

**СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА АНТИОКСИДАНТНОЙ АКТИВНОСТИ
ПЕПТИДНОГО КОМПЛЕКСА, ВЫДЕЛЕННОГО
ИЗ ЭПИДЕРМАЛЬНОГО СЕКРЕТА АФРИКАНСКОГО СОМА РАЗЛИЧНЫМИ МЕТОДАМИ**

Е.В. Грехнева, Л.А. Перькова

Елена Владимировна Грехнева (ORCID 0000-0003-1744-6917), Людмила Александровна Перькова (ORCID 0009-0003-2256-9425)*

Кафедра химии, Курский государственный университет, ул. Радищева 33, Курск, Российская Федерация, 305000

E-mail: grekhnyovaev@yandex.ru, lud.perkova@yandex.ru*

*Поиск природных соединений, обладающих антиоксидантным действием, является актуальной задачей. В данной работе рассмотрена возможность получения комплекса регуляторных пептидов направленного действия, препятствующего образованию супероксид - радикалов кислорода. Фракции низкомолекулярных пептидов были выделены из эпидермальной слизи африканского клариевого сома *Clarias gariepinus*. На первом этапе выделения осуществлялась уксуснокислая экстракция раствора эпидермальной слизи, содержащего от 0,1 до 0,3% хлоридов биогенных металлов. Второй этап - дополнительная очистка путем адсорбции нежелательных примесей активированным углем. Третий этап - осаждение пептидной фракции двукратным избытком ацетона. Методами ИК-спектроскопии и масс-спектрометрии подтвердили пептидно-белковую природу комплекса. Способность полученного продукта участвовать в комплексной терапии раневого процесса оценивали по его антиоксидантной активности. Указанную активность количественно определяли по известной методике УФ-спектроскопического контроля процесса образования адренохрома при аутоокислении адреналина. Измерения проводили на модельных растворах адреналина, используя различные количества (концентрации) пептидных фракций, взятых в качестве ингибитора. Аналогичные измерения осуществляли с использованием взятых в качестве образцов сравнения фармакопейных препаратов «Тималин» и «Кортексин». По полученным данным построили кинетические кривые, на основании которых определили порядок реакции и эффективную константу скорости. Для нахождения ингибирующего эффекта пептидной фракции использовали значения констант аутоокисления адреналина в среде без пептидного комплекса и в его присутствии. Показали, что такой подход позволяет количественно охарактеризовать ингибирующее действие изучаемого препарата на протяжении всего процесса. Установили, что выделенные из эпидермальной слизи африканского сома пептидные комплексы обладают значительно более высокой антиоксидантной активностью в сравнении с аптечными препаратами «Тималин» и «Кортексин».*

Ключевые слова: регуляторные пептиды, эпидермальная слизь, антиоксидантная активность, ингибирующий эффект

**COMPARATIVE CHARACTERISTICS OF THE ANTIOXIDANT ACTIVITY
OF THE PEPTIDE COMPLEX ISOLATED
FROM AFRICAN CATFISH EPIDERMAL SECRETION BY VARIOUS METHODS**

E.V. Grekhneva, L.A. Perkova

Elena V. Grekhneva (ORCID 0000-0003-1744-6917), Lyudmila A. Perkova (ORCID 0009-0003-2256-9425)*

Department of Chemistry, Kursk State University, Radishcheva st., 33, Kursk, 305000, Russia

E-mail: grekhnyovaev@yandex.ru, lud.perkova@yandex.ru*

*The search of natural compounds with antioxidant effect is an urgent task. In this work, we consider the possibility of obtaining a complex of regulatory peptides with a directed action that prevents the formation of superoxide-oxygen radicals. Fractions of low-molecular-weight peptides were isolated from the epidermal mucus of the African catfish *Clarias gariepinus*. At the first stage of isolation, acetic acid extraction of epidermal mucus solution containing 0.1 to 0.3% of biogenic metal chlorides was performed. In the second stage, additional purification was carried out by adsorption of unwanted impurities with activated carbon. In the third step, the peptide fraction was precipitated with twice the excess of acetone. The peptide-protein nature of the complex was confirmed by infrared spectroscopy and mass spectrometry. The ability of the obtained product to participate in the complex wound healing process was evaluated by its antioxidant activity. Antioxidant activity was quantified using the well-known technique of UV-spectroscopic control of adrenochrome formation during adrenaline autoxidation. Measurements were carried out on model solutions of adrenaline using different amounts (concentrations) of peptide fractions taken as an inhibitor. Similar measurements were performed using the pharmacopoeial drugs "Timalin" and "Cortexin" taken as comparison samples. Kinetic curves were modeled using the data obtained. Based on the kinetic curves, the order of the reaction and the effective rate constant were determined. To assess the inhibitory effect, the values of the autoxidation constants of adrenaline in the presence of a peptide complex and without it were compared. It is shown that this method allows us to quantitatively characterize the inhibitory effect of the drug under study throughout the entire process. It was found that the peptide complexes isolated from the epidermal mucus of the African catfish have significantly higher antioxidant activity in comparison with the pharmacy preparations "Timalin" and "Cortexin".*

Key words: regulatory peptides, epidermal mucus, antioxidant activity, inhibitory effect

Для цитирования:

Грехнева Е.В., Перкова Л.А. Сравнительная характеристика антиоксидантной активности пептидного комплекса, выделенного из эпидермального секрета африканского сома различными методами. *Изв. вузов. Химия и хим. технология*. 2023. Т. 66. Вып. 8 С. 46–53. DOI: 10.6060/ivkkt.20236608.6773.

