

ВОПРОСЫ БИОЛОГИЧЕСКОЙ МЕДИЦИНСКОЙ И ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОЙ ХИМИИ

Научно-практический журнал



Тел./факс: (495)625-9241 • E-mail: info@radiotec.ru • [Http://www.radiotec.ru](http://www.radiotec.ru)

8
2013



Учредитель - Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных и ароматических растений (ВИЛАР) Российской академии сельскохозяйственных наук

ВОПРОСЫ БИОЛОГИЧЕСКОЙ МЕДИЦИНСКОЙ И ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОЙ ХИМИИ

НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ (ВКЛЮЧЕН В ПЕРЕЧЕНЬ ВАК)

PROBLEMS OF BIOLOGICAL, MEDICAL
AND PHARMACEUTICAL CHEMISTRY

Главный редактор В.А. БЫКОВ – академик РАН и РАСХН

Зам. главного редактора, член-корр. РАН **Е.С. СЕВЕРИН**

Зам. главного редактора, член-корр. РАН **Н.Е. КУШЛИНСКИЙ**
(ответственный за выпуск)

Зам. главного редактора, д.фарм.н. **Т.А. СОКОЛЬСКАЯ**

Зам. главного редактора, д.м.н. **А.В. СКАЛЬНЫЙ**

Ответственный секретарь, д.б.н. **И.В. МАТВЕЙЧУК**

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ

Т.Т. БЕРЕЗОВ – академик РАН; Р.Г. ГЛУШКОВ – академик РАН;
Ю.М. ЛОПУХИН – академик РАН; Л.Ф. ПАНЧЕНКО – академик РАН;
В.И. ШВЕЦ – академик РАН; Г. ВИКМАН – д.б.н. (Швеция);
Т.Д. ДАРГАЕВА – д.фарм.н.; Д.Г. ДЕРЯБИН – д.м.н.; В.К. КОЛХИР – д.м.н.
Х. ЛОНБЕРГ – д.х.н. (Финляндия); П.Г. МИЗИНА – д.фарм.н.;
Е.И. САКАНЯН – д.фарм.н.; О.Н. ТОЛКАЧЕВ – д.х.н.; В.А. ФРОЛОВ – д.м.н.;
Н.Н. ЧЕРНОВ – д.б.н.; Н.И. СИДЕЛЬНИКОВ – к.б.н.; А.Р. ГРАБЕКЛИС – к.б.н.

Editor-in-Chief V.A. BYKOV – Academician RAMS and RAAS

Deputy Editor, Corresponding member RAS **E.S. SEVERIN**

Deputy Editor, Corresponding member RAMS **N.Ye. KUSHLINSKII**

Deputy Editor, Dr.Sc. (Pharm.) **T.A. SOKOLSKAYA**

Deputy Editor, Dr.Sc. (Med.) **A.V. SKALNY**

Executive secretary, Dr.Sc. (Biol.) **I.V. MATVEYCHUK**

EDITORIAL BOARD

T.T. BEREZOV – Academician RAMS; R.G. GLUSHKOV – Academician RAMS;
Yu.M. LOPUKHIN – Academician RAMS; L.F. PANCHENKO – Academician RAMS;
V.I. SHVETS – Academician RAMS; G. WIKMAN – Ph.D. (Biol.) (Sweden);
T.D. DARGAEVA – Dr.Sc. (Pharm.); D.G. DERYABIN – Dr.Sc. (Med.);
V.K. KOLKHIR – Dr.Sc. (Biol.); H. LONNBERG – Ph.D. (Chem.) (Finland);
P.G. MIZINA – Dr.Sc. (Pharm.); Ye.I. SAKANYAN – Dr.Sc. (Pharm.);
O.N. TOLKACHEV – Dr.Sc. (Chem.); V.A. FROLOV – Dr.Sc. (Med.)
N.N. CHERNOV – Dr.Sc. (Biol.); N.I. SIDELNIKOV – Ph.D. (Biol.);
A.R. GRABEKLIIS – Ph.D. (Biol.)

8

2013

ОСНОВАН В 1998 г.

