

Кабденова Акмарал Талаповна, Сатыбалдиева Жанат Абеновна

**КВАНТОВО-ХИМИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ СТРУКТУРЫ ЛИКОПИДА И УРОВЕНЬ ЭКСПРЕССИИ CD-МАРКЕРОВ**

Адрес статьи: [www.gramota.net/materials/1/2010/9/20.html](http://www.gramota.net/materials/1/2010/9/20.html)

Статья опубликована в авторской редакции и отражает точку зрения автора(ов) по рассматриваемому вопросу.

Источник

**Альманах современной науки и образования**

Тамбов: Грамота, 2010. № 9 (40). С. 67-70. ISSN 1993-5552.

Адрес журнала: [www.gramota.net/editions/1.html](http://www.gramota.net/editions/1.html)

Содержание данного номера журнала: [www.gramota.net/materials/1/2010/9/](http://www.gramota.net/materials/1/2010/9/)

**© Издательство "Грамота"**

Информация о возможности публикации статей в журнале размещена на Интернет сайте издательства: [www.gramota.net](http://www.gramota.net)

Вопросы, связанные с публикациями научных материалов, редакция просит направлять на адрес: [almanac@gramota.net](mailto:almanac@gramota.net)

Таким образом, наши исследования показали возможность использования компьютерных химических расчетов для прогнозирования широты фармакологического действия иммунокомпетентных лекарственных средств и получения достоверных результатов.

#### Выводы

1. Методами квантово-химического анализа и молекулярной механики установлено, что молекула азатиоприна обладает высоким уровнем реакционной способности и афинности к различным биологическим структурам, что предполагает воздействие данного препарата от уровня стволовых клеток до Т-супрессоров.

2. Результаты, полученные в процессе компьютерных химических исследований, подтвердились при изучении экспрессии CD-маркеров.

#### Список литературы

1. Барбуто Х. А. М., Херш Э., Сальмон С. Иммунофармакология // Базисная и клиническая фармакология / ред. Б. Г. Катцунг. СПб: Невский Диалект, 1998. Т. 2. С. 463-486.
2. Дейл М. М., Формен Дж. К. Руководство по иммунофармакологии. М.: Медицина, 1998. С. 235-332.
3. Лоуренс Д. Р., Беннет П. Н., Браун М. Дж. Клиническая фармакология. М.: Медицина, 2002. С. 540-561.
4. Машковский М. Д. Лекарственные средства. М.: Медицина, 2000.
5. Оксфордский справочник по клинической фармакологии / ред. Г. Грэхам-Смит. М.: Медицина, 2000.
6. Пчелкина З. Различные приближения для расчета электронной структуры твердых тел: область применения и ограничения [Электронный ресурс]. URL: <http://impo.imp.uran.ru>
7. Хедвиг П. Прикладная квантовая химия. М.: Мир, 1977.
8. Шайтан К. В., Терешкина К. Б. Введение в метод молекулярной динамики [Электронный ресурс] // Молекулярная динамика белков и пептидов: методическое пособие. URL: <http://www.moldyn.ru/library/manual>
9. Nicolova N., Javorska J. Approaches to measure chemical similarity// Review QSAR Comb. Sciences. 2003. № 22. P. 1006-1026.
10. Perun T. J., Propst C. L. Computer-aided drug design: methods and applications. New-York – Basel: Marcel Dekker Ink., 2010. 485 p.

УДК 612.017.1

*Акмарал Талаповна Кабденова, Жанат Абеневна Сатыбалдиева*  
*Республиканское государственное предприятие на праве хозяйственного ведения*  
*«Национальный Центр экспертизы лекарственных средств, изделий медицинского назначения*  
*и медицинской техники» МЗ Республики Казахстан, г. Алматы*

#### КВАНТОВО-ХИМИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ СТРУКТУРЫ ЛИКОПИДА И УРОВЕНЬ ЭКСПРЕССИИ CD-МАРКЕРОВ<sup>©</sup>

В современной биологической науке компьютерные химические расчеты становятся неотъемлемой частью исследований в области прогнозирования биологических эффектов различных химических веществ. Однако в иммунобиологии компьютерная химия относительно мало использована. Как отмечалось ранее, наши исследования направлены на восполнение этого пробела. Исходя из анализа литературных данных о современных компьютерных технологиях, мы предположили о возможности использования методов компьютерной химии для изучения действия ликопида на уровень экспрессии CD-маркеров в зависимости от его концентрации в крови [3; 5].