For citation:

Grekhneva E.V., Perkova L.A. Comparative characteristics of the antioxidant activity of the peptide complex isolated from african catfish epidermal secretion by various methods. *ChemChemTech [Izv. Vyssh. Uchebn. Zaved. Khim. Khim. Tekhnol.]*. 2023. V. 66. N 8. P. 46–53. DOI: 10.6060/ivkkt.20236608.6773.

ВВЕДЕНИЕ

Одной из ведущих тенденций, проявляющихся в современной химии, фармакологии и медицине, является разработка новых лекарственных форм на основе пептидов, обладающих функциональной избирательностью и проявляющих антиоксидантные, нейропротекторные, бактериостатические, иммуномодулирующие и другие свойства. Препараты на основе регуляторных пептидов на сегодняшний день становятся все более востребованными в связи с их специфичностью, которая, в первую очередь, определяется функциями органов и тканей, из которых они выделяются [1]. Например, пептиды, получаемые из тимуса, обладают иммуномодулирующим действием, препараты обладающие нейропротекторным характером действия, выделяют из мозга крупнорогатого скота, пептидные комплексы из печени животного будут регулировать процессы в печени человека, пептиды, выделенные из сосудов, будут стимулировать процессы в стенках сосудов человека. Таким

образом, соответствие между органом и регуляторной функцией выделяемых из него пептидных продуктов лежит в основе получения биологически-активного препарата направленного действия.

В данной работе рассматриваются вопросы, связанные с возможностью выделения комплекса пептидов из эпидермальных тканей животного и способностью указанных комплексов проявлять характерные для них свойства. В качестве объекта исследования был выбран африканский клариевый сом (кларий угревидный, *Clarias gariepinus*). Кларий относится к бесчешуйчатому виду рыб, и это определяет многообразие функций кожного секрета, вырабатываемого на поверхности его тела [2-3]. Одной из таких функций является тканезаживление, как совокупность антиоксидантных, бактериостатических и регенеративных свойств эпидермальной слизи. Известно о содержании антиоксидантных пептидов в белковом гидролизате кожного секрета белого амура (*Stenopharyngodon idella*) [4-8]. Поэтому можно предположить, что и в

слизи африканского сома *Clarias gariepinus* будут содержаться пептиды, способные ускорять регенерацию покровных тканей человека, тем самым являясь потенциальными ранозаживляющими препаратами.

Одним из подходов к лечению ран любой степени тяжести и созданию препаратов для такого лечения является подбор композиции, включающей в обязательном порядке компоненты, обладающие антиоксидантной активностью [9-10]. Учитывая, что любая рана – это микросреда высокой прооксидантной активности, то нарушение баланса в прооксидантно-антиоксидантной системе является одним из главных факторов развития хронической раны. Процесс заживления поврежденных тканей в организме сопровождается выработкой большого количества лейкоцитов, которые, в свою очередь, являются богатым источником различных активных форм кислорода (АФК) [11], что приводит к образованию в организме избыточного количества свободных радикалов, вызывая дисбаланс в его антиоксидантном статусе и окислительный стресс. Таким образом, в результате развития раневого процесса наблюдается рост свободных радикалов, которые еще больше повреждают клетки в ослабленном организме [12]. Образующиеся радикалы могут подавляться в организме человека ферментами (супероксиддисмутаза, каталаза, глутатионпероксидаза, др.) [13], но часто их оказывается недостаточно для ингибирования процесса образования супероксид радикалов, и в таких случаях прибегают к использованию вспомогательных веществ, обладающих антиоксидантной активностью. В последнее время в практике лечения хронических ран получила распространение тенденция применения неспецифических пептидных препаратов с установленными антиоксидантными свойствами.

Одной из самых перспективных групп биологически активных веществ, обладающих антиоксидантной активностью, являются препараты на основе регуляторных пептидов. К ним относят кортексин и тималин [14]. Учитывая функциональные особенности кожного секрета африканского сома, проявление антиоксидантных свойств вполне ожидаемо [15-16]. Таким образом, основной задачей исследования являлось определение физико-химических параметров, характеризующих антиоксидантные свойства выделенной из эпидермальной слизи пептидной фракции, с помощью реакции ингибирования ими аутоокисления адреналина и их сравнение с аналогичными показателями зарегистрированных фармакопейных форм.

МЕТОДИКА ЭКСПЕРИМЕНТА

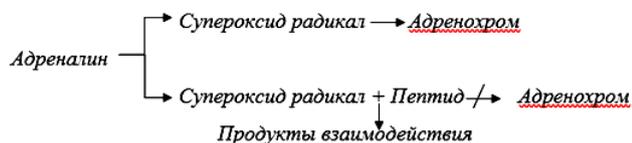
Получение пептидной фракции, используемой в качестве ингибитора. Фракцию регуляторных пептидов выделяли путем уксуснокислой экстракции эпидермальной слизи *Clarias gariepinus* из 3%-ного раствора уксусной кислоты, содержащего от 0,1 до 0,3% неорганической соли. В качестве неорганической соли использовали: хлориды цинка, кальция, магния. Экстракцию вели в режиме периодической ультразвуковой кавитационной обработки на диспергаторе ИЛ100-6/1 в течение 48 ч при температуре 4 °С. Полученный экстракт отделяли центрифугированием в течение 10 мин при скорости 7 тыс. об./мин и подвергали дополнительной очистке путем адсорбции с активированным углем в течение 24 ч при постоянном перемешивании. После удаления адсорбента из осветленного раствора пептидная фракция была выделена переосаждением 2-х кратным избытком ацетона. Полученный осадок пептидной фракции выделяли на фильтре Шотта (с шириной пор 16 мкм) [17-18].

