

Министерство науки и высшего образования Российской Федерации
Федеральное государственное бюджетное учреждение науки
Тихоокеанский институт биоорганической химии им. Г. Б. Еякова
Дальневосточного отделения Российской академии наук
(ТИБОХ ДВО РАН)

ХVII ВСЕРОССИЙСКАЯ МОЛОДЁЖНАЯ ОНЛАЙН ШКОЛА-КОНФЕРЕНЦИЯ

Актуальные проблемы химии и биологии

МАТЕРИАЛЫ КОНФЕРЕНЦИИ



7-10 сентября 2020 г.

Владивосток

УДК 577

ББК 28.07

XVII Всероссийская молодежная онлайн школа-конференция по актуальным проблемам химии и биологии ТИБОХ ДВО РАН. Материалы конференции / Владивосток, 07 – 10 сентября 2020. – Владивосток

В сборнике представлены тезисы устных докладов студентов, аспирантов и молодых ученых, участников XVII Всероссийской молодежной онлайн школы-конференции. В рефератах отражены результаты научных работ по приоритетным направлениям химии, биологии, прикладной биологии и медицины. Для студентов, аспирантов, научных сотрудников и специалистов в области химии и биологии.

DOI: 10.47471/17_2020_09_07_10_0

ISBN - 978-5-91849-159-1

УДК 577

ББК 28.07

Организационный комитет выражает благодарность за оказанную поддержку: Федеральному государственному бюджетному учреждению науки Тихоокеанскому институту биоорганической химии им. Г. Б. Елякова Дальневосточного отделения Российской академии наук

Председатель Оргкомитета

Дмитренко Павел Сергеевич, к.х.н, директор ТИБОХ ДВО РАН

Организационный комитет

**Менчинская Екатерина Сергеевна, зам. председателя, к.б.н., н.с., председатель
Совета молодых ученых ТИБОХ ДВО РАН**

Кусайкин Михаил Игоревич, д.б.н., зам. директора по научной работе

Куриленко Валерия Валерьевна, к.б.н., ученый секретарь ТИБОХ ДВО РАН

Усольцева Роза Владимировна, к.х.н., с.н.с.

Кокоулин Максим Сергеевич, к.х.н., с.н.с.

Пелагеев Дмитрий Николаевич, к.х.н., н.с.

Кветкина Александра Николаевна, м.н.с.

Программный комитет:

**Стоник В. А. – академик РАН, научный руководитель ТИБОХ ДВО РАН,
Председатель,**

**Аминин Д. Л. – член.-корр. РАН, д.б.н., заведующий лабораторией биоиспытаний
и механизма действия БАВ,**

Черников О. В. – к.б.н., зам. директора по научной работе,

Красикова И. Н. – д.х.н., зав. отделом аспирантуры и докторантуры

| | |
|--|----|
| Е. В. Лейченко Фармакологический потенциал пептидов морского происхождения | 6 |
| С. Н. Балдаев, К. В. Гузев, В. Е. Чаусова, М. П. Исаева Клонирование полноразмерного транскрипта OSC2 из тканей водного легкого голотурии <i>Eupentacta fraudatrix</i> | 7 |
| А. А. Белик, А. С. Сильченко, О. С. Маляренко, А. Б. Расин, М. И. Киселева, М. И. Кусайкин, С. П. Ермакова Сравнительный анализ новых альгинат-лиаз семейств PL7 и PL6 из полисахарид-деградирующей бактерии <i>Formosa algae</i> KMM 3553 ^T | 8 |
| Е. П. Быстрицкая, Н. Ю. Чернышева, А. В. Ракин, М. П. Исаева Влияние стрессовых факторов окружающей среды на экспрессию поринов <i>Yersinia pseudotuberculosis</i> | 9 |
| Е. А. Васильева, Н. В. Крылова, О. В. Иунихина, Н. П. Мищенко, С. А. Федорев Исследование противовирусной активности спинохромов | 10 |
| Е. В. Гирич, С. А. Дышловой, Е. А. Юрченко, А. Н. Юрченко Трипептидные и бисиндолбензохиноновые производные из вьетнамского штамма микроскопического гриба <i>Aspergillus terreus</i> | 11 |
| В. М. Захаренко, И. П. Котляров, Т. В. Маляренко Выделение и установление строения новых необычных тритерпеновых гликозидов из дальневосточной морской звезды <i>Solaster pacificus</i> | 12 |
| А. О. Зуева, А. С. Сильченко, А. Б. Расин, С. П. Ермакова Сравнительная характеристика фукоиданаз из морской бактерии <i>Wenyingzhuangia fucanilytica</i> CZ1127 ^T | 13 |
| Р. С. Калина, И. Н. Гладких, С. Пеньёр, Е. А. Зеленуга, П. С. Дмитренко, Е. В. Лейченко, Я. Титгат, М. М. Монастырская, Э. П. Козловская Нейротоксины актинии <i>Heteractis crispa</i> : влияние на процессы активации и инактивации Nav каналов | 14 |
| А. В. Кантемиров, Е. В. Кантемирова, М. Е. Жидков Синтез производных фаскаплизина по положению 6 | 15 |
| А. Н. Кветкина, Л. А. Калужский, Е. А. Пислягин, Е. С. Менчинская, А. С. Иванов, Д. Л. Аминин, М. П. Исаева, Е. В. Лейченко Взаимодействие с сериновыми протеазами и нейропротективная активность IQ пептидов Кунитц-типа актинии <i>Heteractis crispa</i> | 16 |
| С. А. Козловский, Е. А. Пислягин, Е. С. Менчинская, Е. А. Чингизова, Г. Н. Лихацкая, Т. Ю. Горпенченко, Ю. Е. Сабуцкий, С. Г. Полоник, Д. Л. Аминин Синтетические производные 1,4-нафтохинонов блокируют рецепторы P2X7 типа в нейрональных клетках мышцы | 17 |
| С. А. Колесникова, Е. Г. Ляхова, А. В. Кожушная, А. И. Калиновский, Р. С. Попов, Д. В. Бердышев Серия новых изомалабарикановых производных из вьетнамской морской губки <i>Stelletta</i> sp. | 18 |
| И. Н. Лизанов, А. С. Кузьмич, Л. А. Романенко, М. С. Кокоулин Структурное исследование капсульного полисахарида морской бактерии <i>Kangiella japonica</i> KMM 3897 | 19 |
| И. Н. Лизанов, А. С. Кузьмич, Л. А. Романенко, М. С. Кокоулин Капсульный полисахарид морской бактерии <i>Psychrobacter marincola</i> KMM 277 ^T : структура, антипролиферативная активность | 20 |
| А. О. Макарова, О. С. Зуева, Ю. Ф. Зуев Нанокompозитные гидрогели на основе биополимеров и углеродных нанотрубок для применения в нефтехимии | 21 |

| | |
|--|----|
| А. О. Макарова, О. С. Зуева, Ю. Ф. Зуев Биоразлагаемый модифицированный водорастворимый гидрогель для повышения нефтеотдачи | 22 |
| Т. О. Мизгина, И. В. Чикаловец, В. И. Молчанова, О. В. Черников Лектины двустворчатого моллюска <i>Glycymeris yessoensis</i> как паттерн-распознающие рецепторы | 23 |
| Д. Н. Пелазеев, К. Л. Борисова, В. Ф. Ануфриев Реакция 2-(1-бромалкил)-3-гидроксинафтазаринов с диенофилами и метиленактивными соединениями | 24 |
| А. Б. Расин, А. С. Сильченко, М. И. Кусайкин, А. И. Калиновский, С. П. Ермакова Установление структуры фукоиданов из <i>Sargassum horneri</i> и <i>Fucus evanescens</i> с использованием специфических ферментов и спектроскопии ЯМР | 25 |
| Н. К. Рубцов, Р. А. Шкрабов, О. С. Маляренко, И. Ю. Бакунина Физико-химические и каталитические свойства α -N-ацетилгалактозаминидаз выделенных из культур раковых клеток НТ-29, НСТ-116 | 26 |
| Ю. Е. Сабуцкий, Е. С. Менчинская, Л. С. Шевченко, Е. А. Чингизова, В. В. Михайлов, Д. Л. Аминин, С. Г. Полоник Синтез, цитотоксическая и антимикробная активность тетрациклических тиогликозидных конъюгатов – производных хинолин- и изохинолин-5,8-диона | 27 |
| Е. В. Соколова, А. О. Кравченко, А. И. Калиновский, Н. В. Сергеева, Л. Н. Богданович, В. П. Глазунов, И. М. Ермак Эффект сульфатированных галактанов красных водорослей на начальные стадии активации комплемента <i>in vitro</i> | 28 |
| П. Д. Тимкин, Э. А. Тимофеев, А. П. Чупалов, Е. А. Бородин Предсказание потенциальных лигандов для TRPM8 методами машинного обучения и межмолекулярного докинга | 29 |
| Р. В. Усольцева, Н. М. Шевченко, Т. Н. Звягинцева, С. Д. Анастюк, О. С. Маляренко С.. П. Ермакова Фукоиданы из бурых водорослей <i>Laminaria longipes</i> , <i>Tauya basicrassa</i> и <i>Sargassum duplicatum</i> : структура и биологическое действие | 30 |
| А. П. Фильштейн, И. В. Чикаловец, А. С. Кузьмич, О. В. Черников Влияние лектинов из нового семейства MytiLectin на пролиферацию опухолевых клеток | 31 |
| В. А. Хоменко, Л. А. Романенко, Е. И. Аксенова, М. С. Кунда, Н. Н. Рыжова, О. Л. Воронина, Н. Ю. Ким, Г. Н. Лихацкая, Д. К. Чистюлин, О. Ю. Портнягина, О. Д. Новикова Особенности структуры и свойств нового пориноподобного белка психрофильной морской бактерии <i>Marinomonas primoryensis</i> | 32 |
| В. Е. Чаусова, Н. Ю. Чернышева, К. В. Гузев, И. Н. Гладких, Е. В. Лейченко, М. П. Исаева Исследование генетических основ структурного разнообразия HMRG-полипептидов актинии <i>Heteractis magnifica</i> методом глубокого секвенирования | 33 |
| Н. Ю. Чернышева, М. П. Исаева Филогенетическое разнообразие альгинат-лиаз семейства PL7 в геномах рода <i>Zobellia</i> | 34 |
| Е. А. Чингизова, А. С. Сильченко, О. С. Маляренко, С. П. Ермакова Биологическая активность новых тритерпеновых гликозидов, выделенных из голотурии <i>Colochirus quadrangularis</i> | 35 |

Фармакологический потенциал пептидов морского происхождения

Е. В. Лейченко

Тихоокеанский институт биоорганической химии им. Г. Б. Елякова ДВО РАН

Электронная почта: leychenko@gmail.com

Морские организмы составляют примерно половину всего глобального биоразнообразия и представляют собой огромный и ценный ресурс природных биоактивных молекул. Пептиды морского происхождения обладают огромным фармацевтическим потенциалом, проявляя широкий спектр биоактивностей, таких как противомикробное, противовирусное, противоопухолевое, антиоксидантное, кардиозащитное (гипотензивное, антиатеросклеротическое и антикоагулянтное), иммуномодулирующее, обезболивающее, анксиолитическое, антидиабетическое, подавляющее аппетит и нейропротекторное действие, и имеют значительные преимущества перед низкомолекулярными метаболитами при применении их в качестве активных субстанций в лекарственных препаратах. В настоящее время современные омиксные технологии позволяют получать необходимую структурно-функциональную информацию о потенциальных биоактивных пептидах исследуемого организма, а биотехнологические подходы обеспечивают эффективную наработку морских пептидов с минимальным воздействием на окружающую среду. Наиболее изученными морскими пептидами являются пептиды моллюсков конусов, морских червей, медуз и морских анемонов, последние из которых будут подробно рассмотрены в настоящем докладе. Кроме того, особое внимание будет уделено изучению их разнообразия, получению пептидов и тестированию их биологической активности.

Работа поддержана грантами РФФИ № 18-04-00631 и РНФ № 19-74-20088.

Клонирование полноразмерного транскрипта OSC2 из тканей водного легкого голотурии *Eupentacta fraudatrix*

С. Н. Балдаев, К. В. Гузев, В. Е. Чаусова, М. П. Исаева

Тихоокеанский институт биоорганической химии им. Г. Б. Елякова ДВО РАН

Электронная почта: baldaevsergey@gmail.com

Голотурии являются перспективным объектом исследований, поскольку продуцируют множество биологически активных соединений с высокой фармакологической ценностью. Сапонины (тритерпеновые гликозиды) голотурий представляют низкомолекулярные характеристичные метаболиты для данной группы животных [1]. Они обладают высоким фармакологическим потенциалом, оказывая ранозаживляющий, цитостатический, противоопухолевый, гемолитический и ряд других терапевтических эффектов [2]. Один вид голотурий может продуцировать множество различных сапонинов, различающихся по химическому составу и функциям [3]. Распределение сапонинов у голотурий между органами неравномерно, что говорит о сложной системе их продукции и взаимодействия [3, 4]. Стерины и сапонины голотурий имеют различные пути биосинтеза, расходящиеся, по всей видимости, на этапе циклизации оксидосквалена при помощи оксидоскваленциклаз (OSC).

Ранее нами была установлена полноразмерная последовательность транскрипта OSC2 из тканей кишечника голотурии *Eupentacta fraudatrix* на основе 5'- и 3'-RACE [5]. Однако при клонировании полноразмерной кДНК из тканей кишечника было обнаружено, что OSC2 имеет делецию фрагмента между 548 и 650 н.о., приводящую к сдвигу рамки считывания. В то же время клонирование транскрипта из тканей водного легкого позволило получить полноразмерную последовательность OSC2. Секвенирование последовательностей OSC2 показало присутствие девяти несинонимичных нуклеотидных замен, приводящих к аминокислотным заменам в следующих позициях: S38L, I50L, D245H, Q548P, S557A, V633A, D642H, A667T и H670Q. Полученные данные свидетельствуют о существовании как делеционного, так и аллельного полиморфизма OSC2, который может обеспечивать особенности регуляции и функционирования фермента в разных органах животного.

1. Kalinin V.I., Avilov S.A., Silchenko A.S., Stonik V.A. // Nat. Prod. Commun. 2015. V. 10. P. 21-26.
2. Zhao Y.C., Xue C.H., Zhang T.T., Wang Y.M. // J. Agric. Food Chem. 2018. V. 66, № 28. P. 7222-7237.
3. Bahrami Y., Zhang W., Franco C. // Mar. Drugs. 2018. V. 16, № 11 P.423.
4. Popov R.S., Ivanchina N.V., Silchenko A.S., Avilov S.A., Kalinin V.I., Dolmatov I.Y., Stonik V.A., Dmitrenok P.S. // Mar. Drugs. 2017. V. 15. P. 302.
5. Чаусова В.Е., Балдаев С.Н., Гузев К.В., Быстрицкая Е.П., Исаева М.П. // Конференция, посвященная 55-летию ТИБОХ ДВО РАН и 90-летию со дня рождения его основателя академика Г. Б. Елякова. 2019. С. 100.

