

Разработка фармацевтической субстанции на основе внеклеточных протеаз микромицета *Sarocladium strictum* 203

Научный руководитель – Корниенко Елена Игоревна

Ризатдинова София Николаевна

Студент (специалист)

Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Факультет фундаментальной медицины, Москва, Россия

E-mail: Sophia_Rizatdinova@mail.ru

Протеолитические ферменты грибного происхождения имеют широкий диапазон применения - от пищевой промышленности до фармацевтической отрасли. Они удобны с точки зрения микробиологического синтеза: для культивирования микромицетов необходимы относительно недорогие субстраты; ферменты, секретируемые в культуральную жидкость, легко отделить от мицелия продуцента [3]. В нескольких ранее опубликованных работах было показано, что комплекс протеолитических ферментов *Sarocladium strictum* 203 проявляет значительную фибринолитическую активность и может стать перспективным антитромботическим агентом [1, 2].

Цель работы заключалась в получении комплекса внеклеточных протеаз микромицета *Sarocladium strictum* 203 и разработке стратегии оценки характеристик образцов для облегчения дальнейших этапов стандартизации субстанции.

В результате культивирования мицелиального гриба в глубинных условиях с дальнейшим выделением белков из культуральной жидкости были получены серии внеклеточных протеаз. После 14 суток высушивания субстанции в ней оценивались следующие показатели: описание, растворимость, подлинность, цветность раствора.

Во всех сериях полученный комплекс представлял собой порошок белого или слегка желтоватого цвета, без запаха, легко растворимый в воде и практически нерастворимый в спирте 96%. Определение растворимости было проведено в соответствии с требованиями общей фармакопейной статьи [4].

Подлинность субстанции оценивалась по специфической химической реакции с тремя видами хромогенных пептидных субстратов - S-2444 (pGlu-Gly-Arg-pNA), хромозином-ТНIIа (Tos-Gly-Arg-pNA) и S-2251 (H-D-Val-Leu-Lys-pNA). Референсным был выбран субстрат S-2444. Активность раствора комплекса в концентрации 5 мг/мл варьировала в диапазоне от $25,29 \pm 1,26$ до $30,69 \pm 1,53$ нмоль pNA / мг×мин.

Сравнение степени окраски жидкости с эталонами было проведено по методу 1 согласно [5]. Жидкость (раствор комплекса в концентрации 5 мг/мл) в девяти испытуемых образцах была окрашена не более интенсивно, чем эталон В9.

Полученные данные являются основой для последующих этапов стандартизации субстанции внеклеточных протеаз.

Источники и литература

- 1) Корниенко Е.И., Кокаева Л.Ю., Биланенко Е.Н. и др. *Sarocladium strictum* – перспективный продуцент протеолитических ферментов с выраженной фибринолитической активностью // Микология и фитопатология. 2020. Т. 54. №. 3. С. 206–213.
- 2) Шаркова Т.С., Корниенко Е.И., Осмоловский А.А. и др. Морфо-физиологические особенности микромицета *Arthrotrys longa* – продуцента протеолитического комплекса тромболитического действия лонголитин // Микробиология. 2016. Т. 85. №. 2. С. 171–176.

- 3) Souza P.M., Bittencourt M.L.A., Caprara C.C. et al. A biotechnology perspective of fungal proteases // Braz J Microbiol. 2015. Vol. 46. No. 2. PP. 337–346.
- 4) ОФС.1.2.1.0005.15 Растворимость XIV издания Государственной фармакопеи (ГФ) РФ.
- 5) ОФС.1.2.1.0006.15 Степень окраски жидкостей XIV издания ГФ РФ.