Для подтверждения белково-пептидной структуры выделенной фракции пептидов применяли метод ИК-спектроскопии с использованием ИК-спектрометра ФСМ 1201 «Мониторинг», в диапазоне волновых чисел 400-4000 см⁻¹, с разрешением 1 см⁻¹, (сканов-20). Спектры снимали в таблетке с KBr. Пробу анализировали, сравнивая полученные данные с библиотечной базой данных [19-21].

Масс-спектрометрический анализ пептидной фракции проводился методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) с использованием хроматографической системы Ultimate 3000 RS («ThermoScientific», США) в сочетании с масс-спектрометром Q-exactive («ThermoScientific», США), оснащенный орбитальной ловушкой и квадрупольным масс-анализатором. Сканирование проводили в диапазоне масс от 300 до 2000 m/z при разрешении 70000 [22-23].

Использование УФ-спектроскопии для снятия кинетической кривой. Для определения антиоксидантной активности образцов нами использована методика исследования аутоокисления адреналина *in vitro*. Следует отметить, что адреналин – гормон, участвующий в регуляции многочисленных функций организма [24]. Согласно химической структуре и, соответственно, своим свойствам, адреналин является донором электронов [25], что реализуется в процессе его окисления до адренохрома в результате внутримолекулярных перестроек молекулы адреналина путем дегидри-

рования и циклизации с образованием промежуточных продуктов [26]. Оценку антиоксидантной активности полученных пептидных фракций осуществляли по их способности ингибировать реакцию аутоокисления адреналина, протекающую по схеме:



Образование устойчивого продукта окисления адреналина (адренохрома) можно определять спектрофотометрически при длине волны 347 нм [27]. Данный метод дает возможность использовать эту реакцию для выявления антиоксидантных свойств различных соединений и препаратов, в присутствии которых ингибируется накопление адренохрома. Концентрацию продуктов окисления адреналина косвенно оценивали, измеряя оптическую плотность растворов. Сущность метода состоит в сравнении скорости аутоокисления аптечного 1% раствора адреналина в присутствии (анализуемый раствор) и в отсутствие (контрольный раствор) водного раствора пептидной фракции в среде натрий – карбонатного буфера (pH = 10,65).

Измерения оптической плотности исследуемых растворов проводили в термостатированной кювете при температуре 20 °С на спектрометре УФ/видимой области Shimadzu-1800 при длине волны 347 нм в течение 30 мин с интервалом в 30 с, режим Kinetics. Анализируемый раствор готовили таким образом, чтобы концентрация пептида в нем составляла $5 \cdot 10^{-6}$ - $20 \cdot 10^{-6}$ г/мл. В качестве образца сравнения использовали раствор пептидной фракции в натрий – карбонатном буфере для нивелирования его собственного поглощения при рабочей длине волны.

Антиоксидантную активность (АОА) пептидных фракций выражали в процентах ингибирования аутоокисления адреналина и определяли по формуле:

$$\text{АОА} = \frac{(D_1 - D_2) \cdot 100\%}{D_1} \quad (1)$$

где D_1 – оптическая плотность контрольной пробы, D_2 – оптическая плотность после прибавления растворов анализируемых пептидов. Величина АОА более 10% свидетельствует о наличии антиоксидантной активности [3].

В работе использовались реактивы: 1% раствор адреналина (производитель: Московский эндокринный завод ФГУП); соли – $ZnCl_2$ (АО «Лен-

Реактив», хч, ГОСТ 4529-78); $FeCl_3$ (АО «ЛенРеактив», чда, ТУ 6-02-609-86); $MgCl_2$ (АО «ЛенРеактив», хч, ГОСТ 4209-77); $CaCl_2$ (REVER-S, хч). Пептидную фракцию получали, как описано выше. Натрий – карбонатный буфер готовили из Na_2CO_3 (АО «ЛенРеактив», чда, ГОСТ 83-79), фиксированное значение pH достигали путем добавления к раствору сухого $NaHCO_3$ (АО «ЛенРеактив», чда, ГОСТ 32802-2014) до необходимой величины pH = 10,65. Все растворы готовили на бидистиллированной воде.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В качестве объекта исследования была выбрана эпидермальная слизь африканского клариевого сома (*Clarias gariepinus*), во-первых, из-за ее значимой физиологической роли в жизнеобеспечении рыбы, а во-вторых, из-за того, что данный продукт является, по существу, отходом рыбоперерабатывающей промышленности. Образцы для исследования предоставлялись компанией ООО «Панинское Плюс» (Курская область), которая занимается разведением и выращиванием указанного вида рыбы в установках замкнутого цикла в соответствии с СанПиН РФ.

Пептидные комплексы получали по методике, описанной выше, длительность которой составляла от 3-х до 5-ти сут. Продолжительность каждой операции влияла на полноту выделения интересующей нас фракции пептидов. В частности, показано, что увеличение времени первичной уксуснокислой экстракции (с периодической ультразвуковой обработкой реакционной массы) с 24 до 72 ч позволило увеличить выход готового продукта в среднем на 0,6% масс. (с 2,5% до 3,1%). Изменение времени адсорбции активированным углем пептидсодержащих экстрактов нецелесообразно, так как после достижения системой состояния равновесия количество нежелательных примесей не изменяется.

