристик ЛРС, в частности изучение состава и динамики молекулярных форм (МФ) малатдегидрогеназы (МДГ). Имеются данные о том, что малаат играет существенную роль в поддержании внутренних физиологических условий растительных клеток. Двойной путь утилизации малаата с помощью малаатдегидрогеназ (МДГ) и малик-энзимов позволяет организму уменьшить зависимость от гликозида при синтезе энергии и углеродных скелетов. Растительная МДГ (малаатдегидрогеназная система) представляет собой динамическое равновесие белков, способное четко реагировать

на физиологическое состояние и потребности растительного организма, а также изменение окружающей среды. Мататдегидрогеназный комплекс представлен четырьмя дегидрогеназами, две из которых обладают оксидоредуктазной активностью, а две другие - декарбоксилирующие МДГ [5]. В современной литературе данные о МФ МДГ лекарственных растений немногочисленны. Поэтому настоящее исследование приобретает важное теоретическое и практическое значение.

Цель исследования: установить фракционный состав белков и молекулярные формы маламатдегидрогеназы в траве лабазника вязолистного и шестилепестного.

Молекулярные формы МДГ выявлялись в виде темно-синих полос.

Результаты исследования и их обсуждение

При проведении электрофоретического анализа во всех извлечениях из свежего растительного сырья травы лабазника вязолистного и шестилепестного обнаружены низкомолекулярные белки с высокой электрофоретической подвижностью. На электрофореграммах регистрируются две окрашенные полосы неспецифических белков: в траве лабазника вязолистного обнаруживаются низкомолекулярные белки с ОЭП 0,68-0,75; в траве лабазника шестилепестного с ОЭП 0,65-0,77 (табл. 1).

Таблица 1

Относительная электрофоретическая подвижность (ОЭП) фракций лекарственных растений семейства розоцветные

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)
Трава лабазника вязолистного	0,68± 0,02 0,75 ±0,03	0,37 ±0,02 0,52 ±0,02	0,66 ±0,02	-
Трава лабазника шестилепестного	0,65± 0,02 0,77 ±0,03	0,42 ±0,02 0,62 ±0,02	0,65 ±0,02 0,78 ±0,03	-

Материалы и методы исследования

Объектом исследования являлась трава лабазника вязолистного и шестилепестного, заготовленная в Самарской области в 2014 году. Для выполнения исследований использовали электрофоретический метод анализа. Определение проводили с использованием свежего ЛРС, а также сухого ЛРС после 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% раствор амидо-черного в 7% кислоте уксусной на 10 мин. Избыток красителя удаляли вымачиванием гелевых пластинок в 7% кислоте уксусной в течение 7 дней. Молекулярные формы МДГ разделяли методом электрофореза в полиакриламидном геле и выявляли феназинметасульфат-тетразолиевой реакцией: гелевые пластины инкубировали 12 часов при 37°C в чашках Петри в оптимизированной инкубационной среде, содержащей водные растворы NAD (1 мг/мл) – 40 мл, нитросинего тетразолиевого (1 мг/мл) – 30 мл, 1 М раствора маламат натрия (pH=7,0) – 10 мл, феназинметасульфата (1 мг/мл) – 4 мл, 0,2 М трис-HCl буферного раствора (pH=7,1) – до 100 мл.

В образце из высушенной травы лабазника шестилепестного обнаруживаются две фракции неспецифических белков с соответствующими значениями относительной электрофоретической подвижности (ОЭП) 0,42-0,65 и 0,62-0,78 (табл. 1).

Выдерживание образцов сырья в условиях повышенной влажности во времени привело к изменению фракционного состава белка. Так, при инкубации сырья в течение 24 часов обнаруживаются неспецифические белки с ОЭП 0,42 и ОЭП 0,62. При более длительном выдерживании сырья в условиях повышенной влажности (72 часа) определяются белки с ОЭП 0,65 и ОЭП 0,78. Через 120 часов на фореграмме белковые фракции не обнаруживаются. Можно предположить, что эти неспецифические белки подверглись катаболизму в реакциях возобновившегося ферментативного катализа.

В сырье из высушенной травы лабазника вязолистного обнаруживаются также две фракции неспецифических белков с ОЭП 0,37 и ОЭП 0,52.

Выдержка в условиях повышенной влажности играет существенную роль для данного вида сырья, так как через 72 часа инкубации обнаруживается только одна фракция неспецифических белков с ОЭП 0,52.

Через 120 часов фракции неспецифических белков не обнаруживаются. Следовательно, можем предположить, что эти белки также подверглись катаболизму в реакциях возобновившегося ферментативного катализа.

Проведенный анализ свежего сырья травы лабазника двух видов позволил об-

наружить изоформу МДГ, а именно МДГ-3. При проведении данного анализа с сухим сырьем, на фореграмме не обнаруживаются изоформы МДГ. Можно предположить, что произошел катаболизм в реакциях возобновившегося ферментативного катализа (табл. 2).

Таблица 2

**Относительная электрофоретическая подвижность (ОЭП)
МФ МДГ травы 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)
Трава лабазника вя- золистного	МДГ 3	0,30±0,02	-	-	-
Трава лабазника ше- стилепестного	МДГ 3	0,27±0,02	-	-	-

Заключение

В траве лабазника вязолистного и шестилепестного обнаружены неспецифические белки и выявлена МФ фермента МДГ, а именно МДГ-3. Изменение числа фракций неферментативных белков и динамика активности молекулярной формы МДГ в растениях семейства розоцветные в условиях повышенной влажности отличаются специфичностью для каждого растения и являются показателем качества лекарственного растительного сырья.

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. Пинейру де Карвалью М. А., Землянухин А.А., Епринцев Е.Т. Малатдегидрогеназа высших растений. - Воронеж: Изд-то ВГУ, 1991. 216 с.
3. Сазанова К.Н. Фракционный состав белков травы лабазника вязолистного и шестилепестного // Всероссийская научная конференция студентов и молодых специалистов «Актуальные вопросы современной медицины: взгляд молодого специалиста»: Тезисы докладов. Рязань, 2015. - С. 175-176.
4. Шаталаев И.Ф., Расцветова Н.В. Молекулярные формы малатдегидрогеназы лекарственных растений семейства сложноцветные // Известия Самарского научного центра Российской академии наук. - 2014. Т. 16, Вып. №5(2). С.1033 - 1035.
5. 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.