СОДЕРЖАНИЕ

Фармацевтическая химия

ответственный – Т.А. Сокольская

- Пулина Н.А., Кузнецов А.С., Одегова Т.Ф., Махмудов Р.Р. Синтез и изучение биологической активности замещенных 2-метиленигидразоно-5-арил-2H-фуран-3-онов и продуктов их гидролиза 3
- Коротких И.Н., Хазиева Ф.М., Сидельников Н.И. Селекция *Digitalis lanata* Ehrh. методом индивидуально-семейного отбора 8
- Кормишин В.А., Воронин А.В., Шаталаев И.Ф. Денситометрическое определение ряда наркотических средств, психотропных и лекарственных веществ в химико-токсикологическом анализе 11
- Давыдова В.Н., Сокольская Т.А., Крепкова Л.В., Ложкин Ю.Г. Доклиническое токсикологическое изучение лекарственного средства «Термоксол» 17

Биологическая химия

ответственный – Е.С. Северин

- Гильмиярова Ф.Н., Радомская В.М., Шахнович Е.А., Рыскина Е.А., Колотьева Н.А., Нефедова Н.С., Чудинова А.А. Антигены АВО системы 21
- Мосин О.В., Швеиц В.И., Складнев Д.А., Игнатов И.И. Биосинтез трансмембранного фотопреобразующего белка [2H]бактериородопсина, меченного дейтерием по остаткам ароматических аминокислот [2,3,4,5,6-²H₅]PHE, [3,5-²H₂]TYR и [2,4,5,6,7-²H₅]TRP 29
- Грязева И.В., Давыдова О.К., Дерябин Д.Г., Свиридова Ц.Т., Свиридов А.П. Прогнозируемая и экспериментально выявляемая антиоксидантная активность алкилресорцинолов 41
- Кузнецова И.Г., Воронцов Е.А., Кузнецов С.Л., Барсегян Г.Г., Северин С.Е. Антибиотическая активность наносомальной формы рифабутина 48

Вопросы экспериментальной биологии и медицины

- Самохина Л.С., Ионова И.И., Тишков В.И., Комолова Г.С. Защитное действие продуктов протеолиза альфа-лактальбумина против язвенных повреждений слизистой желудка крыс 53

Медицинская химия

ответственный – Н.Е. Кушлинский

- Михайлова С.Д., Микаелян Н.П., Семушкина Т.М., Соколов А.В., Сторожаков Г.И., Гурина А.Е. Метаболические параметры и артериальное давление при ишемии миокарда, осложняющейся и не осложняющейся фибрилляцией желудочков 58
- Гринио Л.П., Минеева М.Ф., Карпова Л.Д. Тирозингидроксилазный тест при дофазависимой дистонии 64
- Герштейн Е.С., Николаев А.А., Короткова Е.А., Делекторская В.В., Кушлинский Н.Е. Инсулиноподобные факторы роста в сыворотке крови больных раком толстой кишки 69

Юбилей и даты

- Виктору Ивановичу Долженко 70 лет 2 ст. обл.

CONTENTS

Pharmaceutical Chemistry

- Pulina N.A., Kuznetsov A.S., Odegova T.F., Makhmudov R.R. Synthesis and study of biological activity of substituted 2-methylenehydrazono-5-aryl-2H-furan-3-ones and their hydrolysis products 7
- Korotkih I.N., Haziyeva F.M., Sidel'nikov N.I. Selection of *Digitalis lanata* Ehrh. 10
- Kormishin V.A., Voronin A.V., Shatalaev I.F. Densitometric determination of some drugs, psychotropic and medicinal substances in chemical-toxicological analysis s 16
- Davydova V.N., Sokolskaya T.A., Krepkova L.V., Lozhkin Yu.G. Preclinical toxicological study of the drug «Thermoxol» 20

Biological Chemistry

- Gylmiyarova F.N., Radomskaya V.M., Shahnovich E.A., Ryskina E.A., Kolotyeva N.A., Nafedova N.S., Chyudinova A.A. Antigens of ABO blood group system 28
- Mosin O.V., Shvets V.I., Skladnev D.A., Ignatov I.I. Biosynthesis of transmembrain photo-transforming protein [²H]bacteriorhodopsin, labelled with deuterium on residues of aromatic amino acids [2,3,4,5,6-²H₅]PHE, [3,5-²H₂]TYR and [2,4,5,6,7-²H₅]TRP 39
- Gryazeva I.V., Davydova O.K., Deryabin D.G., Sviridova T.G., Sviridov A.P. Predicted and experimentally revealed antioxidant activity of alkylresorcinols 46
- Kuznetsova I.G., Voroncov E.A., Kuznetsov S.L., Barsegyan G.G., Severin S.E. Antibiotic activity of the rifabutin nanoparticle formulation 52

Problems of Experimental Biology and Medicine

- L.S. Samokhina, I.I. Ionova, V.I. Tishkov, G.S. Komolova. The protective effect of proteolysis products of alpha-lactalbumin against ulcerative lesions of the gastric mucosa of rats 57