Одним из значимых параметров данного процесса является природа соли, добавляемой в процессе уксуснокислой экстракции. Мы сравнили способность хлоридов цинка, кальция и магния регулировать осаждение мажорных белков, тем самым изменяя общий пептидный состав, что в свою очередь влияет на важнейшие свойства получаемых пептидных комплексов.

Для анализа исследуемых образцов пептидной фракции были использованы методы ИК-спектроскопии и тандемной масс-спектрометрии. В результате ИК-спектроскопического анализа были найдены следующие характеристические полосы поглощения (cm^{-1}): 3302 – амид А; 3065 – амид В;

2926 – $\text{C-H}_{\text{алиф}}$; 1651 – амидI; 1538 – амидII для пептидных комплексов, выделенных с использованием хлоридов биогенных металлов. В качестве примера на рис. 1 представлен ИК спектр пептидного комплекса, выделенного с помощью хлорида кальция. Приведенные полосы однозначно указывают на белковую природу полученного продукта, что дополнительно подтверждалось сравнением полученного спектра с библиотечными аналогами (образец – protein, библиотека – α -helix, совпадение – 68,95).

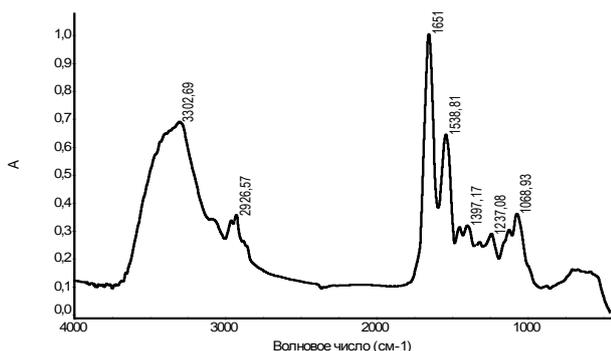


Рис. 1. ИК спектр пептидного комплекса осажденного хлоридом кальция
 Fig. 1. The IR spectrum of the peptide complex precipitated with calcium chloride

Полученные методом тандемной масс-спектрометрии серии многозарядных ионов для анализируемых пиков также подтверждают пептидную природу анализируемых веществ. С помощью программного обеспечения ProteomeDiscoverer 1.4. (ThermoScientific) в анализируемых фракциях найдены последовательности пептидов, имеющие в своем составе от 3-х до 15 аминокислот.

Выбранная нами методика оценки антиоксидантной активности по способности испытуемых образцов ингибировать образование супероксидрадикала в процессе аутоокисления адреналина позволяет надежно, достоверно и количественно сравнивать выделенные с применением различных солей пептидные фракции между собой, а также с известными препаратами.

На рис. 2 представлены кинетические кривые реакции аутоокисления адреналина, полученные в присутствии и в отсутствие пептидных комплексов из эпидермальной слизи, выделенных с применением различных солей. Здесь же приведены результаты влияния коммерческих препаратов «Тималин» и «Кортексин» на скорость данной реакции. Ингибирующее действие рассматриваемых пептидных образцов проявляется в уменьше-

нии величины поглощения при 347 нм, соответствующего поглощению адренохрома, на протяжении всего хода процесса по сравнению с холостой пробой. Также стоит отметить увеличение длительности индукционного периода, что является подтверждением ингибирующего действия исследуемых препаратов [3].

Как видно из рис. 2, кинетические кривые для каждого случая имеют уникальный характер, с изменяющимися скоростями на некоторых периодах. По-видимому, химические превращения, происходящие в ходе исследуемой реакции, представляют собой сложный процесс, состоящий из нескольких элементарных стадий. Поэтому для таких сложных систем простое сравнение аутоокислительной активности в каждой точке кривой не может в полной мере характеризовать ингибирующие свойства препарата. Нами использован комплексный подход, основанный на решении кинетических задач методами формальной кинетики. На каждой кривой был выделен ряд участков (2-7 мин, 7-15 мин), для которых определялся порядок реакции и константы скорости. Та же процедура проводилась и для кинетической кривой контрольной пробы. Определено, что каждый из участков наилучшим образом описывается уравнениями для реакции нулевого порядка. Для расчета использовались графический и аналитический методы определения порядков реакции. Полученные результаты позволили утверждать, что константа скорости, как количественная характеристика скорости процесса, может быть использована для оценки ингибирующего эффекта пептидных комплексов. Для этого мы предлагаем использовать отношение констант скорости (k_0) контрольной реакции (без пептида) к константе скорости ($k_{\text{пеп}}$) реакции в присутствии пептида. Полученные значения соотношения ($k_0/k_{\text{пеп}}$) показывают во сколько раз скорость аутоокисления чистого адреналина выше скорости той же реакции в условиях наличия пептидной фракции. Это позволяет количественно оценить ингибирующий эффект на протяжении всего процесса в целом.

Исследовано влияние концентрации пептидного препарата, выделенного с использованием MgCl_2 , на скорость реакции аутоокисления адреналина. Показано (рис. 3), что более сильный ингибирующий эффект обнаружен при использовании пептидов в минимальной концентрации, хотя существенного изменения скорости реакции с ростом содержания пептида не наблюдалось. Обнаруженные закономерности характерны также для пептидных препаратов, выделенных с использованием других исследованных солей (ZnCl_2 , CaCl_2 , FeCl_3).

