ISSN 1561-8331 (Print)
ISSN 2524-2342 (Online)

АГЛЯДЫ

REVIEWS

УДК 577.152.3
https://doi.org/10.29235/1561-8331-2022-58-1-105-128

Поступила в редакцию 21.12.2021
Received 21.12.2021

Н. М. Литвинко

Институт биоорганической химии Национальной академии наук Беларуси, Минск, Беларусь

РОЛЬ ПУРИНОВЫХ И ПИРИМИДИНОВЫХ НУКЛЕОЗИДОВ И ИХ ПРОИЗВОДНЫХ В РЕАКЦИЯХ, КАТАЛИЗИРУЕМЫХ ПАНКРЕАТИЧЕСКОЙ ФОСФОЛИПАЗОЙ A_2

Аннотация. Представлен обзор результатов изучения взаимосвязи в системе «нуклеозиды–фосфолипаза A_2», которая играет определяющую роль в метаболизме фосфолипидов и их производных – простагландинов, тромбоксанов и лейкотриенов как важнейших внутриклеточных мессенджеров. Рассмотрено влияние нуклеозидов на активность секреторной $ФЛА_2$ и метаболизм липонуклеозидов, представляющих интерес в качестве специфических средств доставки нуклеозидных лекарств. Результаты этих исследований рассмотрены с точки зрения фармакологического потенциала липонуклеозидов как новых форм известных лекарственных препаратов.

Ключевые слова: нуклеозиды, фосфолипазы A_2, липонуклеозиды, гидролиз фосфолипидов

Для цитирования. Литвинко, Н. М. Роль пуриновых и пиримидиновых нуклеозидов и их производных в реакциях, катализируемых панкреатической фосфолипазой A_2 / Н. М. Литвинко // Вес. Нац. акад. навук Беларусі. Сер. хім. навук. – 2021. – Т. 58, № 1. – С. 105–128. https://doi.org/10.29235/1561-8331-2022-58-1-105-128

N. M. Litvinko

Institute of Bioorganic Chemistry of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Belarus

ROLE OF PURINE AND PYRIMIDINE NUCLEOSIDES AND THEIR DERIVATIVES IN REACTIONS CATALYZED BY PANCREATIC PHOSPHOLIPASE A_2

Abstract. A review of the results of studying the relationship in the system "nucleosides–phospholipase A_2", which plays a decisive role in the metabolism of phospholipids and their derivatives – prostaglandins, thromboxanes and leukotrienes as the most important intracellular messengers, is presented. The review considers the effect of nucleosides on the activity of secretory PLA_2 and the metabolism of liponucleosides, which are of interest as specific delivery vehicles for nucleoside drugs. The results of these studies are considered from the point of view of the pharmacological potential of liponucleosides as new forms of known drugs.

Keywords: nucleosides, phospholipases A_2, liponucleosides, hydrolysis of phospholipids

For citation. Litvinko N. M. Role of purine and pyrimidine nucleosides and their derivatives in reactions catalyzed by pancreatic phospholipase A_2. *Vestsi Natsyyanal`nai akademii navuk Belarusi. Seryya khimichnykh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Chemical Series,* 2022, vol. 58, no. 1, pp. 105–128 (in Russian). https://doi.org/10.29235/1561-8331-2022-58-1-105-128

Введение. Фосфолиполитические реакции лежат в основе метаболизма фосфолипидов. Они происходят на границе раздела фаз липид–вода под действием ряда специфических гидролаз, осуществляющих межфазный катализ [1, 2]. К этому классу гидролаз относят ряд ферментов: липаза (КФ 3.1.1.3), холестерол-эстераза (КФ 3.1.1.13), фосфолипазы A_1 и A_2 (КФ 3.1.1.4), лизофосфолипаза (КФ 3.1.1.5), фосфатидат-фосфогидролаза (КФ 3.1.3.4), фосфолипаза С (КФ 3.1.4.3), сфингомиелиназа (КФ 3.1.4.12), фосфолипаза D (КФ 3.1.4.4), N-ацилсфингозин-ацилгидролаза или церамидаза (КФ 3.1.5.). Среди этих ферментов наиболее изучены фосфолипазы A_2 ($ФЛА_2$) [1, 2], изофермент из поджелудочной железы которой представляет предмет данного обзора.

На основе структурных особенностей молекулы фермента суперсемейство $ФЛА_2$ подразделяют на несколько семейств: секреторную $ФЛА_2$ ($сФЛА_2$), цитозольную $ФЛА_2$ ($цФЛА_2$), внутриклеточную Ca^{2+}-независимую $ФЛА_2$ ($вФЛА_2$, также называемую пататин-подобную фосфоли-

© Литвинко Н. М., 2022

References

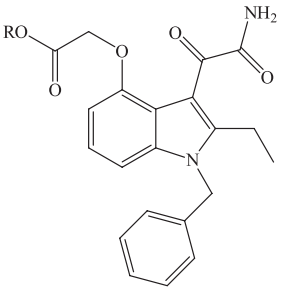
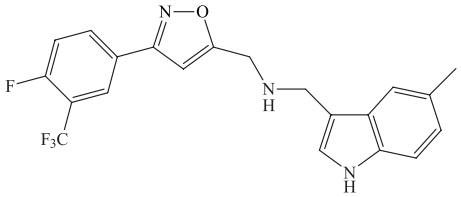
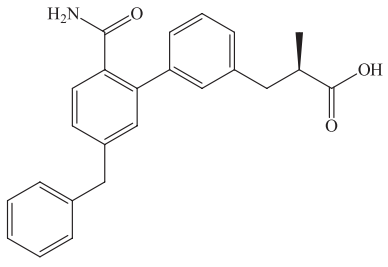
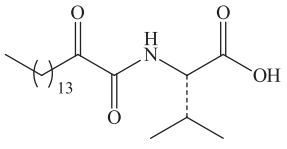
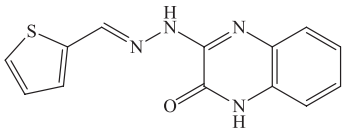
1. Abbracchio M. P., Burnstock G., Boeynaems J.-M., Barnard E. A., Boyer J. L., Kennedy C., Knight G. E., Fumagalli M., Gachet C., Jacobson K. A., Weisman G. A. International Union of Pharmacology LVIII: Update on the P2Y G Protein-Coupled Nucleotide Receptors: From Molecular Mechanisms and Pathophysiology to Therapy. *Pharmacological Reviews*, 2006, vol. 58, no. 3, pp. 281–341. https://doi.org/10.1124/pr.58.3.3
2. Abbracchio M. P., Burnstock G., Verkhratsky A., Zimmermann H. Purinergic Signalling in the Nervous System: An Overview. *Trends in Neurosciences*, 2009, vol. 32, no. 1, pp. 19–29. https://doi.org/10.1016/j.tins.2008.10.001
3. Burnstock G. Purinergic Signalling and Disorders of the Central Nervous System. *Nature Reviews Drug Discovery*, 2008, vol. 7, no. 7, pp. 575–590. https://doi.org/10.1038/nrd2605
4. Burnstock G. Purinergic Signalling: Therapeutic Developments. *Frontiers in Pharmacology*, 2017, vol. 8, art. 661. https://doi.org/10.3389/fphar.2017.00661
5. Burnstock G., Kennedy C. Is There a Basis for Distinguishing Two Types of P2-Purinoceptor? *General Pharmacology: The Vascular System*, 1985, vol. 16, no. 5, pp. 433–440. https://doi.org/10.1016/0306-3623(85)90001-1
6. Burnstock G., Knight G. E. Cellular Distribution and Functions of P2 Receptor Subtypes in Different Systems. *International Review of Cytology*, 2004, vol. 240, pp. 31–304. https://doi.org/10.1016/S0074-7696(04)40002-3
7. Burnstock G., Verkhratsky A. Evolutionary Origins of the Purinergic Signalling System. *Acta Physiologica*, 2009, vol. 195, no. 4, pp. 415–447. https://doi.org/10.1111/j.1748-1716.2009.01957.x
8. Burnstock G., Verkhratsky A. Long-Term (Trophic) Purinergic Signalling: Purinergic Control of Development and Regeneration. *Purinergic Signalling*, 2012, vol. 8, no. 4, pp. 801–819. https://doi.org/10.1007/s11302-012-9314-7
9. Burnstock G., Verkhratsky A. Evolutionary Origins of Purinergic Signalling in Primitive Organisms. *Seminars in Cell & Developmental Biology*, 2012, vol. 23, no. 1, pp. 16–27. https://doi.org/10.1016/j.semcdb.2011.10.001
10. Jacobson K. A., Müller C. E. Medicinal Chemistry of Adenosine, P2Y and P2X Receptors. *Neuropharmacology*, 2016, vol. 104, pp. 31–49. https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2015.10.030

щие положительный заряд (амины и их производные, аминокислоты и их производные, аминоэфиры бензойной кислоты), также значительно снижают активность рассматриваемых липолитических ферментов, что предполагает наличие в активном центре фосфолипаз сайта связывания катионной холиновой группы ($^{+}N(Me)_3$-) фосфатидилхолина, т.е. анионного центра, ($S_Ш$, рис. 1), не обнаруженного до этого, и возможность регуляции активности фермента путем его избирательного блокирования [23].

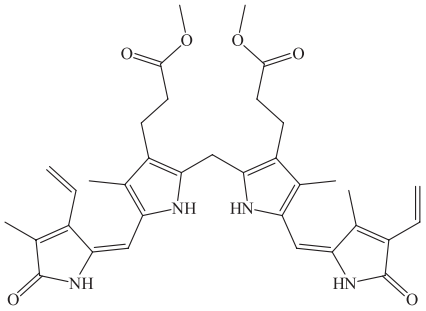
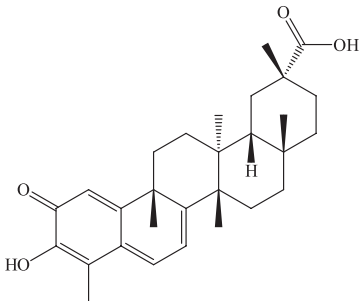
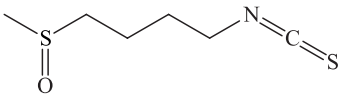
Наиболее известные ингибиторы секреторных $ФЛА_2$, биологический эффект которых направлен на купирование патологических состояний, вызванных повышением уровня активности фосфолипаз, приведены в табл. 1.

Т а б л и ц а 1. **Ингибиторы секреторных $ФЛА_2$**

T a b l e 1. **Inhibitors of secretory PLA_2**

Действующие вещества	Ингибирование активности, дозы (ED_{50})/ концентрации (IC_{50})	Биологический эффект
 Вареспладиб, R = H Вареспладиб-метил, R = Me	нано- и пикомолярные концентрации против 28 важных с медицинской точки зрения ядов змей, в том числе *Deinagkistrodon acutus*: IC_{50} 0.0037 мкг/мкл, ED_{50} 1.14 мкг/г, *Agkistrodon halys*: IC_{50} *in vitro*, 0,0016 мкг/мкл, ED_{50} *in vivo* 0,45 мкг/г	Противоядие от укуса змей [24]
 Индолсодержащее производное изоксазола	IC_{50} 10,23 мкМ *in vitro* против клеток рака молочной железы MCF-7 и рака предстательной железы DU145.	Антипролиферативное действие [25]
 Производные бифенила	IC_{50} 10, 40 и 400 нМ в отношении GIIA, GV и GX $сФЛА_2$ соответственно; $IC_{u,50}$ 0,1 нМ – в плазме крови; $IC_{u,80}$ 13 нМ в плазме крови обезьян при дозе 30 мг.	Антиишемическое действие [26]
 Производные 2-оксоамида на основе (*S*)-валина	IC_{50} 143 нМ и 68 нМ в отношении $сФЛА_2$ GIIA человека и мыши соответственно	Подавляющее выброс простагландинов (PGE_2) действие [27, 28]
 Производные хиноксалинона	IC_{50} 2,81, 6,28, 4,43 и 3,81 мкМ в отношении $сФЛА_2$ GIIA, GV, GX GXIIA человека соответственно	Антидиабетическое действие в комплексе с другими ферментами [29]

Окончание табл. 1

Действующие вещества	Ингибирование активности, дозы (ED_{50})/ концентрации (IC_{50})	Биологический эффект
 Диметиловый эфир билирубина	IC_{50} 4,0 мкМ в отношении GIIA $cФЛА_2$	Противоотечное действие [30]
 Цетастол, метин-тритерпен-хинина	IC_{50} 6 мкМ в отношении $cФЛА_2$ GIIA *in vitro*	Противоотечное и антиоксидантное действие [31]
 Сульфорафан	При 10–30 мМ в отношении $cФЛА_2$ GIIA	Антивоспалительное действие [32]

Таким образом, среди гетероциклических соединений, в том числе арил(гетерил)содержащих, обнаружен и описан ряд специфических высокоэффективных ингибиторов $ФЛА_2$, например, на основе индола [24], конъюгированных индолов и изоксазолов [25], производных бифенила [26], 2-оксоамида [27] (табл. 1) и др. [28, 33].

Наличие циклических заместителей – изоксазола и изоксазолина в молекулах 9-Me-, 10-Me-, 11-Me-аналогов простагландинов [34] или арильных радикалов в молекулах 3,5-функционализированных производных тиотетроновой кислоты [35], также существенно увеличивает ингибиторные свойства этих соединений по отношению к $ФЛА_2$. Значительная роль циклических заместителей в структуре ингибиторов $ФЛА_2$ для ингибирования фосфолипиолиза отмечена позже в патентах [36, 37].

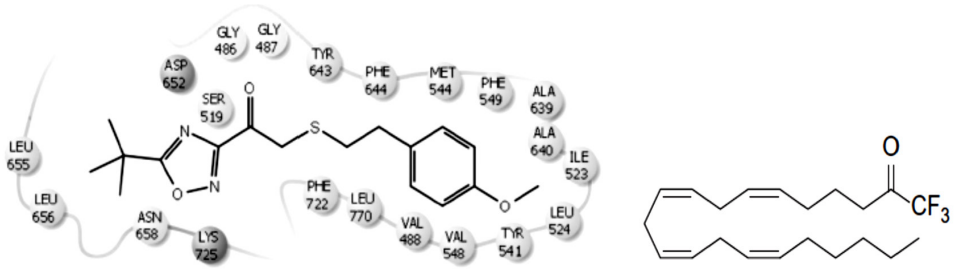


Рис. 2. Связывание кальцийнезависимыми $ФЛА_2$ ($iФЛА_2$) ингибитора, содержащего гетероциклическое кольцо (слева) вместо фторметиловой группы арахидоноилтрифторкетона (справа) по [38, 40]

Fig. 2. Binding by calcium-independent PLA_2 ($iPLA_2$) of an inhibitor containing a heterocyclic ring (left) instead of the fluoromethyl group of arachidonoyltrifluoroketone (right) according to [38, 40]

Сначала были идентифицированы фторокетоновые (арахидоноилтрифторкетон, рис. 2) ингибиторы как наиболее мощные ингибиторы Ca^{2+} независимой $ФЛА_2$ ($iФЛА_2$, группа VIA) [38]. Позже был обнаружен новый класс ингибиторов $iФЛА_2$, который содержит гетероциклическое кольцо вместо фторметиловой группы [39]. Моделирование молекулярной динамики показало, что карбонильная группа ингибитора образует водородные связи с оксианионным отверстием (Gly_{486}/Gly_{487}) и гетероциклическим кольцом с Asn_{658} (рис. 2, справа). Гидрофобный «хвост» ингибитора связывается в кармане, где обычно связывается *sn*-2 жирная кислота [40].