Сравнительный анализ новых альгинат-лиаз семейств PL7 и PL6 из полисахарид-деградирующей бактерии *Formosa algae* KMM 3553^T

А. А. Белик, А. С. Сильченко, О. С. Маляренко, А. Б. Расин, М. И. Киселева, М. И. Кусайкин, С. П. Ермакова

Тихоокеанский институт биоорганической химии им. Г. Б. Елякова ДВО РАН

Электронная почта: belik_a_a@mail.ru

Бифункциональные альгинат-лиазы образуют значительную группу в пуле альгинолитических ферментов. Хотя этой группе не присвоен конкретный номер ЕС, эти ферменты можно классифицировать как специфичные для маннуроната (ЕС 4.2.2.3) или для гулуроната (ЕС 4.2.2.11).

Нами были клонированы две рекомбинантные альгинат-лиазы (ALFA3 и ALFA4) из генома морской бактерии *Formosa algae* KMM 3553^T. ALFA3 является бифункциональным эндолитическим ферментом, в то время как ALFA4 является М-специфическим эндолитическим ферментом.

ALFA3 была в равной степени способна расщеплять три типа альгината натрия (М – полиманнуронат, MG – маннуронат-обогащенный и G – гулуронат-обогащенный). Молекулярная масса составляла 33,8 кДа. Оптимальная температура составляла 35°C, оптимальное значение pH 6,0. Альгинат-лиаза ALFA4 имела молекулярную массу 89,8 кДа, оптимальную температуру 30°C, оптимальное значение pH 8,0.

В соответствии с классификацией аминокислотной структуры было установлено, что ALFA3 принадлежит к семейству полисахаридных лиаз PL7, а ALFA4 – к семейству PL6. В геноме *F. algae* все альгинат-лиазы находятся в различных кластерах генов.

¹H ЯМР спектры продуктов расщепления для гулуронат-обогащенного субстрата (М:G~1:2) ферментом ALFA3 сравнивались с ранее опубликованными данными [1–5] и позволили сделать вывод, что расщепляются связи MM, MG и GM, но не связи GG. Продукты действия ферментов ALFA3 и ALFA4 и продукты их комбинированного действия весьма различны для обогащенного маннуронатом субстрата (М:G~3:1). Для ALFA3 наблюдаются преимущественно сигналы H4 ΔM (5,87 и 5,95 м.д.) выше H4 ΔG (5,76 и 5,80 м.д.), в то время как ALFA4 генерирует только сигналы ΔM, преимущественно димеры.

Результаты биоиспытаний альгинатов и продуктов их расщепления на предмет образования колоний и рост клеток SK-MEL-5 и SK-MEL-28 в нетоксичных концентрациях (200 мкг/мл) показали, что все они незначительно ингибируют образование колоний исследуемых клеток (менее чем на 15%). Клетки меланомы RPMI-7951 были более чувствительны: полиманнуронат и продукты его расщепления ферментом ALFA3 (то есть олигоманнуронаты) уменьшали количество колоний клеток меланомы RPMI-7951 на 20% и 37% соответственно.

Альгинаты и продукты их расщепления ALFA3 (25–1000 мкг/мл) не влияли на скорость развития и выживаемость оплодотворенных яиц морского ежа *Strongylocentrotus intermedius*. Таким образом, продукты ферментативного расщепления могут быть охарактеризованы как потенциально нетоксичные для здоровых клеток.

1. Badur A.H., Jagtap S.S., Yalamanchili G., Lee J.K., Zhao H., Rao C.V. // Appl. Environ. Microb. 2015. V. 81. P. 1856-1864.
2. Boucelkha A., Petit E., Elbouchfaihi R., Molinie R., Amari S., Yahaoui R. // J. Appl. Phycol. 2017. V. 29. P. 509-519.
3. Campa C., Holtan S., Nilsen N., Bjerkas T.M., Stokke B.T., Skjak-Braek G. // Biochem. J. 2004. V. 381. P. 155-164.
4. Fertah M., Belfkira A., Dahmane E.M., Taourirte M., Brouillette F. // Arab. J. Chem. 2014. V. 10. P. S3707-S3714.
5. Thomas F., Lundqvist L.C.E., Jam M., Jeudy A., Barbeyron T., Sandstrom C., Michel G., Czjzek M. // J. Biol. Chem. 2013. V. 288. P. 23021-23037.

Влияние стрессовых факторов окружающей среды на экспрессию поринов *Yersinia pseudotuberculosis*

Е. П. Быстрицкая¹, Н. Ю. Чернышева¹, А. В. Ракин², М. П. Исаева¹

¹Тихоокеанский институт биоорганической химии им. Г. Б. Елякова ДВО РАН

² Институт им. Макса фон Петтенкофера Университета Людвига Максимилиана, Мюнхен, Германия

Электронная почта: belyjane@gmail.com

Одной из стратегий выживания бактерий в неблагоприятных условиях среды является изменение проницаемости наружной мембраны, которое обеспечивается регулируемой экспрессией соответствующих белков – неспецифических поринов. Ранее нами было обнаружено, что порины *Yersinia pseudotuberculosis* принимают участие в адаптации клетки к физиологическому стрессу, вызванному нахождением культуры в стационарной фазе роста, однако детально данный механизм исследован не был [1]. Стоит отметить, что адаптационные изменения бактериальной клетки на внешние воздействия могут впоследствии способствовать развитию антибиотикорезистентности [2]. Поэтому изучение экспрессии поринов в условиях различных стрессов представляет особый интерес. Целью данной работы являлась оценка ответа OmpF и OmpC поринов *Y. pseudotuberculosis* на воздействие стрессовых факторов, встречающихся при существовании бактерии в окружающей среде.

В качестве объекта исследования был выбран штамм *Y. pseudotuberculosis* 488, циркулирующий на Дальнем Востоке. Для создания стрессовых условий использовали следующие факторы: температура, осмотическое давление и доступ питательных веществ. Изменение транскрипции *ompF* и *ompC* оценивали методом количественной ОТ-ПЦР в режиме реального времени. Сравнительную оценку синтеза OmpF и OmpC проводили с помощью ДСН-ПААГ-электрофореза мембранных белков.

Полученные нами результаты ОТ-ПЦР свидетельствуют о том, что порины играют важную роль в адаптации и выживании *Y. pseudotuberculosis* путем быстрого изменения уровня экспрессии их генов в зависимости от воздействия стрессовых условий. Так, низкая температура роста (10°C), гипоосмотические условия и бедная питательная среда индуцировали транскрипцию гена *ompF*. Экспрессия *ompC*, в свою очередь, стимулировалась при тепловом шоке (42°C) и максимальной концентрации сахарозы (гиперосмотические условия). При этом было показано, что доминирующим фактором, регулирующим транскрипцию поринов *Y. pseudotuberculosis*, является температура культивирования. В результате ДСН-ПААГ-электрофореза мембранных белков бактерии было обнаружено, что баланс поринов также меняется в зависимости от воздействия рассматриваемых стрессов. Так, при высокой температуре и высоком осмотическом давлении превалирующим белком являлся OmpC, тогда как низкая температура и пониженный осмос сдвигали баланс в сторону OmpF. Таким образом, изменение количественного состава главных поринов *Y. pseudotuberculosis* согласуется с их транскрипционным ответом на воздействие стрессовых факторов окружающей среды.

Полученные данные являются частью сложной системы регуляции и экспрессии поринов в условиях стрессов и в дальнейшем могут быть использованы при исследовании возникновения адаптивной антибиотикорезистентности у *Y. pseudotuberculosis*.

1. Быстрицкая Е.П., Ракин А.В., Исаева М.П. // Научная конференция, посвященная 55-летию ТИБОХ ДВО РАН и 90-летию со дня рождения его основателя академика Г.Б. Елякова. 2019. С. 35.

2. Poole K. // J. Antimicrob. Chemother. 2012. V. 67, № 9. P. 2069-2089.

Исследование противовирусной активности спинохромов

Е. А. Васильева¹, Н. В. Крылова², О. В. Иунихина², Н. П. Мищенко¹, С. А. Федорев¹

¹Тихоокеанский институт биоорганической химии им. Г. Б. Елякова ДВО РАН

²Научный исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Г.П. Сомова

Электронная почта: vasilieva_el_an@mail.ru

По данным Всемирной организации здравоохранения инфекции, обусловленные вирусом простого герпеса (ВПГ), занимают второе место по распространенности среди вирусных заболеваний человека, уступая лишь гриппу. До настоящего времени единственными клинически одобренными антигерпетическими препаратами для лечения ВПГ 1 типа (ВПГ-1) остаются ацикловир и его аналоги, являющиеся ингибиторами репликации вирусной ДНК. Использование этих препаратов помогает снизить тяжесть и частоту появления симптомов заболевания, но не избавляет пациентов от рецидивов заболевания. Вместе с тем, в последнее время возросло количество сообщений об устойчивости ВПГ против многих антигерпетических препаратов на основе аномальных нуклеозидов. Установлено, что многие цитопатические эффекты, наблюдаемые во время инфекции ВПГ-1, обусловлены не только репликацией вируса, но также и окислительным стрессом [1]. Поэтому считается весьма перспективным применение экзогенных антиоксидантов, способных противодействовать разрушительному влиянию вирус-индуцированного окислительного стресса на клетки. Одним из классов природных антиоксидантов являются уникальные вторичные метаболиты морских ежей – спинохромы. Недавно нами была продемонстрирована *in vitro* активность наиболее распространенного соединения этого класса эхинохрома А в отношении вирусов герпеса и клещевого энцефалита [2]. Целью исследования явилось сравнительное изучение *in vitro* антигерпетической активности родственных эхинохрому А спинохромов и влияния этих соединений на ВПГ-1-индуцированный окислительный стресс в клетках почек африканской зеленой мартышки (Vero).

Были определены вирулицидное, профилактическое и вирусингибирующее действие спинохромов (таблица 1). Все исследованные спинохромы проявили низкую противовирусную активность в указанных экспериментах, за исключением эхинаминов А и В, проявивших выраженную вирулицидную активность.

Таблица 1. Эффект эхинаминов А и В на различные стадии развития ВПГ-1

| Соединение | Предварительная обработка клеток соединением | Вирулицидная активность | Тест прикрепления вируса к клеткам | Тест проникновения вируса в клетки | Одновременная обработка клеток вирусом и соединением | Обработка инфицированных клеток соединением |
|-------------|--|-------------------------|------------------------------------|------------------------------------|--|---|
| | IC ₅₀ (SI) | IC ₅₀ (SI) | IC ₅₀ (SI) | IC ₅₀ (SI) | IC ₅₀ (SI) | IC ₅₀ (SI) |
| Эхинамин А | 96 ± 16 (1.5) | 2.9 ± 0.4 (50.3) | 25 ± 4 (5.8) | 56 ± 8 (2.6) | 34 ± 6 (4.3) | 113 ± 23 (1.4) |
| Эхинамин В | 92 ± 14 (1.5) | 1.7 ± 0.2 (78.8) | 16 ± 3 (8.5)* | 54 ± 7 (2.5) | 30 ± 5 (4.6) | 80 ± 14 (1.7) |
| Эхинохром А | 83 ± 14 (1.7) | 4.1 ± 0.6 (29.5) | 33 ± 6 (4.3) | 59 ± 9 (2.4) | 35 ± 6 (4.1) | 95 ± 18 (1.5) |
| Ацикловир | нет эффекта | нет эффекта | нет эффекта | нет эффекта | 2.1 ± 0.4 (>476) | 0.1 ± 0.02 (10,000) |

Примечание. Данные представлены как средние значения ± стандартное отклонение минимум трех независимых экспериментов; Ацикловир использовали в качестве положительного контроля; IC₅₀ (мкг/мл) – концентрация, которая ингибирует 50% образования бляшек ВПГ-1; SI – индекс селективности (CC₅₀/IC₅₀); * Статистически значимые различия между значениями эхинамина В и эхинохрома А (p ≤ 0,05).

Установлено, что эхинамины А и В проявляют значительную антигерпетическую активность, в основном благодаря своим прямым вирулицидным свойствам, реализуемым за счет ингибирования прикрепления вируса к клеткам, и, в меньшей степени, за счет предотвращения проникновения вируса в клетки.

1. Marino-Merlo F., Papaiani E., Frezza C., Pedatella S., De Nisco M., Macchi B., Grelli S., Mastino A. // Viruses. 2019. V. 11. P. 428.

2. Fedoreyev S.A., Krylova N.V., Mishchenko N.P., Vasileva E.A., Pislyagin E.A., Iunikhina O.V., Lavrov V.F., Svitich O.A., Ebralidze L.K., Leonova G.N. // Mar. Drugs. 2018. V. 16, № 12. P. 509.

Трипептидные и бисиндолбензохиноновые производные из вьетнамского штамма микроскопического гриба *Aspergillus terreus*

Е. В. Гирич¹, С. А. Дышловой², Е. А. Юрченко¹, А. Н. Юрченко¹

¹Тихоокеанский институт биоорганической химии им. Г. Б. Елякова ДВО РАН

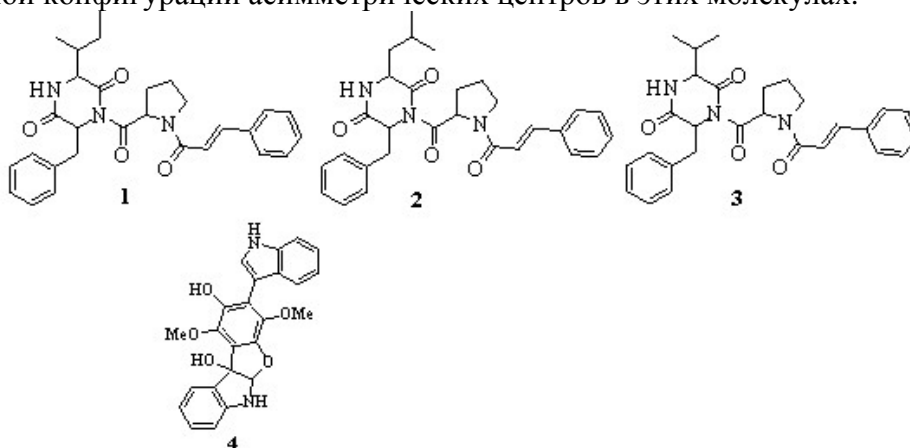
² Department of Oncology, Hematology and Bone Marrow Transplantation with Section Pneumology, Hubertus Wald-Tumorzentrum, University Medical Center Hamburg-Eppendorf, Hamburg, Germany

Электронная почта: ev.ivanets@yandex.ru

Морские грибы обитают в сложных экологических условиях и продуцируют соединения, необходимые для адаптации к ним. Теплые воды тропических морей имеют особенно высокий уровень бактериального населения, что является дополнительным фактором конкурентного влияния на морские грибы этого региона. Однако микобиота довольно обширных участков Южно-Китайского моря, таких как побережье Вьетнама, остается практически не изученной.