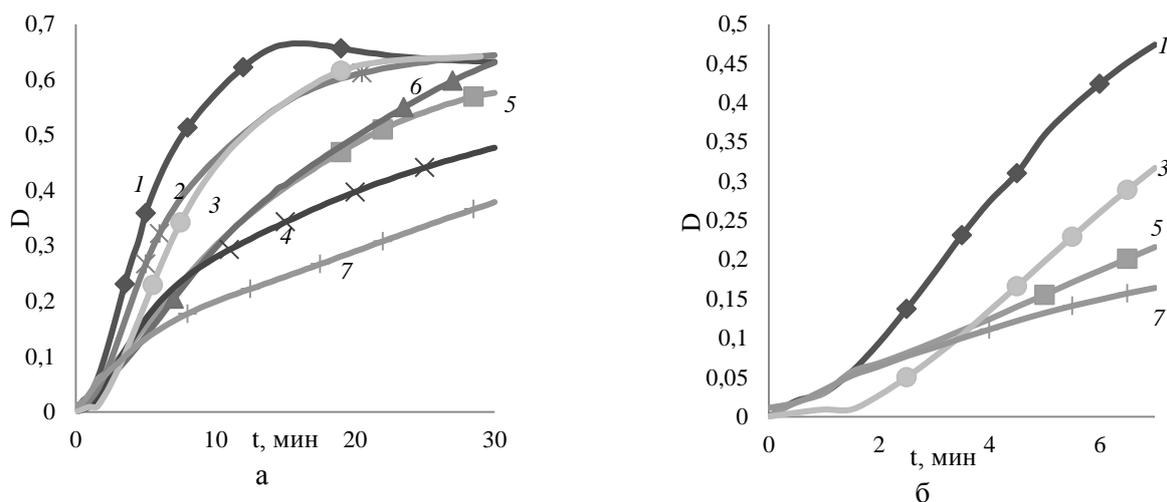


Рис. 2. Зависимость оптической плотности растворов от времени реакции в отсутствие и присутствии $5 \cdot 10^{-6}$ г/мл пептидного препарата: а) 1-чистый адреналин (без пептида); 2 - в присутствии пептидного препарата выделенного с использованием FeCl_3 ; 3 - пептидного препарата выделенного с использованием MgCl_2 ; 4 - пептидного препарата выделенного с использованием CaCl_2 ; 5 - в присутствии тималина; 6-кортексина; 7 - в присутствии пептидного препарата выделенного с использованием ZnCl_2 ; б) изменен масштаб для лучшей визуализации различий

Fig. 2. Dependence of the optical density of solutions on the reaction time in the absence and presence of a $5 \cdot 10^{-6}$ g/ml peptide drug: 1 - pure adrenaline (without peptide); 2- in the presence of a peptide drug isolated using FeCl_3 ; 3- peptide drug isolated using MgCl_2 ; 4- peptide drug isolated using CaCl_2 ; 5 - in the presence of thymalin; 6 - cortexin; 7 - in the presence of a peptide drug isolated using ZnCl_2 ; б) changed the scale to better visualize the differences

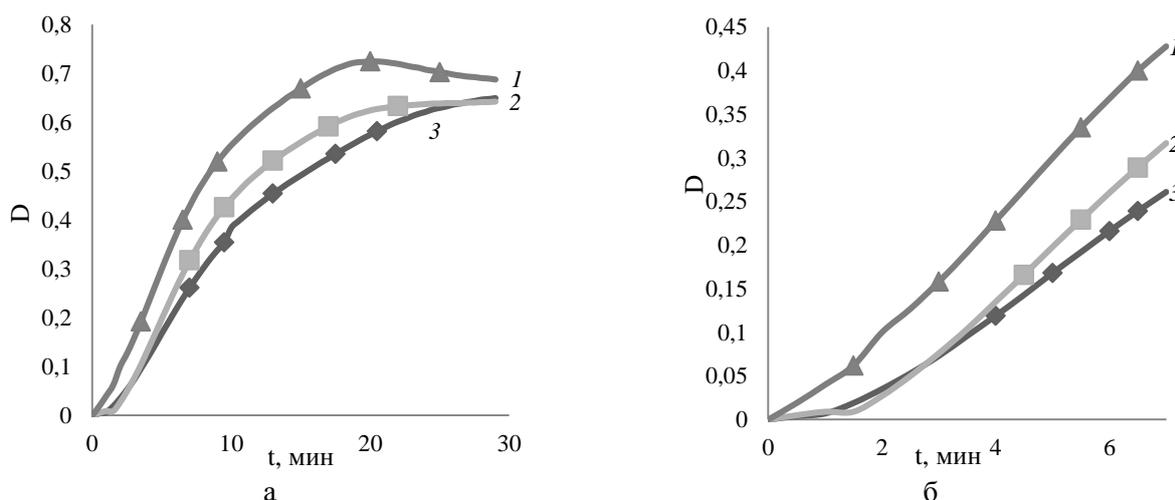


Рис. 3. Зависимость оптической плотности растворов от времени реакции при различном содержании пептидного препарата, выделенного с использованием MgCl_2 : а) 1-чистый адреналин (без пептида); 2 - $20 \cdot 10^{-6}$ г/мл пептидного препарата; 3 - $5 \cdot 10^{-6}$ г/мл пептидного препарата; б) изменен масштаб для лучшей визуализации различий

Fig. 3. Dependence of the optical density of solutions on the reaction time at different contents of the peptide drug isolated using MgCl_2 : а) 1- pure adrenaline (without peptide); 2 - $5 \cdot 10^{-6}$ g/ml peptide drug; 3 - $20 \cdot 10^{-6}$ g/ml peptide drug; б) changed the scale to better visualize the differences

Результаты исследования антиокислительного действия пептидных образцов, выделенных с использованием различных солей, представлены в таблице. Установлено, что все исследуемые образцы обладают выраженной антиоксидантной активностью, превышающей коммерческие препараты. Используемые неорганические соли для выделения пептидной фракции оказывают влияние на их ингибирующий эффект. Повышение значений

параметра АОА% наблюдается в ряду солей: $\text{CaCl}_2 < \text{FeCl}_3 < \text{MgCl}_2 < \text{ZnCl}_2$, что, по-видимому, отражает способность катионных форм биогенных металлов образовывать комплексные соединения с органическими лигандами (пептидами) [28, 29].