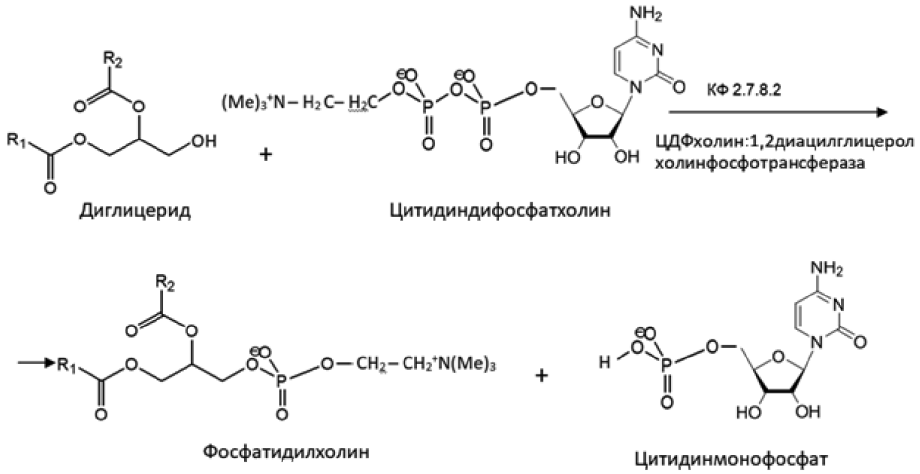
В работе [41] была использована стандартная методика гидролиза липопротеинового комплекса яичного желтка и обнаружено в присутствии нуклеозидного производного (4-нитрофенил) этилфосфата ацикловира снижение степени гидролиза субстрата до 60 % от исходного уровня. Было показано, что активность панкреатической $ФЛА_2$ в присутствии конъюгатов компонентов нуклеиновых кислот с фосфолипидами зависит от нуклеозидной компоненты ингибитора [42].

Биохимическая взаимосвязанность путей метаболизма фосфолипидов и компонентов нуклеиновых кислот. Полагают, что имеются множественные точки соприкосновения между метаболическими путями превращения фосфолипидов и компонентами нуклеиновых кислот. При этом известно, что действие нуклеозидов на гидролиз фосфолипидов осуществляется путем влияния на активность фосфолипаз как прямо, так и опосредованно.

Так, одной из основных функций цитозольной $ФЛА_2$ в организме является высвобождение из фосфолипидов арахидоновой кислоты, которая затем превращается в важнейшие внутриклеточные мессенджеры передачи внешнего сигнала на внутренний «язык клетки». Установлены аминокислотные остатки, необходимые для осуществления каталитической активности цитозольных $ФЛА_2$ – Asp-549, Asp-200, Ser-228, Ser-505. Активацию внутриклеточных (цитозольных) высокомолекулярных фосфолипаз связывают с фосфорилированием остатка серина (Ser-228 или Ser-505) с помощью киназ, которые в свою очередь стимулируются трифосфатами аденозина, гуанозина и цитозина. В частности, Ser-505, как было показано, является сайтом фосфорилирования для агонист-индуцируемого увеличения активности цитозольных фосфолипаз и высвобождения арахидоновой кислоты. Стимулирование АТФ активности $ФЛА_2$ также может происходить при фосфорилировании киназами Ser-727, Ser-437, Ser-454 других фосфолипаз [43].

Модулирование нуклеозидтрифосфатами активности внутриклеточной $ФЛА_2$ происходит опосредованно путем регуляции притока ионов кальция или активации соответствующих киназ. Полагают [3], что это происходит через нуклеотидные рецепторы, расположенные на поверхности клетки, функционирующие либо как ионотропные рецепторы P2X (P2XRs) или метаботропные рецепторы P2Y(P2YRs), связанные с G-белком. P2XR активируются АТФ и обеспечивают быструю передачу внешних сигналов. Семь субъединиц P2XR (от P2X1 до P2X7) образуют тримерные, часто гетеромерные каналы АТФ, проницаемые для ионов Na^+, K^+ и Ca^{2+}. Приток Na^+ приводит к деполяризации мембраны, а приток Ca^{2+} может, кроме того, запускать множество внутриклеточных событий, частично за счет активации митоген-активируемых протеинкиназ (MAPK), протеинкиназы C (PKC) и кальмодулина. Среди рецепторов группы P2XR многофункциональная субъединица P2X7R играет особую роль и, как полагают, является терапевтической мишенью для нескольких заболеваний. P2X7R обладает рядом уникальных конструктивных и функциональных особенностей. При высоких концентрациях АТФ P2X7R ответственна за ряд опосредуемых (пато)физиологических процессов, таких как клеточный стресс или воспаление, которые сопровождаются массивным высвобождением нуклеотидов. Продолжительная или повторяющаяся стимуляция может вызвать расширение пор P2X7R, позволяя молекулам размером до 900 Да диффундировать как внутрь, так и из клеток. Удлиненный С-конец P2X7R несет несколько структурных мотивов, которые, как предполагается, служат в качестве стыковочных сайтов для внутриклеточных белков и в регуляции функции рецепторов и клеточной локализации. Таким образом, P2X7R может запускать многовекторную передачу сигналов, включая активацию каспазы 1, фосфолипаз A_2 и D (ФЛD), MAPK, PKC, Src, киназы-3 гликогенсинтазы (GSK-3) или фосфатаз. При этом внутриклеточные метаболические пути действуют согласованно, стимулируя Ca^{2+}-зависимую цитозольную $ФЛА_2$, что приводит к высвобождению предшественника АА, что является лимитирующей стадией для АТФ-стимулированного биосинтеза PGE2 [3].

Вместе с тем известны примеры непосредственного действия в процессе метаболизма производных нуклеотидов на активность секреторной $ФЛА_2$. Так, синтез фосфатидилхолина в мозгу идет преимущественно через образование цитидиндифосфатхолина [44, 45]. Заключительная реакция синтеза фосфатидилхолина катализируется цитидиндифосфатхолин:1,2-диацилглицерол холинфосфотрансферазой (КФ 2.7.8.2):



Было показано, что временная закупорка средней церебральной артерии увеличивает активность $ФЛА_2$, а также количество матричной РНК (м-РНК) секреторной $ФЛА_2$ увеличивает активность фосфолипазы С (ФЛС), однако не оказывает влияния на экспрессию генов ФЛD [46]. При этой патологии было показано, что лечение с помощью ЦДФ-Х однозначно снижает активность $ФЛА_2$ и снижает количество м-РНК $ФЛА_2$. Снижается и активность ФЛС. Значительных изменений не было обнаружено при данном патологическом состоянии по отношению к активности цитозольных и кальцийнезависимых фосфолипаз. Следовательно, ЦДФ-Х снижает частоту возникновения необратимых некротических изменений данной области мозга при указанной патологии путем непосредственного воздействия на активность секреторных $ФЛА_2$ [46].

Кроме того, установлено, что АТФ увеличивает начальную скорость гидролиза фосфолипидов под действием цитозольной кальцийнезависимой $ФЛА_2$ миокарда независимо от концентрации, поверхностных свойств и физического состояния агрегированного субстрата [47–49]. В то же время добавление аденозина, гуанозина и инозина не влияет на активность данной изоформы фосфолипазы. Нуклеотид ди- и моно-фосфаты (АДФ, ГДФ, НАД(н), АМФ, ГМФ, сАМФ, сГМФ) а также полифосфаты (PPi) также не оказывают заметного эффекта. Ряд, отражающий степень воздействия некоторых эффекторов на цитозольную кальцийнезависимую $ФЛА_2$, может быть представлен в следующем виде: нуклеотидтрифосфаты > Mg^{2+} нуклеотидтрифосфаты > нуклеотиддифосфаты, НАД(н) >> нуклеотидмонофосфаты, циклические нуклеотидмонофосфаты. Из макрофагоподобной линии клеток P388D1 была также выделена и очищена изоформа фософлипазы, активность которой регулируется АТФ [50, 51].

В ряде работ было показано, что $ФЛА_2$ с фрагментами нуклеиновых кислот образует трудно разделимый комплекс. Так, при очистке $ФЛА_2$ на стадии первичной обработки поджелудочной железы свиньи в гомогенате присутствуют компоненты ДНК, в которых каноническое соотношение комплементарных гетероциклических оснований, А/Т и Г/Ц отсутствует. При образовании фрагментов ДНК, содержащих остатки фосфорной кислоты, возможно их взаимодействие с $ФЛА_2$ с образованием такого комплекса. Данное взаимодействие объясняется связыванием фосфатной группы, имеющейся в молекуле нуклеотида, со специфическим участком в активном центре фермента, предназначенным для связывания фосфатной группы субстрата [52].

Сведения относительно общего влияния нуклеозидов на активность пищеварительной низкомолекулярной ПНМ-$ФЛА_2$ практически отсутствуют. В связи с этим нами начаты систематические исследования роли пуриновых и пиримидиновых нуклеозидов и их производных в реакциях, катализируемых $ФЛА_2$. Зависимость структура–функция на стадии липолиза в мицеллярной фазе, а также от супрамолекулярной организации субстрата (мицеллы, липосомы, природный липопротеиновый комплекс), которые до этих исследований не изучались.

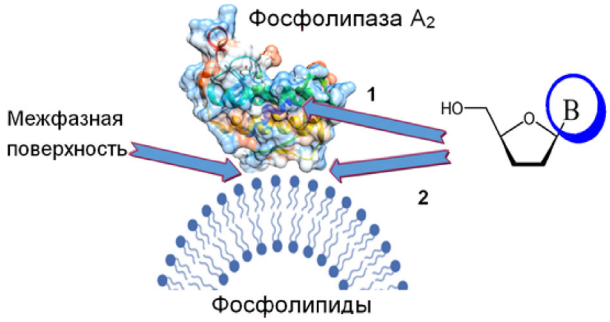


Рис. 3. Схема и участники реакции фосфолиполиза в присутствии нуклеозидов.
B – гетероциклическое основание, *1* – каталитический центр $ФЛА_2$, *2* – поверхность раздела липид–вода фосфолипидной липосомы. Структура панкреатической $ФЛА_2$ приведена с использованием PDB, 4g5i

Fig. 3. Scheme and participants of the phospholipolysis reaction in the presence of nucleosides.
B – heterocyclic base, *1* – PLA_2 catalytic center, *2* – lipid-water interface of phospholipid liposome.
The structure of pancreatic PLA_2 is shown using PDB, 4g5i

Влияние нуклеозидов и их производных на активность ПНМ-$ФЛА_2$ в условиях изменения структуры ее субстрата. Реакция фосфолиполиза происходит на поверхности раздела фаз липид–вода, которая проходит в две стадии: на первой происходит прикрепление фермента ($ФЛА_2$) к межфазной поверхности, на второй – собственно катализ – расщепление фосфолипидов. Действие нуклеозидов и/или их производных на фосфолиполиз может идти по пути инактивации самого фермента – прямое действие на активный центр $ФЛА_2$ (рис. 3, *1*) или путем ограничения его взаимодействия с межфазной поверхностью – опосредованное действие (рис. 3, *2*).

Поскольку фосфолипиды представляют собой не растворимые в воде соединения, активность $ФЛА_2$ зависит от надмолекулярной структуры субстрата, которая достаточно разнообразна. Так, в смеси органических растворителей с водой субстрат может быть организован в виде монослоя на границе раздела фаз липид–органический растворитель (или вода), а также образовывать обратные мицеллы, в которых внутри везикулы, наполненной водой, находятся гидрофильные части молекулы. В воде могут формироваться прямые однослойные мицеллы, когда гидрофобные компоненты фосфолипида направлены внутрь везикулы, бислойные липосомы, а также ламеллы с перемежающимися водой бислоями и липопротеиновые комплексы. Фосфолипидный матрикс является основой клеточных мембран. Поэтому для выявления механизма воздействия нуклеозидов и их производных на фосфолиполиз целесообразно сравнить активность $ФЛА_2$ в присутствии и в отсутствие эффекторов нуклеиновой природы в условиях изменения структуры субстрата (липопротеиновый комплекс, мицеллы, липосомы, клеточные мембраны).

Активность $ФЛА_2$ после преинкубации с компонентами нуклеиновых кислот и их производными в условиях фосфолиполиза липопротеинового комплекса. Удобным способом первичной оценки биологического действия эффекторов нуклеозидной природы на фосфолиполиз является полуколичественный метод диффузии $ФЛА_2$ в субстратсодержащий гель после преинкубации с модифицированными нуклеозидами, в том числе применяемыми в качестве лекарственных препаратов. В качестве субстрата используется липопротеиновый комплекс яичного желтка в виде эмульсии в буферном растворе с величиной pH, оптимальной для изучаемого фермента. Активность $ФЛА_2$ определяют по размерам зоны просветления (площади лизиса, *S*), образующейся в ходе реакции вокруг места нанесения фермента в результате продуцирования лизолипида, который придает эмульсии прозрачность. Ингибирование или активацию $ФЛА_2$ оценивают по относительному изменению зоны лизиса в присутствии эффектора ($S/S_0 = R^2 - r^2/R_0^2 - r^2$, где R, R_0 – радиусы зон просветления в присутствии исследуемого вещества и без него соответственно; r – радиус лунки [53].

С применением этого подхода среди аналогов модифицированных пуриновых и пиримидиновых нуклеозидов, используемых в качестве лекарственных препаратов, найдены ингибиторы реакции фосфолиполиза с участием $ФЛА_2$ (соединения **1–11**, табл. 2).

Обнаружено, что способность ингибировать $ФЛА_2$ варьирует в широком диапазоне – от отсутствия активности у цитидина (Cyd), тимидина (Thd), рибозид тимина (ribo-Thd), 2′-дезоксиуридина

Т а б л и ц а 2. **Скрининг ингибиторного действия некоторых модифицированных нуклеозидов и их природных аналогов, в том числе используемых в качестве лекарственных препаратов**

T a b l e 2. **Screening of the inhibitory effect of some modified nucleosides and their natural analogues, including those used as drugs**

Шифр соединения	Модифицированные нуклеозиды, используемые в качестве лекарственных препаратов	Эффект $1-S/S_0$,%	Шифр соединения	Природные аналоги модифицированных нуклеозидов	Эффект $1-S/S_0$, %
1	Контроль	100			100
2	^{2F}Urd (2'-фторуридин)	0	**12**	dAdo (2'-дезоксиаденозин)	21
3	BVDU (бривудин)	36	**13**	Ado (аденозин)	11
4	^{6S}dGuo (6-тио-2'-дезоксигуанозин)	44	**14**	dGuo (2'-дезоксигуанозин)	21
5	Кинетинрибозид	51	**15**	Guo (гуанозин)	11
6	Флударабин	51	**16**	dCyd (2'-дезоксицитидин)	16
7	Неларабин	58	**17**	Cyd (цитидин)	0
8	^{5Br}Urd (5-бром-уридин)	75	**18**	Thd (тимидин)	0
9	Кладрибин	21	**19**	Ribo-Thd (рибозид тимина)	0
10	^{2F}Ado (2-фтор-аденозин)	21	**20**	^{2d}Urd (2'-дезоксиуридин)	0
11	^{2Cl}Ado (2-хлор-аденозин)	39,5	**21**	Urd (уридин)	11
			22	Ino (инозин)	11

П р и м е ч а н и е. S – площадь зоны лизиса в присутствии ингибитора; S_0 – в его отсутствие; S/S_0 – относительная активность; $1–S/S_0$ – ингибиторный эффект.