Medical Chemistry

- Mikhailova S.D., Mikaelyan N.P., Semushkina T.M., Sokolov A.V., Storozhakov G.I., Gurina A.E. Metabolic parameters and arterial hypertension in myocardial ischemia, complicating ventricular fibrillation 63
- Grinio L.R., Mineeva M.F., Karpova L.D. Significance of determination of enzyme tyrosinhydroxylase in pathogenesis of dystonia responsive to dopa 68
- Gershtein E.S., Nikolayev A.A., Korotkova E.A., V.V. Delektorskaya, Kushlinskii N.E. Inculin-like growth factors in colorectal cancer patients' serum 74

УДК 637.127.3:577.152.344:616.33-002.44

ЗАЩИТНОЕ ДЕЙСТВИЕ ПРОДУКТОВ ПРОТЕОЛИЗА АЛЬФА-ЛАКТАЛЬБУМИНА ПРОТИВ ЯЗВЕННЫХ ПОВРЕЖДЕНИЙ СЛИЗИСТОЙ ЖЕЛУДКА КРЫС

© Авторы, 2013

Л.С. Самохинак.б.н., мл. науч. сотрудник, лаборатория молекулярной инженерии, Институт биохимии им. А.Н. Баха РАН (Москва)
E-mail: 6423918@mail.ru**И.И. Ионова**к.т.н., доцент, кафедра технологии молока и молочных продуктов, Московский государственный университет пищевых производств
E-mail: inna-ionova@yandex.ru**В.И. Тишков**д.х.н., профессор, кафедра химической энзимологии, химический факультет, Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова; зав. лабораторией молекулярной инженерии, Институт биохимии им. А.Н. Баха РАН
E-mail: vitishkov@gmail.com**Г.С. Комолова**д.б.н., профессор, вед. науч. сотрудник, лаборатория молекулярной инженерии, Институт биохимии им. А.Н. Баха РАН; профессор, кафедра технологии молока и молочных продуктов, Московский государственный университет пищевых производств
E-mail: KomolovaGS@yandex.ru

Изучено профилактическое действие трипсиновых гидролизатов альфа-лактальбумина (α -ЛА) на профилактику индукции этанолом язвенных повреждений в слизистой желудка крыс. Установлено, что по сравнению с нативным белком его гидролизаты более эффективны. Противоязвенные продукты трипсинового протеолиза α -ЛА проявляют антиоксидантную активность, коррелирующую с их противоязвенной эффективностью. Эффект зависит от дозы и наиболее выражен для гидролизатов с низкомолекулярными пептидами.

Ключевые слова: альфа-лактальбумин, протеолитические ферменты, протеолиз, пептиды, некротические повреждения желудка.

Studied the prophylactic effect of tryptic digests of alpha-lactalbumin (α -LA) to prevent induction of ethanol-ulcerative lesions in the gastric mucosa of rats. Found that compared to the native protein hydrolysates it more effective. Antilucer products trypsin proteolysis of α -LA exhibit antioxidant activity correlates with their anti-ulcer efficacy. The effect was dose-dependent and most pronounced for the hydrolysates with low molecular weight peptides.

Keywords: alpha-lactalbumin, proteolytic enzymes, proteolysis, peptides, necrotic lesions of the stomach.

В настоящее время в качестве терапевтических средств больше внимания уделяется природным соединениям, выполняющим защитную функцию в животном организме. Среди них особая роль принадлежит сывороточным белкам молока. Именно они в значительной мере обеспечивают передачу пассивного иммунитета от матери потомству. Сывороточные белки молока полифункциональны, что делает их весьма привлекательными для использования в качестве активной основы профилактических и лечебных средств широкого спектра действия [1].

В последнее время особое внимание в зарубежных и отечественных исследованиях уделяется пептидам биологически активных белков молока, которые по целому ряду показателей защитного действия оказались эффективнее нативных белков. Известно, что сывороточные белки молока срав-

нительно устойчивы к протеолитическим ферментам желудочно-кишечного тракта (ЖКТ). Образующиеся продукты ограниченного протеолиза, удерживаясь какое-то время в ЖКТ, становятся компонентами его защитных систем.

Высоким терапевтическим потенциалом обладает основной белок грудного молока – альфа-лактальбумин (α -ЛА). Его молекула включает домены, ответственные за различные функции и, прежде всего, касающиеся ЖКТ [2]. Имеются данные о противоязвенном действии α -ЛА [3, 4]. Однако пока его пептиды в этом аспекте мало исследованы. Стандартные методологии получения пептидов с цитопротекторными свойствами включают протеолиз белков *in vitro* с использованием протеолитических ферментов ЖКТ (трипсина, пепсина, химотрипсина), а также протеаз, полученных из растительных и микробных источников.