Для данного исследования пептидные фракции, а также препараты "Кортексин" и "Тималин" использовались в одинаковой минимальной концентрации, равной $5 \cdot 10^{-6}$ г/мл.

Таблица

Результаты определения антиокислительной активности пептидных фракций в сравнении с коммерческими препаратами «Тималин» и «Кортексин»

Table. Results of determination of antioxidant activity of peptide fractions in comparison with commercial preparations Timalin and Cortexin

Пептидные фракции, выделенные с помощью солей	АОА%	$k_0/k_{\text{пеп}}$	k_0	$k_{\text{пеп}}$
ZnCl ₂	75,53	3,98	0,039	0,009
FeCl ₃	27,73	1,25	0,063	0,05
MgCl ₂	48,01	1,46	0,044	0,03
CaCl ₂	16,78	1,23	0,023	0,019
Тималин*	11,5	1,15	0,076	0,066
Кортексин**	6,11	1,07	0,014	0,008

- аптечные препараты производства ООО «Самсон-Мед»*, ООО «Геофарм»**

- pharmaceutical preparations produced by Samson-Med LLC*, Geopharm LLC**

ВЫВОДЫ

В работе исследованы различные пептидные фракции, выделенные с использованием ряда неорганических солей. Определена антиоксидантная активность полученных пептидных препаратов по ингибированию реакции аутоокисления адреналина. Выявлено влияние условий получения пептидного комплекса на его антиоксидантные свойства. Определяющую роль в формировании свойств пептидного препарата играет именно природа соли, используемой для осаждения мажорных белков из

эпидермальной слизи африканского сома. Показано, что среди выбранных для исследования хлоридов биогенных металлов именно ZnCl₂ позволяет выделять пептидную фракцию, обладающую наиболее высокой антиоксидантной активностью. Указанная активность почти в 12 раз превышает активность препарата "Кортексин", в 7 раз – препарата "Тималин" и в 5 раз – активность аналогичной фракции, выделенной с использованием CaCl₂. При этом способность исследуемых пептидных фракций ингибировать процесс аутоокисления адреналина проявляется при их добавлении к субстрату в концентрациях 5·10⁻⁶ г/мл.

Применен новый подход для оценки ингибирующего действия пептидных препаратов, основанный на сравнении констант скорости реакции аутоокисления адреналина без ингибитора и в присутствии пептида, что позволяет получить более достоверные характеристики процесса ингибирования.

На основании анализа литературных данных и полученных нами результатов сделано предположение о возможности использования полученных пептидных комплексов в комплексном лечении тяжелых форм раневых процессов.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов, требующего раскрытия в данной статье.

The authors declare the absence a conflict of interest warranting disclosure in this article.

ЛИТЕРАТУРА

1. Хавинсон В.Х. // *Клиническая медицина*. 2020. Т. 98. Вып. 3. С. 165-177. DOI: 10.30629/0023-2149-2020-98-3-165-177.
2. Козина Л.С., Арутюнян А.В., Стволинский С.Л., Хавинсон В.Х. // *Усп. геронтологии*. 2008. Т. 21. Вып. 1. С. 68-73.
3. Рябинина Е.И., Зотова Е.Е., Ветрова Е.Н., Пономарева Н.И., Илюшина Т.Н. // *Химия растит. сырья*. 2011. Т. 15. Вып. 3. С. 117–121.
4. Cai L.Y., Wu X.S., Zhang Y.H., Li X.X., Ma S., Li J.R. // *J. Funct. Foods*. 2015. V. 16. P. 234-242. DOI: 10.1016/j.jff.2015.04.042.
5. Wang B., Li Z.R., Chi C.F., Zhang Q.H., Luo H.Y. // *Peptides*. 2012. V. 36. P. 240-250. DOI: 10.1016/j.peptides.2012.05.013.
6. Umayaparvathi S., Meenakshi S., Vimalraj V., Arumugam M., Sivagami G., Balasubramanian T. // *Biomed. Prev. Nutr.* 2014. V. 4. P. 343-353. DOI: 10.1016/j.biopnut.2014.04.006.
7. Saidi S., Deratani A., Belleville M.P., Amar R.B. // *Food Res. Int.* 2014. V. 65. P. 329-336. DOI: 10.1016/j.foodres.2014.09.023.
8. Bougateg A., Nedjar-Arroume N., Manni L., Ravallec R., Barkia A., Guillochon D., Nasri M. // *Food Chem.* 2010. V. 118. P. 559-565. DOI: 10.1016/j.foodchem.2009.05.021.