(dUrd), 2′-фтор-2′-дезоксиуридина (^{2F}Urd) до ингибирования в порядке увеличения эффективности в процентах: кладрибин (^{2F}dAdo), бривудин (BVDU), 2-хлор-аденозин (^{2Cl}Ado), 6-тио-2′-дезоксигуанозин (^{6S}dGuo), кинетинрибозид (5) и флударабин (6), неларабин (7) и 5-бром-уридин (^{5Br}Urd) на 21, 36, 39,5, 44, 51, 58 и 75 % соответственно. В то же время значительного ингибирующего эффекта модифицированных нуклеозидов не обнаружено (соединения **12–22**, табл. 2) [54].

Первичный скрининг действия ряда гуанозинсодержащих производных на фосфолиполиз липопротеинового комплекса яичного желтка показал, что гуанозин (Guo) и 2′-дезоксигуанозин (dGuo) снижали активность $ФЛА_2$ на 11 и 21 % соответственно. Однако ^{6S}dGuo ингибировал активность данного фермента на 44 % [54].

Из приведенных данных следует, что ингибирующая активность исследуемых нуклеозидов и их аналогов зависит от структуры модификации пуринового или пиримидинового основания.

В этой связи проведен скрининг эффекторного действия ряда производных рибавирина [виразола, 1-(β-D-рибофуранозил)-1H-1,2,4-триазол-3-карбоксамида, 7] – одного из наиболее известных противовирусных препаратов нуклеозидной природы (рис. 4). Ожидалось, что наличие нескольких различных заместителей в структуре производных виразола, представленных на рис. 4, могло бы способствовать усилению ингибирующего действия данных соединений на фосфолиполиз.

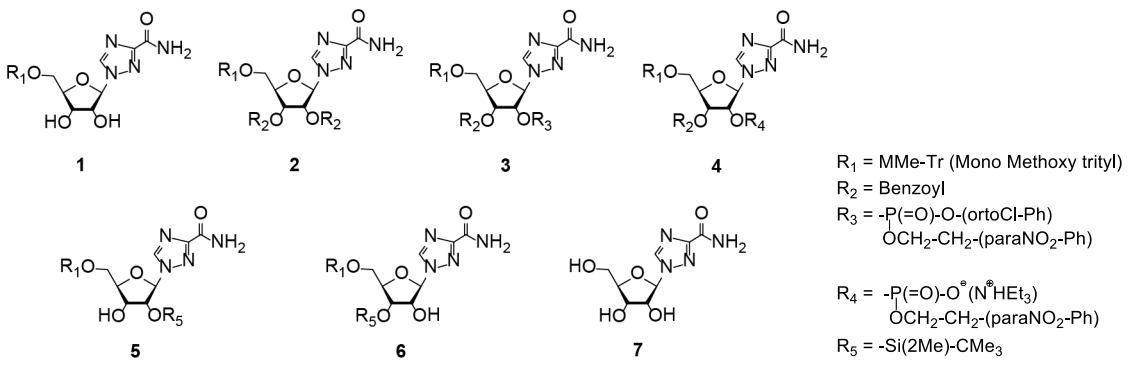


Рис. 4. Производные рибавирина (виразола), испытанные в качестве эффекторов $ФЛА_2$

Fig. 4. Ribavirin (virazole) derivatives tested as PLA_2 effectors

Наиболее заметный ингибирующий эффект на активность $ФЛА_2$ наблюдали в присутствии производных рибавирина **4** и **5**, содержащих объемные липофильные заместители в углеводном фрагменте исходного нуклеозида. Так, соединения **4** и **5** снижали гидролиз липидов до 60±5,3 и 68±6,1 % от контроля соответственно [55].

В то же время было установлено, что транс-зеатин-рибозид, структурная формула которого представлена ниже, является активатором $ФЛА_2$ [56], причем активность фермента увеличивается в 2,25 раза (табл. 3). Возможно, это связано с тем, что *транс*-зеатин-рибозид является фитогормоном, которые принимают участие в активации различных клеточных процессов растений. Так, известно, что рибозиды цитокининов обладают широким спектром биологической активности [57], в частности, *транс*-зеатин-рибозид используется в агрохимии как регулятор роста растений [58, 59].

Т а б л и ц а 3. **Действие на фосфолипиолиз транс-зеатин-рибозида**

T a b l e 3. **Effect of trans-zeatin-riboside on phospholipolysis**

Название вещества	Концентрация мкмоль/лунку	*D*, мм	*S*, мм^2	Активность, %	Активирование
Контроль		10	78,5	100	0
Транс-зеатин-рибозид	0,36	15	176,6	225	2,25 раза

П р и м е ч а н и е. *D* – диаметр зоны лизиса; *S* – площадь зоны лизиса.

Активирование фосфолипиолиза липопротеинового комплекса яичного желтка в разной степени обнаружено после преинкубации $ФЛА_2$ с аденозинмонофосфатом (АМФ) и аденозиндифосфатом (АДФ) (на 5 %), аденозинтрифосфатом (АТФ), ацикловирмонофосфатом и гуанозинмонофосфатом (ГМФ) (на 15 %), ацикловиртрифосфатом (на 38 %), структурные формулы которых представлены на рис. 5. Активность $ФЛА_2$ после взаимодействия с цитозинмонофосфатом (ЦМФ) увеличилась в 1,7 раза (табл. 4).

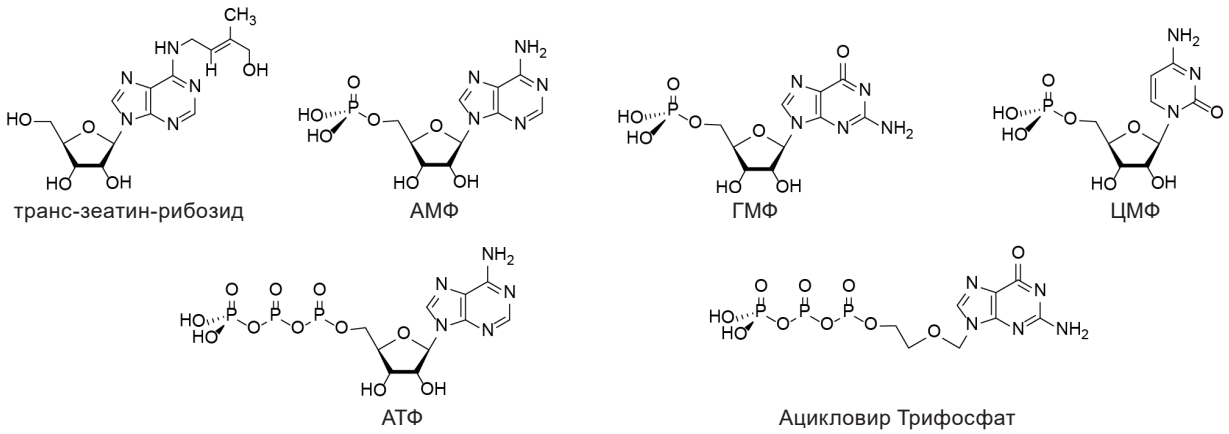


Рис. 5. Компоненты нуклеиновых кислот и их производные – активаторы $ФЛА_2$ по отношению к липопротеиновому комплексу яичного желтка

Fig. 5. Components of nucleic acids and their derivatives as activators of PLA_2 toward the hydrolysis of the lipoprotein complex of egg yolk

Таким образом, из приведенных данных видно, что липопротеиновый комплекс яичного желтка представляет собой удобную форму организации субстрата при первичном скрининге активности эффекторов, в том числе нуклеиновой природы, на фосфолипиолиз с участием $ФЛА_2$.

Не меньший интерес представляет изучение в модельной системе *in vitro* точек биохимического соприкосновения между метаболическими путями превращения фосфолипидов и компонентами нуклеиновых кислот, как важнейшими регуляторами обмена веществ, в ряду нуклеозиды–фосфолипиды в мицеллярной фазе–активность $ФЛА_2$, поскольку смешанные мицеллы фосфолипидов с желчными кислотами (мицеллярная фаза) имитируют состояние субстрата при его ферментативном гидролизе в процессе пищеварения.

Т а б л и ц а 4. **Сравнительная характеристика эффекта производных нуклеозидов на активность ФЛА$_2$ в зависимости от надмолекулярной организации субстрата**

T a b l e 4. **Comparative characteristics of the effect of nucleoside derivatives on the PLA$_2$ activity depending on the supramolecular organization of the substrate**

Соединение	Эффект
Ацикловирмонофосфат	*S*/*S*$_0$, ЛК – активирование 15 %, М, ФХ:ДОХ, активирование в 1,1 раза
Ацикловиртрифосфат	*S*/*S*$_0$, ЛК – активирование 38 % М, ФХ:ДОХ, активирование в 1,15 раза
Аденозинмонофосфат	*S*/*S*$_0$, ЛК – активирование 5 % М, ФХ:ДОХ ингибирование 40 % (50 мкМ), активация 15 % (0,5 мкМ) Л – не влияет
Аденозиндифосфат	*S*/*S*$_0$, ЛК – активирование 5 % М, ФХ:ДОХ, ингибирование 30 % (50 мкМ), не влияет (0,5 мкМ) Л – ингибирование до 40 %
Аденозинтрифосфат	*S*/*S*$_0$, ЛК – активирование 15 %; М, ФХ:ДОХ, ингибирование 40 % (50 мкМ), активация 20 % (0,5 мкМ) Л – не влияет
Циклический аденозинмонофосфат, переносчик гормонального сигнала внутрь клетки	*S*/*S*$_0$, ЛК – активирование в 1,3 раза, М, ФХ:ДОХ, ингибирование (50 мкМ) 80 % (2 мин) далее не влияет; Л – ингибирование 40 %
Гуанозинмонофосфат	*S*/*S*$_0$, ЛК – активирование на 15 %
Цитозинмонофосфат	*S*/*S*$_0$, ЛК – активирование в 1,7 Л – ингибирование 80 % (до 2 мин)
Фосфорной кислоты 2-(2-амино-6-оксо-3,6-дигидропурин-9-илметокси)-этиловый эфир 2-(4-нитрофенил)-этиловый эфир, фосфодиэфирное производное ацикловира	*S*/*S*$_0$, ЛК, ингибирование,38±5 %; *M,* ФХ: ДХ-*Na,* тип ингибирования конкурентный: увеличение K_m; снижение K_S, V_{max}=$V_{maxi,}$ K_i= 0,15 мМ IC_{50} = 100 мкМ
Бензойной кислоты 5-(6-бензоиламинопурин-9-ил)-4-{гидрокси-[2-(4-нитрофенил) этокси]-фосфорилокси}-2-[(2-метоксифенил)-дифенилметоксиметил]-тетрагидрофуран-3-иловый эфир	*S*/*S*$_0$, ЛК, ингибирование 36±5 % *M,* ФХ: ДХ-*Na,*тип ингибирования конкурентный: увеличение K_m; снижение K_S, V_{max}= $V_{maxi,}$ K_i= 0,1 мМ, IC_{50} = 50 мкМ

П р и м е ч а н и е. ЛК – липопротеиновый комплекс; М – мицеллы; Л – липосомы.

Катализ ФЛА$_2$ в присутствии и в отсутствие нуклеозидов и их производных в условиях мицеллярной фазы. Во время прохождения через желудочно-кишечный тракт нуклеозидов с лекарственными свойствами при введении *per os* их взаимодействие с панкреатической ФЛА$_2$, как сказано выше, может приводить к нежелательным эффектам. С одной стороны, может наблюдаться ингибирование или гиперактивация самого фермента, что может привести соответственно к недополучению организмом необходимых для жизнедеятельности жирных кислот или инициировать некротические процессы. С другой стороны, ФЛА$_2$ способна разрушить фосфолипидную составляющую липонуклеозидов до достижения ими органа-мишени.

Использование мицеллярной фазы фосфолипидов, сформированной желчными кислотами, моделирует условия отдельного акта пищеварения (pH, температура, физико-химическое состояние субстрата), в котором участвует ФЛА$_2$. Смешанные мицеллы фосфолипидов с детергентами в исследовании фосфолиполиза имеют дополнительные преимущества. В такой надмолекулярной форме все молекулы субстрата находятся на поверхности мицеллы и полностью доступны для фермента. Мицеллярные растворы фосфолипидов прозрачны и позволяют использовать в модельном эксперименте спектроскопию.

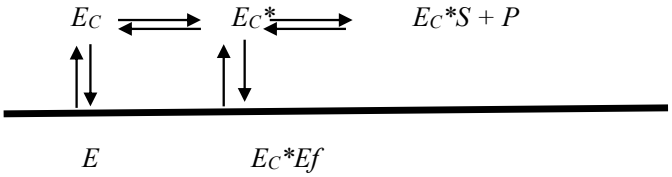
Так, методом дифференциальной спектроскопии (спектофотометр «Specord UV VIS», Германия, в режиме пропускания (Т, 75–125 %) в диапазоне длин волн 360–450 нм) с использованием

гемоглобина в качестве индикатора показано снижение в 1,5 раза активности панкреатической $ФЛА_2$ по отношению к ФХ в мицеллярной фазе (ФХ:ДОХ 1:3, моль/моль) в присутствии уридина (0,27 ОЕ), чем в его отсутствие (0,41 ОЕ) в аналогичных условиях реакции. В случае тимидина активность $ФЛА_2$ (20 нг $ФЛА_2$, 0,5 нмоль Т/мл Hb) в начальный период реакции также снижается в 1,3 раза (с 0,32 до 0,24 ОЕ). Активность фермента выражали как $\Delta D_{405–423}$ (оптических единиц, ОЕ), поскольку количество отщепленной жирной кислоты при фосфолиполизе пропорционально амплитуде дифференциального спектра [60].

Для подтверждения обнаруженного ингибиторного эффекта нуклеозидов продукты гидролиза ФХ в мицеллярной фазе под действием $ФЛА_2$ также анализировались методом тонкослойной хроматографии (ТСХ). Было показано снижение фосфолиполиза в присутствии фосфопроизводных аденозина на 30–40 %, а для циклического аденозинмонофосфата (цАМФ), переносчика гормонального сигнала внутрь клетки наблюдается снижение активности фермента на 80 % в аналогичных условиях реакции без цАМФ (табл. 4).

Количественная оценка фосфолиполиза в присутствии эффекторов с определением соответствующих констант реакции и на их основе механизма действия традиционными методами кинетики затруднена. Это связано с нерастворимостью субстрата в водной среде, его способностью образовывать надмолекулярные структуры (липосомы, ламеллы), в которых не все молекулы доступны для фермента. В мицеллярной фазе, сформированной детергентами, все молекулы субстрата максимально доступны ферменту, что с использованием метода Э. Денниса [61] позволяет проводить изучение ингибиторного действия производных нуклеозидов на кинетическом уровне.

Общая модель гидролиза $ФЛА_2$ субстратов, находящихся на границе раздела фаз, согласно [62], реализуется следующим образом:



Полагают, что фермент (E) из раствора связывается на поверхности раздела фаз и может находиться в конформациях (E_C и E_C*) с малой и высокой ферментативной активностью. Равновесие между этими двумя формами определяется свойствами как фермента, так и поверхности раздела фаз. Различия в ферментативной активности $ФЛА_2$ объясняются сдвигом равновесий [61, 62]: $E \rightleftarrows E_C \rightleftarrows E_C$*. Таким образом, в присутствии эффектора (Ef) происходит, вероятнее всего, конкуренция с субстратом за связывание в активном центре фермента и уменьшение образования продукта реакции.