Тестирование на протекторные свойства проводится на адекватных экспериментальных моделях [5]. Получаемые различными протеазами гидролизаты отличаются по длине, составу и последовательности аминокислот и, как следствие, функциональной активностью.

Язвенная болезнь желудка и двенадцатиперстной кишки возникает в результате дисбаланса между действием в них вредных и защитных факторов [6]. Индуцировать язвенные повреждения в желудке могут патогенные микроорганизмы, агрессивные химические вещества, стресс и другие агенты. Наиболее общими нарушениями в слизистой желудка при индукции язвы является возникновение некротических повреждений слизистой за счет снижения кровотока. Из-за нарушений функции кровотока слизистая меньше синтезирует слизи, выполняющей барьерную роль. В желудке повышается кислотность, снижается уровень предшественников антиоксидантов и, как следствие, повышается уровень активных форм кислорода. Эти характерные для патогенеза язвы различной природы нарушения не исключают и специфических, присущих преимущественно данному некротизирующему агенту.

Согласно современным представлениям, основная роль в патогенезе язвенных повреждений желудка и двенадцатиперстной кишки принадлежит грамотрицательной бактерии *Helicobacter pylori* (*H. Pylori*) [7, 8].

Это открытие значительно способствовало пониманию механизма патогенеза язвы, обозначив новые пути в стратегии скрининга и создания противоязвенных средств.

Цель работы – исследование цитопротекторного действия трипсиновых гидролизатов α -ЛА в экспериментальной модели – индуцирование *in vivo* язвенных повреждений подкисленным этанолом.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Нативный α -ЛА был очищен из коровьего молока хроматографией на анионообменнике («Macro-Prep-DEAM-Support», США). Как уже отмечалось, защитные свойства пептидов биологически активных белков в значительной мере определяются используемыми для гидролиза протеолитическими ферментами. При выборе фермента в качестве основного критерия предусматривается получение *in vitro* пептидов с более высокими защитными свойствами. Руководствуясь этим методологическим подходом и

своими предварительными исследованиями с различными ферментами ЖКТ, был выбран трипсин («Sigma-aldrich», США). Протеолиз α -ЛА проводили при 37 °С, pH 7,8. Активность фермента в реакционной смеси – 90 U/мг при концентрации α -ЛА 20 мг/мл. Реакцию останавливали нагреванием при температуре 80 °С в течение 15 мин. Центрифугировали 20 мин при 14000 g. Супернатант подвергали лиофилизации. Полученные сухие порошки хранили в холодильнике при температуре – 70 °С. Электрофоретические исследования гидролизатов в SDS-ПААГ проводили по Лэмми.

Противоязвенные свойства α -ЛА и полученных при различной длительности протеолиза его пептидов оценивали с использованием экспериментальной модели язвы, индуцированной подкисленным этанолом (100 мМ HCl+60 %-ный C₂H₅OH) *in vivo* в желудке животных. Эксперименты проводили на белых крысах-самцах линии «Вистар» массой 180...200 г. Животных содержали в стандартных условиях вивария со свободным доступом к воде и пище. Эксперименты с животными проводили в одно и то же время суток (с 11 до 12 часов) во избежание влияния на результаты исследования суточных ритмов.

За сутки до начала опытов крысы были лишены пищи и за три часа – воды. Инстиллирование в желудок крыс растворов повреждающих и защитных соединений проводили с использованием специального зонда. Животных предварительно присыпляли, помещая в специальную камеру на 1,5...2 мин, куда со скоростью 3,5 л/мин подавался углекислый газ.

Крысы были разделены на группы: 3 опытные группы (в каждой по 48 крыс); 6 контрольных, исключающих действие различных факторов, таких как: действие физиологического раствора; действие физиологического раствора с каждым из защитных компонентов (α -ЛА, I α -ЛА, III α -ЛА); интактный контроль (без введения); контроль с введенной смесью, индуцирующей язвенные повреждения в желудке (в каждой группе по 42 крысы). Животные опытных групп получали внутрижелудочно 5 мл индуцирующей язву смеси без какого-либо предварительного воздействия или через 30 мин после введения в желудок в физиологическом растворе α -ЛА или гидролизатов α -ЛА.