Морской гриб *Aspergillus terreus* был выделен из листьев неидентифицированного мангрового дерева, произрастающего на побережье провинции Кхань Хоа во Вьетнаме.

Тщательное хроматографическое разделение этилацетатного экстракта данного гриба на колонках с силикагелем и сефадексом LH-20, а также методами прямо- и обращенно-фазовой ВЭЖХ привели к выделению 14 индивидуальных соединений. С помощью методов 1D и 2D ЯМР спектроскопии и масс-спектрометрии были установлены структуры трех новых трипептидных производных астеррипептидов А–С (1–3), нового бисиндолбензофуранового производного астеррихинона F (4), а также ряда известных метаболитов: бисиндолбензохиноновых алкалоидов астеррихинонов А3, В4, С1, С2 и D, поликетидных производных 1,2,5-тригидрокси-7-метил-9,10-антрахинона, 4-гидрокси-3-(3-метилбут-2-енил)бензальдегида и квестина, сесквитерпеноида квадрона и производного эргостерина 6β-гидроксиэргоста-4,7,22-триен-3-она. Для соединений 1–3 установлена только плоская структура. В настоящее время ведутся работы по установлению абсолютной конфигурации асимметрических центров в этих молекулах.



Было исследовано влияние ряда выделенных соединений на жизнеспособность, прогрессию клеточного цикла и индукцию апоптоза терапевтически устойчивых клеток рака простаты (22Rv1, PC-3, LNCaP), а также нейропротекторные свойства в моделях болезни Паркинсона, индуцированной различными нейротоксинами.

Работа выполнена при поддержке Российского Фонда фундаментальных исследований (грант №19-53-54002 Вьет_а).

Выделение и установление строения новых необычных тритерпеновых гликозидов из дальневосточной морской звезды *Solaster pacificus*

В. М. Захаренко¹, И. П. Котляров¹, Т. В. Маляренко^{1,2}

¹Дальневосточный федеральный университет

²Тихоокеанский институт биоорганической химии им. Г. Б. Елякова ДВО РАН

Электронная почта: malyarenko-tv@mail.ru

Морские звезды (Asteroidea) – многочисленная в своем видовом разнообразии группа иглокожих. Они представляют собой типичных обитателей морского дна, многие из которых являются активными хищниками. Морские звезды являются богатым источником различных вторичных метаболитов: пептидов, жирных кислот, полярных стероидов и их гликозидов, каротиноидов, хиноидных пигментов, тритерпеновых гликозидов, а также сфинголипидов и их производных. Полярные стероидные соединения представляют собой основной класс вторичных метаболитов морских звезд. Как правило, они подразделяются на три группы: полигидроксистероиды, гликозиды полигидроксистероидов (моно-, би- и тригликозиды), а также циклические гликозиды и астеросапонины. Стоит также отметить, что тритерпеновые гликозиды не являются типичными метаболитами морских звезд. Ранее были описаны только два случая нахождения тритерпеновых гликозидов голотурий в морских звёздах *Asterias rollestoni* Bell, 1881 и *Choriaster granulatus*.

Продолжая наши исследования гликозилированных метаболитов морских звезд, мы изучили гликозидный состав дальневосточной морской звезды *Solaster pacificus* Djakonov, 1938 (отряд [Valvatida](#), семейство [Solasteridae](#)), собранной в Охотском море возле острова Итуруп во время 42-ой научно-исследовательской экспедиции на НИС «Академик Опарин» в августе 2012 года.

Строение выделенных соединений было установлено с помощью одно- и двумерных ЯМР экспериментов, таких как ¹H, ¹³C, DEPT, 1D TOCSY, ¹H-¹H COSY, HSQC, HMBC, NOESY, данных ИЭР и ИЭР МС/МС масс-спектрометрии, а также при помощи химических методов (кислотного гидролиза и получения ацетатов октил-производных моносахаридов).

Тритерпеновые гликозиды, выделенные из *Solaster pacificus*, имеют структурное сходство с тритерпеновыми гликозидами серии В, полученными ранее из голотурии *Eupentacta fraudatrix*. В частности, они имеют общее строение углеводной цепи и тритерпенового ядра и отличаются друг от друга структурами боковых цепей в агликоне. В то же время у тритерпеновых гликозидов из *Solaster pacificus* обнаружен необычный структурный фрагмент – свободная альдегидная группа, что может служить косвенным подтверждением возможности окисления боковых цепей тритерпеновых гликозидов голотурий ферментами морской звезды.

Данная работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № [20-03-00014](#).

Сравнительная характеристика фукоиданаз из морской бактерии *Wenyngzhuangia fucanilytica* CZ1127^T

А. О. Зуева, А. С. Сильченко, А. Б. Расин, С. П. Ермакова

Тихоокеанский институт биоорганической химии им. Г. Б. Елякова ДВО РАН

Электронная почта: zstasya95@gmail.com

За последние 15 лет фукоиданы стали предметом интенсивных исследований, поскольку они обладают широким спектром разнообразной биологической активности [1], благодаря которой эти полисахариды имеют большой потенциал для использования в медицине и уже давно используются в качестве биологически активных добавок. Однако до сих пор мы не располагаем достаточной информацией для того, чтобы создать на их основе полноценные лекарственные средства.

Основная проблема заключается в изучении структуры фукоиданов и установлении взаимосвязи между проявлением той или иной биологической активности и структурными особенностями полимера. Она обусловлена чрезвычайно сложным и нерегулярным строением молекул фукоиданов, которое может варьировать в зависимости от многих факторов.

Существующие химические методы установления структуры углеводов часто приводят к неудовлетворительным результатам при изучении фукоиданов, однако использование ферментов – фукоиданаз позволяет установить подробную структуру фукоидана и выявить закономерности, связанные с их биологическим действием. В качестве инструментов для определения структуры сложных полисахаридов подходят только биохимически охарактеризованные ферменты. На сегодняшний день среди представителей 107-го семейства класса гликозидгидролаз охарактеризованы только три фукоиданазы [2, 3, 4].

В нашей работе мы представляем сравнительную характеристику фукоиданаз из морской бактерии *Wenyngzhuangia fucanilytica*. В геноме данной бактерии было обнаружено 4 гена, кодирующих фукоиданазы. Мы предположили, что каждый из этих ферментов имеет отличные от других условия проявления каталитической активности и субстратную специфичность.

Для подтверждения их функций гены фукоиданаз были клонированы, и рекомбинантные белки были продуцированы в клетках *Escherichia coli*. Фукоиданазы FWf1, FWf2, FWf3 и FWf4 были выделены и очищены. Все полученные ферменты катализировали гидролиз фукоиданов. Было установлено, что ферменты имели схожие условия проявления каталитической активности, однако имели различную субстратную специфичность. Полученные данные позволяют использовать FWf1, FWf2, FWf3 и FWf4 для изучения структур фукоиданов.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РНФ (проект № 20-74-00035).

1. Senthilkumar K., Manivasagan P., Venkatesan J., Kim S.K. // Int. J. Biol. Macromol. 2013. V. 60. P. 366-374.
2. Silchenko A.S., Ustyuzhanina N.E., Kusaykin M.I., Krylov V.B., Shashkov A.S., Dmitrenok A.S., Usoltseva R.V., Zueva A.O., Nifantiev N.E., Zvyagintseva T.N. // Glycobiology. 2017. Book 27. № 3. P. 254-263.
3. Colin S., Deniaud E., Jam M., Descamps V., Chevolut Y., Kervarec N., Yvin J., Barbeyron T., Michel G., Kloareg B. // Glycobiology. 2006. V. 16, № 11. P. 1021-1032.
4. Silchenko A.S., Rasin A.B., Kusaykin M.I., Kalinovskiy A.I., Miansong Z., Changheng L., Malyarenko O., Zueva A.O., Zvyagintseva T.N., Ermakova S.P. // Carbohydr. Polym. 2017. V. 1, № 175. P. 654-660.

Нейротоксины актинии *Heteractis crispa*: влияние на процессы активации и инактивации Nav каналов

Р. С. Калина¹, И. Н. Гладких¹, С. Пеньёр², Е. А. Зелепуга¹, П. С. Дмитренко¹, Е. В. Лейченко¹,
Я. Титгат², М. М. Монастырская¹, Э. П. Козловская¹

¹Тихоокеанский институт биоорганической химии им. Г. Б. Елякова ДВО РАН

²Католический университет Левена, Бельгия

Электронная почта: kalinarimma@gmail.com

Актинии, одни из древнейших ядовитых морских организмов, являются источником уникальных пептидных токсинов, которые модулируют потенциал-зависимые натриевые каналы (Nav), участвующие в важнейших физиологических процессах. На сегодняшний день известно более шестидесяти токсинов-активаторов Nav, которые отнесены к четырем структурным типам. Благодаря этим токсинам ядовитый секрет актиний оказывает нейро- и кардиотоксическое действие, обусловленное деполяризацией мембраны вследствие замедления кинетики инактивации Nav каналов клеток-мишеней, нейронов и кардиомиоцитов [1, 2]. Электрофизиологическое тестирование трех токсинов второго структурного типа, RTX-III [3], RTX-VI [4] и SHTX-Hcr1f (=RpII) [5], выделенных из водно-этанольного экстракта актинии *Heteractis crispa*, показало, что они активируют Nav каналы как млекопитающих, так и насекомых, т.е. не являются видоспецифичными. При этом RTX-III, RTX-VI и RpII оказались эффективными, но более слабыми активаторами каналов насекомых (по сравнению с каналами млекопитающих), практически полностью предотвращающими их инактивацию. Это позволяет считать *Heteractis* токсины перспективными инсектицидами. Высокая токсичность RTX-III связана, вероятно, с активацией каналов подтипа Nav1.3, экспрессирующихся нейронами ЦНС [1] и кардиомиоцитами [6]. Показано, что, аналогично другим токсинам актиний данного структурного типа, RTX-III, RTX-VI и RpII делают инактивацию канала неполной и смещают кривую инактивации Nav в сторону увеличения мембранного потенциала, позволяя каналу дольше оставаться в открытом состоянии. Методами гомологичного моделирования, молекулярного докинга и симуляции молекулярной динамики была получена первая теоретическая модель пространственной структуры комплекса rNav1.2 канала с токсином RpII. Согласно данной модели RpII действует как модулятор воротного механизма. Взаимодействие токсина как с каналом, так и с окружающими его фосфолипидами мембраны приводит к сдвигу потенциал-чувствительного трансмембранного сегмента rNav1.2 и стабилизирует канал в открытом состоянии [4].

Работа поддержана грантом РФФИ № 18-04-00631.

1. Israel M.R., Tay B., Deuis J.R., Vetter I. // Adv. Pharmacol. 2017. V. 79. P. 67-116.
2. Al-Sabi A., McArthur J., Ostroumov V., French R.J. // Mar. Drugs. 2006. V. 4. P. 157-192.
3. Зыкова Т.А., Винокуров Л.М., Козловская Э.П., Еляков Г.Б. // Биоорган. химия. 1985. Т. 11. С. 302-310.
4. Kalina R.S., Peigneur S., Zelepuga E.A., Dmitrenok P.S., Kvetkina A.N., Kim N.Y., Leychenko E.V., Tytgat J., Kozlovskaya E.P., Monastyrnaya M.M., Gladkikh I.N. // Toxins. 2020. V. 12. P. 44.
5. Wemmer D.E., Kumar N.V., Mettrione R.M., Lazdunski M., Drobny G., Kallenbachs N.R. // Biochemistry. 1986. V. 25. P. 6842-6849.
6. Maier S.K.G., Westenbroek R.E., Schenkman K.A., Feigl E.O., Scheuer T., Catterall W.A. // PNAS. 2002. V. 99. P. 4073-4078.

Синтез производных фаскаплизина по положению 6

А. В. Кантемиров¹, Е. В. Кантемирова¹, М. Е. Жидков¹

¹Дальневосточный федеральный университет

Электронная почта: t0ym45ter@gmail.com

Гетероциклическая система 12*H*-пиридо[1,2-*a*; 3,4-*b'*]дииндола является структурной основой нескольких морских алкалоидов, таких как фаскаплизин, гомофаскаплизины А–С и их бромированные аналоги. Красный пигмент фаскаплизин, выделенный в 1988 г. из губки *Fascaplysinopsis* sp., является наиболее изученным представителем. Это соединение проявляет широкий спектр биоактивностей, включая подавление пролиферации многочисленных линий раковых клеток, и может использоваться в качестве «сбалансированного агониста» опиоидного рецептора с сигнальным профилем, напоминающим эндорфины. Фаскаплизин и его встречающиеся в природе аналоги были синтезированы несколькими группами, и на сегодняшний день было сообщено о более чем десяти синтезах, среди которых только один позволяет получать производные по циклу С в положении 7 [1].

В данной работе представлен способ синтеза замещенных по положению 6 фаскаплизинов на основе изатина и карбонильных соединений. На первой стадии происходит альдольная конденсация кетона с изатином. Полученный альдоль вводится в реакцию с солянокислым гидроксиламином в водно-спиртовом растворе, и полученный оксим восстанавливается до триптамина. Далее β-карболин формируется с помощью каскадной реакции, состоящей из йодирования 2-бромацетофенона, окисления по Корнблему промежуточного соединения в присутствии ДМСО до фенилглиоксаля и его конденсации по Пикте-Шпенглеру с производным триптамина с последующим окислением промежуточного продукта. Образующийся β-карболин подвергается кватернизации под действием высокой температуры.