Для изучения типа ингибирования фосфолиполиза скорость реакции рассчитывают, согласно схеме, по уравнению:

$$v = \frac{V_{\max} BA}{K_S K_m + K_m A + BA}, \quad (1)$$

где v – начальная скорость реакции, $V_{\max}$ – максимальная скорость реакции, A – общая концентрация фосфолипида и детергента в объеме (мМ), B – концентрация фосфолипида на поверхности раздела фаз (мольная доля).

Определение кинетических констант при начальных скоростях реакции (до 2 мин) осуществляют в системе, в которой концентрация фосфолипида в составе межфазной поверхности смешанных мицелл в пределах каждой зависимости (кривой) поддерживалась постоянной ([B] = const), тогда как общая концентрация мицеллярных центров связывания фермента ([A]) изменяется.

При диффузии фермента в субстратсодержащий гель наибольший ингибирующий эффект (до 68 % от контроля), как было отмечено выше, проявило производное виразола – одного из широкоизвестных противовирусных нуклеозидных препаратов, содержащего две защитные липофильные группы (рис. 4) [55].

В условиях использования субстрата $ФЛА_2$ в мицеллярной фазе, близких к физиологическим, также обнаружен выраженный ингибирующий эффект соединения **5** (рис. 4). Данное соединение в концентрации 0,5 мкмоль/мл снижает в 1,4 раза скорость гидролиза ФХ в мицеллярной фазе с 14,6 до 10,2 мкмоль·мин$^{-1}$·мг$^{-1}$. Применение метода Э. Денниса, адекватно описывающего двухэтапный фосфолиполиз, в результате кинетического анализа показано, что Виразол^{23Г} не влияет на величину *Ks*, но почти вдвое увеличивает значение K_m при неизменности V_{max} [54]. Кинетические параметры реакции свидетельствуют в пользу конкурентного механизма ингибирования **5** (рис. 3) панкреатической $ФЛА_2$ (K_i = 65 мМ). Таким образом, в присутствии **5** (рис. 4) как эффектора (*Ef*, см. на схеме) происходит, вероятнее всего, конкуренция с субстратом за связывание в активном центре фермента и уменьшение образования продукта реакции [63].

Наиболее эффективными ингибиторами панкреатической $ФЛА_2$ при гидролизе субстрата в мицеллярной фазе, как следует из данных табл. 4, проявили себя фосфодиэфирное производное ацикловира (K_i = 0,15 мМ) и фосфодиэфирное производное аденина (рис. 6) – 5-(6-бензоиламинопурин-9-ил)-4-{гидрокси-[2-(4-нитрофенил)этокси]-фосфорилокси}-2-[(2-метоксифенил)-дифенилметоксиметил]-тетрагидрофуран-3-иловый эфир бензойной кислоты (K_i = 0,1 мМ).

Таким образом, смешанные мицеллы фосфолипида с дезоксихолатом натрия являются наиболее близкой к природным условиям формой субстрата для изучения влияния нуклеозидсодержащих эффекторов на катализ под действием $ФЛА_2$, что позволяет охарактеризовать фосфолиполиз на кинетическом уровне и с помощью ингибиторного анализа определять механизм действия эффектора.

Полученные результаты говорят о перспективности поиска активных антипанкреатитных соединений в ряду про-лекарств (*pro-drugs*) нуклеозидной природы.

Катализ $ФЛА_2$ в присутствии и в отсутствие нуклеозидов и их производных в условиях ламеллярной фазы. Бислои (липосомы) являются широко распространенной формой молекулярных липидных ассоциатов в водной среде. Липидный бислой представляет собой термодинамически устойчивую структуру, образованную липидными молекулами в водной среде и состоящую из двух монослоев липидных молекул, ориентированных углеводородными цепями друг к другу, а полярными головками, направленными в сторону водной фазы. По своей структуре липосомы бывают однослойными (моноламеллярные – один замкнутый в кольцо бислой с внутренним пространством, заполненным водой) и многослойными (мультиламеллярные – несколько бислоев, перемежающихся водной прослойкой). Липосомы по сравнению с мицеллами фосфолипидов имеют более уплощенную сферу межфазной поверхности и часть липида (до 40 %), находящегося на внутренней стороне бислоя. Поэтому для $ФЛА_2$ при фосфолиполизе липосом доступна лишь часть субстрата, чем в случае мицелл, когда весь фосфолипид находится на межфазной поверхности.

Липидный бислой – основа молекулярной организации биологических мембран, поэтому липосомы представляют собой удобную модель клеточной мембраны и могут служить индикатором устойчивости к действию пищеварительных $ФЛА_2$ после их взаимодействия с пролекарствами нуклеотидной природы. Например, в случае активации этих ферментов под действием нуклеозидов и их производных ожидается повышенное разрушение липосом, что подразумевает при экстраполяции на живой организм вероятность возникновения язв в желудочно-кишечном тракте. В случае ингибирования $ФЛА_2$, как после инкубации с аденозиндифосфатом и циклическим аденозинмонофосфатом (на 40 %, табл. 4) или цитозинмонофосфатом (на 80 %, табл. 4), опасность разрушения клеточной мембраны маловероятна.

Структура липидов в бислое (гелевая или жидкокристаллическая) определяется как ламеллярная липидная бислойная фаза. Липиды в жидкокристаллическом состоянии

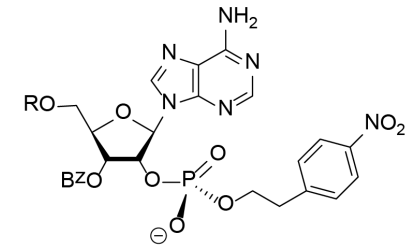


Рис. 6. Фосфодиэфирное производное аденина – ингибитор панкреатической $ФЛА_2$

Fig. 6. Phosphodiester derivative of adenine – inhibitor of pancreatic PLA_2

имеют высокую молекулярную мобильность, поэтому бислой представляет собой текучую, жидкую фазу, и липосомы при различных повреждениях сохраняют такую структуру, а их бислой способен к самозалечиванию дефектов, возникающих в нем. При этом текучесть бислоя и его гибкость обеспечивают высокую пластичность липосомам. В связи с этим фосфолипидные везикулы (липосомы) в качестве своеобразных контейнеров для доставки лекарственных средств по сравнению с традиционными лекарственными формами имеют веские преимущества: наименее травматичны, обладают самым высоким сродством к клеточным мембранам, снижают токсичность действующего вещества лекарственного средства.

Эффективность транспортировки лекарственных средств в таких липидных контейнерах зависит от устойчивости липосом к воздействию различных факторов внутренней среды организма, таких, как липолитическая активность плазмы крови или клеточной поверхности, обмен или перенос липидов мембраны липосом на компоненты плазмы или клеточных мембран, воздействие липолитических ферментов лизосом в процессе эндоцитоза и др. При прохождении липосом к органу-мишени через биологическое пространство возможно изменение устойчивости липидной капсулы к действию липолитических ферментов в результате взаимодействия различных белков с заряженной поверхностью фосфолипидов и др.

Установлены важные закономерности трансформации лекарственных средств при участии фосфолипаз и продемонстрирована их функциональная причастность к процессам утилизации лекарственных соединений в организме. В рамках многолетнего изучения исследована чувствительность к липолитической деградации фосфолипидных везикул одно- и двухкомпонентных по липиду, а также в условиях, моделирующих воздействие факторов внешней (воздействие гамма-облучения) и внутренней среды (этанол, интегральные, периферические и растворимые белки). Обнаружена повышенная устойчивость к ферментативной деградации липосом, состав которых представляет собой эквимолярную смесь фосфатидилглицерина и сфингомиелина, как потенциальных переносчиков с целью уменьшения токсичности лекарственных средств, в том числе полученных и на основе компонентов нуклеиновых кислот (липосомальное инкапсулирование лекарств) [64].

Катализ ФЛА$_2$ бифункциональных субстратов на основе КНК. В развитие представленных выше исследований синтезированы конъюгаты фосфолипидов с компонентами нуклеиновых кислот и охарактеризована их устойчивость к липолитической активности ФЛА$_2$. В табл. 5 представлены липонуклеозиды на основе фосфатидилхолина и флударабина, которые отличаются положением жирных кислот (1,2- и 1,3-) в углеродном скелете фосфолипида [5].

В экспериментах *in vitro* показано, что как 1,2-, так и 1,3-диацилглицерофосфолипидные производные флударабина (**2–5**) могут подвергаться гидролизу под действием ФЛА$_2$ из поджелудочной железы свиньи. В результате гидролиза фосфолипидных конъюгатов флударабина (**2–5**) панкреатической ФЛА$_2$ образуется лизопроизводное и выделяется одна молекула жирной кислоты. Показано, что между 1,2- и 1,3-изомерами существуют значительные различия в начальной скорости гидролиза и времени половинного гидролиза. Установлено, что 1,3-фосфолипидные производные флударабина гидролизуются медленнее их 1,2-изомеров [5].

Также установлено, что 5’-(rac-1-гексадецил-2-пальмитоил-*sn*-глицеро-3-фосфо)-3’-азидо-3’-дезокситимидин (**I**, рис. 7) и 5’-(rac-1-гексадецил-2-пальмитоил-*sn*-глицеро-3-фосфо)-2’,3’-диде-

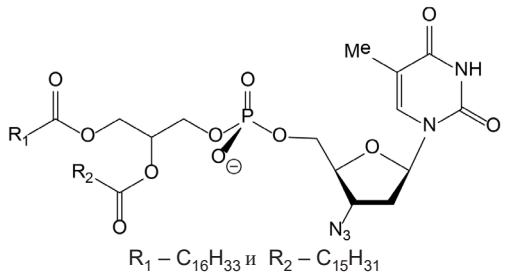
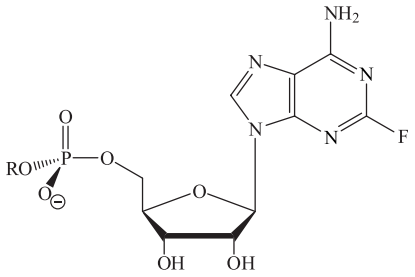
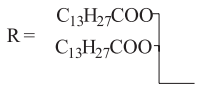
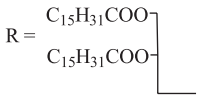
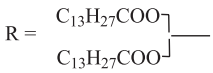
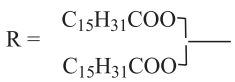


Рис. 7. Липонуклеозид, являющийся наиболее приемлемым субстратом для ФЛА$_2$ пчелы и ФЛD [65]

Fig. 7. Liponucleoside, which is the most acceptable substrate for bee PLA$_2$ and PLD [65]

Т а б л и ц а 5. **Гидролиз липоконъюгатов 9-β-D-арабинофуранозил-2-фтораденина (флударабина, F-ara-A)**

T a b l e 5. **Hydrolysis of 9-β-D-arabinofuranosyl-2-fluoroadenine lipoconjugates (fludarabine, F-ara-A)**

Шифр соединения	Конъюгаты	*V*, мкмоль мин$^{-1}$ мг$^{-1}$
1		
2		5,9 ± 1,7
3		3,1 ± 1,4
4		0,42 ± 0,07
5		0,38 ± 0,09

гидро-3’-дезокситимидин являлись хорошими субстратами для ФЛА$_2$ пчелы: за 30 мин их гидролиз достигал 90 и 55 % соответственно [65].

С учетом того что наименее разрушаемым липидом под действием панкреатической ФЛА$_2$ в мицеллярной фазе является ФЭ, синтезированы конъюгаты последнего (рис. 8) с компонентами нуклеиновых кислот (КНК), которые обладают противовирусным или противоопухолевым действием [42, 66–71].

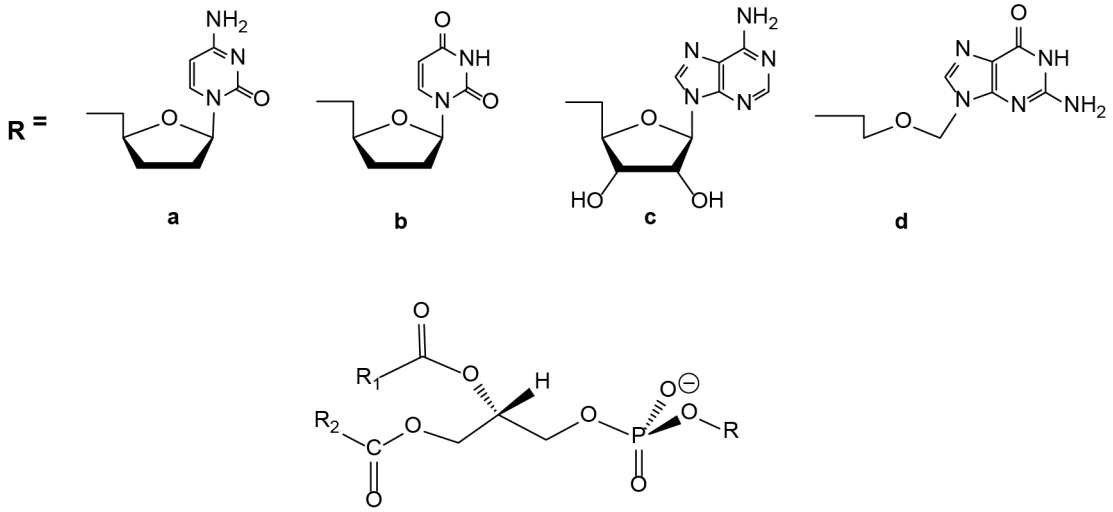


Рис. 8. Конъюгаты ФЭ с компонентами нуклеиновых кислот: *a* –2’,3’-дидезоксицитидил, *b* – 2’,3’-дидезоксиуридил, *c* – аденозил, *d* – 9-[(2-гидроксиэтокси)метил]-гуанозил (ацикловир); R_1, R_2 – остаток жирной кислоты

Fig. 8. PE conjugates with nucleic acid components: *a* – 2’,3’-dideoxycytidyl, *b* – 2’,3’-dideoxyuridyl, *c* – adenosyl, *d* – 9-[(2-hydroxyethoxy) methyl] -guanosyl (acyclovir); R_1, R_2 – fatty acid residue

Скорость ферментативного гидролиза химерных субстратов в мицеллярной фазе, в молекулах которых целенаправленно модифицирован этаноламиновый или холиновый фрагменты, втрое снижена по сравнению с природными фосфолипидами (табл. 6), что свидетельствует о существовании анионного катионсвязывающего сайта в активном центре $ФЛА_2$ для электростатических взаимодействий фермента с организованной межфазной поверхностью липид–вода [42, 69].