Кроме интактного, ставились контроли, предусматривающие исключение влияния на результаты опытов факторов, связанных с инстиллированием с помощью зонда в желудок растворов в объеме 5 мл: в желудок вводили только 5 мл физиологиче-

ского раствора без индуцирования язвы; в желудок вводили 5 мл физиологического раствора с последующим (через 30 мин) введением и экспонированием 60 мин индуцирующей язву смеси; в желудок вводили дважды с интервалом в 30 мин по 5 мл физиологического раствора без индуцирования язвенных повреждений подкисленным этанолом.

Крыс умерщвляли декапитацией. Извлеченные желудки после промывки хранили в 2 %-ном растворе формалина. Под микроскопом МБС-9, используя окуляр со сменной шкалой, определяли индекс язвы – интегральный показатель длины образующихся в слизистой желудка некротических повреждений.

Суммарное содержание антиоксидантов α -ЛА и гидролизатов, эквивалентное миллиграмму галловой кислоты на кубический дециметр определяли экспериментально на приборе «Цвет-Яуза-01-АА» амперометрическим методом.

Приведенные в работе данные являются средним результатом исследования органов 144 животных.

Статистическая обработка результатов проведена с использованием критериев Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В процессе переваривания α -ЛА трипсином образуются пептиды, молекулярная масса которых за-

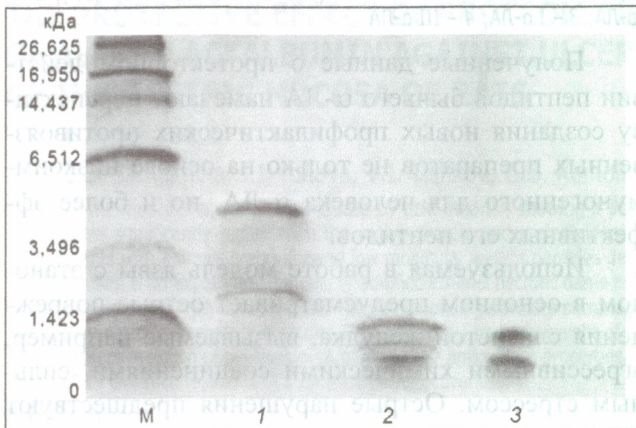


Рис. 1. Электрофореграмма продуктов лимитированного протеолиза α -ЛА: М – маркерные белки; 1 – I α -ЛА; 2 – II α -ЛА; 3 – III α -ЛА

Характеристика трипсиновых гидролизатов α -ЛА, полученных при различной длительности протеолиза

Экспозиция протеолиза, ч	Обозначение	Электрофоретический анализ	
		Число белковых линий	М, кДа (среднее значение)
6	I α -ЛА	2	4,6; 1,9
12	II α -ЛА	3	1,3; 1,1; 0,7
24	III α -ЛА	2	1,2; 0,6

висит от длительности протеолиза (рис. 1, таблица). Через 6 ч уже отсутствует нативный белок. Глубокое расщепление белка отмечено в период с 12-го по 24-й час – молекулярная масса гетерогенной популяции пептидов ниже 1,4 кДа.

При введении в желудок крыс с помощью зонда индуцируемой острой язвы смеси через 60 мин в слизистой образуются обширные геморрагические образования, расположенные параллельно оси желудка, что соответствует характерным морфологическим нарушениям, отмечаемым при описании этаноловой модели язвы [9].

Если за 30 мин до индуцирования язвы внутрижелудочно вводили α -ЛА или его пептиды, то в зависимости от дозы повреждения были менее выраженными или вообще отсутствовали (рис. 2, б – г).

Согласно данным, приведенным на рис. 3,

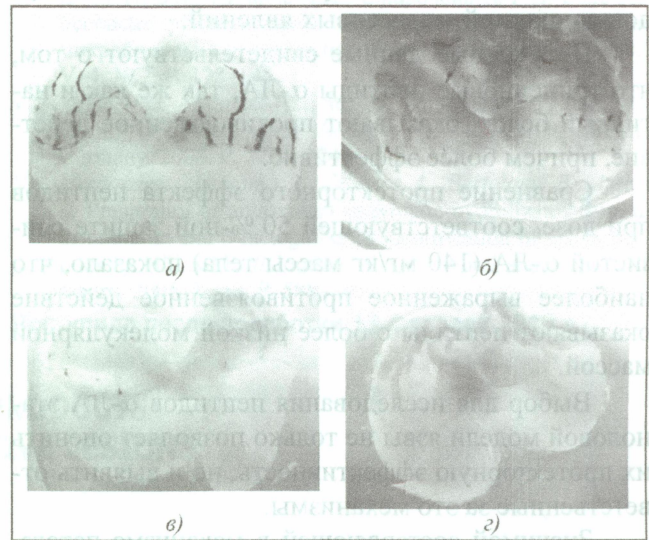


Рис. 2. Слизистая желудка крыс: а – через 60 мин после введения в желудок крыс смеси 100 мм НСl + 60 % C_2H_5OH ; б – за 30 мин до индукции язвенных повреждений в желудок введен α -ЛА в дозе 84 мг/кг массы тела; в – за 30 мин до индукции язвенных повреждений в желудок крыс введен α -ЛА в дозе 300 мг/кг массы тела; г – за 30 мин до индукции язвенных повреждений в желудок крыс введен гидролизат III α -ЛА в дозе 2 мг/кг массы тела