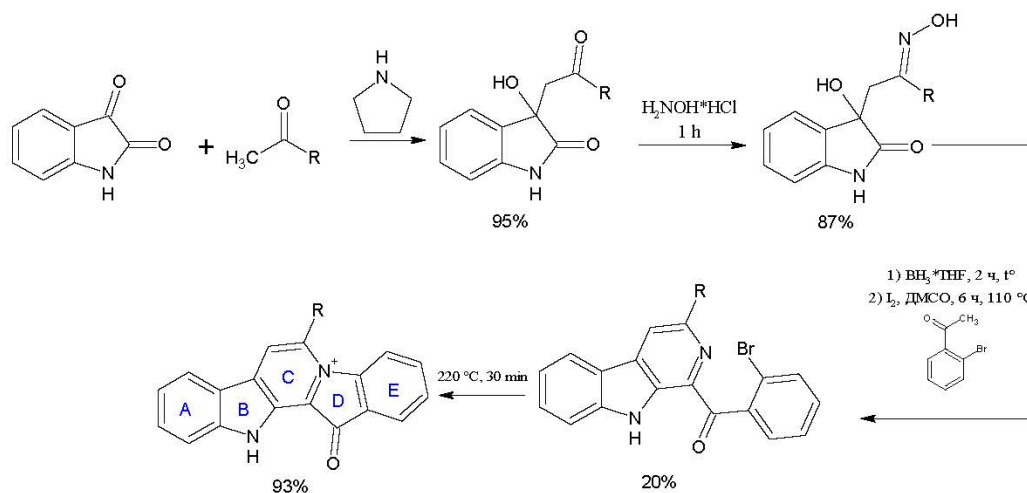


Рисунок 1 – Синтез замещенных фаскаплизинов (R = Me, Ph)

Для 6-метилфаскаплизина были проведены испытания его биологической активности по отношению к нескольким линиям клеток рака простаты (PC-3, 22Rv1, DU145, LNCaP, VCaP), по результатам которых было показано, что 6-метилфаскаплизин более селективен, чем 7-метилфаскаплизин.

Взаимодействие с сериновыми протеазами и нейропротективная активность IQ пептидов Кунитц-типа актинии *Heteractis crispa*

А. Н. Кветкина¹, Л. А. Калужский², Е. А. Пислягин¹, Е. С. Менчинская¹, А. С. Иванов²,
Д. Л. Аминин¹, М. П. Исаева¹, Е. В. Лейченко¹

¹Тихоокеанский институт биоорганической химии им. Г. Б. Елякова ДВО РАН

²Научно-исследовательский институт биомедицинской химии РАН

Электронная почта: kvetkinaan@gmail.com

Протеолитические ферменты участвуют во многих важных процессах, включая пищеварение, свертываемость крови, расщепление гормонов, апоптоз и т.д. Нарушение или недостаток регуляции этих ферментов может приводить к развитию нейродегенеративных, сердечно-сосудистых и других заболеваний [1]. Поэтому поиск и изучение ингибиторов протеаз как регуляторов их активности является актуальным направлением. Среди известных ингибиторов протеаз пептиды Кунитц-типа являются наиболее изученными вследствие широкой представленности в живых организмах [2]. Они состоят из 60 аминокислотных остатков, которые формируют компактную $\alpha+\beta$ структуру, стабилизированную тремя дисульфидными связями [3]. Основной функцией пептидов Кунитц-типа считается ингибирование сериновых протеаз, однако они также способны блокировать/модулировать ионные каналы, проявлять противовоспалительную, антифибринолитическую, гемостатическую и другие активности [2, 4].

В данной работе было изучено взаимодействие пептидов Кунитц-типа гНСIQ2с1 и гНСIQ4с7 из актинии *Heteractis crispa* с сериновыми протеазами (трипсином, α -химотрипсином, калликреином, эластазой нейтрофилов человека и катепсином G) методом поверхностного плазмонного резонанса, а также нейропротективная активность этих пептидов в *in vitro* модели 6-гидроксидофамин (6-ОНДА)-индуцированной нейротоксичности. Показано, что гНСIQ2с1 взаимодействовал со всеми протеазами, тогда как гНСIQ4с7 – с трипсином и эластазой. Полученные константы ассоциации и диссоциации комплексов свидетельствуют об образовании достаточно прочных комплексов пептидов с протеазами и исключают неспецифическое связывание. Взаимодействие НСИQ пептидов с эластазой, калликреином и катепсином G может указывать на их противовоспалительную активность.

Исследование нейропротективной активности НСИQ пептидов показало, что гНСIQ2с1 и гНСIQ4с7 в концентрации 10 мкМ увеличивают выживаемость клеток нейробластомы в присутствии 6-ОНДА на 47% и 14% соответственно. Достоверный дозозависимый эффект был показан для гНСIQ2с1. Максимальная цитопротективная активность этого пептида была достигнута при концентрации 10 мкМ, а в концентрации 0,001–0,01 мкМ гНСIQ2с1 снижал уровень активных форм кислорода (АФК) в клетках нейробластомы на 34%.

Таким образом, установлено взаимодействие НСИQ пептидов с сериновыми протеазами. Показано, что гНСIQ4с7 является более высокоспецифичным пептидом, чем гНСIQ2с1. Обнаружено, что гНСIQ2с1 защищает клетки нейробластомы от токсического действия 6-ОНДА. Предполагается, что цитопротективный эффект опосредован ингибированием уровня АФК.

1. Turk B. // Nat. Rev. Drug Discov. 2006. V. 5. P. 785-799.

2. Mourão C.B.F., Schwartz E.F. // Mar. Drugs 2013. V. 11. P. 2069-2112.

3. Berndt K.D., Güntert P., Orbons L.P.M., Wüthrich K. // J. Mol. Biol. 1992. V. 227. P. 757-775.

4. Синцова О.В., Пислягин Е.А., Гладких И.Н., Монастырская М.М., Менчинская Е.С., Лейченко Е.В., Аминин Д.Л., Козловская Э.П. // Биоорган. химия. 2017. Т. 43, № 1. С. 105-112.

Синтетические производные 1,4-нафтохинонов блокируют рецепторы P2X7 типа в нейрональных клетках мышцы

С. А. Козловский¹, Е. А. Пислягин¹, Е. С. Менчинская¹, Е. А. Чингизова¹, Г. Н. Лихацкая¹, Т. Ю. Горпенченко², Ю. Е. Сабуцкий¹, С. Г. Полоник¹, Д. Л. Аминин¹

¹Тихоокеанский институт биоорганической химии им Г. Б. Елякова ДВО РАН

²Федеральный научный центр биоразнообразия наземной биоты Восточной Азии ДВО РАН

Электронная почта: sergeimerx@gmail.com

Пуринергический рецептор P2X7 представляет собой трансмембранный неселективный ионный канал, который активируется эндогенным АТФ. Данный тип рецепторов обнаружен в многочисленных типах клеток, включая микроглию, астроциты и клетки центральной нервной системы [1]. На сегодняшний день ряд исследований доказывает, что нарушение функционирования или сверхактивация рецептора P2X7 является причиной множества заболеваний и приводит к большому числу патологических состояний, связанных с инфекцией, канцерогенезом, нейровоспалением, а также повреждением и деградацией тканей, включая фиброзы [2]. Использование селективных антагонистов P2X7 рецептора приводит к выраженному положительному эффекту при лечении острых воспалительных заболеваний на моделях *in vivo* [3]. Блокаторы P2X7 рецептора проявляют терапевтический потенциал при лечении травм спинного и головного мозга, психиатрических и нейродегенеративных заболеваний, расстройств центральной нервной системы, а также профилактики боли, включая хроническую и невропатическую боль. Однако не все известные антагонисты P2X7 рецептора обладают высокой селективностью, соответствуют необходимым фармакокинетическим характеристикам, а также имеют ряд побочных эффектов, что подтверждает необходимость поиска и изучения новых эффективных ингибиторов данного типа рецепторов [4].

В рамках настоящей работы мы синтезировали серию новых производных 1,4-нафтохинонов и исследовали их действие в качестве антагонистов пуринергических рецепторов. Была показана способность тестируемых соединений блокировать АТФ-индуцированный вход Ca^{2+} в клетках нейробластомы мышцы Neuro-2a, в результате чего были отобраны четыре соединения с наибольшей эффективностью – U-286, U-548, U-556 и U-557. Установлено, что данные соединения значительно ингибируют функционирование нативного рецептора P2X7 в клетках нейробластомы, что приводит к выраженной блокаде АТФ-индуцированного поглощения молекул бромистого этидия (EtBr) и флуоресцентного красителя YO-PRO-1. Применение выбранных веществ также приводит к существенному снижению продукции АФК и NO, а также повышению жизнеспособности нейрональных клеток в условиях токсического действия высоких концентраций АТФ. Методами молекулярного докинга *in silico* установлено место связывания исследуемых соединений в аллостерическом сайте, расположенном во внеклеточной области рецептора P2X7 и являющемся уникальным для данного типа рецепторов. Полученные данные свидетельствуют о возможности использования соединений U-286, U-548, U-556 и U-557 в качестве фармакологической основы для создания новых эффективных блокаторов рецепторов P2X7 типа.

Работа поддержана грантом РФФ №19-14-00047.

1. Collo G., Neidhart S., Kawashima E., Kosco-Vilbois M., North R.A., Buell G. // *Neuropharmacology*. 1997. V. 36, № 9. P. 1277-1283.
2. Savio, L.E., de Andrade Mello P., da Silva C.G., Coutinho-Silva R. // *Front. Pharmacol.* 2018. V. 9. P. 52.
3. Huang C., Yu W.E.I., Cui H., Wang Y., Zhang L., Han F., Huang T. // *Mol. Med. Rep.* 2013. V. 9, № 1. P. 57-62.
4. Burnstock G., Knight G.E. // *Purinerg. Signal.* 2018. V. 14, № 1. P. 1-18.

Серия новых изомалабарикановых производных из вьетнамской морской губки *Stelletta* sp.

С. А. Колесникова¹, Е. Г. Ляхова¹, А. В. Кожушная², А. И. Калиновский¹,
Р. С. Попов¹, Д. В. Бердышев¹

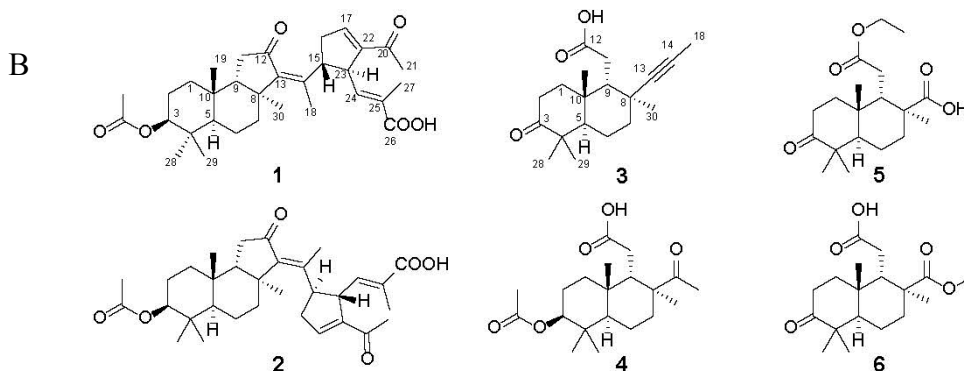
¹Тихоокеанский институт биоорганической химии им. Г. Б. Елякова ДВО РАН

²Дальневосточный федеральный университет

Электронная почта: sovin81@inbox.ru

Морские губки родов *Stelletta*, *Rabdastrella*, *Jaspis*, *Geodia* spp. являются источником биологически активных соединений терпеноидной природы, принадлежащих к особой структурной группе – так называемым изомалабариканам. В нее уже традиционно включают как C₃₀ транс-син-транс-6,6,5-трициклические терпены с сопряженной полиеновой системой в боковой цепи, расположенной при С-13, и кетонной группой при С-12, так и различные их производные, в том числе с укороченными вариантами боковых цепей [1].

Ранее из этанольного экстракта образца вьетнамской морской губки *Stelletta* sp. нами был выделен ряд изомалабарикановых тритерпеноидов, включая два новых C₁₉ терпеноида с тетрациклическим ядром нового типа, характеризующимся присутствием необычного циклобутанового фрагмента, сочлененного с лактоном и шестичленным циклом [2]. Полученные результаты и данные ТСХ анализа неисследованных фракций экстракта свидетельствовали о многообразии состава вторичных метаболитов изомалабарикановой природы в образце. Поэтому химическое изучение природных соединений губки *Stelletta* sp. было продолжено.



результате из экстракта выделены ранее известный глобостеллеттин N [3] и шесть новых метаболитов **1–6**, структуры которых, включая абсолютную стереохимию, были установлены методами тандемной масс-спектрометрии и ЯМР спектроскопии с широким привлечением квантово-химических расчетов. Установлено, что два соединения **1** и **2** являются 3-ацетокси аналогами известных изомалабарикановых 13*E/Z*-изомеров – глобостеллеттинов К и М, содержащих 3-кетогруппу в структуре. Еще четыре новых терпеноида **3–6** являются укороченными производными изомалабарикановой серии. Наибольший интерес среди них вызывает соединение **3**, содержащее в структуре необычную для морских терпеноидов и уникальную для изомалабарикановых производных тройную связь.

Исследование проведено с использованием оборудования Дальневосточного центра структурных молекулярных исследований (ЯМР- и масс-спектрометрии) (ЦСМИ ТИБОХ ДВО РАН) и при финансовой поддержке Российского научного фонда (грант № 20-14-00040).

1. Domingo V., Arteaga J.F., Quílez del Moral J.F., Barrero A.F. // Nat. Prod. Rep. 2009. V. 26. P. 115-134.

2. Kolesnikova S.A., Lyakhova E.G., Kalinovskiy A.I., Berdyshev D.V., Pisyagin E.A., Popov R.S., Grebnev B.B., Makarieva T.N., Minh C. V., Stonik V.A. // J. Nat. Prod. 2019. V. 82. P. 3196-3200.

3. Li J., Zhu H., Ren J., Deng Z., de Voogd N.J., Proksch P., Lin W. // Tetrahedron 2012. V. 68. P. 559-565.

Структурное исследование капсульного полисахарида морской бактерии *Kangiella japonica* КММ 3897

И.Н. Лизанов¹, А.С. Кузьмич², Л.А. Романенко², М.С. Кокоулин²

¹Дальневосточный федеральный университет

²Тихоокеанский институт биоорганической химии им. Г. Б. Елякова ДВО РАН

Электронная почта: lizanov_in@students.dvfu.ru

Грамотрицательные бактерии являются одними из важнейших компонентов морских экосистем. Ареалы их обитания весьма разнообразны и охватывают прибрежные и открытые акватории океанов, глубоководные и гидротермальные впадины, грунты; некоторые виды бактерий способны колонизировать внешние оболочки и внутренние поверхности морских животных и растений. Находясь в весьма специфических условиях обитания, морские микроорганизмы отличаются от наземных форм рядом приспособительных особенностей. В том числе, это относится и к клеточной стенке бактерий, которая играет важную роль во взаимодействии микроорганизмов с окружающей средой. С другой стороны, интерес к исследованию морских бактерий обусловлен их способностью синтезировать биологически активные соединения, имеющие фармакологический и биотехнологический потенциал.

Многие морские бактерии могут продуцировать внеклеточные полисахариды. Бактериальные внеклеточные полисахариды обычно встречаются в двух формах: в виде капсульных полисахаридов, если они связаны с клеточной поверхностью, и полисахаридов, высвобождающихся в окружающую среду (экзополисахариды). Присутствие этих биополимеров указывает на их специфические свойства и функции, которые полезны для микроорганизмов; они играют важную роль в защите бактериальной клетки от суровых условий окружающей среды (соленость, температура и наличие питательных веществ), в поверхностной адгезии (обычно через образование биопленок), межклеточной трансдукции сигнала и в сопротивлении иммунному ответу организма хозяина.

