

ХІМІЧНІ НАУКИ

Осадчук Т.В.

*кандидат біологічних наук,
старший науковий співробітник;*

Шибирин О.В.

кандидат хімічних наук;

Семироз А.В.

аспірант,

*Інститут біоорганічної хімії та нафтохімії
Національної академії наук України*

Кібірєв В.К.

*доктор біологічних наук, професор,
Інститут біохімії імені О.В. Палладіна
Національної академії наук України*

ДОСЛІДЖЕННЯ ФЛАВОНОЇДІВ У ЯКОСТІ НЕПЕПТИДНИХ ІНГІБІТОРІВ ФУРИНУ

Фурин (КФ 3.4.21.75) належить до родини кальцій-залежних серинових пропротеїнконвертаз (ПК), які у секреторному шляху здійснюють обмежений ендопротеоліз латентних попередників білків (пропротеїнів) і перетворюють їх у «зрілі», біологічно активні продукти: гормони, поліпептиди, фактори росту, рецептори, ензими, фактори зсідання крові, адгезивні молекули і таке інше [1, 2]. ПК задіяні у здійсненні важливих біологічних перетворень, наприклад, у ембріогенезі, гомеостазі та інших процесах. Вони також залучаються до розвитку широкого кола вірусних і бактеріальних інфекцій і таких патологій, як рак і метастазування, хвороба Альцгеймера, ожиріння та діабет, атеросклероз та інші [3]. Тому фурин розглядають як важливий ензим для мішень-спрямованого синтезу відповідних інгібіторів та розробки на їх основі сучасних засобів при лікуванні онкологічних, вірусних та бактерійних інфекцій, особливо у короткостроковій терапії [4]: Перспективними інактиваторами вважаються низькомолекулярні сполуки непептидної природи, які легше проникають у клітину, мають знижену імуногенність, виявляють покращену метаболічну і протеолітичну стабільність та більш доступні синтетичними методами [3].

Слід відзначити, що джерелом інгібіторів фурину можуть бути не лише синтетичні, але й природні сполуки. Так, нами було встановлено, що представники ряду флавоноїдів – байкалін, рутин, нарингін та метилгесперидин – здатні знижувати активність ензиму ($K_i=80-200 \mu\text{M}$) за конкурентним і зворотнім механізмом [5]. Канадські вчені [6] показали, що байкалеїн, хризин,

ороксилін А та його глікозид проявляють на порядок більшу спорідненість до фурину ($K_i = 5\text{--}35 \mu\text{M}$).

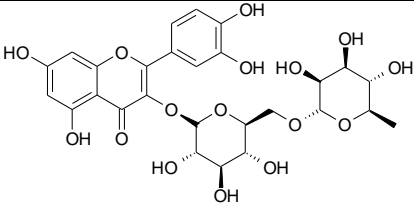
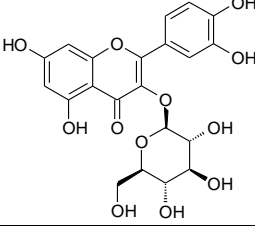
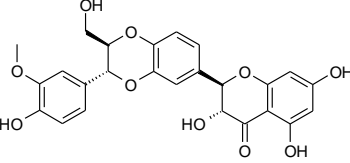
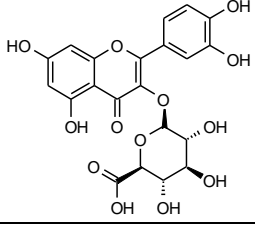
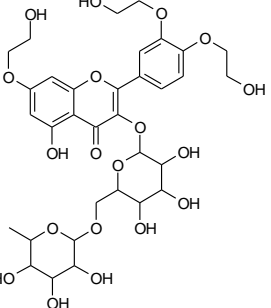
Метою нашої роботи є вивчення в якості непептидних інгібіторів фурину деяких похідних флавоноїдів, що містять угруповання, які сприяють утворенню водневих зв'язків та реалізації додаткових гідрофобних взаємодій.

Для тестування флавоноїдів використовували рекомбінантний фурин людини (2000 од/мл, New England BioLabs, США) і флуорогенний субстрат Boc-Arg-Val-Arg-Arg-AMC (Bachem, Швейцарія). Експериментальні умови здійснення ензиматичної реакції, обробка одержаних результатів та графіків наведено в нашій роботі [5].

У таблиці представлено хімічну будову та результати тестування антифуринової активності флавоноїдів, що вивчалися.

Таблиця 1

Структура та інгібіторна активність досліджених флавоноїдів

Назва сполуки	Структура	Інгібуюча активність, %
Рутин*		51
Ізокверцетин		47
Силібін		54
Мікуеліанін		53
Троксерутин		65

*Примітка: Активність рутину наведено для порівняння з роботи [5]

Попри те, що специфічність фурину обумовлена наявністю у молекулах субстратів та інгібіторів позитивного заряду [1\$ 2], проведена нами робота показала, що флавоноїди, які не містять в своїй структурі подібних угруповань, тим не менше здатні взаємодіяти з ензимом і інактивувати його. За отриманими даними найефективнішим інгібітором серед досліджуваних нами сполук виявився троксерутин, який в умовах експерименту знижував активність фурину на 65 %. Оскільки за попередніми даними ці сполуки інгібують фурин конкурентно, можна стверджувати, що вони взаємодіють безпосередньо з активним центром ензиму. Така взаємодія очевидно ґрунтується на утворенні водневих зв'язків між гідроксильними групами глікозильованого фрагменту та залишками амінокислот активного сайту фурину. Ефективність інгібування залежить від просторового розташування глікозидного залишку, яке може забезпечити більш тісний контакт та найбільш продуктивну взаємодію зі зв'язуючим центром ензиму.

Список використаних джерел:

1. Molloy S.S., Bresnahan P.A., Leppla S.H., Klimpel K.R., Thomas G.. Human furin is a calcium-dependent serine endoprotease that recognizes the sequence Arg-X-X-Arg and efficiently cleaves anthrax toxin protective antigen // *J. Biol. Chem.* – 1992. – 267, № 23. – P. 16396-16402.
2. Thomas G. Furin at the cutting edge: from protein traffic to embryogenesis and disease // *Nat Rev Mol Cell Biol.* – 2002. – 3 (10). – P. 753–766.
3. U.C.De, P.Mishra, P.R.Pal, B.Dinda, A.Basak. Non-peptide inhibitors of proprotein convertases subtilisin kexins (PCSKs). An overall review of existing and new data (ed. M.Khatib). *Colloquium series on protein and cancer.* – 2012. – P. 1-76.
4. Seidah N.G., Prat A. The biology and therapeutic targeting of the proproteinconvertases // *Nat. Rev. Drug Discovery.* – 2012. – 11 (5). – P. 367-383.
5. Кибирев В.К., Осадчук Т.В, Вадзюк О.Б., Гаразд М.М. Новые непептидные ингибиторы фурина // *Укр.биохим. ж.* – 2010. – 82 (2). – P. 15-21.
6. Majumdar S., Mohanta B.C., Chowdhury D.R., Banik R., Dinda B., BasakA. Proprotein convertase inhibitory activity of flavonoids isolated from *Oroxylum Indicum* // *Current Med. Chem.* – 2010. – 17 (19). – P. 2049 2058.