

Применение протеомного анализа в идентификации стандартного образца панкреатина

Гегечкори В. И.¹, Шатилина А. А.¹, Левко А. А.², Шестаков В. Н.²

¹ ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет имени И. М. Сеченова
Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Москва, Россия

² ФБУ «Государственный институт лекарственных средств и надлежащих практик» Министерства
промышленности и торговли Российской Федерации, г. Москва, Россия, e-mail: vgegechkori@gmail.com

Аннотация: При осуществлении разработки СО панкреатина был проведен протеомный анализ, который позволил провести идентификацию исследуемых образцов. Протеомный анализ выполнялся методом хроматомасс-спектрометрии после предварительного фракционирования белков, содержащихся в испытуемых образцах, посредством электрофореза в полиакриламидном геле и последующим ферментативным гидролизом индивидуальных белков непосредственно в геле.

Ключевые слова: протеомный анализ, стандартный образец, панкреатин, ВЭЖХ-МС, электрофорез

Заболевания органов пищеварения - частые явления отклонения нормального физиологического состояния организма [1]. Одним из таких заболеваний является ферментативная недостаточность поджелудочной железы, при которой снижается образование или активность панкреатических ферментов, что ведет к нарушению процессов расщепления и всасывания питательных веществ в кишечнике, и, как итог, провоцирует ряд заболеваний других систем организма [2].

Заместительная энзимотерапия играет ключевую роль при лечении ферментативной недостаточности [3]. Одним из наиболее востребованных лекарственных средств (ЛС) при терапии дефицита ферментов поджелудочной железы является панкреатин. Это натуральное вещество животного происхождения, чаще содержащее поджелудочной железы свиней, помогает расщеплять белки, жиры и углеводы [4].

Применение данного препарата нормализует процессы пищеварения и улучшает общее функциональное состояние желудочно-кишечного тракта [5].

Все препараты, в том числе и препараты панкреатина, подлежат контролю качества, чтобы гарантировать обращение эффективных и безопасных ЛС на фармацевтическом рынке [6]. Современные подходы к контролю качества ЛС осуществляются с применением высокочувствительных анализов с использованием стандартных образцов (СО).

Цель настоящего исследования состояла в проведении идентификации разрабатываемого СО панкреатина с применением протеомного анализа.

Протеомный анализ заключается в идентификации совокупных индивидуальных белков исследуемых образцов. Предварительно подготовленные образцы подвергались электрофоретическому разделению в полиакриламидном геле с последующим проявлением белковых пятен в геле. Анализ полученных электрофореграмм позволил установить участки геля, содержащие индивидуальные белковые пятна, и провести ферментативный гидролиз (трипсинолиз) индивидуальных белков непосредственно в геле с последующей идентификацией аминокислотных последовательностей фрагментов индивидуальных белков масс-спектрометрией (МС) комбинированной с высокоэффективной жидкостной хроматографией (ВЭЖХ). Полученные спектры анализировали с использованием базы данных Национального центра биотехнологической информации (NCBI), содержащей информацию о теоретически возможных пептидах белков. Выявление большого количества конкретных пептидов свидетельствует о наличии определенного белка в образце [7, 8].

В результате проведенного протеомного анализа исследованных образцов панкреатина были идентифицированы аминокислотные последовательности пептидных фрагментов,

соответствующих следующим панкреатическим белкам свиного происхождения: α -амилаза, α -амилаза-подобный белок, пролипаза, α -трипсин, химотрипсиноген С, химотрипсиноген 2 изоформа Х2, химотрипсиноген 2-подобный белок, химотрипсин-подобная протеаза CTRL-1, прокарбоксипептидаза А, прокарбоксипептидаза А1, карбоксипептидаза А5, карбоксипептидаза В, карбоксипептидаза В-подобный белок, эластаза 2, хитиназа.

Таким образом, проведено доказательство структуры исследуемых образцов на соответствие структуре панкреатина с применением протеомного анализа.

ЛИТЕРАТУРА

1. Адаменко Е.И. Роль пробиотиков и энзимов неживотного происхождения в лечении функциональных заболеваний кишечника // Медицинские новости. 2020. №9 (312). С. 19–25.
2. In vitro Comparison of Pancreatic Enzyme Preparations Available in the Indian Market / S. V. Shrikhande [et al.] // Drug design, development and therapy. 2021. no. 15. P. 3835–3843. <https://doi.org/10.2147/DDDT.S319949>
3. Nanofibrous Formulation of Cyclodextrin Stabilized Lipases for Efficient Pancreatin Replacement Therapies / G. D. Tóth, [et al.] // Pharmaceutics. 2021. no. 13(7) P. 972. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics13070972>
4. Машковский М.Д. Лекарственные средства. М.: Новая волна, 2020. 1216 с.
5. Видаль. Справочник лекарственных средств. [Электронный ресурс]. URL: <https://www.vidal.ru/drugs/pancreatin> (дата обращения 25.07.2022)
6. Об обращении лекарственных средств: Федер. закон Рос. Федерации от 12 апреля 2010 г. № 61-ФЗ: принят Гос. Думой Федер. Собрания Рос. Федерации 24 марта 2010 г.: одобрен Советом Федерации Федер. Собр. Рос. Федерации 31 марта 2010 г.
7. Государственная фармакопея Российской Федерации XIV изд. [Электронный ресурс]. URL: <https://femb.ru/record/pharmacopea14> (дата обращения 25.07.2022)
8. Протеомика как фундаментальный инструмент доклинического скрининга, верификации анализов и оценки применяемой терапии / Сучков С.В. [и др.] // Вестник РАМН. 2013. № 68(1). С. 65–71.