Морская бактерия *Kangiella japonica* КММ 3897 была выделена из образца воды, собранной в прибрежной зоне Японского моря. Капсульный полисахарид был экстрагирован из сухих бактериальных клеток солевым раствором и очищен с помощью ферментативной обработки, ультрацентрифугирования и хроматографических методов. Структура была установлена с помощью методов химического анализа (компонентный анализ, *O*-деацетилирование и *O*-десульфатирование, *N*-ацетилирование), а также 1D и 2D методов спектроскопии ЯМР.

Было показано, что полимер построен из линейных трисахаридных повторяющихся звеньев, содержащих два остатка 2-*N*-ацетил-2-дезоксид-глюкозы, один из которых сульфатирован в положениях *O*-4 и *O*-6, и 2-амино-3-*O*-ацетил-2-дезоксид-маннуриновой кислоты:



Хорошо известно, что сульфатированные полисахариды обладают широким спектром биологической активности, в том числе выраженным антипролиферативным действием. Предварительные исследования показали, что капсульный полисахарид *K. japonica* КММ 3897 проявляет избирательную антипролиферативную активность в отношении клеточных линий рака молочной железы Т-47D, МСF-7 и МDA-MB-231, что свидетельствует о перспективности исследований в данном направлении.

Исследование выполнено при частичной финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 18-04-00618.

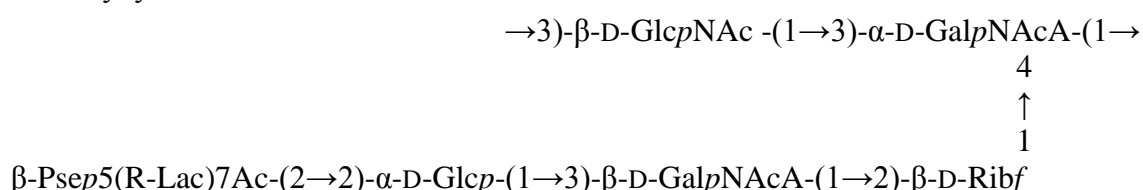
И. Н. Лизанов¹, А. С. Кузьмич², Л. А. Романенко², М. С. Кокоулин²

²Тихоокеанский институт биоорганической химии им. Г. Б. Елякова ДВО РАН

Электронная почта: lizanov_in@students.dvfu.ru

В данной работе представлены результаты структурного исследования капсульного полисахарида морской грамотрицательной бактерии *P. marincola* KMM 277^T, изолированной из гомогенизированных внутренних тканей асцидии *Polysyncraton* sp. Капсульный полисахарид был экстрагирован из сухих бактериальных клеток солевым раствором и очищен с помощью ферментативной обработки, ультрацентрифугирования, анионообменной и гель-хроматографии. Структура была установлена с помощью методов химического анализа (компонентный анализ, метилирование, методов избирательного расщепления, таких как гидролиз и распад по Смитсу), а также 1D и 2D методов спектроскопии ЯМР.

Было показано, что капсульный полисахарид построен из разветвленных гексасахаридных повторяющихся звеньев, состоящих из двух остатков 2-*N*-ацетил-2-дезоксид-*D*-галактуроновой кислоты, 2-*N*-ацетил-2-дезоксид-*D*-глюкозы, *D*-рибофуранозы, *D*-глюкозы и 7-*N*-ацетил-5-[2-(*R*)-гидроксипропаноиламино]-3,5,7,9-тетрадезоксид-*L*-глицеро-*L*-манно-нон-2-улузоновой кислоты:



С биологической точки зрения, нами было показано, что капсульный полисахарид оказывает влияние на жизнеспособность и способность образовывать колонии клетками острого промиелоцитарного лейкоза человека HL-60. Кроме того, при относительно большой концентрации полисахарид проявлял антипролиферативный эффект в отношении клеток лимфомы Беркитта Raji. Эти данные указывают на то, что данный полисахарид является перспективным объектом для дальнейших исследований его противоопухолевых свойств и механизма действия.

Исследование выполнено за счет средств гранта РНФ (проект № 19-74-00027).

Нанокompозитные гидрогели на основе биополимеров и углеродных нанотрубок для применения в нефтехимии

А. О. Макарова¹, О. С. Зуева², Ю. Ф. Зуев¹

¹Казанский институт биохимии и биофизики, Федеральный исследовательский центр
«Казанский научный центр Российской академии наук»

²Казанский государственный энергетический университет

Электронная почта: tat355@mail.ru

В последнее время полимерные гелевые системы широко используются для повышения нефтеотдачи. В эксплуатационных скважинах, где существуют проблемы с избыточной водой, для закупорки нарушенных зон или участков используются полимерные гелевые системы. Такой прием улучшает нефтеотдачу и снижает эксплуатационные расходы, связанные с искусственным подъемом, разделением нефти и воды, а также с очисткой добываемой воды. К числу полимерных гелевых систем относятся биополимеры в виде водных растворов, которые закачивают в пласт с помощью системы поддержания пластового давления. Из-за специфической спиральной структуры молекул, жесткости и отсутствия зарядов биополимеры обычно обладают превосходной устойчивостью к солям и действию температуры. Широкий спектр выбора биополимеров с различными заданными свойствами и их биоразлагаемость делает их перспективными реагентами для нефтегазовой отрасли [1]. Однако большинство гидрогелей имеют ограниченные механические свойства. Модификация механических свойств гидрогелей может быть достигнута с использованием наночастиц, например, углеродных нанотрубок (УНТ) [2].

В данной работе методами малоуглового рентгеновского рассеяния (МУРР) и сканирующей электронной микроскопии (СЭМ) были изучены структурные особенности гидрогелей и их изменения, связанные с добавлением модифицирующего материала – углеродных нанотрубок. Образцы готовили на основе желатина типа А из свиной кожи и к-каррагинана типа I производства Sigma-Aldrich (США). В качестве введенных топологических наноструктур использовали многостенные углеродные нанотрубки из углеродного наноматериала «Таунит», производства ООО «НаноТехЦентр», Тамбов.

Добавление небольшого количества УНТ привело к изменению морфологии гидрогелей. Методом СЭМ-микроскопии было отмечено, что УНТ соединяются в комплексы размером 10–20 нм. Однако, несмотря на то что могут выглядеть как инородное тело, присутствие УНТ сказывается в значительной степени. Изменения коснулись и внутренней структуры, сетка гидрогеля стала более четкой и упорядоченной. Согласно данным МУРР, увеличились характеристические размеры ячеек композиционного гидрогеля. Соответственно, изменения структурных параметров приводят к изменению свойств композиционных систем.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 19-38-90085 и Стипендии Президента РФ СП-1165.2019.1. Эксперименты по электронной микроскопии выполняли в Междисциплинарном центре «Аналитическая микроскопия» Казанского (Приволжского) федерального университета.

1. Li Y., Xu L., Gong H., Ding B., Dong M., Li Y. // Energ. Fuel. 2017. V. 31. P. 3960-3969.

2. Зуева О.С., Губайдуллин А.Т., Макарова А.О., Богданова Л.Р., Захарова Л.Я., Зуев Ю.Ф. // Изв. Акад. наук. Сер. хим. 2020. № 3. С. 581-589.

Биоразлагаемый модифицированный водорастворимый гидрогель для повышения нефтеотдачи

А. О. Макарова¹, О. С. Зуева², Ю. Ф. Зуев¹

¹*Казанский институт биохимии и биофизики, Федеральный исследовательский центр
«Казанский научный центр Российской академии наук»*

²*Казанский государственный энергетический университет*

Электронная почта: tat355@mail.ru

Полимерное заводнение является одним из наиболее успешных технологических процессов для повышения нефтеотдачи истощенных нефтескважин. Водорастворимые полимеры являются перспективными материалами для снижения вязкости вытесняющей жидкости и повышения эффективности смачивания породы [1]. Свойства синтетических полимеров ограничивают их применение вследствие плохой растворимости, высокой стоимости и механической деградации. Разработка новых полимерных систем, способных выдерживать условия окружающей среды, по-прежнему остается важной задачей.

В данной работе методами электрической проводимости и реологии были изучены физико-химические и механические свойства гидрогелей на основе природных белков и полисахаридов, а также их изменения, связанные с добавлением наночастиц – углеродных нанотрубок. Образцы готовили на основе желатина типа А из свиной кожи и к-каррагинана типа I производства Sigma-Aldrich (США). В качестве введенных топологических наноструктур использовали многостенные углеродные нанотрубки из углеродного наноматериала «Таунит» (УНТ), производства ООО «НаноТехЦентр», Тамбов.

С точки зрения структурных свойств можно говорить о том, что добавление УНТ в менее концентрированные растворы, где биополимерные цепи расположены достаточно далеко друг от друга, стимулирует хаотичность расположения цепей, увеличение концентрации и подвижности противоионов, что наблюдалось нами ранее и для других высокоорганизованных систем [2]. В более концентрированных системах, в которых биополимерные цепи располагаются ближе друг к другу, УНТ, наоборот, стимулирует структурообразование и возникновение полиэлектролитных комплексов, связывающих противоионы. Следовательно, электропроводность уменьшается в тех случаях, когда структурообразование «усилено», и наоборот. Результаты реологических исследований гидрогелей показали, что полученные низкие значения механических потерь свидетельствуют о твердообразном поведении исследуемых систем при низких деформациях. Добавление УНТ приводит к росту как модуля упругости, так и модуля потерь, что свидетельствует о повышении упругости гидрогеля.

Показано, что электрическая проводимость однозначно связана со структурными перестройками в исследованных системах: увеличение числа связей между биополимерными цепями приводит к уменьшению проводимости, и наоборот. Реологическим методом было показано, что добавление в УНТ в систему повышает упругость гидрогеля.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 19-38-90085 и Стипендии Президента РФ СП-1165.2019.1.

1. Hu Z., Hu Z., Haruna M., Gao H., Nourafkan E., Wen D. // Ind. Eng. Chem. Res. 2017. V. 56. P. 3456-3463.
2. Zueva O.S., Makarova A.O., Faizullin D.A. // Solid State Phenom. 2017. V. 265. P. 342-347.

Лектины двустворчатого моллюска *Glycymeris yessoensis* как паттерн-распознающие рецепторы

Т. О. Мизгина^{1,2}, И. В. Чикаловец^{1,2}, В. И. Молчанова², О. В. Черников²

¹Дальневосточный федеральный университет

²Тихоокеанский институт биоорганической химии им. Г. Б. Елякова ДВО РАН

Электронная почта: tanya.tasha@mail.ru

Врожденный иммунитет охватывает многие области защиты организма хозяина от патогенных микробов, включая распознавание молекулярных паттернов, связанных с патогенами (ПАМП). У двустворчатых моллюсков отсутствует адаптивная иммунная система, и они полагаются исключительно на действия врожденного иммунитета в ответ на вторжение патогенов. Иммунное распознавание является первичным и решающим шагом в определении чужеродных агентов и инициируется паттерн-распознающими рецепторами (ПРР) для выявления ПАМП на поверхности микробов. Среди множества ПРР лектины С-типа суперсемейства Ca^{2+} -зависимых углевод-связывающих белков были идентифицированы как потенциально важные эффекторы в иммунной защите беспозвоночных.

Ранее из гемолимфы двустворчатого моллюска *Glycymeris yessoensis* последовательными методами ионообменной и аффинной хроматографий было выделено несколько лектинов: GYL (металл-независимый лектин, с молекулярной массой по данным MALDI-TOF масс-спектрометрии 18 кДа), проявляющий активность к гликопротеинам муцинового типа, и GYLman (Ca^{2+} -зависимый лектин, олигомер с молекулярной массой более 250 кДа в невосстанавливающих и 70 кДа в восстанавливающих условиях электрофореза в полиакриламидном геле), обладающий аффинностью к высокоразветвленным гомополисахаридам – маннанам, построенным из α -1,2 и α -1,6- связанных остатков D-маннозы.

Для определения принадлежности GYL и GYLman к ПРР нами была изучена их способность связываться с основными видами ПАМП: ЛПС, пептидогликаном, β -1,3-глюканом, маннаном. Методом твердофазного лектин-ферментного анализа было показано, что оба лектина связываются со всеми исследуемыми ПАМП (рис. 1).

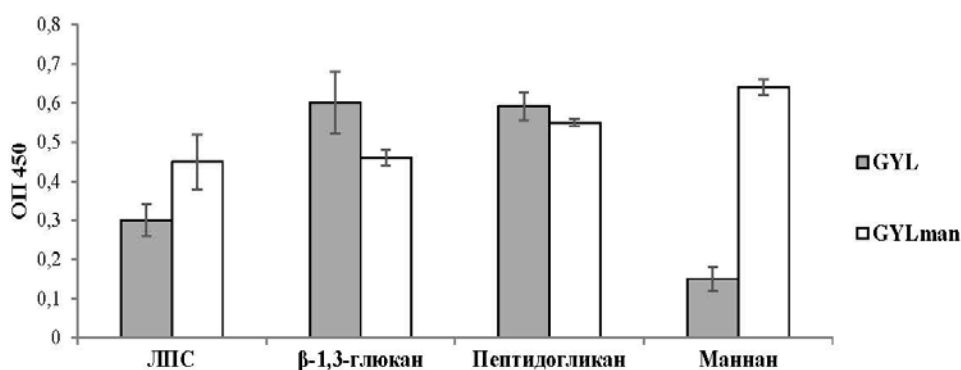


Рисунок 1. – Связывающая активность лектинов с различными ПАМП.

GYL предпочтительней взаимодействовал с β -1,3-глюканом, а GYLman с маннаном и пептидогликаном, что обусловлено различием в углеводной специфичности этих лектинов.

Полученные данные позволяют отнести GYLman и GYL к ПРР и предположить их роль как факторов иммунной системы двустворчатого моллюска, участвующих в защите организма беспозвоночного от воздействия внешних патогенов.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта №19-34-90112.