REFERENCES

1. Khavinson V.K. // *Klinich. Meditsyna*. 2020. V. 98. N 3. P. 165-177 (in Russian). DOI: 10.30629/0023-2149-2020-98-3-165-177.
2. Kozina L.S., Harutyunyan A.V., Strovinsky S.L., Havinson V.H. // *Usp. Gerontologii*. 2008.V. 21. N 1. P. 68-73 (in Russian).
3. Ryabinina E.I., Zotova E.E., Vetrova E.N., Ponomareva N.I., Ilyushina T.N. // *Khimiya Rastit. Syr'ya*. 2011. V. 15. N 3. P. 117-121 (in Russian).
4. Cai L.Y., Wu X.S., Zhang Y.H., Li X.X., Ma S., Li J.R. // *J. Funct. Foods*. 2015. V. 16. P. 234-242. DOI: 10.1016/j.jff.2015.04.042.
5. Wang B., Li Z.R., Chi C.F., Zhang Q.H., Luo H.Y. // *Peptides*. 2012. V. 36. P. 240-250. DOI: 10.1016/j.peptides.2012.05.013.
6. Umayaparvathi S., Meenakshi S., Vimalraj V., Arumugam M., Sivagami G., Balasubramanian T. // *Biomed. Prev. Nutr.* 2014. V. 4. P. 343-353. DOI: 10.1016/j.biopnut.2014.04.006.
7. Saidi S., Deratani A., Belleville M.P., Amar R.B. // *Food Res. Int.* 2014. V. 65. P. 329-336. DOI: 10.1016/j.foodres.2014.09.023.
8. Bougateg A., Nedjar-Arroume N., Manni L., Ravallec R., Barkia A., Guillochon D., Nasri M. // *Food Chem.* 2010. V. 118. P. 559-565. DOI: 10.1016/j.foodchem.2009.05.021.