Как известно, CD (кластеры дифференциации) представляют собой макромолекулы, появляющиеся на определенной стадии развития клеток. Их обнаружение и количественная оценка позволяют достоверно оценить состояние иммунной системы под тем или иным воздействием.

В данной статье представлено исследование влияния квантово-химических характеристик известного иммуностимулятора ликопида на проявление экспрессии CD.

Ликопид – синтетический аналог универсального фрагмента клеточных стенок бактерий – глюкозаминилмурамилдипептида (ГМДП), оказывающего иммуномодулирующее действие. Препарат действует через клетки моноцитарно-макрофагальной системы, повышая в них:

- активность лизосомальных ферментов;
- образование активных форм кислорода;
- поглощение и уничтожение микробов;
- цитотоксические свойства по отношению к вирусинфицированным и опухолевым клеткам;
- экспрессию HLA-DR-антигенов, за счет чего улучшается распознавание антигенов;
- продукцию цитокинов: интерлейкина-1 (ИЛ-1), фактора некроза опухоли (ФНО), колониестимулирующего фактора (КСФ), гамма-интерферона.

Таким образом, липоид быстро и эффективно запускает все звенья антибактериальной и противовирусной иммунной защиты организма: фагоцитоз, цитотоксическую активность макрофагов, естественных киллеров и Т-лимфоцитов, гуморальный иммунитет [4; 6; 7].

### 1. Материалы и методы

1.1. Компьютерный химический анализ осуществляли с применением метода Хартри-Фока в полуэмпирическом приближении РМ3 [1; 8].

1.2. Иммунологические исследования:

1.2.1. Подготовка образца крови – забор производили в контейнер со стерильным 6% раствором ЭДТА в соотношении 20/1. Кровь перемешивали с полиглюкином (1:1), инкубировали при комнатной температуре в течение 1-1,5 ч, взвесь клеток без эритроцитов декантировали и центрифугировали при 1000 об/мин в течение 10 мин. Удаляли надосадочную жидкость, осадок разбивали и добавляли 1 мл среды RPMI-1640.

1.2.2. Фракционирование мононуклеаров на градиенте плотности – в центрифужную пробирку вносили 1 мл изопака (Sigma, США) с плотностью 1,076 г/мл, осторожно наслаивали 1 мл клеточной суспензии. Осаждали на центрифуге при 3000 об/мин в течение 20 мин (температура ротора 8°C). Интерфазное кольцо клеток собирали в контейнер, добавляли 20 мл среды RPMI-1640 и отмывали центрифугированием при 1000 об/мин в течение 10 мин. Супернатант удаляли, встряхивали клеточный осадок постукиванием по дну контейнера и добавляли к нему 1 мл полной культуральной среды RPMI-1640, с 10% ФТС, 4 мМ L-глутамин, 100 мг/мл стрептомицина и 100 МЕ/мл пенициллина.

1.2.3. Культивирование клеток – суспензию полученных клеток доводили до 10<sup>6</sup> кл/мл полной культуральной средой и вносили по 200 мкл в 96-луночный планшет. Клетки культивировали при 37°C, 5% CO<sub>2</sub> и 95% влажности в течение 48 ч. В опытные ячейки вносили тестируемую пробу.

1.2.4. Приготовление рабочих разведений препаратов – липоид растворяли в среде RPMI-1640. После центрифугирования супернатант стерилизовали и профильтровали (диаметр пор 0,22 мкм). Раствор липоида в концентрации 2 мкг/мл (р-р 1) добавляли в ячейки с клетками в объеме 20 мкл на каждые 180 мкл клеточной суспензии, получая конечную концентрацию препарата 0,25 мкг/мл (р-р 1:8).