Реакция 2-(1-бромалкил)-3-гидрокси-1,4-нафтохинонов с диенофилами и метиленактивными соединениями

Д. Н. Пелагеев^{1,2}, К. Л. Борисова¹, В. Ф. Ануфриев¹

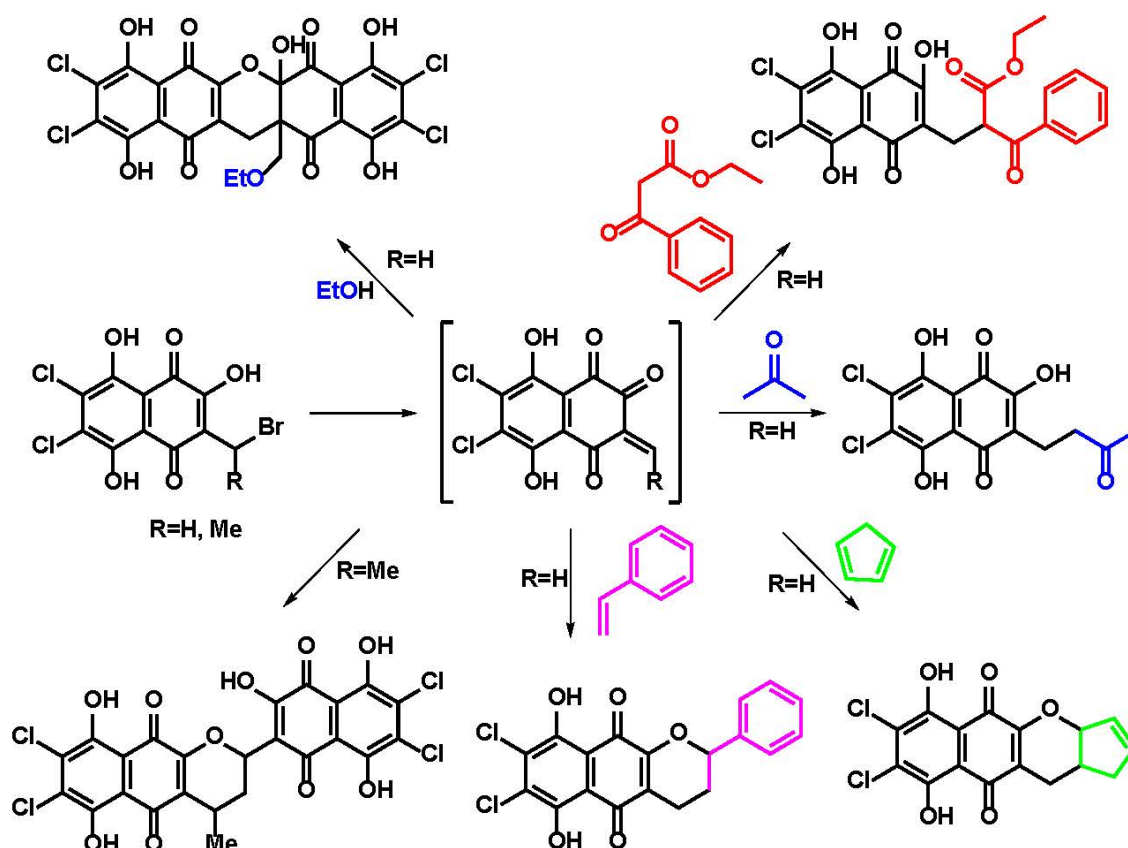
¹Тихоокеанский институт биоорганической химии им. Г. Б. Елякова ДВО РАН

²Дальневосточный федеральный университет

Электронная почта: pelageev@mail.ru

Как высокоактивные промежуточные соединения, обладающие несколькими реакционными центрами, *орто*-хинонметиды (*о*-ХМ) привлекают все большее внимание в органической химии. Последние десятилетия свидетельствуют о полезности этих промежуточных соединений, участвующих в реакциях Дильса-Альдера, а также сопряженном 1,4-присоединении с различными нуклеофилами в качестве акцепторов Михаэля. Эти реакции позволяют конвертировать структурно разнообразные генерированные *in situ* *о*-ХМ в соответствующие ациклические и бензо-конденсированные оксогетероциклические соединения, содержащие несколько стереогенных центров с очень высокой эффективностью.

Однако использование орто-хинонметидов часто ограничивается сложной подготовкой их предшественников и жесткими методами генерации. Нами установлено, что реакция бромирования 2-алкил-3-гидрокси-1,4-нафтохинонов молекулярным бромом позволяет селективно вводить атом брома в 1'-положение, а образующиеся бромпроизводные являются удобными стартовыми субстратами для генерирования *орто*-хинонметидов. Взаимодействием с метиленактивными соединениями (ацетон, этилбензоилацетат) и диенофилами (стирол, циклопентадиен) получены соответствующие продукты сопряженного 1,4-присоединения и реакции Дильса-Альдера. Установлено, что в отсутствие нуклеофилов и диенофилов 1'-бром-2-алкил-3-гидрокси-1,4-нафтохиноны дают продукты димеризации.



Установление структуры фукоиданов из *Sargassum horneri* и *Fucus evanescens* с использованием специфических ферментов и спектроскопии ЯМР

А. Б. Расин, А. С. Сильченко, М. И. Кусайкин, А. И. Калиновский, С. П. Ермакова

Тихоокеанский институт биоорганической химии им. Г. Б. Елякова ДВО РАН

Электронная почта: abrus_54@mail.ru

Фукоиданы – полисахариды, состоящие преимущественно из остатков сульфатированной фукозы и известные своей сложной структурой и разнообразной биологической активностью. Они обладают большим потенциалом для применения в медицине, однако их структуры зачастую нерегулярны и зависят от множества факторов.

Классические методы углеводной химии не всегда позволяют полностью установить структуру исследуемых полисахаридов. Неоспоримыми преимуществами обладает спектроскопия ядерного магнитного резонанса (ЯМР), поскольку она позволяет устанавливать структуру образца без его разрушения в процессе анализа. Однако из-за нерегулярности структур её применение также зачастую не позволяет получить желаемый результат. В настоящее время часто используется комбинирование спектроскопии ЯМР и мягкой ферментативной деполимеризации фукоиданов.

Мы применили этот метод для изучения структуры фукоиданов из двух бурых водорослей: *Sargassum horneri* и *Fucus evanescens*. Ферментативная деполимеризация этих фукоиданов рекомбинантной фукоиданазой FFA1, полученной из морской бактерии *Formosa algae*, позволила получить несколько низко- (НМ) и высокомолекулярных (ВМ) продуктов. Эти продукты были исследованы методом спектроскопии ЯМР, что позволило установить структуры большинства из них. В случае фукоидана из *F. evanescens* единственная ВМ фракция и тетрасахарид, составляющий большую часть НМ фракции, обладали регулярной структурой, аналогичной таковой у фракций, полученных ранее с использованием другой фукоиданазы из морской бактерии *Formosa algae*, FFA2, что дополнительно подтверждает те структурные данные и эффективность метода. Продукты ферментативной деполимеризации фукоидана из *S. horneri* были впервые исследованы комбинацией методов ферментативного расщепления и спектроскопии ЯМР. Структуры шести полученных олигосахаридных фракций и одной полисахаридной были установлены полностью, а структуры двух других ВМ фракций частично, что позволило определить структуру большей части молекулы фукоидана.

Таким образом, использование спектроскопии ЯМР в комбинации с ферментативной деполимеризацией фукоиданов является эффективным методом для точного установления их структуры.

Данное исследование было проведено при поддержке РФФИ, номер исследовательского проекта 18-34-20013.

Физико-химические и каталитические свойства α -N-ацетилгалактозаминидаз выделенных из культур раковых клеток НТ-29, НСТ-116

Н. К. Рубцов¹, Р. А. Шкрабов¹, О. С. Маляренко², И. Ю. Бакунина²

¹Дальневосточный государственный университет

²Тихоокеанский институт биоорганической химии им. Г. Б. Елякова ДВО РАН

Электронная почта: bakun@list.ru

α -N-ацетилгалактозаминидаза (ЕС 3.2.1.49), катализирующая гидролиз концевых α -связанных остатков N-ацетилгалактозамина от невосстанавливающих концов различных сложных гликоконъюгатов, продуцируется клетками раковых опухолей и накапливается в плазме крови больных раком. Уровень активности фермента и множественность его форм повышается в сыворотке крови, особенно на начальной стадии болезни и стадии метастазирования [1, 2]. Макрофаги играют основную роль в борьбе против раковых клеток, но только после сложного механизма активации [3]. Ключевую роль в прерывании каскада активации макрофагов отводят α -N-ацетилгалактозаминидазе, и, в связи с этим, рассматривают её в качестве иммуносупрессора как новую потенциальную терапевтическую мишень при лечении рака [4,5]. Однако механизмы регулирования активности этого фермента в клетке практически не изучены. Поэтому всестороннее изучение этого фермента актуально.

Основное внимание в работе направлено на выделение, очистку и определение уровня активности фермента, экспрессируемого клетками различных типов рака. Раковые клетки культивировали по методике, описанной ранее [6]. Чистоту препаратов фермента контролировали методом ДСН-ПААГ-электрофореза. Выполнена сравнительная характеристики физико-химических свойств (рН-оптимум, термостабильность) и каталитических параметров (K_m , V_{max} и $K_{кат}$) α -N-ацетилгалактозаминидаз клеток НТ-29, НСТ-116.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ № 20-04-00591.

1. Albracht S.P.J., Allon E., van Pelt J. // BBA Clinical. 2017. V. 8. 84–89.
2. Albracht S.P.J., van Pelt J. // BBA Clinical. 2017. V. 8. P. 90–96.
3. Mohamad S.B., Nagasawa H., Uto Y., Hori H. // Comp. Biochem. Physiol. Part A. 2002. V. 132. P. 1–8.
4. Yamamoto N., Naraparaju V.R., Asbell S.O. // Cancer Res. 1996. V. 56. P. 2827–2831.
5. Yamamoto N., Naraparaju V.R., Urade M. // Cancer Res. 1997. V. 57. P. 295–299.
6. Bakunina I., Malyarenko O., Ermakova S. / Ed. Atta-ur Rahman. – Publ: Avid Science, 2019. – Chap. 5. – P. [1–30]. – Bibliogr.: 59 ref. – ISBN 978-93-88170-36-9

Синтез, цитотоксическая и антимикробная активность тетрациклических тиогликозидных конъюгатов – производных хинолин- и изохинолин-5,8-диона

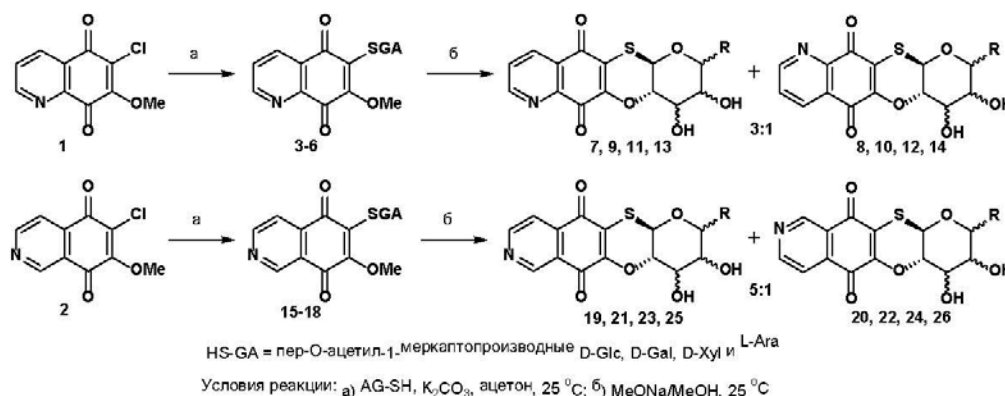
Ю. Е. Сабутский, Е. С. Менчинская, Л. С. Шевченко, Е. А. Чингизова, В. В. Михайлов, Д. Л. Аминин, С. Г. Полоник

Тихоокеанский институт биоорганической химии им. Г. Б. Елякова ДВО РАН

Электронная почта: alixar2006@yandex.ru

Ранее, на основе природных и синтетических 1,4-нафтохинонов и ряда ацетилированных 1-меркаптомоносахаридов, нами была получена и исследована серия тетрациклических хинон-тиогликозидных конъюгатов. Вновь синтезированные конъюгаты проявили высокую цитотоксичность *in vitro* на различных видах опухолей ($EC_{50}=0.3-0.9 \mu M$) и антимикробную активность к *Staphylococcus aureus*, сопоставимую с антибиотиками ванкомицином и гентамицином [1,2].

В этой работе нами изучена конденсация хлорпроизводных гетероциклических хинонов **1**, **2** с пер-*O*-ацетил 1-меркаптосахаридами и превращение полученных тиогликозидов **3-6**, **15-18** в соответствующие тетрациклические конъюгаты **7-14**, **19-26**. Показано, что основно-катализируемая гетероциклизация тиогликозидов **3-6**, **15-18** протекает с образованием смесей изомерных продуктов **7-14**, **19-26** (73–90%) в соотношении ~3:1 для производных хинолин-5,8-диона, и ~5:1 для производных изохинолин-5,8-диона, что указывает на миграцию тиольного фрагмента. Для полученных тетрациклов и их ацетилированных производных была исследована цитотоксическая и антибиотическая активность.



Цитотоксическую активность тетрациклов исследовали на клетках асцитной карциномы Эрлиха, Neuro 2a, HeLa и Jb6 Cl-41-5a. Было показано, что тиогликозидные конъюгаты обладают выраженной цитотоксичностью. Наиболее активными оказались тетрациклы изохинолин-5,8-диона **19-26** и их ацетилпроизводные с EC_{50} 0.2–0.9 мкМ.

Исследование антибиотической активности выполняли на патогенных культурах *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* и *Candida albicans*. Установлено, что исследованные вещества были активны в отношении грамположительных культур *S. aureus* и *B. cereus*. Среди них наибольший эффект проявили ксилозидные и арабинозидные тетрациклические конъюгаты изохинолин-5,8-диона. Показано, что ацетилирование углеводной части конъюгатов приводит к увеличению антибактериальной активности в обеих группах гетероциклов, а также появлению у этих соединений умеренного антигрибкового эффекта.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (проект №18-33-00492 мол_а) и РНФ (проект 19-14-00047).

1. Fedorov S.N., Shubina L.K., Kuzmich A.S., Polonik S.G. // Open Glycoscience. 2011, V. 4. P. 1.

2. Sabutski Yu.E., Menchinskaya E.S., Shevchenko L.S., Chingizova E.A., Chingizov A.R., Popov R.S., Denisenko V.A., Mikhailov V.V., Aminin D.L., Polonik S.G. // Molecules. 2020. V. 25, № 16. P. 3577.

Эффект сульфатированных галактанов красных водорослей на начальные стадии активации комплемента *in vitro*

Е. В. Соколова¹, А. О. Кравченко¹, А. И. Калиновский¹, Н. В. Сергеева², Л. Н. Богданович², В. П. Глазунов¹, И. М. Ермак¹

¹Тихоокеанский институт биоорганической химии им. Г. Б. Елякова ДВО РАН

²Медицинское объединение ДВО РАН

Электронная почта: eka9739@yandex.ru

Красные водоросли содержат значительные количества сульфатированных галактанов, и две группы этих полисахаридов, известные как агары и каррагинаны, находят широкое практическое применение в качестве гелеобразующих и стабилизирующих пищевых соединений. Эти галактаны обычно имеют неразветвленный скелет, состоящий из чередующихся 3-связанных β -D-галактопиранозных и 4-связанных α -D-галактопиранозных остатков. Последние имеют L-конфигурацию в агарозной группе полисахаридов и D-конфигурацию в каррагинанах. Кроме того, 4-связанные остатки могут присутствовать в виде 3,6-ангидропроизводных. Эти полисахариды внесены в список пищевых компонентов при строгом соответствии определенным параметрам, регламентированным Международным комитетом, и широко используются в пищевой промышленности. Кроме того, каррагинаны обладают широким спектром биологических активностей, среди которых можно выделить их иммуномодулирующее действие.