Т а б л и ц а 6. **Характеристика липоконъюгатов на основе фосфатидилэтаноламина (ФЭ)**

T a b l e 6. **Characteristics of lipoconjugates based on phosphatidylethanolamine (PE)**

Конъюгат	Физико-химическая характеристика соединений	Гидролиз, % Скорость, мкмоль·мин$^{-1}$·мг$^{-1}$
5’-O-[N-этил-2-(1,2-диацил-*sn*-глицеро-3-фосфо)]-фосфоамидат-2’,3’-дидезоксицитидин, 3a	ТСХ, *Rf* = 0,5 (хлороформ:метанол:вода – 10:6:1), УФ (хлороформ:метанол 2:3), λ нм (ε, рис.1, 2): pH 7, 270 max (7800); pH 3, 283 max (9500)	ФЭА – 80, конъюгата – 30, скорость гидролиза составила соответственно 0,11 и 0,04 (относит. скорость 0,31)
5’-O-[N-этил-2-(1,2-диацил-*sn*-глицеро-3-фосфо)]-фосфоамидат-2’,3’-дидезоксиуридин 3b неустойчив	ТСХ, *Rf* = 0,5 (хлороформ:метанол:вода – 10:6:1), УФ (хлороформ:метанол 2:3), λ нм (ε, рис. 3): 262 max (5700)	ФЭА – 62, конъюгата –36
2’,3’-дидезокси-5’- O -(1,2-диацил-*sn*-глицеро-3-фосфо)уридин 7	Структура полученного соединения 7 подтверждается совокупностью физико-химических данных: ЯМР P31, УФ-спектров, ПМР	ФЭА – 80, конъюгата – 36, скорость гидролиза конъюгата составила 0,05 (относительная скорость 0,45)
5’-O-[N-этил-2-(1,2-диацил-*sn*-глицеро-3-фосфо)]-фосфоамидат-аденозин 11	ТСХ, *Rf* = 0,5 (хлороформ:метанол:вода – 10:6:1), УФ (хлороформ), λ нм (ε): pH 7, 260 max (11 000)	ФЭА – 62, конъюгата – 60
5’-O-[N-этил-2-(1,2-диацил-*sn*-глицеро-3-фосфо)]-фосфоамидат-ацикловир 14	ТСХ, *Rf* = 0,5 (хлороформ:метанол:вода – 10:6:1),УФ (хлороформ:метанол 2:3), λ нм (ε): pH 7, 249 max (8800), pH 3, 275 sh	ФЭА – 44, конъюгата – 25

Кроме того, было обнаружено, что фосфолипидный «якорь» фосфатидилклофарабина [72–74] и фосфатидилбривудина [75], структурные формулы которых представлены ниже (рис. 9), полностью устойчив к действию $ФЛА_2$ в условиях мицеллярной фазы, моделирующей пищевую эмульсию в желудочно-кишечном тракте, поскольку не было получено соответствующего лизопроизводного [72–75].

В качестве одного из возможных подходов практического применения данных результатов получены липосомы с использованием коньюгата ацикловир-5-монофосфата с фосфатидилэтаноламином в виде липосом (рис. 10), которые практически не гидролизуются $ФЛА_2$ поджелудочной железы в течение 30 мин.

Приведенные в табл. 6 данные свидетельствуют, что конъюгаты производных компонентов нуклеиновых кислот и фосфолипидов в качестве модифицированных бифункциональных фосфолипазных субстратов на основе КНК обладают потенциально повышенной устойчивостью к липолитической активности. Обнаружена наибольшая устойчивость к действию панкреатической $ФЛА_2$ конъюгатов фосфолипидов с пуриновыми нуклеозидами по сравнению с аналогами, содержащими пиримидиновые нуклеозиды.

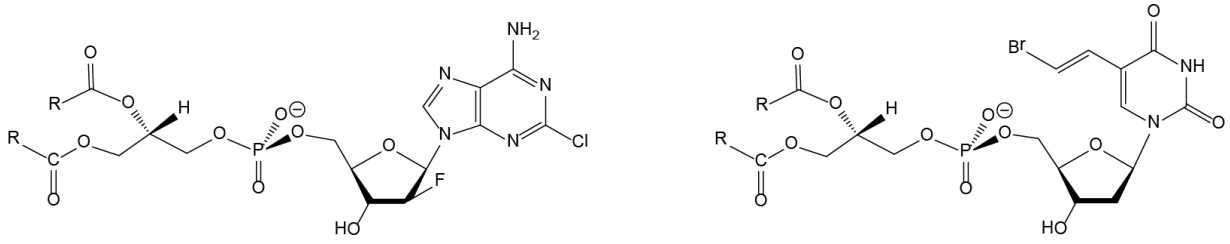
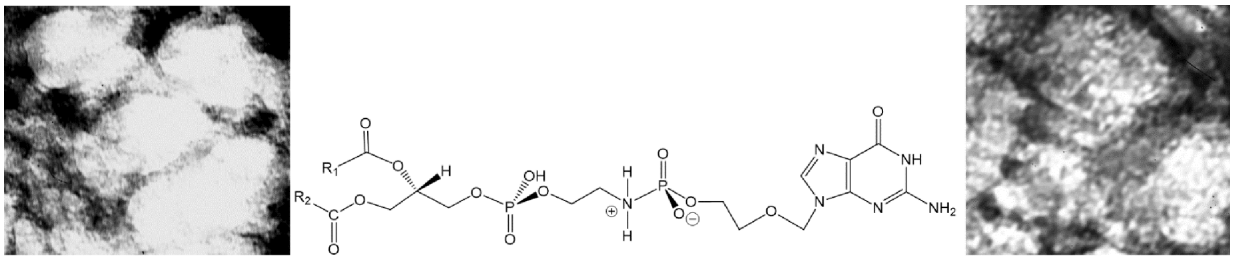


Рис. 9. Конъюгаты фосфатидилхолина с клофарабином (слева) и бривудином (справа)

Fig. 9. Phosphatidylcholine conjugates with clofarabine (left) and brivudine (right)



1 2

Рис. 10. Электронные микрофотографии липосом, полученных с помощью электронного микроскопа JEM-100CX без контрастного вещества методом нанесения препарата на пленку-подложку форм-вара (×100 000, размеры липосом 180–200 нм) из ацикловир-5'-монофосфата с ФЭ (структурная формула приведена в центре) до (*1*) и после (*2*) обработки $ФЛА_2$

Fig. 10. Electron micrographs of liposomes obtained using a JEM-100CX electron microscope without contrast medium by applying the drug to a form-var support film (× 100,000, liposome sizes 180–200 nm) from acyclovir-5'-monophosphate with PE (the structural formula is shown in the center) before (*1*) and after (*2*) treatment with PLA_2

Сохранение от разрушения панкреатической $ФЛА_2$ фосфолипидного «якоря» в липонуклеозидах исключительно важно, поскольку необходимо как для последующего внедрения такого конъюгата в клеточную мембрану, так и при образовании липосомальных «контейнеров». Это обеспечивает также целостную доставку к пораженным органам противоопухолевых и противовирусных лекарственных средств на основе КНК, снижает их токсичность и повышает биодоступность.

Заключение. Проведенный краткий анализ литературных и собственных исследований показал, что биохимическая взаимосвязанность функций в ряду «нуклеозиды–фосфолипаза $А_2$–фосфолиполиз» играет важную роль в метаболизме фосфолипидов и состоит в регуляторном действии компонентов нуклеиновых кислот. Нуклеозиды оказывают разнонаправленное воздействие на активность $ФЛА_2$, угнетая или стимулируя гидролиз фосфолипидов как источника необходимых жирных кислот и основы для выработки вторичных мессенджеров (простагландинов, лейкотриенов и тромбоксанов), обусловливающих многие важнейшие процессы жизнедеятельности.

Среди аналогов модифицированных пуриновых и пиримидиновых нуклеозидов, а также используемых в качестве лекарственных препаратов найдены ингибиторы реакции фосфолиполиза под действием $ФЛА_2$. Обнаружено, что способность ингибировать $ФЛА_2$ варьирует в широком диапазоне – от отсутствия эффекта (цитидин, тимидин, рибозид тимина, 2′-дезоксиуридин, 2′-дезокси-2′-фторуридин) до ингибирования в диапазоне от 21 до 75 % (кладрибин, бривудин, 2-хлор-аденозин, 6-тио-2′-дезоксигуанозин, кинетинрибозид, флударабин, неларабин и 5-бромуридин). Как и следовало ожидать, ингибирующие свойства нуклеозидов зависят от структуры молекулы в широком диапазоне заместителей. Преинкубация *in vitro* $ФЛА_2$ с АМФ, АДФ, АТФ, ацикловиртрифосфатом, ГМФ, ЦМФ, *транс*-зетин-рибозидом активирует гидролиз липопротеинового комплекса яичного желтка.

Липоконъюгаты также обнаружили различные субстратные свойства по отношению к панкреатической $ФЛА_2$, являясь либо хорошими субстратами (1,2-, и 1,3-диацилглицерофосфолипидные производные флударабина), либо вообще не гидролизуясь (фосфатидильные производные клофарабина и бривудина). Следовательно, активность синтезированных липонуклеозидов в качестве субстратов $ФЛА_2$ зависит от структуры как пуринового, так и пиримидинового основания.

Установление закономерностей ферментативного гидролиза фосфолипидов в присутствии нуклеозидов и их производных с использованием комплекса природных форм организации субстрата (мицеллы с желчными кислотами, липопротеиновый комплекс яичного желтка, бислойные фосфолипидные мембраны) дает возможность контроля и управления нежелательными побочными эффектами, связанными с сохранностью липоформы пролекарств на основе КНК, при их транспортировке к органу-мишени. Это позволяет также предложить рекомендации по проведению биоиспытаний рассматриваемого класса соединений.

Так, установление устойчивости к действию панкреатической фосфолипазы A_2 фосфолипидного «якоря» синтезированных липонуклеозидов показывает, что биоиспытания фосфатидилклофарабина и коньюгата ацикловир-5-монофосфата с фосфатидилэтаноламином могут быть в дальнейшем проведены при любом способе введения *in vivo* (и *per os*, и внутривенно). Определение оптимальных для применения *in vivo* препаративных липоформ остальных изучаемых нуклеозидных коньюгатов требует дальнейшего изучения *in vitro* их свойств в виде различных надмолекулярных форм организации, как, например, одно- или двухкомпонентные по фосфолипиду липосомы.

Анализ представленных выше результатов позволяет говорить о целесообразности дальнейшего развития этих исследований, в том числе в плане практической реализации результатов для развития энзимопатологии и энзимодиагностики с применением липолитических ферментов – приоритетного направления биохимических исследований, нового для Республики Беларусь.

Благодарности. Работа выполнена при финансовой поддержке исследований в области изучения липоконъюгатов как перспективных форм лекарственных препаратов Белорусского республиканского фонда фундаментальных исследований (гранты Б04-228, Х07-181, Х10- 096) и Президиума Национальной академии наук Беларуси (ПБП №116-12-032019)

Acknowledgements. The work was funded by the financial support of the research in the field of studying lipoconjugates as promising forms of drugs from the Belarusian Republican Foundation for Basic Research (grants B04-228, X07-181, X10-096) and the Presidium of the National Academy of Sciences of Belarus (PBP No. 116-12-032019).

Список использованных источников

1. Брокерхофф, Х. Липолитические ферменты / Х. Брокерхофф, Р. Дженсен. – М.: Мир, 1978. – 330с.

2. Mouchlis, V. D. Phospholipase A_2 catalysis and lipid mediator lipidomics / V. D. Mouchlis, E. A. Dennis // Biochim. Biophys. Acta. Mol. Cell. Biol. Lipids. – 2019. – Vol. 1864(6). – P. 766–771. https://doi.org/10.1016/j.bbalip. 2018.08.010

3. Zimmermann, H. Extracellular ATP and other nucleotides–ubiquitous triggers of intercellular messenger release / H. Zimmermann // Purinergic. Signal. – 2016 – Vol. 12(1). – P. 25–57. https://doi.org/10.1007/s11302-015-9483-2

4. Nucleoside conjugates. Synthesis and biological activity of anti-HIV7 nucleoside conjugates of ether and thioether phospholipids / C. I. Hong [et al.] // J. Med. Chem. – 1996. – Vol. 39, N 9. – P. 1771–1777. https://doi.org/10.1021/jm950620o

5. Фармакокинетические свойства и энзиматический гидролиз диацилглицерофосфатных производных флударабина / И. А. Цибульская [и др.] // Докл. Нац. акад. наук Беларуси. – 2016. – Т. 60, № 1. – С. 65–71.

6. Synthesis of phospholipid_ribavirin conjugates / I. A. Oleynikova [et al.] // Helv. Chim. Acta. – 2013. – Vol. 96, N 3. – P. 463–472. https://doi.org/10.1002/hlca.201200203

7. Lipid conjugates of antiretroviral agents. I. Azidothymidine-monophosphate-diglyceride: anti-HIV7 activity, physical properties, and interaction with plasma proteins / J. M. Steim [et al.] // Biochem. Biophys. Res. Conimun. – 1990. – Vol. 171, N I. – P.451–457. https://doi.org/10.1016/0006-291x(90)91414-n

8. Hostetler, K. Y Phosphatidylazidothymidine. Mechanism of antiretroviral action in CEM cells / K. Y. Hostetler, D. A. Carson, D. D. Richman // Biol. Chem. – 1991. – Vol. 266, N 18. – P. 11714–11717. https://doi.org/10.1016/s0021-9258(18)99015-0

9. Cellular metabolism in lymphocytes of a novel thioether-phospholtpid-AZT conjugate with anti-HIV-1 activity / G. L. Kucera [et al.] // Antiviral Res. – 2001. – Vol. 50, N 2. – P. 129–137. https://doi.org/10.1016/s0166-3542(01)00137-1

10. Химико-энзиматическая модификация компонентов нуклеиновых кислот и биохимическое моделирование как научно-практическая основа поиска, создания и производства противовирусных и противоопухолевых лекарственных средств / Е. Н. Калиниченко [и др.] // Вестн. ФФИ. – 2006. – № 3. – С. 32–57.

11. Владимиров, В. Г. Острый панкреатит. Экспериментально-клинические исследования / В. Г. Владимиров, В. И. Сергиенко. – М.: Медицина, 1986. – 240 с.

12. Various secretory phospholipase A_2 enzymes are expressed in rheumatoid arthritis and augment prostaglandin production in cultured synovial cells / S. Masuda [et al.] // Febs J. – 2005. – Vol. 272, N 3. – P. 655–672. https://doi.org/10.1111/j.1742-4658.2004.04489.x

13. Phospholipase A_2 enzymes / I. Kudo [et al.] // Prostaglandins Other Lipid. Mediat. – 2002. – Vol. 68–69. – P. 3–58. https://doi.org/10.1016/s0090-6980(02)00020-5

14. Identification of a 27 bp 5'-flanking region element responsible for the lowlevel constitutive expression of the human cytosolic phospholipase A_2 gene / A. Miyashita [et al.] // Nucleic. Acids. Res. – 1995. – Vol. 23, N 2. – P. 293–301. https://doi.org/10.1093/nar/23.2.293

15. Lambeau, G. Receptors for a growing family of secreted phospholipases A_2 / G. Lambeau, M. Lazdunski // Trends. Pharmacol. Sci. – 1999. – Vol. 20, N 4. – P. 162–170. https://doi.org/10.1016/s0165-6147(99)01300-0

16. Studies on a mechanism by which cytosolic phospholipase A_2 regulates the expression and function of type IIA secretory phospholipase A_2 / H. Kuwata [et al.] // J. Immunol. – 2000. – Vol. 165, N 7. – P. 4024–4031. https://doi.org/10.4049/jimmunol.165.7.4024

17. Regulation of cytosolic phospholipase A_2 in rat endometrial stromal cells: the role of epidermal growth factor / B. M. Bany [et al.] // Mol. Reprod. Dev. – 1999. – Vol. 52,N 4. – P. 335–340. https://doi.org/10.1002/(sici)1098-2795(199904)52:4<335::aid-mrd1>3.0.co;2-f

18. Verheij, H. M. Structure and function of phospholipase A_2 / H. M. Verheij, A. J. Slotboom, G. H. de Haas // Rev. Physiol. Biochem. Pharmacol. – 1981. – Vol. 91. – P. 91–203.