1.2.5. Проточная цитофлуориметрия клеток – после культивирования из каждой 10 ячеек, содержащих мононуклеарные клетки контроля (без препарата) или опыта, после мягкого ресуспендирования отбирали культуральную среду и центрифугировали при 1000 об/мин в течение 10 мин при комнатной температуре. После центрифугирования супернатант удаляли, встряхивали клеточный осадок и добавляли к осадку 1 мл фосфатно-солевого буферного раствора для определения содержания клеток, несущих маркеры иммунокомпетентных клеток (CD3, CD4, CD8, CD14, CD16, CD19, DR) согласно прилагаемым инструкциям. К 100 мкл исследуемого образца добавляли 20 мкл моноклональных антител, меченных фикоэритрином (PE) или флуоресцеинизотиоцианатом (FITC). Перемешивали и инкубировали в течение 15-30 мин при комнатной температуре в затемненном месте. После инкубации центрифугировали в течение 5 мин при 300 g. После этого удаляли супернатант и повторно центрифугировали в течение 5 мин при 200 g с фосфатно-солевым буферным раствором, содержащим 0,1% азид натрия. Удаляли супернатант и добавляли фиксирующий раствор, содержащий формальдегид. Процентное содержание меченых клеток в образце определяли с помощью проточного цитофлуориметра FACS Calibur.

1.3. Статистический анализ – данные обрабатывали методами математической статистики, используя прикладную программу Microsoft Excel.

### 2. Результаты исследования

Квантово-химические характеристики липоида представлены в Табл. 1. Для анализа нами отобраны: теплота образования ( $\Delta H_f$ , ккал/мол), полная энергия ( $E_{tot}$ ), потенциал ионизации (IP). Это основные квантово-химические характеристики, которые позволяют оценить стабильность соединения, его способность преодолевать биологические барьеры и взаимодействовать с различными биологическими структурами. *Теплота образования (энтальпия образования,  $\Delta H_f$ )* – тепловой эффект реакции образования химических соединений из простых веществ в стандартном состоянии. Эта характеристика позволяет оценить стабильность химического соединения. *Полная энергия ( $E_{tot}$ )* – сумма кинетической и потенциальной энергий, т.е. общий энергетический потенциал молекулы. Она дополняет прогноз стабильности химического вещества и позволяет оценить возможности его гидролиза в организме и продолжительность его действия. *Потенциал ионизации (IP)* – это физическая величина, определяемая отношением наименьшей энергии, необходимой для однократной ионизации атома (или молекулы), находящегося в основном состоянии, к заряду электрона. IP – мера энергии ионизации, которая равна работе вырывания электрона из атома или молекулы и характеризует прочность связи электрона с ядром в атоме или молекуле, а также способность биологически активного вещества вступать во взаимодействие с теми или иными молекулами [8].

Анализ квантово-химических характеристик липоида свидетельствует о том, что, в целом, это соединение отличается высокой стабильностью: для него характерна отрицательное значение  $\Delta H_f$ , что дает представление о высокой прочности межатомных внутримолекулярных связей. Отрицательное значение  $E_{tot}$ , подтверждает версию о высокой стабильности молекулы липоида. Положительное значение IP свидетельствует об относительно низкой растворимости в липидах, и высокой реакционной способности.

Исследования в области молекулярной механики липоида свидетельствуют, что оба пирановых кольца имеют конформацию в форме кресла (Рис. 1), что предполагает относительно высокую аффинность к многим биологическим структурам.