Комплемент является одним из древнейших и высококонсервативных компонентов врожденного иммунитета, который со временем интегрировался в многочисленные защитные механизмы хозяина и, как следствие, способен вносить существенный вклад в инфекционные и неинфекционные заболевания. Комплемент представляет собой жидкофазовую часть иммунной системы, состоящую из каскадных протеаз, которые почти мгновенно реагируют на аномальные ландшафты чужеродных клеток и измененные поверхности клеток хозяина.

Описанное здесь исследование представляет данные о влиянии галактанов красных водорослей – каррагинана (λ , κ , κ/β и ι/κ) и агара на активацию системы комплемента в сыворотке крови человека. Эксперименты проводились в лунках микропланшетов, поверхность которых была покрыта веществами, запускающими активацию системы комплемента посредством связывания иницирующих компонентов – C3 и C4. Результаты показали, что сульфатированные галактаны ингибируют связывание ключевых факторов альтернативного пути активации комплемента – компонента C3 и липополисахарида. Ингибирующий эффект полисахаридов находился в прямой зависимости от их степени сульфатирования. Степень сульфатирования также важна для способности каррагинанов снижать связывание компонента C4 с поверхностями, покрытыми маннаном, характеризующим лектиновый путь активации комплемента. Однако связывание компонента C4 с антителами, свойственное для активации классического пути комплемента, значительно стимулировалось в присутствии каррагинанов, особенно под действием желирующих типов. При этом влияние структурных характеристик исследуемых веществ на активацию внешнепротеазного пути активации комплемента обнаружено не было, но λ - и κ/β -каррагинаны почти полностью ингибировали расщепление C5 сыворотки человека под действием плазмина (протеазный фермент фибринолитической системы). Таким образом, галактаны красных водорослей способны участвовать в биологии клеточной поверхности, имитируя поверхностные гликаны в связывании C3, ингибируя связывание маннозы с лектин-связывающим белком и стимулируя классический путь, вероятно, из-за галактановой природы полисахаридов.

Доклад выполнен при финансовой поддержке Российского научного фонда, грант РНФ 20-74-00006.

Предсказание потенциальных лигандов для TRPM8 методами машинного обучения и межмолекулярного докинга

П. Д. Тимкин¹, Э. А. Тимофеев¹, А. П. Чупалов², Е. А. Бородин¹

¹Амурская государственная медицинская академия

²Харбинский инженерный университет

Электронная почта: timkin.pasha@mail.ru

Глубокие нейронные сети (Deep Neural Network) такие как свёрточная нейронная сеть (Convolutional Neural Network) и сети с памятью (Long Short-Term memory) являются популярными инструментами из области машинного обучения в течение последних нескольких лет. Доступность больших объёмов вычислительных мощностей, данных, алгоритмов и лёгких в освоении фреймворков послужило причиной доминирования искусственных нейронных сетей в решении различных задач, связанных с классификацией и предсказанием. В биоинформатике нейросети широко используются для классификации последовательностей ДНК, предсказания вторичной последовательности белка и РНК, предсказания третичной структуры белка, белок-белковых взаимодействий и других задач. В данной работе авторы предлагают метод, сочетающий использование методов машинного обучения и традиционных методов биоинформатики, для предсказания потенциальных лигандов для TRPM8. TRPM8 – один из восьми представителей меластатинового подсемейства ионных каналов с транзиторным рецепторным потенциалом, он экспрессируется в клетках легких, кожи, печени, почках, некоторых опухолях и других тканях. Ионные каналы могут рассматриваться как терапевтические мишени для лечения бронхиальной астмы и опухолей.

Авторы использовали третичные структуры различных белков (в том числе, гомологичных TRPM8) и их лигандов в качестве тренировочного набора данных. Структуры были представлены в виде интерполированных матриц евклидовых расстояний между атомами каждой молекулы, и пары белок-лиганд были поданы на вход свёрточной нейросети. Задача нейросети заключается в выявлении закономерностей, по которым пары из тренировочного набора данных взаимодействуют между собой. Для тестового набора данных были использованы третичные структуры TRPM8, а также третичные структуры различных белковых и трёхмерные структуры низкомолекулярных соединений. Из этих данных были составлены пары TRPM8-потенциальный лиганд, также представленные в виде матриц расстояний. После цикла обучения нейросеть принимала тестовый набор данных и делала предсказания, какие пары потенциально взаимодействуют. Далее эти пары анализировались через софт, симулирующий межмолекулярные взаимодействия – AutoDock. Данная методика позволяет в автоматизированном режиме проверить множество потенциальных лигандов для TRPM8.

Данный подход является многообещающим, однако он требует больших вычислительных мощностей для большего охвата потенциальных кандидатов и точного анализа их стыковки. В дальнейшем метод будет доработан и использован для других рецепторов.

1. <http://autodock.scripps.edu>.

2. <https://pytorch.org>.

3. Liu S., Tang B., Chen Q., Wang X. // Comput. Math. Methods Med. 2016. V. 2016. P. 6918381.

4. Ashtawy H.M., Mahapatra N.R. // J. Bioinform. Comput. Biol. 2018. V. 16, № 2. P. 1850004.

5. Yakovenko O., Jones S.J.M. // J. Comput. Aided Mol. Des. 2018. V. 32, № 1. P. 299-311.

6. Estrada T., Benson J., Carrillo-Cabada H., Razavi A.M., Cuendet M.A., Weinstein H., Deelman E., Taufer M. // BCB '18: Proceedings of the 2018 ACM International conference on bioinformatics, computational biology, and health informatics. 2018. P. 315-324.

Фукоиданы из бурых водорослей *Laminaria longipes*, *Tauya basicrassa* и *Sargassum duplicatum*: структура и биологическое действие

Р. В. Усольцева, Н. М. Шевченко, Т. Н. Звягинцева, С. Д. Анастюк, О. С. Маляренко,
С. П. Ермакова

Тихоокеанский институт биоорганической химии им. Г. Б. Елякова ДВО РАН

Электронная почта: Usoltseva-R@yandex.ru

В настоящее время наблюдается тенденция к поиску биологически активных природных соединений и созданию лекарственных препаратов на их основе. Морские водоросли представляют собой широко распространенный и легко культивируемый источник разнообразных биологически активных веществ, в том числе сульфатированных полисахаридов – фукоиданов. Данный класс соединений отличается большим структурным разнообразием и широким спектром полезных свойств.

Целью настоящей работы являлось получение индивидуальных препаратов фукоиданов из бурых водорослей *Laminaria longipes*, *Tauya basicrassa* и *Sargassum duplicatum*, изучение их структуры, а также противоопухолевого и радиосенсибилизирующего действия некоторых выделенных полисахаридов.

Были определены структурные характеристики выделенных полисахаридов: моносахаридный состав, содержание сульфатов и ацетатов, молекулярно-массовое распределение. Тонкая структура нативных и модифицированных (не содержащих сульфатных и ацетильных групп) фукоиданов была изучена методом спектроскопии ЯМР. Структуры низкомолекулярных производных фукоиданов, полученных методом автогидролиза, а также кислотного гидролиза при нагревании, были исследованы с помощью масс-спектрометрии. Противоопухолевое действие фукоиданов *in vitro* определяли с помощью метода мягкого агара.

Было показано, что *L. longipes* синтезирует сульфатированный фукан, *T. basicrassa* – сульфатированный и ацетилированный фукогалактан, а *S. duplicatum* – сульфатированный и ацетилированный галактофукан. Основная цепь фукана из *L. longipes* была построена из 1,3-, 1,4 и 1,2-связанных остатков фукозы; фукогалактана из *T. basicrassa* – из 1,6-связанных остатков галактозы; галактофукана из *S. duplicatum* – из 1,4-связанных остатков фукозы и галактозы. Установлено, что фукоиданы из *L. longipes* и *S. duplicatum* обладают противоопухолевым и радиосенсибилизирующим действием *in vitro*.

Работа выполнена при поддержке грантов РФФИ №19-54-54005 Вьет_а и РНФ №16-14-10131.

Влияние лектинов из нового семейства MytiLectin на пролиферацию опухолевых клеток

А. П. Фильштейн, И. В. Чикаловец, А. С. Кузьмич, О. В. Черников

Тихоокеанский институт биоорганической химии им. Г. Б. Елякова ДВО РАН

Электронная почта: alishichka@mail.ru

Успешное развитие методов точной и своевременной диагностики онкологических заболеваний, а также поиск молекул биорецепции, обладающих диагностическим и терапевтическим потенциалом, в значительной степени определяют успех лечения в современных условиях. Основопологающим в эффективном обнаружении и лечении является момент биологического распознавания. Углеводы являются компонентами структур клеток и межклеточного вещества. Будучи частью клеточных мембран, углеводы формируют гликокаликс клетки, который играет огромную роль в процессе жизнедеятельности организма. Известно, что неопластическая трансформация сопровождается изменением гликозилирования и экспрессией на поверхности опухолевых клеток углеводных маркеров малигнизации. Лектины, являясь углевод-связывающими белками, способны выявлять углеводные детерминанты, специфические для гликоконъюгатов раковых клеток. Кроме того, связываясь с углеводными лигандами на поверхности опухолевых клеток, белки оказывают определенное влияние на их развитие и функционирование, что позволяет использовать лектины как инструмент для изучения механизмов малигнизации, так и в практической онкологии для ранней и дифференциальной диагностики рака [1].

Ранее в лаборатории химии неинфекционного иммунитета были выделены и охарактеризованы Gal/GalNAc-специфичные лектины из мидий *Crenomytilus grayanus* (CGL) [2] и *Mytilus trossulus* (MTL) [3], отнесенные к новому семейству лектинов MytiLectin. CGL и MTL имеют высокую гомологию как по структуре, так и по функционированию [4]. Изучение антипролиферативной активности лектинов проводили MTS-методом на клеточных линиях лимфомы Беркитта (Raji, EB-1 и Daudi), аденокарциномы прямой кишки DLD-1, карциномы толстой кишки HCT-116, аденокарциномы толстой кишки HT-29, аденокарциномы молочной железы MCF-7 и MDA-MB-231, карциномы молочной железы T-47D. Было показано, что концентрация полумаксимального ингибирования (IC_{50}) не достигается ни с одним из типов клеток, за исключением лимфомы Беркитта. CGL оказался наиболее активен в отношении клеток аденокарциномы толстой кишки HT-29, а MTL – аденокарциномы молочной железы MCF-7 и MDA-MB-231. По отношению к клеткам лимфомы Беркитта CGL и MTL проявили достаточно высокую активность, IC_{50} пролиферации опухолевых клеток достигалась только в присутствии CGL. В свою очередь MTL оказывал антипролиферативное действие в меньшей степени. IC_{50} MTL в отношении к клеткам Raji составляла 694 мкг/мл.

В результате исследования было установлено, что оба лектина в разной степени обладают антипролиферативным эффектом в отношении исследованных линий клеток.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 19-04-00157.

1. Чикаловец И.В., Молчанова В.И., Мизгина Т.О., Фильштейн А.П., Лукьянов П.А., Черников О.В. // Вестник ДВО РАН. 2019. № 5 (207). С. 115-122.

2. Belogortseva N.I., Molchanova V.I., Kurika A. V., Skobun A.S., Glazkova V.E. // Comp. Biochem. Physiol. C. Pharmacol. Toxicol. Endocrinol. 1998. V. 119. P. 45-50.

3. Chikalovets I.V., Kondrashina A.S., Chernikov O.V., Molchanova V.I., Lukyanov P.A. // Chem. Nat. Compd. 2013. V. 48. P. 1058-1061.

4. Chikalovets I., Filshtein A., Molchanova V., Mizgina T., Lukyanov P., Nedashkovskaya O., Kuo-Feng Hua, Chernikov O. // Molecules. 2020. V. 25. P. 150.

Особенности структуры и свойств нового пориноподобного белка психрофильной морской бактерии *Marinomonas primoryensis*

В. А. Хоменко¹, Л. А. Романенко¹, Е. И. Аксенова², М. С. Кунда², Н. Н. Рыжова²,
О. Л. Воронина², Н. Ю. Ким¹, Г. Н. Лихацкая¹, Д. К. Чистюлин¹, О. Ю. Портнягина¹,
О. Д. Новикова¹

¹Тихоокеанский институт биоорганической химии им. Г. Б. Елякова ДВО РАН

²ФНИЦЭМ им. Н. Ф. Гамалеи Минздрава России

Электронная почта: novolga_05@mail.ru

Грамотрицательные бактерии привлекают внимание исследователей своей исключительной способностью приспосабливаться как к условиям обитания в природной среде, так и к антропогенным факторам. Морские бактерии обладают наиболее выраженными свойствами психро-, пьезо- и галотолерантности. Всестороннее изучение этих микроорганизмов, обитающих в экстремальных условиях, выявило различные молекулярные механизмы адаптации, в том числе регуляцию экспрессии генов и белков, важных для метаболических путей и подвижности клеток. Порообразующие белки морских бактерий играют важную роль в адаптации к солевому стрессу, поскольку они находятся в непосредственном контакте со средой с высоким содержанием соли.

Объектом настоящего исследования стала морская бактерия *Marinomonas primoryensis* КММ3633^T, которая была выделена из образца прибрежного морского льда в Амурском заливе недалеко от Владивостока, Россия. Полный геном данного микроорганизма был секвенирован, собран и аннотирован. Это позволило предсказать в геноме наличие значительного количества транспортных белков, среди которых особым разнообразием отличались так называемые TRAP белки, АТФ-независимые периплазматические транспортеры. Также было предсказано наличие только одного белка, подобного поринам наружной мембраны наземных бактерий. Согласно консервативному поиску домена он был идентифицирован как Porin_4. Порин (MrOmp) был выделен и охарактеризован. Установлено, что аминокислотный состав MrOmp отличается высоким содержанием кислых аминокислот и низким содержанием серосодержащих аминокислот, в его молекуле отсутствуют остатки триптофана.

С помощью реконструкции исследуемого белка в бислойные липидные мембраны выявлена его способность формировать ионные каналы, проводимость которых зависела от концентрации электролита. Пространственная структура MrOmp имела особенности, характерные для поринов грамотрицательных бактерий: преобладающее содержание бета-структуры и изменение конформации под влиянием температуры и природы детергента, присутствующего в растворе белка. Однако олигомерная структура изолированного MrOmp по сравнению с таковой классических поринов отличалась очень низкой термостабильностью: диссоциация нативного тримера белка на мономеры наблюдалась уже при 30°C. Полученные данные свидетельствуют о стабилизирующей роли липидов наружной мембраны морских бактерий в образовании олигомерной структуры порина.