19. Group II phospholipase A_2 mRNA synthesis is stimulated by two distinct mechanisms in rat vascular smooth muscle cells / T. Nakano [et al.] // FEBS Lett. – 1990. –Vol. 261, N 1. – P. 171–174. https://doi.org/10.1016/0014-5793(90)80663-4

20. Potential benefits and risks of omega-3 fatty acids supplementation to patients with COVID-19 / M. M. Rogero [et al.] // Free Radical Biology and Medicine. – 2020. – Vol. 156. – P. 190–199. https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2020.07.005

21. Large-Scale Plasma Analysis Revealed New Mechanisms and Molecules Associated with the Host Response to SARS-CoV-2 / E. Barberis [et al.] // Int. J. Mol. Sci. – 2020. – Vol. 21. – P. 8623–8648. https://doi.org/10.3390/ijms21228623

22. Литвинко, Н. М. Ингибирование фосфолипаз A_2 и С / Н. М. Литвинко // Вес. Нац. акад. навук Беларусі. Сер. хім. навук. – 2005. – № 4. – С. 113–124.

23. Литвинко, Н. М. Анионный центр панкреатической фосфолипазы A_2 свиньи / Н. М. Литвинко, Ю. И. Хургин, Е. Д. Каверзнева // Биохимия. – 1977. – Т. 42, № 1. – С. 85–94.

24. Small-molecule inhibitors as potential therapeutics and as tools to understand the role of phospholipases A_2 / A. Nikolaou [et al.] // Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Molecular and Cell Biology of Lipids. – 2019. – Vol. 1864, N6. – P. 941–956. https://doi.org/10.1016/j.bbalip.2018.08.009

25. Synthesis of new secretory phospholipase A_2-inhibitory indole containing isoxazole derivatives as anti-inflammatory and anticancer agents / S. R. Pedada [et al.] // Eur. J. Med. Chem. – 2016. – Vol. 112 – P. 289–297. https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2016.02.025

26. Discovery of AZD2716: a novel secreted phospholipase A_2 ($sPLA_2$) inhibitor for the treatment of coronary artery disease / F. Giordanetto [et al.] // ACS Med. Chem. Lett. – 2016. – Vol. 7, N 10. – P. 884–889. https://doi.org/10.1021/acsmedchemlett.6b00188

27. Development of a potent 2-oxoamide inhibitor of secreted phospholipase A_2 guided by molecular docking calculations and molecular dynamics simulations / S. Vasilakaki [et al.] // Bioorg. Med. Chem. – 2016. Vol. 24, N. 8. – P. 1683–1695. https://doi.org/10.1016/j.bmc.2016.02.040

28. Inhibitors of secreted phospholipase A_2 suppress the release of PGE_2 in renal mesangial cells / S. Vasilakaki [et al.] // Bioorg. Med. Chem. – 2016. Vol. 24, N 13. – P. 3029–3034. https://doi.org/10.1016/j.bmc.2016.05.017

29. New quinoxalinone inhibitors targeting secreted phospholipase A_2 and α-glucosidase / F. Alasmary [et al.] // J. Enzyme Inhib. Med. Chem. – 2017. – Vol. 32, N 1. – P. 1143–1151. https://doi.org/10.1080/14756366.2017.1363743

30. Dimethyl ester of bilirubin exhibits anti-inflammatory activity through inhibition of secretory phospholipase A_2, lipoxygenase and cyclooxygenase / V. Joshi [et al.] // Arch. Biochem. Biophys. – 2016. – Vol. 598. – P. 28–39. https://doi.org/10.1016/j.abb.2016.04.003

31. Celastrol modulates inflammation through inhibition of the catalytic activity of mediators of arachidonic acid pathway: secretory phospholipase A_2 group IIA, 5-lipoxygenase and cyclooxygenase-2 / V. Joshi [et al.] // Pharmacol. Res. – 2016. – Vol. 113. – P. 265–275. https://doi.org/10.1016/j.phrs.2016.08.035

32. Inhibitory effect of sulforaphane on secretory group IIA phospholipase A_2 / Y. Lee [et al.] // Int. J. Pharmacol. – 2018. – Vol. 14. – P. 187–193. https://doi.org/10.3923/ijp.2018.187.193

33. Inhibition of secretory phospholipase A_2. 1-Design, synthesis and structure–activity relationship studies starting from 4-tetradecyloxybenzamidine to obtain specific inhibitors of group II sPLA2s / L. Assogbaa [et al.] // European Journal of Medicinal Chemistry. – 2005. – Vol. 40, N 9. – P. 850–861. https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2005.03.027

34. Взаимосвязь между действием аналогов простагландинов на активность фосфолипазы A_2 и их биологической активностью/ Н. М. Литвинко [и др.] // Вес. Нац. акад. навук Беларусі. Сер. хім. навук. –1998. – № 4. С. 101–113.

35. 3,5-дизамещенные производные тиотетроновой кислоты – новые ингибиторы секреторных фосфолипаз A_2 / С. В. Кучуро [и др.] // Докл. Нац. акад. наук Беларуси. – 2004. – Т. 48, № 1. – С. 65-69.

36. Compositions and methods for inhibition of phospholipase A_2 mediated inflammation: Pat. US 7745489B2 / E. Dennis, T. Yaksh, K. K. Lucas, C. Svensson, D. A. Six, G. Kokotos, V. Constantinou-Kokotou. – Publ. date 29.06.2010.

37. Inhibitors of phospholipase enzymes: Pat. US20030153751A1 / J. Seehra, N. Kaila, J. Mckew, F. Lovering, J. Bemis, Y. Xiang. – Publ. date 14.08.2003.

38. Small-molecule inhibitors as potential therapeutics and as tools to understand the role of phospholipase A_2 / A. Nicolaou [et al.] // BBA – Molecular and Cell Biology of Lipids. – 2019. – Vol. 1864, N 6. – P. 941–956. https://doi.org/10.1016/j.bbalip.2018.08.009

39. Development of potent and selective inhibitors for group VIA calcium-independent phospholipase A_2 guided by molecular dynamics and structure-activity relationships / V. D. Mouchlis [et al.] // J. Med. Chem. – 2016. Vol. 59, N. 9. – P. 4403–4414. https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.6b00377

40. Mouchlis, V. D. Phospholipase A_2 catalysis and lipid mediator lipidomics / V. D. Mouchlis, E. A. Dennis // BBA – Molecular and Cell Biology of Lipids. – 2018. – Vol. 1864, N. 6. – P. 766–771. https://doi.org/10.1016/j.bbalip.2018.08.010

41. Скрининг действия фосфатных аналогов ацикловира на реакцию липолиза с участием панкреатической $ФЛА_2$ / Н. М. Литвинко [и др.] // Современное состояние и перспективы развития микробиологии и биотехнологии : сб. материалов междунар. науч. конф. – Минск, 2008. – Т. 2. – С. 17–19.

42. Действие фосфолипаз на химерные субстраты, созданные на основе фосфолипидов и компонентов нуклеиновых кислот / Н. М. Литвинко [и др.] // Докл. Нац. акад. наук Беларуси. – 2005. – Т. 49, № 4, – С. 70–73.

43. Nuclear translocation of cytosolic phospholipase A_2 is induced by ATP depletion / A. M. Sheridan [et al.] // J. Biol. Chem. – 2001. – Vol. 276, N 32. – P. 29899–29905. https://doi.org/10.1074/jbc.m103758200

44. Lykidis, A. Distribution of CTP:phosphocholine cytidylyltransferase (CCT) isoforms. Identification of a new CCTbeta splice variant / A. Lykidis, I. Baburina, S. Jackowski // J. Biol. Chem. – 1999. – Vol. – 274, N 38. – P. 26992–27001. https://doi.org/10.1074/jbc.274.38.26992

45. Baburina, I. Cellular responses to excess phospholipids / I. Baburina, S. Jackowski // J. Biol. Chem. – 1999. – Vol. 274, N 14. – P. 9400–9408. https://doi.org/10.1074/jbc.274.14.9400

46. CDP-choline significantly restores phosphatidylcholine levels by differentially affecting phospholipase A_2 and CTP: phosphocholine cytidylyltransferase after stroke / R. M. Adibhatla [et al.] // J. Biol. Chem. – 2006. – Vol. 281, N 10. – P. 6718–6725. https://doi.org/10.1074/jbc.M512112200

47. McHowat, J. Thrombin activates a membrane-associated calcium-independent PLA2 in ventricular myocytes / J. McHowat, M. H. Creer // Am. J. Physiol. – 1998. – Vol. 274, N 2, Pt 1. – P. 447–454. https://doi.org/10.1152/ajpcell.1998.274.2.C447

48. Hazen, S. L. ATP-dependent regulation of rabbit myocardial cytosolic calcium-independent phospholipase A_2 / S. L. Hazen, R. W. Gross // J. Biol. Chem. – 1991. – Vol. 266, N 22. – P. 14526–14534. https://doi.org/10.1016/S0021-9258(18)98718-1

49. Hazen, S. L. Human myocardial cytosolic $Ca^{(2+)}$-independent phospholipase A_2 is modulated by ATP. Concordant ATP-induced alterations in enzyme kinetics and mechanism-based inhibition / S. L. Hazen, R. W. Gross // Biochem. J. – 1991. – Vol. 280, N. 3. – P. 581–587. https://doi.org/10.1042/bj2800581

50. Ackermann, E. J. Inhibition of macrophage $Ca^{(2+)}$-independent phospholipase A_2 by bromoenol lactone and trifluoromethyl ketones / E. J. Ackermann, K. Conde-Frieboes, E. A. Dennis // J. Biol. Chem. – 1995. – Vol. 270, N 1. – P. 445–450. https://doi.org/10.1074/jbc.270.1.445

51. Ackermann, E. J. $Ca^{(2+)}$-independent cytosolic phospholipase A2 from macrophage-like P388D1 cells. Isolation and characterization / E. J. Ackermann, E. S. Kempner, E. A. Dennis // J. Biol. Chem. – 1994. – Vol. 269, N 12. – P. 9227–9233. https://doi.org/10.1016/S0021-9258(17)37098-9

52. Литвинко, Н. М. Комплексообразование фосфолипазы A_2 с фрагментами нуклеиновых кислот и способы их устранения / Н. М. Литвинко, А. П. Дрожденюк // Прикладная биохимия и микробиология. – 1996. – Т. 32, № 6. – С. 650–655.

53. Способ определения эффекторных свойств физиологически активных соединений: пат. BY 5752 / Н. М. Литвинко, С. В. Кучуро, Т. А. Желдакова, Е. Р. Филич. – Опубл. 07.01.2004.

54. Активность $ФЛА_2$ в присутствии модифицированных аналогов нуклеозидов / А. В. Лях [и др.] // Биотехнологии микроорганизмов: материалы междунар. науч.-практ. конф. посвящ. Ю. К. Фомичеву, Минск, 27–29 ноября 2019 г. – Минск, 2019. – С. 368–370.

55. Влияние производных рибавирина на катализ липолитических реакций / Н. М. Литвинко [и др.] // Молекулярные, мембранные и клеточные основы функционирования биосистем: сб. науч. тр. IX съезда Бел. общ. объед. фотобиологов и биофизиков, 23–25 июня 2010 г. – Минск, 2010. – С. 240–242.

56. Ремеева, Е. А. Ферментативный синтез транс-зеатин рибозида и определение его эффекторных свойств в отношении фосфолипазы A_2 / Е. А. Ремеева, Ю. Н. Артемьева // Молодежь в науке – 2020: тез. докл. XVII Междунар. конф. молодых ученых. – Минск, 2020. – С. 542 – 545.

57. Drenichev, M. S. Cytokinin nucleosides-natural compounds with a unique spectrum of biological activities / M. S. Drenichev, V. E. Oslovsky, S. N. Mikhailov // Current topics in medicinal chemistry. – 2016. – Vol. 16, N 23. – P. 2562–2576. https://doi.org/10.2174/1568026616666160414123717

58. Возможное участие цианобактерий в формировании гормональной системы растений / Г. В. Шевченко [и др.] // Физиология растений. – 2014. – Т. 96, № 3. – С. 170–176.

59. Натуральный trans-зеатин-рибозид 98 % Мин Цитокинин [Электронный ресурс]. – Режим доступа: https://offer.alibaba.com/product. – Дата доступа: 08.06.2020.

60. Изучение действия уридина на панкреатическую $ФЛА_2$ методом дифференциальной спектроскопии / Л. А. Скоростецкая [и др.] // Молекулярные, мембранные и клеточные основы функционирования биосистем: сб. тр. XlV съезда Бел. общ. объед. фотобиологов и биофизиков. – Минск: БГУ, 2019. – С. 43.

61. Deems, R. A. Kinetic analysis of phospholipase A_2 activity toward mixed micelles and its implications for the study of lipolytic enzymes / R. A. Deems, B. R. Eaton, E. A. Dennis // J. Biol. Chem. – 1975. – Vol. 250, N 23. – P. 9013–9020. https://doi.org/10.1016/S0021-9258(19)40687-X

62. Chemical Modification of the alpha–Amino Group in Snake Venom Phospholipases A_2. A Comparison of the Interaction of Pancreatic and Venom Phospholipases with Lipid–Water Interfaces / H. M. Verheij [et al.] // J. Biochemistry. – 1981. – Vol. 20, N 3. – P. 94–99. https://doi.org/10.1021/bi00504a016

63. Литвинко, Н. М. Ингибирование фосфолипазы A_2 производными виразола / Н. М. Литвинко // Докл. Нац. акад. наук Беларуси. – 2021. – Т.65, № 3. – С. 309–319. https://doi.org/10.29235/1561-8323-2021-65-3-309-319

64. Литвинко, Н. М. Активность фосфолипаз A_2 и С при биохимическом моделировании / Н. М. Литвинко. – Минск: Технопринт, 2003. – 350 с.

65. Расщепление фосфатидилнуклеозидов под действием фосфолипаз / Т. И. Новожилова [и др.] // Биоорганическая химия. – 2000. –Т. 26, № 3. – С. 238–240.

66. Синтез конъюгатов фосфатидовой кислоты с модифицированными компонентами нуклеиновых кислот и их чувствительность к действию фосфолипазы A_2 / Е. В. Жерносек [и др.] // Химические реактивы, реагенты и процессы малотоннажной химии: XVIII Междунар. науч.-технич. конф. – Минск, 2005. – С. 33.

67. Синтез 2',3'-дидезоксицитидин-5'-монофосфат-фосфатидилэтаноламина – фосфорамидата и его взаимодействие с фосфолипазой A_2 / Е. Н. Калиниченко [и др.] // Химия и биологическая активность азотсодержащих гетероциклов: сб. тр. 3-й междунар. конф. – Черноголовка, 2006. – С.

68. Лекарственные формы новых поколений и их устойчивость / Н. М. Литвинко [и др.] // Сахаровские чтения 2006 г.: экологические проблемы XXI века; сб. тр. 6-й междунар. науч. конф. – Минск, 2006. – С.

69. Влияние модификации этаноламинового фрагмента субстрата на активность панкреатической фосфолипазы A_2 / Н. М. Литвинко [и др.] // Вес. Нац. акад. нвук Беларусі. Сер. хім. навук. – 2006. – № 3. – С. 79–82.

70. Модифицированный 2',3'-дидезоксиуридином фосфолипид, фармацевтическая композиция и противоядие к действию яда кобры: пат. BY 11904 / Н. М. Литвинко, Е. Н. Калиниченко, Е. В. Жерносек, С. В. Кучуро. – Опубл. 30.06.2009.

