

**Определение кинетического механизма ингибирования
простагландин-Н-синтазы-1 (СОХ-1) «медленными» ингибиторами на
примере индометацина**

Нуждина Екатерина Олеговна¹, Бархатов Владимир Игоревич²

1 - Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Факультет биоинженерии и биоинформатики, Москва, Россия; 2 - Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Факультет биоинженерии и биоинформатики, Москва, Россия

E-mail: selvaggio.lupo@gmail.com

Действие нестероидных противовоспалительных препаратов (НПВП), широко используемых в медицине, направлено на ингибирование фермента простагландин-Н-синтазы (СОХ, циклооксигеназа, PGHS, К.Ф. 1.14.99.1) [2]. Эта группа лекарственных средств обладает обезболивающим, жаропонижающим и противовоспалительным эффектами, уменьшает боль, лихорадку. Несмотря на большое количество известных на данный момент НПВП, молекулярный механизм взаимодействия PGHS с ингибиторами остаётся не полностью изученным.

В данной работе подробно исследован кинетический механизм ингибирования PGHS-1 индометацином. Индометацин - это производное индолюксусной кислоты, его противовоспалительные свойства известны уже более 30 лет.

Ранее в нашей лаборатории была разработана методика определения кинетических параметров ингибиторов СОХ на примере напроксена [1].

Был использован амперометрический метод для изучения кинетического механизма взаимодействия фермента СОХ с ингибитором индометацином. Получены экспериментальные зависимости активности препарата фермента от времени инкубации с ингибитором и фермент-ингибиторного комплекса при его диссоциации после разбавления. Также получены зависимости равновесных значений активности фермента (после 6 минут инкубации с ингибитором) при различных концентрациях ингибитора и фермента.

Из полученных данных сделан вывод, что индометацин является медленным [3] ингибитором, то есть время его взаимодействия с ферментом намного превышает время установления стационарного состояния по субстрату. Взаимодействие является полностью обратимым. Определена равновесная константа диссоциации фермент-ингибиторного комплекса как 20 нМ, при этом элементарная константа ингибирования составила $80 \text{ (mM}\cdot\text{s)}^{-1}$, а элементарная константа диссоциации $1,6\cdot 10^{-3} \text{ с}^{-1}$. Влияния кооперативных эффектов при связывании индометацина обнаружено не было. Эффективная концентрация ингибитора оказалась близка к концентрации фермента, используемой в экспериментах. Это позволило, проводя эксперимент при разной активности фермента, определить его концентрацию. 10 нМ фермента оказались соответствующими активности потребления кислорода $1 \text{ }\mu\text{M}$ в секунду.

Источники и литература

- 1) Аллостерические взаимодействия между субъединицами димерного белка простагландин-Н-синтаза-1 (СОХ-1) при ингибировании напроксеном. Берзова А.П. и др. XXI Международная научная конференция студентов, аспирантов и молодых учёных «Ломоносов-2014». Сборник тезисов докладов. Серия: Физика, с.53
- 2) Anti-inflammatory drugs and their mechanism of action. Vane J.R., Botting R.M., *Inflammation Res.*, 1998, 47 (sup 2), S78-S87

- 3) Structural and functional basis of cyclooxygenase inhibition. Blobaum A.L., Marnett L.J., J Med Chem. 2007, 50(7):1425-41

Иллюстрации

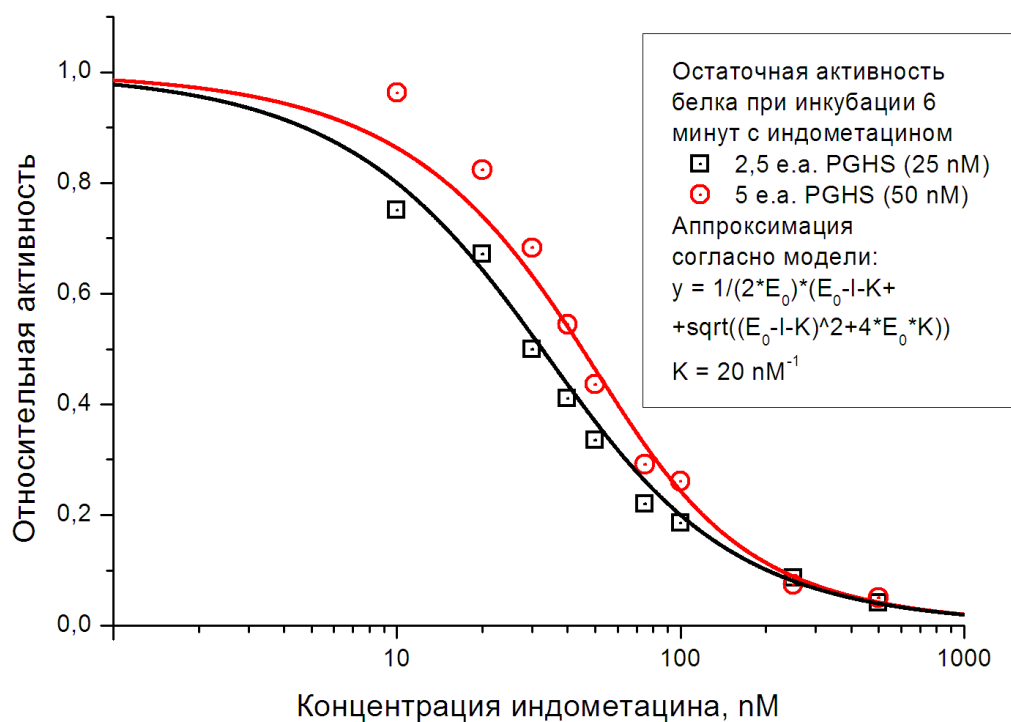


Рис. 1. Зависимость равновесной активности фермента (в долях от активности без ингибитора) от концентрации индометацина при концентрации фермента 25 нМ (соответствует 2,5 единиц) и 50 нМ (соответствует 5 единиц активности без ингибитора). Условия проведения экспериментов см. в тексте.