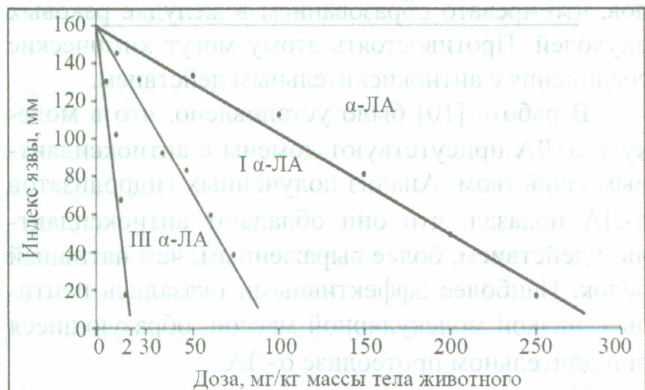


Рис. 3. Дозовая зависимость противоязвенной активности нативного α -ЛА и гидролизатов: I α -ЛА, III α -ЛА

защитный эффект дозозависим. Для нативного α -ЛА минимальная доза, при которой имела место 100 %-ная защита, составляла примерно 280 мг/кг, а для гидролизатов I α -ЛА и III α -ЛА – соответственно 84 и примерно 2 мг/кг массы тела животного.

Сопутствующие проводимым экспериментам факторы и, прежде всего, введение в желудок 5 мл жидкости (в том числе двухкратное с интервалом в 30 мин) согласно исследованиям животных соответствующих контрольных групп, не оказывали влияние как на морфологическое состояние слизистой желудка, так и на степень язвенных повреждений в желудке крыс обеих опытных групп (без введения и с введением протекторов). Вероятно, этому способствовали условия и специальные процедуры, предусматривающие минимизацию при инстилляциях в желудок жидкостей, стрессовых явлений.

Полученные данные свидетельствуют о том, что трипсиновые пептиды α -ЛА, так же как и нативный белок, оказывают противоязвенное действие, причем более эффективно.

Сравнение протекторного эффекта пептидов при дозе, соответствующей 50 %-ной защите слизистой α -ЛА (140 мг/кг массы тела) показало, что наиболее выраженное противоязвенное действие оказывают пептиды с более низкой молекулярной массой.

Выбор для исследования пептидов α -ЛА этаноловой модели язвы не только позволяет оценить их протекторную эффективность, но и выявить ответственные за это механизмы.

Значимой составляющей в механизме патогенеза язвы, в том числе и индуцируемой этанолом, является потеря антиоксидантов слизистой при повышении уровня активных форм кислорода. Супероксид (O_2^-) и гидроксил ($-OH$) – радикалы, которые приводят к перекисному окислению липидов, что чревато образованием в желудке раковых опухолей. Противостоят этому могут химические соединения с антиокислительным действием.

В работе [10] было установлено, что в молекуле α -ЛА присутствуют домены с антиоксидантным свойством. Анализ полученных гидролизатов α -ЛА показал, что они обладают антиоксидантным действием, более выраженным, чем нативный белок. Наиболее эффективными оказались пептиды с низкой молекулярной массой, образующиеся при длительном протеолизе α -ЛА.

Суммарное содержание антиоксидантов в α -ЛА и его трипсиновых гидролизатах, мг/г:

α -ЛА	2,614 ± 0,078
I α -ЛА	2,754 ± 0,096
II α -ЛА	5,370 ± 0,172
III α -ЛА	7,808 ± 0,265

Сравнение результатов антиоксидантной и противоязвенной активностей трипсиновых гидролизатов позволяет сделать вывод о наличии корреляции между этими показателями (рис. 4). Не исключено, что пептиды, по сравнению с нативным белком, более легко *in vivo* проникают в клетки слизистой и проявляют взаимодействие с системами, отвечающими за уровень антиоксидантов, в значительной мере обуславливающими ее устойчивость к повреждениям.