71. Конъюгат фосфолипида с модифицированным нуклеозидом, фармацевтическая композиция и средство, повышающее устойчивость к действию панкреатической фосфолипазы A_2: пат. BY 11905 / Н. М. Литвинко, Е. Н. Калиниченко, Е. В. Жерносек, С. В. Кучуро. – Опубл. 30.06.2009.

72. Устойчивость диацилглицерофосфатных производных нуклеозидов по отношению к панкреатической $ФЛА_2$ / Д. О. Герловский [и др.] // Белорусские лекарства: материалы конф. – Минск, 2019. – С. 38–41.

73. Активность фосфолипазы A_2 по отношению к фосфолипидным коньюгатам / Е. А. Ремеева [и др.] // Молодежь в науке – 2019: тез. докл. XVI Междунар. конф. молодых ученых, г. Минск, 14-17 октября 2019 г. – Минск: НАН Беларуси. – 2019. – С. 556–558.

74. The enzymatic synthesis of Phospholipide-Nucleoside conjugates and study of their substrate activity for the digestive phospholipase A_2 / N. M. Litvinko [et al.] // Journal of Nanotechnoligy: Nanomedicine & Nanobiotechnology. – 2020. – Vol. 7. – P. 55–56.

75. Гидролиз фосфатидилбривудина под действием панкреатической ФЛА2 / Д. О. Герловский [и др.] // Молекулярные, мембранные и клеточные основы функционирования биосистем : тез. докл. междунар. науч. конф., Четырнадцатого съезда Белорус. обществ. об-ния фотобиологов и биофизиков, Беларусь, Минск, 17–19 июня 2020 г. – Минск: БГУ, 2019. – С. 207.

References

1. Brockerhoff H., Jensen R. G. *Lipolytic enzymes.* New York, Academic Press, 1974. 330 p. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-134550-1.X5001-1

2. Mouchlis V. D., Dennis E. A. Phospholipase A_2 catalysis and lipid mediator lipidomics. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Molecular and Cell Biology of Lipids.* 2019, vol. 1864, no. 6, pp. 766–771. https://doi.org/10.1016/j.bbalip.2018.08.010

3. Zimmermann H. Extracellular ATP and other nucleotides–ubiquitous triggers of intercellular messenger release. *Purinergic. Signal*. 2016, vol. 12, no. 1, pp. 25–57. https://doi.org/10.1007/s11302-015-9483-2

4. Hong C. I., Nechaev A., Kirisits A. J., Vig R., West C. R., Manouilov K. K., Chu C. K. Nucleoside conjugates. Synthesis and biological activity of anti-HIV7 nucleoside conjugates of ether and thioether phospholipids. *Journal of Medicinal Chemistry,* 1996, vol. 39, no. 9, pp. 1771–1777. https://doi.org/10.1021/jm950620o

5. Tsybulskaya I. A., Kulak T .I., Buravskaya T. N., Golubeva M. B., Shabunya P. S., Fatykhova S. A., Kurman P. V., Kalinichenko E. N. Pharmacokinetic properties and the enzymatic hydrolysis of diacylglyce-rophosphate fludarabine derivatives. *Doklady Natsional`noi akademii nauk belarusi = Dokladyof the National Academy of Sciences of Belarus*, 2016, vol. 60, no. 1, pp. 65–71 (in Russian).

6. Oleynikova I. A., Kulak T. I., Bolibrukh D. A., Kalinichenko E. N. Synthesis of phospholipid_ribavirin conjugates. *Helvetica Chimica Acta*, 2013, vol. 96, no. 3. 46, pp. 463–472. https://doi.org/10.1002/hlca.201200203

7. Steim J. M., Neto C. C., Sarin P. S., Sun D. K., Sehgal R. K., Turcotte J. G. Lipid conjugates of antiretroviral agents. I. Azidothymidine-monophosphate-diglyceride: anti-HIV7 activity, physical properties, and interaction with plasma proteins. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 1990, vol. 171, no. I, pp. 451–457. https://doi.org/10.1016/0006-291x(90)91414-n

8. Hostetler K. Y., Carson D. A., Richman D. D. Phosphatidylazidothymidine. Mechanism of antiretroviral action in CEM cells. *Journal of Biological Chemistry*, 1991, vol. 266, no. 18, pp. 11714–11717. https://doi.org/10.1016/s0021-9258(18)99015-0

9. Kucera G. L., Goff C., Iyer N., Morrisnatschke S., Ishaq K., Wyrick S., Fleming R., Kucera L. Cellular metabolism in lymphocytes of a novel thioether-phospholtpid-AZT conjugate with anti-HIV-1 activity. *Antiviral Research*, 2001, vol. 50, no. 2, pp. 129–137. https://doi.org/10.1016/s0166-3542(01)00137-1

10. Kalinichenko E. N., Mikhailopulo I. A.,, Litvinko N. M., Zinchenko A. I., Petrov P. T. Chemical-enzymatic modification of nucleic acid components and biochemical modeling as a scientific and practical basis for the search, creation and production of antiviral and antitumor drugs. *Vestnik Fonda fundamental'nykh issledovanii = Bulletin of the foundation for fundamental research*, 2006, no. 3, pp. 32–57 (in Russian).

11. Vladimirov V. G., Sergienko V. I. *Acute pancreatitis. Experimental clinical research*. Moscow, Meditsina Publ., 1986. 240 p. (in Russian).

12. Masuda S., Murakami M., Komiyama K., Ishihara M., Ishikawa Y., Ishii T., Kudo I. Various secretory phospholipase A_2 enzymes are expressed in rheumatoid arthritis and augment prostaglandin production in cultured synovial cells. *FEBS Journal ,* 2005, vol. 272, no. 3, pp. 655–672. https://doi.org/10.1111/j.1742-4658.2004.04489.x

13. Kudo I., Murakami M. Phospholipase A_2 enzymes. *Prostaglandins & Other Lipid Mediators,* 2002, vol. 68–69, pp. 3–58. https://doi.org/10.1016/s0090-6980(02)00020-5

14. Miyashita A., Crystal R. G., Hay J. G. Identification of a 27 bp 5'-flanking region element responsible for the low level constitutive expression of the human cytosolic phospholipase A_2 gene. *Nucleic Acids Research*, 1995, vol. 23, no. 2, pp. 293–301. https://doi.org/10.1093/nar/23.2.293

15. Lambeau G., Lazdunski M. Receptors for a growing family of secreted phospholipases A_2. *Trends in Pharmacological Sciences,* 1999, vol. 20, no. 4, pp. 162–170. https://doi.org/10.1016/s0165-6147(99)01300-0

16. Kuwata H., Yamamoto S., Miyazaki Y., Shimbara S., Nakatani Y., Suzuki H., Ueda N., Yamamoto S., Murakami M., Kudo I. Studies on a mechanism by which cytosolic phospholipaseA_2 regulates the expression and function of type IIA secretory phospholipase A_2. *The Journal of Immunology*, 2000, vol. 165, no. 7, pp. 4024–4031. https://doi.org/10.4049/jimmunol.165.7.4024

17. Bany B. M., Schultz G. A., Kennedy T. G. Regulation of cytosolic phospholipase A_2 in rat endometrial stromal cells: the role of epidermal growth factor. *Molecular Reproduction and Development*, 1999, vol. 52, no. 4, pp. 335–340. https://doi.org/10.1002/(sici)1098-2795(199904)52:4<335::aid-mrd1>3.0.co;2-f

18. Verheij H. M., Slotboom A. J., de Haas G. H. Structure and function of phospholipase A2. *Reviews of physiology, biochemistry and pharmacology***,** 1981, vol. 91, pp. 91–203.

19. Nakano T., Ohara O., Teraoka H., Arita H. Group II phospholipase A_2 mRNA synthesis is stimulated by two distinct mechanisms in rat vascular smooth muscle cells. *FEBS Letters*, 1990, vol. 261, no. 1, pp. 171–174. https://doi.org/10.1016/0014-5793(90)80663-4

20. Rogero M. M., de C. Leão M., Santana T. M., de M. B. Pimentel M. B., Carlini G. C. G., da Silveira T. F. F., Gonçalves R. C., Castro I. A. Potential benefits and risks of omega-3 fatty acids supplementation to patients with COVID-19. *Free Radical Biology and Medicine*, 2020, vol. 156, pp. 190–199. http: doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2020.07.005

21. Barberis E., Timo S., Amede E., Vanella V. V., Puricelli Ch., Cappellano G., Raineri D., Cittone M. G., Rizzi E., Pedrinelli A. R., Vassia V., Casciaro F. G., Priora S., Nerici I., Galbiati A., Hayden E., Falasca M., Vaschetto R., Sainaghi P. P., Dianzani U., Rolla R., Chiocchett A., Baldanzi G., Marengo E., Manfredi M. Large-Scale Plasma Analysis Revealed New Mechanisms and Molecules Associated with the Host Response to SARS-CoV-2. *International Journal of Molecular Sciences,* 2020, vol. 21, pp. 8623–8648. https://doi.org/10.3390/ijms21228623

22. Litvinko N. M. Inhibition of phospholipases A_2andC. *Vestsi Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Seryya khimichnykh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Chemical series*, 2005, no. 4, pp. 113–124 (in Russian).

23. Litvinko N. M., Khurgin Yu. I., Kaverzneva E. D. Anionic center of porcine pancreatic phospholipase A2. *Biochemistry (Moscow)*, 1977, vol. 42, no. 1, pp. 85–94 (in Russian).

24. Nikolaou A., Kokotou M. G., Vasilakaki S., Kokotos G. Small-molecule inhibitors as potential therapeutics and as tools to understand the role of phospholipases A_2. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Molecular and Cell Biology of Lipids*, 2019, vol. 1864, no. 6, pp. 941–956. https://doi.org/10.1016/j.bbalip.2018.08.009

25. Pedada S. R. Yarla N. S., Tambade P. J., Dhananjaya B. L., Bishayee A., Arunasree K. M., Philip G. H., Dharmapuri G., Aliev G., Putta S., Rangaiah G. Synthesis of new secretory phospholipase A_2-inhibitory indole containing isoxazole derivatives as anti-inflammatory and anticancer agents. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 2016, vol. 112, pp. 289–297. https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2016.02.025

26. Giordanetto F., Pettersen D., Starke I., Nordberg P., Dahlström M., Knerr L., Selmi N., Rosengren B., Larsson L-O., Sandmark J., Castaldo M., Dekker N., Karlsson U., Hurt-Camejo E. Discovery of AZD2716: a novel secreted phospholipase A_2 ($sPLA_2$) inhibitor for the treatment of coronary artery disease. *ACS Medicinal Chemistry Letters*, 2016, vol. 7, no. 10, pp. 884–889. https://doi.org/10.1021/acsmedchemlett.6b00188

27. Vasilakaki S., Barbayianni E., Leonis G., Papadopoulos M. G., Mavromoustakos T., Gelb M. H., Kokotos G. Development of a potent 2-oxoamide inhibitor of secreted phospholipase A_2 guided by molecular docking calculations and molecular dynamics simulations. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 2016, vol. 24, no. 8, pp. 1683–1695. https://doi.org/10.1016/j.bmc.2016.02.040

28. Vasilakaki S., Barbayianni E., Magriot, V., Pastukhov O., Constantinou-Kokotou V., Huwiler A., Kokotos G. Inhibitors of secreted phospholipase A_2 suppress the release of PGE_2 in renal mesangial cells. *Bioorganic & medicinal chemistry,* 2016, vol. 24, no. 13, pp. 3029–3034. https://doi.org/10.1016/j.bmc.2016.05.017

29. Alasmary F., Alnahdi F. S., Ben Bacha A., El-Araby A. M., Moubayed N., Alafeefy A. M., El-Araby M. E. New quinoxalinone inhibitors targeting secreted phospholipase A_2 and α-glucosidase. *Journal of enzyme inhibition and medicinal chemistry,* 2017, vol. 32, no. 1, pp. 1143–1151. https://doi.org/10.1080/14756366.2017.1363743

30. Joshi V., Umashankara M., Ramakrishnan C., Nanjaraj Urs A. N., Suvilesh K. N., Velmurugan D., Rangappa K. S., Vishwanath B. S. Dimethyl ester of bilirubin exhibits anti-inflammatory activity through inhibition of secretory phospholipase A_2, lipoxygenase and cyclooxygenase. *Archives of biochemistry and biophysics*, 2016, vol. 598, pp. 28–39. https://doi.org/10.1016/j.abb.2016.04.003

31. Joshi V., Venkatesha S. H., Ramakrishnan C., Nanjaraj Urs A. N., Hiremath V., Moudgil K. D., Velmurugan D., Vishwanath B. S. Celastrol modulates inflammation through inhibition of the catalytic activity of mediators of arachidonic acid pathway: secretory phospholipase A_2 group IIA, 5-lipoxygenase and cyclooxygenase-2. *Pharmacological Research,* 2016, vol. 113, pp. 265–275. https://doi.org/10.1016/j.phrs.2016.08.035

32. Lee Y., Lee W., Kim J., Bae J-S. Inhibitory effect of sulforaphane on secretory group IIA phospholipase A_2. *International Journal of Pharmacology*, 2018, vol. 14, pp. 187–193. https://doi.org/10.3923/ijp.2018.187.193

33. Assogbaa L., Ahamada-Himidia A., Meddad-Bel Habicha N., Aouna D., Bouklia L., Massicota F., Mounierc C. M., Hueta J., Lamouri A., Ombetta J.-E., Godfroid J.-J., Donga, C.-Z., Heymans F. Inhibition of secretory phospholipase A2. 1-Design, synthesis and structure–activity relationship studies starting from 4-tetradecyloxybenzamidine to obtain specific inhibitors of group II sPLA2s. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 2005, vol. 40, no. 9, pp. 850–861. https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2005.03.027

34. Litvinko N. M., Kuchuro S. V., Zheldakova T. A., Lis L. G., Filich E. R., Kuzmitskii B. B., Shulyak V. N. A correlation between prostaglandin analogs effect on phospholipase A_2 and their biological activity. *Vestsi Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Seryya khimichnykh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Chemical series*, 1998, no. 4, pp. 101–113 (in Russian).

35. Kuchuro S. V., Rakhuba G. N., Rubinov D. B., Zheldakova T. A., Babitskaya S. V., Litvinko N. M. 3,5-disubstituted thiotetronic acid derivatives – new inhibitors of secretor phospholipases A_2. *Doklady Natsional`noi akademii nauk belarusi = Dokladyof the National Academy of Sciences of Belarus*, 2004, vol. 48, no. 1, pp. 65–69 (in Russian).

36. Dennis E., Yaksh T., Lucas K. K., Svensson C., Six D. A., Kokotos G., Constantinou-Kokotou V. *Compositions and methods for inhibition of phospholipase A_2 mediated inflammation.* Patent USA, no. 7745489B2, 2010.

37. Seehra J. S., Kaila N., Mckew J. S., Lovering F., Bemis J. E., Xiang Y. *Phospholipase inhibitors*. Patent USA, no. 20030153751A1, 2003.