Табл. 1. Основные энергетические характеристики ликопида

Наименование препарата	Теплота образования $\Delta H_f$ , ккал/мол	Полная энергия $E_{tot}$ , ккал/мол	Потенциал ионизации IP
Ликопид	-539.15	-8673.622	9.170

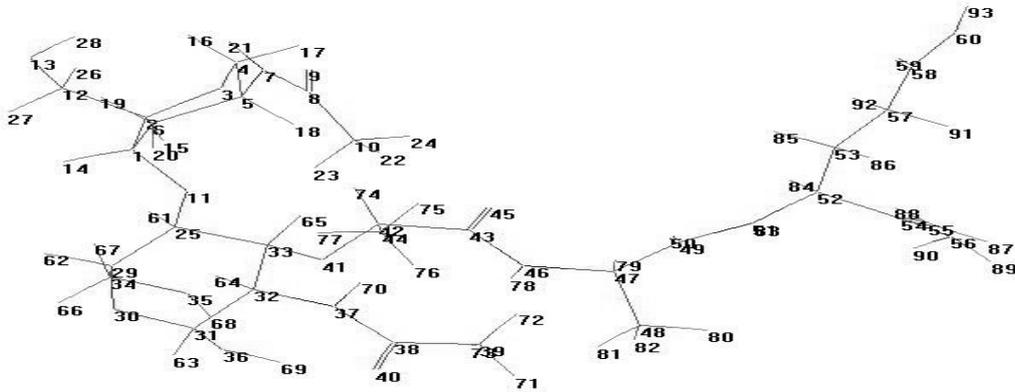


Рис. 1. Пространственное строение ликопида

Полученные результаты хорошо согласуются с результатами иммунологических исследований.

Анализ Рис. 2 свидетельствует о том, что раствор 1 ликопида и его разведение 1:2 практически не влияют на экспрессию CD4, то есть в концентрациях 2 мкг/мл и 1 мкг/мл ликопид не вызывает экспрессию Т-хелперов.

В менее концентрированных растворах данный препарат, наоборот, подавлял экспрессию CD4. Во всех изученных концентрациях ликопид практически не влиял на экспрессию CD8.

В наших экспериментах обнаружено стимулирующее действие ликопида на экспрессию CD14, во всех концентрациях, за исключением наименьшей.

Уровень CD16 достоверно ( $p \leq 0,05$ ) повышался по мере уменьшения концентрации исследуемого препарата.

Для CD19, в целом, было характерно снижение экспрессии, за исключением самой низкой концентрации, в которой отмечено недостоверное повышение этого кластера.

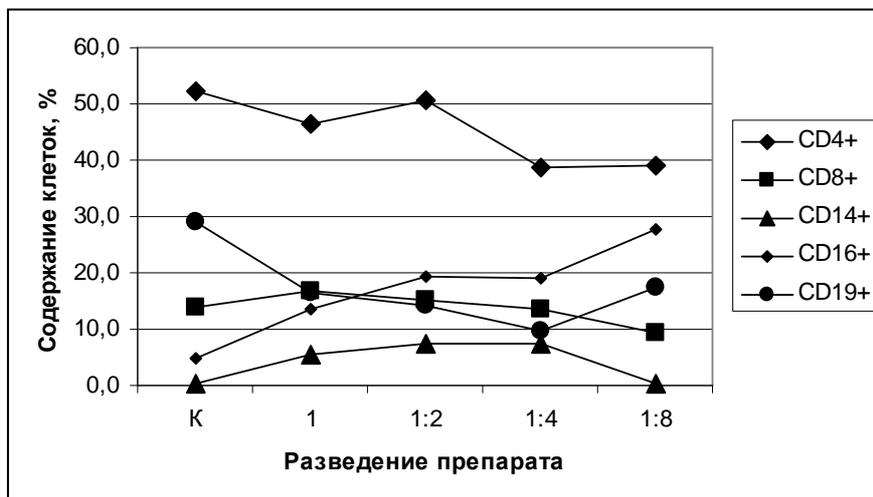


Рис. 2. Влияние последовательного разбавления ликопида на уровень экспрессии CD-маркеров мононуклеарных клеток периферической крови человека при 48-часовом культивировании

Таким образом, для ликопида характерен дозозависимый эффект: в наших экспериментах в относительно высоких концентрациях этот препарат подавлял экспрессию CD19, стимулировал – CD14 и CD16. По мере снижения содержания ликопида в питательных средах отмечено снижение экспрессии CD4, CD14 и повышение – CD16 и CD19.