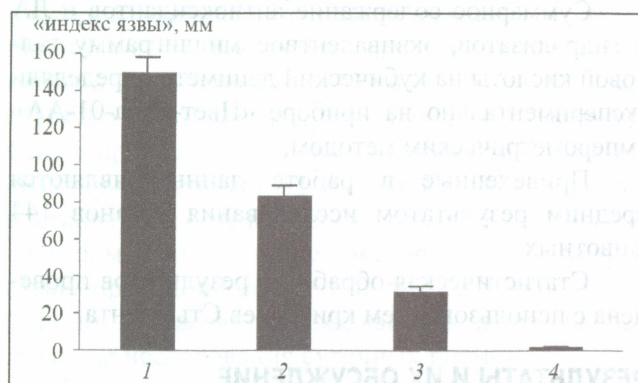


Рис. 4. Сравнительная характеристика противоязвенной эффективности нативного белка и гидролизатов при дозе, соответствующей 50 %-ной защите слизистой желудка нативным α -ЛА от повреждений этанолом: 1 – контроль (100 мМ HCl+60 % C_2H_5OH); 2 – α -ЛА; 3 – I α -ЛА; 4 – III α -ЛА

Полученные данные о протекторном действии пептидов бычьего α -ЛА намечают перспективу создания новых профилактических противоязвенных препаратов не только на основе низкомолекулярного для человека α -ЛА, но и более эффективных его пептидов.

Используемая в работе модель язвы с этанолом в основном предусматривает острые повреждения слизистой желудка, вызываемые например, агрессивными химическими соединениями, сильным стрессом. Острые нарушения предшествуют хроническим, в патогенезе которых ведущая роль может принадлежать *H. pylori*. При условии инфицирования этой бактерией, нарушения в слизистой желудка благоприятствуют реализации индуцирования ею хронической язвы. Исключая микробную составляющую вследствие антимикробного действия этанола, основные механизмы поражения слизистой в патогенезе острой и хронической язвы желудка имеют определенное сходство. Прежде всего, это повышение кислотности, увеличение уровня активных форм кислорода, снижение син-

теза предшественников антиоксидантов. Очевидно, что рассматриваемая модель может быть применима для отбора пептидов, повышающих резистентность и корректирующих нарушения слизистой не только при острой, но и хронической язве, индуцируемой *H. pylori*.

Выводы

1. Трипсиновые гидролизаты α -ЛА обладают дозозависимым противоязвенным действием более сильным, чем нативный белок.

2. Протекторные свойства пептидов α -ЛА зависят от экспозиции протеолитического процесса и наиболее выражены для фракций гидролизатов с низкой молекулярной массой.

3. Противоязвенные продукты трипсинового протеолиза α -ЛА проявляют антиоксидантную активность, коррелирующую с их противоязвенной эффективностью.

ЛИТЕРАТУРА

1. Marshall K. Therapeutic applications of whey protein // *Altern Medicine Review*. 2004. V. 9. № 2. P. 136–156.
2. Kamau S.M., Cheison S. Ch., Chen W., Liu X-M., Lu R-R. Alpha – Lactalbumin: Its Production Technologies and Bioactive Peptides // *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. 2010. V. 9. P. 197–212.

3. Matsumoto H., Shimokawa Y., Ushida Y., Toida T., Hayasawa H. New biological function of bovine alpha-lactalbumin: protective effect against ethanol- and stress-induced gastric mucosal injury in rats // *Biosci. Biotechnol. Biochem*. 2001. V. 65. № 5. P. 1104–1111.
4. Ushida Y., Shimokawa H., Matsumoto, Toida T., and Hayasawa H. Effects of bovine alpha-lactalbumin on gastric defense mechanisms in naive rats // *Biosci. Biotechnol. Biochem*. 2003. V. 67. № 3. P. 577–583.
5. Lahiri S.H., Palit G. An overview or the current methodologies used for evatution of gastric and duodenal anti-ulcer agents // *Pharmacologia*. 2012. V. 3. № 8. P. 249–257.
6. Wallace J.L., Sharkey K.A. Pharmacotherapy of Gastric Acidity, Peptic Ulcers and gastroesophageal reflux Disease: Jn; *The Pharmacological Basis of Therapeutics*. L.L. Brunton, B.A. Chabner, Knollmann (eds). McGraw Hill. New York. 2011. P. 1309–1322.
7. Holly M., Scott Algood, Timothy L. Cover. Helicobacter pylori Persistence: an Overview of interactions between H. pylori and host immune defenses // *Clinical microbiology reviews*. 2006. V. 19. № 4. P. 597–613.
8. Шкутин В.А., Шпирна А.И., Старовойтов Г.Н. Роль Helicobacter pylori в патологии человека // *Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия*. 2002. V. 4. № 2. P. 128–145.
9. Vogel H.G. Antiulcer Activity. Jn: *Drug Discovery and Evaluation: pharmacological Assags*. Springer-Verlag. Berlin. Germany. 2008. P. 1235–1240.
10. Hernandez – Ledesma B., Davalos A., Bertolome B., Amigo L. Preparatioj of antioxidant enzymatic hydrolizates from α -lactalbumin and β -lactoglobulin. Identification of active peptides by HPLS-MS // *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2005. V. 53. P. 588–593.