Исследование генетических основ структурного разнообразия HMRG-полипептидов актинии *Heteractis magnifica* методом глубокого секвенирования

В. Е. Чаусова, Н. Ю. Чернышева, К. В. Гузев, И. Н. Гладких, Е. В. Лейченко, М. П. Исаева

Тихоокеанский институт биоорганической химии им. Г. Б. Елякова ДВО РАН

Электронная почта: v.chausova@gmail.com

Актинии как продуценты ядов до сих пор остаются недостаточно изученными по сравнению с наземными ядовитыми организмами (змеями, пауками и др.), несмотря на широкое распространение и разнообразие этих древних животных. Растущий интерес к ядам морских беспозвоночных связан в первую очередь с возможностью открытия уникальных пептидных структур с новыми и неожиданными фармакологическими активностями. Современные подходы изучения структурного разнообразия пептидов основаны на использовании геномных данных – нового источника для получения, сравнительного исследования и выяснения эволюции белковых компонентов яда, который способен сохранить численность морских гидробионтов.

В настоящее время при исследовании морских организмов определение их таксономической принадлежности является ключевым этапом. В данной работе для видовой идентификации актинии было выполнено секвенирование 18S рРНК, которое показало принадлежность организма к предполагаемому виду *Heteractis magnifica*. Применение молекулярно-генетических подходов является целесообразным, поскольку генетический материал менее подвержен влиянию внешних условий, в отличие от изменчивых морфологических признаков.

Интерес представило более детальное изучение мультигенного семейства HCRG-полипептидов Кунитц-типа в актинии *H. magnifica*. Ранее, на основании множественного выравнивания 3'- и 5'-RACE кДНК последовательностей HCGS-полипептидов *H. crista* [1], были разработаны праймеры для получения полноразмерных кДНК последовательностей. В результате амплификации и секвенирования геномной ДНК актинии *H. magnifica* были установлены структуры генов HMRG-полипептидов. Показано, что белок-кодирующая часть гена содержит только один интрон в области, соответствующей С-концевому участку сигнального пептида. Далее молекулярное и структурное разнообразие HMRG-полипептидов актинии *H. magnifica* было оценено методом глубокого секвенирования пула ампликонов ингибиторов Кунитц-типа. Полученные прочтения, соответствующие ампликонам HMRG-полипептидов, были процессированы и дереплицированы: осуществлена коррекция ошибок секвенирования, удаление прочтений низкого качества (<Q10) и прочтений, содержащих последовательности гомополимеров, определено количество и представленность уникальных прочтений. На нуклеотидном уровне было обнаружено 50 уникальных вариантов с покрытием 10 и более прочтений, на их долю пришлось более 87,3% от общего числа прочтений. На аминокислотном уровне количество уникальных зрелых последовательностей составило 32 варианта. Наиболее распространенным вариантом был HCRS2-подобный вариант (51% от всех прочтений). Следующим по представленности был вариант HCRL1-подобный, доля которого составила только 6%. Доля структурных вариантов HMRG с Thr в P1 положении реактивного центра ингибитора составила 3,8%, с Arg – менее 1%. Превалирующее большинство вариантов содержали Lys в P1 положении.

Таким образом, показано существование мультигенного семейства HCRG-полипептидов Кунитц-типа в актинии *H. magnifica*, разнообразие и представленность на уровне транскриптов которых было оценено с использованием метода высокопроизводительного секвенирования второго поколения.

I. Isaeva M.P., Chausova V.E., Zelepuga E.A., Guzev K.V., Tabakmakher V.M., Monastyrnaya M.M., Kozlovskaya E.P. Peptides. 2012. V. 34, № 1. P. 88-97.

Филогенетическое разнообразие альгинат-лиаз семейства PL7 в геномах рода *Zobellia*

Н. Ю. Чернышева, М. П. Исаева

Тихоокеанский институт биоорганической химии им. Г. Б. Елякова ДВО РАН

Электронная почта: chernysheva.nadezhda@gmail.com

Альгинаты широко используются в пищевой и фармацевтической отраслях промышленности [1], а продукты их гидролиза – олигоурониды – обладают широким спектром физиологической активности [2]. Среди альгинат-лиаз наиболее представленными и изученными являются лиазы бактериального происхождения, отнесенные к семейству PL7. В настоящее время *Zobellia galactanivorans* является одним из модельных полисахарид-деградирующих организмов и богатым источником гидролитических ферментов, в том числе и альгинат-лиаз семейства PL7 [3]. Поиск новых альгинат-лиаз для переработки водорослевой биомассы и получения олигоуронидов с заданными параметрами, такими как регулярность и степень полимеризации, представляет большой теоретический и практический интерес. Целью данной работы являлось изучение разнообразия и распространения генов альгинат-лиаз PL7 среди бактерий рода *Zobellia*.

Поиск генов альгинат-лиаз PL7 был осуществлен по восьми геномам представителей рода *Zobellia*. Известно, что, на основе сходства последовательностей функциональных доменов, лиазы семейства PL7 делятся на 6 подсемейств – SF1–SF6 [3]. Филогенетический анализ последовательностей альгинат-лиазных доменов показал, что гены PL7 *Zobellia* принадлежат к трем подсемействам – SF3, SF5 и SF6, причем распределение данных генов в геномах неравномерное. Установлено, что во всех геномах содержатся ортологи из подсемейств SF5 и SF6. В геномах, не содержащих гены подсемейства SF3, гены лиаз SF5 и SF6 дуплицированы. Сравнительный анализ генов-паралогов выявил присутствие замен в альгинат-лиазных доменах, что потенциально может влиять на субстратную специфичность ферментов. Предсказано, что, в отличие от альгинат-лиаз PL7 подсемейств SF5 и SF6, последовательности лиаз SF3 помимо альгинат-лиазного домена дополнительно содержат углевод-связывающие модули CBM32, CBM6 и CBM47. Мы предполагаем, что процессы дупликации генов и приобретения углевод-связывающих модулей могут являться механизмом формирования функциональной специализации альгинат-лиаз в пределах рода *Zobellia*. Таким образом, геномы представителей рода *Zobellia* являются источником потенциально новых альгинат-лиаз семейства PL7.

1. Szekalska M., Puciłowska A., Szymańska E., Ciosek P., Winnicka K. // Int. J. Polym. Sci. 2016. V. 2016. P. 1-17.
2. Liu J., Yang S., Li X., Yan Q., Reaney M.J., Jiang Z. // CRFSFS. 2019. V. 18, № 6. P. 1859-1881.
3. Thomas F., Lundqvist L.C., Jam M., Jeudy A., Barbeyron T., Sandström C., Michel G., Czjzek M. // J. Biol. 2013. V. 288, № 32. P. 23021-23037.

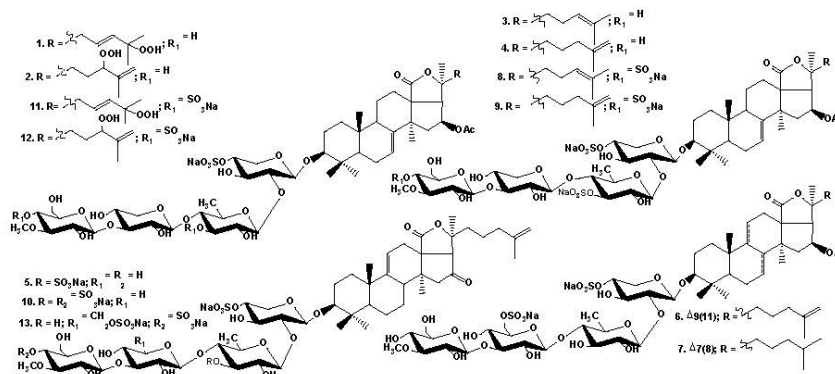
Биологическая активность новых тритерпеновых гликозидов, выделенных из голотурии *Colochirus quadrangularis*

Е. А. Чингизова, А. С. Сильченко, О. С. Маляренко, С. П. Ермакова

Тихоокеанский институт биоорганической химии имени Г. Б. Елякова ДВО РАН

Электронная почта: martyyas@mail.ru

Гликозиды из голотурий представляют интерес как потенциальные противораковые препараты. Изучена цитотоксичность новых моно-, ди- и трисульфатированных тритерпеновых гликозидов **1–13**, выделенных из голотурии *Colochirus quadrangularis*, в отношении клеток нейробластомы Neuro 2a и колоректальной аденокарциномы человека НТ-29; нормальных эпидермальных клеток JB6 Cl 41 и эритроцитов мыши.



Все изученные соединения проявили высокую гемолитическую активность (EC_{50} от 0,11 до 6,03 мкМ). Установлена взаимосвязь между структурными особенностями и мембранолитическими свойствами исследуемых гликозидов. Показано, что мембранолитические свойства моносульфатированных гликозидов **1, 2** в отношении клеток Neuro 2a, JB6 Cl 41 и эритроцитов снижались при наличии в боковых цепях агликонов гидропероксидной группы. Гликозиды **11** и **12** с такими же агликонами, как и в соединениях **1, 2**, но с тремя сульфатными группами, оказались наименее активными соединениями в изучаемом ряду из-за сочетания этих двух структурных особенностей. Соединения **3, 4, 5, 8** и **9** эффективно подавляли жизнеспособность клеток НТ-29, с индексами селективности по отношению к нормальным клеткам 38,0; 35,4; 4,1; 4,2 и 4,0 соответственно. Тритерпеновые гликозиды **3, 4** и **6–9** содержат голостановые агликоны без гидропероксидных групп и ди- или трисульфатированные линейные тетрасахаридные цепи. Такое сочетание структурных особенностей обеспечивало высокую мембранолитическую активность даже при наличии трех сульфатных групп (EC_{50} до 0,56 мкМ). Необычное положение третьей сульфатной группы при С-4 остатка 3-О-метилглюкозы в углеводной цепи соединения **13** не оказывало существенного влияния на мембранолитическую активность (EC_{50} 2,04 мкМ). Гликозиды, содержащие агликоны с 7(8)-двойной связью и 16β-О-ацетатной группой, были более активными по сравнению с гликозидами, имеющими агликоны с двойной связью в положении 9(11). Таким образом, присутствие гидропероксидных групп в боковых цепях и наличие сульфатных групп в гликозидах являются определяющими для проявления исследованной биологической активности гликозидов.

Также показано, что соединения **2, 6, 7** и **13** обладали значительной способностью ингибировать самопроизвольное формирование колоний опухолевых клеток НТ-29. Следует отметить, что гликозиды **1, 3** и **9** (0,02 мкМ) усиливали ингибирующее действие радиоактивного облучения (1 Гр) на данный процесс, то есть проявляли синергическое действие.

Исследование выполнено при частичной финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 19-04-00014 А и частичной финансовой поддержке РНФ в рамках научного проекта № 16-14-10131.

АВТОРСКИЙ УКАЗАТЕЛЬ

- Аксенова Е. И.** – 32
Аминин Д. Л. – 16, 17, 27
Анастюк С. Д. – 30
Ануфриев В. Ф. – 24
Бакунина И. Ю. – 26
Балдаев С. Н. – 7
Белик А. А. – 8
Бердышев Д. В. – 18
Богданович Л. Н. – 28
Борисова К. Л. – 24
Бородин Е. А. – 29
Быстрицкая Е. П. – 9
Васильева Е. А. – 10
Воронина О. Л. – 32
Гирич Е. В. – 11
Гладких И. Н. – 14, 33
Глазунов В. П. – 28
Горпенченко Т. Н. – 17
Гузев К. В. – 7, 33
Дмитренко П. С. – 14
Дышловой С. А. – 11
Ермак И. М. – 28
Ермакова С. П. – 8, 13, 25, 30, 35
Жидков М. Е. – 15
Захаренко В. М. – 12
Звягинцева Т. Н. – 30
Зелепуга Е. А. – 14
Зуев Ю. Ф. – 21, 22
Зуева А. О. – 13
Зуева О. С. – 21, 22
Иванов А. С. – 16
Исаева М. П. – 7, 9, 16, 33, 34
Иунихина Щ. В. – 10
Калина Р. С. – 14
Калиновский А. И. – 18, 25, 28
Калужский Л. А. – 16
Кантемиров А. В. – 15
Кантемирова Е. В. – 15
Кветкина А. Н. – 16
Ким Н. Ю. – 32
Киселева М. И. – 8
Кожушная А. В. – 18
Козловская Э. П. – 14
Козловский С. А. – 17
Кокоулин М. С. – 19, 20
Колесникова С. А. – 18
Котляров И. П. – 12
Кравченко А. О. – 28
Крылова Н. В. – 10
Кузьмич А. С. – 19, 20, 31
Кунда М. С. – 32
Кусайкин М. И. – 8, 25
Лейченко Е. В. – 6, 14, 16, 33
Лизанов И. Н. – 19, 20
Лихацкая Г. Н. – 17, 32
Ляхова Е. Г. – 18
Макарова А. О. – 21, 22
Маляренко О. С. – 8, 26, 30, 35
Маляренко Т. В. – 12
Менчинская Е. С. – 16, 17, 27
Мизгина Т. О. – 23
Михайлов В. В. – 27
Мищенко Н. В. – 10
Молчанова В. И. – 23
Монастырская М. М. – 14
Новикова О. Д. – 32

Пелагеев Д. Н. – 24
Пеньёр С. – 14
Пислягин Е. А. – 16, 17
Полоник С. Г. – 17, 27
Попов Р. С. – 18
Портнягина О. Ю. – 32
Ракин А. В. – 9
Расин А. Б. – 8, 13, 25
Романенко Л. А. – 19, 20, 32
Рубцов Н. К. – 26
Рыжова Н. Н. – 32
Сабуцкий Ю. Е. – 17, 27
Сергеева Н. В. – 28
Сильченко А. С. – 8, 13, 25, 35
Соколова Е. В. – 28
Тимкин П. Д. – 29
Тимофеев Э. А. – 29
Титгат Я. – 14
Усольцева Р. В. – 30
Федореев С. А. – 10
Фильштейн А. П. – 31
Хоменко В. А. – 32
Чаусова В. Е. – 7, 33
Черников О. В. – 23, 31
Чернышева Н. Ю. – 9, 33, 34
Чикаловец И. В. – 23, 31
Чингизова Е. А. – 17, 27, 35
Чистюлин Д. К. – 32
Чупалов А. П. – 29
Шевченко Л. С. – 27
Шевченко Н. М. – 30
Шкрабов Р. А. – 26
Юрченко А. Н. – 11
Юрченко Е. А. – 11