Суммируя выше изложенное, можно предположить, что для ликопида характерно разнообразное действие на иммунную систему: в относительно высоких концентрациях он может подавлять дифференциацию стволовых клеток костного мозга, одновременно стимулировать фагоцитарную активность моноцитов, NK-клеток, гранулоцитов, макрофагов.

Снижение концентрации ликопида ведет уменьшению количества кластеров дифференцировки моноцитов, при одновременной экспрессии NK-клеток, гранулоцитов, макрофагов и В-лимфоцитов.

Резюмируя все выше изложенное, можно отметить, что изучение квантово-химических характеристик и молекулярной механики ликопида показало наличие у структуры этого соединения больших возможностей относительно воздействия на иммунную систему на разных уровнях. Проведенные нами иммунологические исследования подтвердили результаты компьютерных химических расчетов.

#### **Выводы**

1. Методами компьютерной химии установлено, что молекула ликопида обладает высоким уровнем реакционной способности и афинности к различным биологическим структурам, что предполагает многообразие действия этого препарата на иммунную систему.

2. Результаты, полученные в процессе компьютерных химических исследований, подтвердились при изучении экспрессии CD-маркеров.

#### *Список литературы*

1. Буше Г. А. Бронходилататоры и другие средства, применяемые для лечения астмы // Базисная и клиническая фармакология / ред. Б. Г. Катцунг. СПб.: Невский Диалект, 1998. Т. 1. С. 382-385.
2. Козлов И. Г. Лекарственные воздействия через рецепторы врожденного иммунитета [Электронный ресурс]. URL: <http://perpek.ru/PRODUCT/LICOPID/Articles.html>
3. Машковский М. Д. Лекарственные средства. М.: Медицина, 2000.
4. Пчелкина З. Различные приближения для расчета электронной структуры твердых тел: область применения и ограничения [Электронный ресурс]. URL: <http://impo.imp.uran.ru>
5. Хедвиг П. Прикладная квантовая химия. М.: Мир, 1977.
6. Шайтан К. В., Терешкина К. Б. Введение в метод молекулярной динамики [Электронный ресурс] // Молекулярная динамика белков и пептидов: методическое пособие. URL: <http://www.moldyn.ru/library/manual>
7. Nicolova N., Javorska J. Approaches to measure chemical similarity// Review QSAR Comb. Sciences. 2003. № 22. P. 1006-1026.
8. Perun T. J., Propst C. L. Computer-aided drug design: methods and applications. New-York – Basel: Marcel Dekker Ink., 2010. 485 p.

УДК 664.7

*Виктор Сергеевич Лузев, Роман Владимирович Искрин  
ГОУ ВПО «Алтайский государственный технический университет им. И. И. Ползунова»*

### МЕТОДИКА ОПРЕДЕЛЕНИЯ ЗЕРНОВОЙ ПРИМЕСИ В СОСТАВЕ ЗЕРНОВОЙ МАССЫ ПШЕНИЦЫ<sup>©</sup>

#### **Введение**

Качество многих продуктов зависит от качества зерна, из которых они изготовлены, поэтому анализ свойств зерновых культур является неотъемлемой частью производственного процесса на многих предприятиях пищевой промышленности. Без качественного анализа зерна, невозможно осуществлять производство высокосортной продукции. Хлеб, каша, пиво, квас, торт, макароны - вот краткий перечень элементов нашего рациона, качество которых напрямую зависит от анализа зернопродуктов.

На просторах нашей Родины ежегодно кроме зерновых культур, выращиваются также гречиха, пшено, горох, фасоль и многие другие. Данная работа ориентирована, прежде всего, на зерновую продукцию.

Анализ зернопродуктов производится:

- в сельском хозяйстве;
- в зерноперерабатывающей промышленности;
- в лабораториях;
- в учебно-образовательных учреждениях. Здесь студенты, аспиранты и преподаватели занимаются изучением свойств продовольственного зерна и факторов, влияющих на него.

Одной из качественных характеристик зёрен является их чистота или, наоборот, засорённость. Такая характеристика показывает, не находятся ли среди хороших зёрен какие - либо инородные частицы.