Поступила после доработки 13 февраля 2013 г.

THE PROTECTIVE EFFECT OF PROTEOLYSIS PRODUCTS OF ALPHA-LACTALBUMIN AGAINST ULCERATIVE LESIONS OF THE GASTRIC MUCOSA OF RATS

© Authors, 2013

L.S. Samokhina, I.I. Ionova, V.I. Tishkov, G.S. Komolova

In the model of acute ulcers induced by acid ethanol, showing a protective effect of a dose-dependent α -LA and its tryptic hydrolyzate. Effect hydrolyzates significantly higher than the native protein and is dependent on proteolytic exposure process. The most pronounced anti-ulcer effect in experiments with animals (rats) showed low molecular weight peptides derived from proteolysis long.

Caused in an experimental model of acidified ethanol necrotic damage in the gastric mucosa was less or absent if the stomach 30 minutes before initiation of ulcers treated hydrolyzates α -LA. The corresponding absolute patronage ulcer damage - the dose was for the native α -LA 280 mg / kg, for the most effective low molecular weight hydrolyzate III α -LA 2 mg / kg body weight of the animal. There is reason to believe that an important role in the mechanism of the protective action of peptides α -LA playing their antioxidant properties. Research has shown that during proteolysis α -LA formed hydrolyzates antioxidant activity which correlates with their antiulcer effectiveness.

References

1. Marshall K. Therapeutic applications of whey protein // *Altern Medicine Review*. 2004. V. 9. № 2. P. 136–156.
2. Kamau S.M., Cheison S. Ch., Chen W., Liu X-M., Lu R-R. Alpha – Lactalbumin: Its Production Technologies and Bioactive Peptides // *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. 2010. V. 9. issue 2. P. 197–212
3. Matsumoto H., Shimokawa Y., Ushida Y., Toida T., Hayasawa H. New biological function of bovine alpha-lactalbumin: protective effect against ethanol- and stress-induced gastric mucosal injury in rats // *Biosci Biotechnol Biochem*. 2001. V. 65. № 5. P. 1104–1111.
4. Ushida Y., Shimokawa H., Matsumoto, Toida T., and Hayasawa H. Effects of bovine alpha-lactalbumin on gastric defense mechanisms in naive rats // *Biosci Biotechnol Biochem*. 2003. V. 67. № 3. P. 577–583.
5. Lahiri S.H., Palit G. An overview of the current methodologies used for evatution of gastric and duodenal anti-ulcer agents // *Pharmacologia*. 2012. V. 3. № 8. P. 249–257.
6. Wallace J.L., Sharkey K.A. Pharmacotherapy of Gastric Acidity, Peptic Ulcers and gastroesophageal reflux Disease: Jn; *The Pharmacological Basis of Therapeutics*. L.L. Brunton, B.A. Chabner, Knollmann (eds). McGraw Hill. New York. 2011. P. 1309–1322.
7. Holly M., Scott Algood, Timothy L. Cover. Helicobacter pylori Persistence: an Overview of interactions between H. pylori and host immune defenses // *Clinical microbiology reviews*. 2006. V. 19. № 4. P. 597–613.
8. Shkitin V.A., Shpirna A.I., Starovojtov G.N. Rol' Helicobacter pylori v patologii cheloveka // *Klinicheskaya mikrobiologiya i antimikrobnaya ximioterapiya*. 2002. V. 4. № 2. P. 128–145.
9. Vogel H.G. Antiulcer Activity. Jn: *Drug Discovery and Evaluation: pharmacological Assags*. Springer-Verlag. Berlin. Germany. 2008. P. 1235–1240.
10. Hernandez – Ledesma B., Davalos A., Bertolome B., Amigo L. Preparatioj of antioxidant enzymatic hydrolizates from α - lactalbumin and β -lactoglobulin. Identification of active peptides by HPLS-MS // *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2005. V. 53. P. 588–593