38. Nicolaou A., Kokotou M. G., Vasilakaki S. G., Kokotos. Small-molecule inhibitors as potential therapeutics and as tools to understand the role of phospholipase A_2. *BBA –Molecular and Cell Biology of Lipids*, 2019, vol. 1864, no. 6, pp. 941–956. https://doi.org/10.1016/j.bbalip.2018.08.009

39. Mouchlis V. D., Limnios D., Kokotou M. G., Barbayianni E., Kokotos G., McCammon J. A., Dennis E. A. Development of potent and selective inhibitors for group VIA calcium-independent phospholipase A_2 guided by molecular dynamics and structure-activity relationships. *Journal of medicinal chemistry*, 2016, vol. 59, no. 9, pp. 4403–4414. https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.6b00377

40. Mouchlis V. D., Dennis E. A. Phospholipase A_2 catalysis and lipid mediator lipidomics. *BBA – Molecular and Cell Biology of Lipids,* 2018, vol. 1864, no. 6, pp. 766-771. https://doi:10.1016/j.bbalip.2018.08.010

41. Litvinko N. M., Kuchuro S. V., Gerlovsky D. O., Kalinichenko E. N., Farina A. V. Screening of the effect of acyclovir phosphate analogues on the lipolytic reaction with pancreatic PLA_2 participation. *Sovremennoe sostoyanie i perspektivy razvitiya mikrobiologi i biotekhnologii: sb. materialov mezhdunar. nauch. konf.* [Current state and prospects for the development of microbiology and biotechnology: collection of materials of the international. scientific. conf.]. Minsk, 2008, vol. 2, pp. 17–19 (in Russian).

42. Litvinko N. M., Kuchuro S. V., Rakhuba G. N., Skorostetskaya L. A., Kalinichenko E. N., Zhernosek E. V. Effect of phospholipases on chimeric substrates based on phospholipids and nucleic acid components. *Doklady Natsional`noi akademii nauk belarusi = Dokladyof the National Academy of Sciences of Belarus*, 2005, vol. 49, no. 4, pp. 70–73 (in Russian).

43. Sheridan A. M., Sapirstein A., Lemieux N., Martin B. D., Kim D. K., Bonventre, J. V. Nuclear translocation of cytosolic phospholipase A_2 is induced by ATP depletion. *Journal of Biological Chemistry*, 2001, vol. 276, no. 32, pp. 29899–29905. https://doi.org/10.1074/jbc.m103758200

44. Lykidis A., Baburina I., Jackowski S. Distribution of CTP: phosphocholine cytidylyltransferase (CCT) isoforms. Identification of a new CCTbeta splice variant. *Journal of Biological Chemistry*, 1999, vol. 274, no. 38, pp. 26992–27001. https://doi.org/10.1074/jbc.274.38.26992

45. Baburina I., Jackowski S. Cellular responses to excess phospholipids. *Journal of Biological Chemistry*, 1999, vol. 274, no. 14, pp. 9400–9408. https://doi.org/10.1074/jbc.274.14.9400

46. Adibhatla R. M., Hatcher J. F., Larsen E. C., Chen X., Sun D., Tsao F. H. CDP-choline significantly restores phosphatidylcholine levels by differentially affecting phospholipase A_2 and CTP: phosphocholine cytidylyltransferase after stroke. *Journal of Biological Chemistry*, 2006, vol. 281, no. 10, pp. 6718–6725. https://doi.org/10.1074/jbc.M512112200

47. McHowat J., Creer M. H. Thrombin activates a membrane-associated calcium-independent PLA2 in ventricular myocytes. *American Journal of Physiology-Cell Physiology*, 1998, vol. 274, no. 2, pt 1, pp. 447–454. https://doi.org/10.1152/ajpcell.1998.274.2.C447

48. Hazen S. L., Gross R. W. ATP-dependent regulation of rabbit myocardial cytosolic calcium-independent phospholipase A_2. *Journal of Biological Chemistry,* 1991, vol. 266, no. 22, pp. 14526–14534. https://doi.org/10.1016/S0021-9258(18)98718-1

49. Hazen S. L., Gross R. W. Human myocardial cytosolic $Ca^{(2+)}$-independent phospholipase A_2 is modulated by ATP. Concordant ATP-induced alterations in enzyme kinetics and mechanism-based inhibition. *Biochemical Journal*, 1991, vol. 28, no. 3, pp. 581–587. https://doi.org/10.1042/bj2800581

50. Ackermann E. J., Conde-Frieboes K., Dennis E. A. Inhibition of macrophage $Ca^{(2+)}$-independent phospholipase A_2 by bromoenol lactone and trifluoromethyl ketones. *Journal of Biological Chemistry*, 1995, vol. 270, no. 1, pp. 445–450. https://doi.org/10.1074/jbc.270.1.445

51. Ackermann E. J., Kempner E. S., Dennis E. A. $Ca^{(2+)}$-independent cytosolic phospholipase A_2 from macrophage-like P388D1 cells. Isolation and characterization. *Journal of Biological Chemistry,* 1994, vol. 269, no. 12, pp. 9227–9233. https://doi.org/10.1016/S0021-9258(17)37098-9

52. Litvinko N. M., Drozhdenok A. P. Complexation of phospholipase A_2 with nucleic acid fragments and methods for their elimination. *Prikladnaya biokhimiya i mikrobiologiya* [Applied Biochemistry and Microbiology], 1996, vol. 32, no. 6, pp. 650–655 (in Russian).

53. Litvinko N. M., Kuchuro S. V., Zheldakova T. A., Filich E. R. *Method for determining the effector properties of physiologically active compounds.* Patent BY, no. 5752, 2004 (in Russian).

54. Lyakh A. V., Litvinko N. M., Mikhailopulo I. A., Gerlovsky D. O. PLA_2 Activity in the Presence of Modified Nucleoside Analogs. *Materialy Mezhdunarodnoi nauchno-prakticheskoi konferentsii «Biotekhnologii mikroorganizmov», posvyashchennoi professoru Yu. K. Fomichevu (1929–2015)* [Materials of the International Scientific and Practical Conference "Biotechnology of Microorganisms" dedicated to Professor Yu. K. Fomichev (1929–2015)]. Minsk, 2019, pp. 368–370 (in Russian).

55. Litvinko N. M., Gerlovsky D. O., Kuchuro S. V., Kalinichenko E. N., Kulak T. I., Oleinikova I. A. Effect of ribavirin derivatives on catalysis of lipolytic reactions. *Molekulyarnye, membrannye i kletochnye osnovy funktsionirovaniya biosistem: sbornik nauchnykh trudov IX s'ezda Belorusskogo obshchestvennogo ob'edineniya fotobiologov i biofizikov, 23–25 iyunya 2010 g.* [Molecular, membrane and cellular bases of the functioning of biosystems: collection of scientific papers of the IX Congress of the Belarusian Public Association of Photobiologists and Biophysicists, June 23–25, 2010]. Minsk, 2010, pp. 240–242 (in Russian).

56. Remeeva E. A., Artsemyeva J. N Enzymatic synthesis of trans-zeatin riboside and determination of its effector properties in relation to phospholipase A_2. *Molodezh' v nauke – 2020: tez. dokl. XVII Mezhdunar. konf. molodykh uchenykh* [Youth in science: Book of abstracts, XVII Int. conf. young scientists]. Minsk, 2020, pp. 542–545 (in Russian).

57. Drenichev M. S., Oslovsky V. E., Mikhailov S. N. Cytokinin nucleosides-natural compounds with a unique spectrum of biological activities. *Current topics in medicinal chemistry*, 2016, vol. 16, no. 23, pp. 2562–2576. https://doi.org/10.2174/1568026616666160414123717

58. Shevchenko G. V., Karavaiko N. N., Selivankina S. Y., Zubkova N. K., Kupriyanova E. V., Los D. A., Kusnetsov V. V., Kulaeva O. N. Possible involvement of cyanobacteria in the formation of plant hormonal system. *Fiziologiya rastenii = Russian Journal of Plant Physiology*, 2014, vol. 61, no. 2, pp. 170–176 (in Russian).

59. *Natural trans-zeatin-riboside 98% Min Cytokinin*. Available at: https://offer.alibaba.com/product. (accessed 08 June 2020) (in Russian).

60. Skorostetskaya L. A., Gerlovsky D. O., Remeeva E. A., Artsemyeva J. N., Vasilevskaya E. D., Birichevskaya L. L., Vinter M. A., Zinchenko A. I., Mikhailopulo I. A., Litvinko N. M. Study of the action of uridine on pancreatic PLA2 by differential spectroscopy. *Molekulyarnye, membrannye i kletochnye osnovy funktsionirovaniya biosistem: sb. tr. XlV s"ezda Bel. obshch. ob"ed. fotobiologov i biofizikov* [Molecular, membrane and cellular bases of the functioning of biosystems: collection of articles. XIV Congress of the Belarusian Public Association of Photobiologists and Biophysicists]. Minsk, Belarusian State University, 2020, pp. 43 (in Russian).

61. Deems R. A., Eaton B. R., Dennis E. A. Kinetic analysis of phospholipase A_2 activity toward mixed micelles and its implications for the study of lipolytic enzymes. *Journal of Biological Chemistry*, 1975, vol. 250, no. 23, pp. 9013–9020. https://doi.org/10.1016/S0021-9258(19)40687-X

62. Verheij H. M., Egmond M. R., De Haas G. H. Chemical Modification of the alpha–Amino Group in Snake Venom Phospholipases A_2. A Comparison of the Interaction of Pancreatic and Venom Phospholipases with Lipid–Water Interfaces. *Biochemistry*, 1981, vol. 20, no. 3, pp. 94–99. https://doi.org/10.1021/bi00504a016

63. Litvinko N. M. Inhibition of phospholipase A_2 by virazole derivatives. *Doklady Natsional`noi akademii nauk belarusi = Dokladyof the National Academy of Sciences of Belarus*, 2021, vol. 65, no. 3, pp. 309–319 (in Russian). https://doi.org/10.29235/1561-8323-2021-65-3-309-319

64. Litvinko N. M. *Activity of phospholipases A_2 and C in biochemical modeling*. Minsk, Technoprint Publ., 2003. 350 p. (in Russian).

65. Novozhilova T. I., Malkin S. I., Kozhukhov V. I., Kruglyak Yu. L., Kurochkin V. K. Decomposition of phosphatidylnucleosides under the action of phospholipases. *Bioorganicheskaya khimiya = Russian Journal of Bioorganic Chemistry,* 2000, vol. 26, no. 3, pp. 238–240 (in Russian).

66. ZhernosekE. V., Kalinichenko E. N., Litvinko N. M., Kuchuro S. V., Rakhuba G. N. Synthesis of conjugates of phosphatidic acid with modified components of nucleic acids and their sensitivity to the action of phospholipase A_2. *Khimicheskie reaktivy, reagenty i protsessy malotonnazhnoi khimii: XVIII Mezhdunar. nauch.-tekhnich. konf.* [Chemical reagents, reagents and low-tonnage chemistry processes; XVIII Int. scientific and technical conf.]. Minsk, 2005, pp. 33 (in Russian).

67. Kalinichenko E. N., Zhernosek E. V., Litvinko N. M., Kuchuro S. V., Rakhuba G. N. Synthesis of 2', 3'-dideoxycytidine-5'-monophosphate-phosphatidylethanolamine – phosphoramidate and its interaction with phospholipase A_2. *Khimiya i biologicheskaya aktivnost' azotsoderzhashchikh geterotsiklov: sb. tr. 3-i mezhdunar. konf.* [Chemistry and Biological Activity of Nitrogen-Containing Heterocycles: 3rd Intern. conf.]. Chernogolovka, 2006 (in Russian).

68. Litvinko N. M., Kuchuro S. V., Rakhuba G. N., Kalinichenko E. N., Zhernosek E. V. Pharmaceutical drug forms of new generations and their sustainability. *Sakharovskie chteniya 2006 g.: ekologicheskie problemy KhKhI veka: sb. tr. 6-i mezhdunar. nauch. konf.* [Sakharov Readings 2006: Environmental Problems of the XXI Century: 6th Int. scientific. conf.]. Minsk, 2006 (in Russian).

69. Litvinko N. M., Kuchuro S. V., Rakhuba G. N., Kalinichenko E. N., Zhernosek E. V. Effect of modification of the ethanolamine fragment of the substrate on the activity of pancreatic phospholipase A_2. *Vestsi Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Seryya khimichnykh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Chemical series*, 2006, no. 3, pp. 79–82 (in Russian).

70. Litvinko N. M., Kalinichenko E. N., Zhernosek E. V., Kuchuro S. V. *Phospholipid modified by 2 ', 3'-dideoxyuridine, pharmaceutical composition and antidote to the action of cobra venom*. Patent BY, no. 11904, 2009 (in Russian).

71. Litvinko N. M., Kalinichenko E. N., Zhernosek E. V., Kuchuro S. V. *Conjugate of a phospholipid with a modified nucleoside, a pharmaceutical composition and an agent that increases resistance to the action of pancreatic phospholipase A_2*. Patent BY, no. 11905, 2009 (in Russian).

72. Gerlovsky D. O., Remeeva E. A., Artsemyeva J. N., Vasilevskaya E. D., Birichevskaya L. L., Vinter M. A., Zinchenko A. I., Mikhailopulo I. A., Litvinko N. M. Stability of diacylglycerophosphate derivatives of nucleosides in relation to pancreatic PLA_2. *Belorusskie lekarstva: materialy konf.* [Belarusian medicines: conference materials]. Minsk, 2019, pp. 38–41 (in Russian).

73. Remeeva E. A., Artsemyeva J. N., Vasilevskaya E. D., Vinter M. A. Phospholipase A_2 activity towards phospholipid conjugates. *Molodezh' v nauke – 2019: tez. dokl. XVI Mezhdunar. konf. molodykh uchenykh, g. Minsk, 14–17 oktyabrya 2019 g.* [Youth in Science - 2019: Abstracts of the XVI International Conference of Young Scientists, Minsk, October 14–17, 2019]. Minsk, NAS of Belarus, 2019, pp. 556–558 (in Russian).

74. Litvinko N. M., Remeeva E. A., Artsemyeva J. N., Zinchenko A. I., Gerlovsky D. O., Birichevskaya L. L., Pavluchenko N. I., Mikhailopulo I. A. The enzymatic synthesis of Phospholipide-Nucleoside conjugates and study of their substrate activity for the digestive phospholipase A_2. *Journal of Nanotechnoligy: Nanomedicine & Nanobiotechnology,* 2020, vol. 7, pp. 55–56.

75. Gerlovsky D. O., Remeeva E. A., Artsemyeva J. N., Vasilevskaya E. D., Birichevskaya L. L., Vinter M. A., Zinchenko A. I., Mikhailopulo I. A., Litvinko N. M. Hydrolysis of phosphatidylbrivudine under the action of pancreatic PLA_2. *Molekulyarnye, membrannye i kletochnye osnovy funktsionirovaniya biosistem : tez. dokl. mezhdunar. nauch. konf., Chetyrnadtsatogo s"ezda Belorus. obshchestv. ob-niya fotobiologov i biofizikov, Belarus', Minsk, 17–19 iyunya 2020 g.* [Molecular, Membrane and Cellular Basis for the Functioning of Biosystems: abstract. report intl. scientific Conf., Fourteenth Congress Belorus. societies. Society of Photobiologists and Biophysicists, Belarus, Minsk, June 17–19, 2020]. Minsk, Belarusian State University, 2019, pp. 207 (in Russian).

Информация об авторах

Литвинко Наталья Михайловна – д-р хим. наук, доцент, зав. лаб. Институт биоорганической химии НАН Беларуси (ул. Купревича, 5/2, 220141, Минск, Республика Беларусь). E-mail: al_h@mail.ru

Information about the autors

Litvinko Natalia M. – D. Sc. (Chemistry), Associate Professor, Head of the laboratory. Institute of Bioorganic Chemistry of the National Academy of Science of Belarus (5/2, Kuprevich Str., 220141, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: al_h@mail.ru