МОЖЛИВІСТЬ ВИКОРИСТАННЯ ХОЛІНЕСТЕРАЗ ПРИ ВИЗНАЧЕННІ АКТИВНОСТІ ТІОФОСФОАМІДНИХ ПОХІДНИХ АЛКАЛОЇДІВ ТА СТАНДАРТИЗАЦІЇ ЛІКАРСЬКИХ ПРЕПАРАТІВ НА ОСНОВІ АЛКАЛОЇДІВ

Назаренко О.А., Сосовська О.Ф., Солдаткін О.П., Заїка Л.А., Потопальський А.І.

Інститут молекулярної біології та генетики НАН України, Київ, Україна

Інтенсивні дослідження холінестераз (ХЕ), їхніх каталітичних та фізико-хімічних властивостей виявили не тільки важливу фізіологічну роль в живому організмі, особливості будови його активного центру, але й потенційні можливості застосування ХЕ для визначення великої кількості інгібіторів та активаторів. Попередні дослідження співробітників лабораторії Біомолекулярної електроніки дозволили зробити висновок про перспективність застосування ензимосенсорів на основі іммобілізованої холінестерази та pH-чутливих польових транзисторів (pH-ПТ) для кількісного визначення алкалоїдів картоплі (α-соланіну та α-чаконіну). Перспективність цього методу підтвердилась при застосуванні ХЕ для вивчення активності алкалоїдів чистотілу, які входять до складу протиракового препарату *Амітозин*.

Метою роботи є з'ясування можливостей застосування ензимосенсорів на основі ацетилхолінестерази (АцХЕ) та pH-ПТ для визначення концентрації та активності алкалоїдів (*Амітозину, Трибетаміду*) при проведенні стандартизації лікарських препаратів на основі алкалоїдів чистотілу.

Метод. Робота ензимосенсора на основі pH-ПТ визначається тим, що потенціал затвору польового транзистора, який задає струм через структуру, модулюється зміною pH розчину біля його поверхні. Зміна pH відбувається в наслідок ферментативної реакції в шарі іммобілізованої АцХЕ. У присутності *Амітозину* фермент інгібується, що спричиняє зменшення величини відгуку біосенсора.

Результати. За допомогою розробленого ензимосенсора було з'ясовано, що інгібування АцХЕ *Амітозином* та *Трибетамідом* має зворотній характер, що дає можливість багаторазового використання цих біосенсорів. Нижня межа визначення *Амітозину* становила 10 мкМ. Показано (Рис.1), що біосенсор з іммобілізованим ферментом чутливий до алкалоїдів чистотілу в значному діапазоні концентрацій. Динамічний діапазон визначення *Амітозину* складає 20-960 мкМ (Рис.2). Необхідно відмітити, що терапевтичні дози *Амітозину* складають 10 мкМ і, відповідно, можуть бути визначені за допомогою розробленого біосенсора.

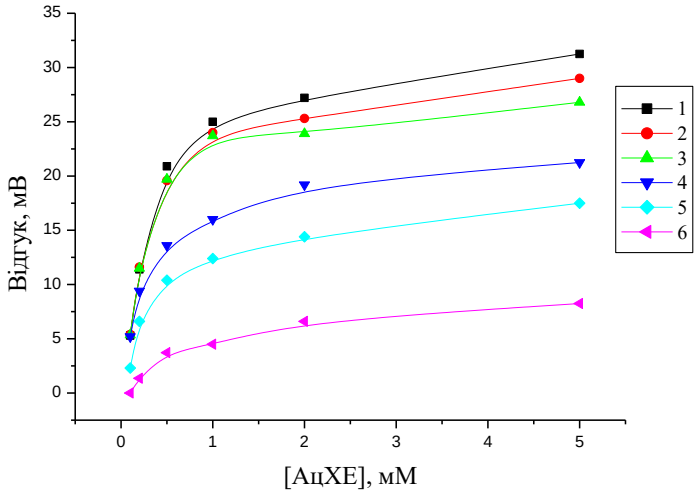

Рис. 1. Залежність величини відгуку ацетилхолінестеразного біосенсора від концентрації *Амітозину*: 1 – без амітозину, 2 – 10 мкМ, 3 – 20 мкМ, 4 – 160 мкМ, 5 – 320 мкМ, 6 – 960 мкМ. Визначення проводили в 5 мМ фосфатному буфері, pH 7,4.

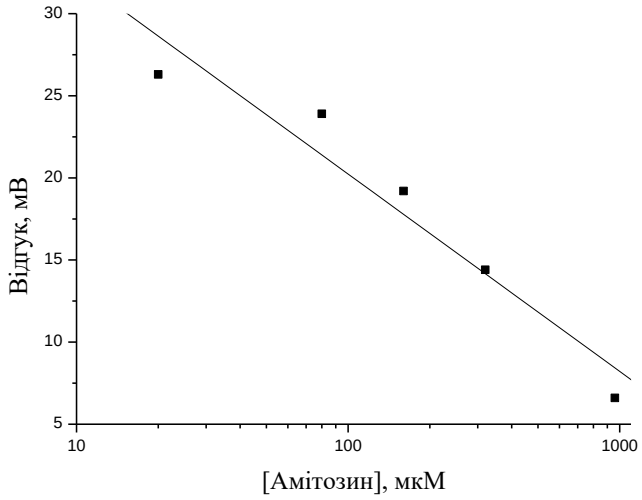

Рис. 2. Інгібування ацетилхолінестерази *Амітозином*. Концентрація субстрату 2 мМ. Визначення проводили в 5 мМ фосфатному буфері, pH 7,4.

Висновки

Ензимосенсор на основі ацетилхолінестерази може бути застосований для визначення терапевтичних доз лікарських препаратів на основі алкалоїдів чистотілу (*Амітозину/трибетаміду*).

Планується продовження робіт за цим напрямком.