9. **Andre C., Castanheira I., Cruzb J.M., Paseirob P., Sanches-Silvaa A.** // *Trends in Food Science & Technology*. 2010. V. 21. N 5. P. 229-246. DOI: 10.1016/j.tifs.2009.12.003.
10. **Ahmed A.S., El-Bassiony T., Elmalt L.M., Ibrahim H.R.** // *Food Res. Int.* 2015. V. 74. P. 80-88. DOI: 10.1016/j.foodres.2015.04.032.
11. **Wlaschek M., Scharffetter-Kochanek K.** // *Wound Rep. Reg.* 2005. V. 13. P. 452-461. DOI: 10.1111/j.1067-1927.2005.00065.x.
12. **Parihar A., Parihar M.S., Milner S., Bhat S.** // *Burns*. 2008. V. 34. N 1. P. 6-17. DOI: 10.1016/j.burns.2007.04.009.
13. **Cohen G.** Catalase, glutathione peroxidase, superoxide dismutase, and cytochrom P-450. Enzymes in the nervous system. N.Y.; Oxford: Raven press. 1983. V. 4. P. 315-330. DOI: 10.1007/978-1-4899-1881-9_13.
14. **Хавинсон В.Х., Кузник Б.И., Стуров В.Г., Гладкий П.А.** // *PMЖ*. 2020. Т. 28. Вып. 9. С. 24-30.
15. **Anam Javed, Sonia Aslam, Sufyan Saleem, Muniza Saeed.** // *Haya: Saudi J. of Life Sci.* 2021. V. 6. N 7. P. 147-150. DOI: 10.36348/sjls.2021.v06i07.004.
16. **Theophine Chinwuba Akunne (formerly Okoye), Sunday Nwankwo Okafor, David C. Okechukwu, Simeon Sunday Nwankwor, Juliet Onyinyechi Emene, Blessing Ngozika Okoro.** // *UKJPB*. 2016. V. 4. N 3. P. 81-87. DOI: 10.20510/ukjpb/4/i3/108393.
17. **Chi C.F., Wang B., Hu F.Y., Wang Y.M., Zhang B., Deng S.J., Wu C.W.** // *Food Res. Int.* 2015. V. 73. P. 124-129. DOI: 10.3390/md19060347.
18. **Wang B., Gong Y.D., Li Z.R., Yu D., Chi C.F., Ma J.Y.** // *J. Funct. Foods*. 2014. V. 6. P. 176-185. DOI: 10.1016/j.jff.2013.10.004.
19. **Zarei M., Ebrahimpour A., Abdul-Hamid A., Anwar F., Bakar F.A., Philip R., Saari N.** // *Food Res. Int.* 2014. V. 62. P. 726-734. DOI: 10.1016/j.foodres.2014.04.041.
20. **Girgih A.T., He R., Malomo S., Offengenden M., Wu J.P., Aluko R.E.** Structural and functional characterization of hemp seed (*Cannabis sativa L.*) protein-derived antioxidant and antihypertensive peptides. *J. Funct. Foods*. 2014. V. 6. P. 384-394. DOI: 10.1016/j.jff.2013.11.005.
21. **Tang-Bin Zou, Tai-Ping He, Hua-Bin Li, Huan-Wen Tang, En-Qin Xia.** // *Molecules*. 2016. V. 21. N 1. P. 1-14. DOI: 10.3390/molecules 21010072.
22. **Меркулова Н.Л., Грехнева Е.В., Чуйкова С.В., Малышев В.Н.** // *Актуал. вопр. биологич. физики и химии*. 2020. Т. 5. Вып. 3. С. 461-466.
23. **Guglya Ye.B.** // *Vestn. RGMU*. 2014. Т. 1. С. 65-71.
24. **Березов Т.Т., Коровкин Б.Ф.** Биологическая химия. М.: Медицина. 1998. 704 с.
25. **Филимонов И.С., Вржешч П.В.** // *Биохимия*. 2007. Т. 72. № 9. С. 1161-1171. DOI: 10.1134/S0006297907090040.
26. **Сирота Т.В.** // *Биомедицин. химия*. 2012. Т. 58. № 1. С. 77-87. DOI: 10.18097/pbmc20125801077.
27. **Сирота Т.В.** // *Биомедицин. химия*. 2013. Т. 59. № 4. С. 399-410. DOI: 10.18097/pbmc20135904399.
28. **Племенков В.В.** Введение в химию природных соединений. Казань. 2001. 376 с.
29. **Баранников В.П., Венедиктов Е.А.** // *Изв. вузов. Химия и хим. технология*. 2021 Т. 64. Вып. 7. С. 33-38. DOI: 10.6060/ivkkt.20216407.6417.
9. **Andre C., Castanheira I., Cruzb J.M., Paseirob P., Sanches-Silvaa A.** // *Trends in Food Science & Technology*. 2010. V. 21. N 5. P. 229-246. DOI: 10.1016/j.tifs.2009.12.003.
10. **Ahmed A.S., El-Bassiony T., Elmalt L.M., Ibrahim H.R.** // *Food Res. Int.* 2015. V. 74. P. 80-88. DOI: 10.1016/j.foodres.2015.04.032.
11. **Wlaschek M., Scharffetter-Kochanek K.** // *Wound Rep. Reg.* 2005. V. 13. P. 452-461. DOI: 10.1111/j.1067-1927.2005.00065.x.
12. **Parihar A., Parihar M.S., Milner S., Bhat S.** // *Burns*. 2008. V. 34. N 1. P. 6-17. DOI: 10.1016/j.burns.2007.04.009.
13. **Cohen G.** Catalase, glutathione peroxidase, superoxide dismutase, and cytochrom P-450. Enzymes in the nervous system. N.Y.; Oxford: Raven press. 1983. V. 4. P. 315-330. DOI: 10.1007/978-1-4899-1881-9_13.
14. **Khavinson V.K., Kuznik B.I., Sturov V.G., Gladky P.A.** *RMZh*. 2020. V. 28. N 9. P. 24-30 (in Russian).
15. **Anam Javed, Sonia Aslam, Sufyan Saleem, Muniza Saeed.** // *Haya: Saudi J. of Life Sci.* 2021. V. 6. N 7. P. 147-150. DOI: 10.36348/sjls.2021.v06i07.004.
16. **Theophine Chinwuba Akunne (formerly Okoye), Sunday Nwankwo Okafor, David C. Okechukwu, Simeon Sunday Nwankwor, Juliet Onyinyechi Emene, Blessing Ngozika Okoro.** // *UKJPB*. 2016. V. 4. N 3. P. 81-87. DOI: 10.20510/ukjpb/4/i3/108393.
17. **Chi C.F., Wang B., Hu F.Y., Wang Y.M., Zhang B., Deng S.J., Wu C.W.** // *Food Res. Int.* 2015. V. 73. P. 124-129. DOI: 10.3390/md19060347.
18. **Wang B., Gong Y.D., Li Z.R., Yu D., Chi C.F., Ma J.Y.** // *J. Funct. Foods*. 2014. V. 6. P. 176-185. DOI: 10.1016/j.jff.2013.10.004.
19. **Zarei M., Ebrahimpour A., Abdul-Hamid A., Anwar F., Bakar F.A., Philip R., Saari N.** // *Food Res. Int.* 2014. V. 62. P. 726-734. DOI: 10.1016/j.foodres.2014.04.041.
20. **Girgih A.T., He R., Malomo S., Offengenden M., Wu J.P., Aluko R.E.** Structural and functional characterization of hemp seed (*Cannabis sativa L.*) protein-derived antioxidant and antihypertensive peptides. *J. Funct. Foods*. 2014. V. 6. P. 384-394. DOI: 10.1016/j.jff.2013.11.005.
21. **Tang-Bin Zou, Tai-Ping He, Hua-Bin Li, Huan-Wen Tang, En-Qin Xia.** // *Molecules*. 2016. V. 21. N 1. P. 1-14. DOI: 10.3390/molecules 21010072.
22. **Merkulova N.L., Grekhneva E.V., Chuikova S.V., Malyshev V.N.** // *Aktual. Vopr. Biologich. Fiziki Khimii*. 2020. V. 5. N 3. P. 461-466 (in Russian).
23. **Guglya Ye.B.** // *Vestn. RGMU*. 2014. V. 1. P. 65-71 (in Russian).
24. **Berezov T.T., Korovkin B.F.** Biological chemistry. M.: Meditsina. 1998. 704 p. (in Russian).
25. **Filimonov I.S., Vrzhesch P.V.** // *Biokhimiya*. 2007. V. 72. N 9. P. 1161-1171 (in Russian). DOI: 10.1134/S0006297907090040.
26. **Sirota T.V.** // *Biomed. Khimiya*. 2012. V. 58. N 1. P. 77-87 (in Russian). DOI: 10.18097/pbmc20125801077.
27. **Sirota T.V.** // *Biomed. Khimiya*. 2013. V. 59. N 4. P. 399-410 (in Russian). DOI: 10.18097/pbmc20135904399.
28. **Plemenkov V.V.** Introduction to the chemistry of natural compounds. Kazan. 2001. 376 p. (in Russian).
29. **Barannikov V.P., Venediktov E.A.** // *ChemChemTech [Izv. Vyssh. Uchebn. Zaved. Khim. Khim. Tekhnol.]* 2021. V. 64. N 7. P. 33-38 (in Russian). DOI: 10.6060/ivkkt.20216407.6417.

Поступила в редакцию (Received) 29.11.2022

Принята к опубликованию (Accepted) 11.05.2023