



УДК 577.152.344.042

© 1994 Р. Б. Айсина, Е. С. Гайсарян, Я. Э. Снитко,
С. Д. Варфоломеев

ИНГИБИРОВАНИЕ *L*-ЛИЗИНОМ ЭСТЕРАЗНОЙ, АКТИВАТОРНОЙ И ФИБРИНОЛИТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ АКТИВАТОРНОГО КОМПЛЕКСА ПЛАЗМИН—СТРЕПТОКИНАЗА

Московский государственный университет им. М. В. Ломоносова,
химический факультет

Изучено влияние *L*-лизина на некоторые реакции, катализируемые плазмином и активаторным комплексом плазмин—стрептокиназа. Определены константы конкурентного ингибирования лизином реакций гидролиза *n*-нитрофенилового эфира карбобензоксид-*L*-лизина активатором (K_i 116 мМ), активации плазминогена активатором * (K_i 8 мМ) и фибринолиза плазмином (K_i 3 мМ). Найдено, что лизин при концентрациях ниже 0,05 М не влияет заметно на эстеразную активность активатора, но существенно ингибирует фибринолиз под действием и активатора, и плазмينا. Показано, что влияние лизина на процесс фибринолиза под действием активатора комплексное: он ингибирует как активацию включенного в сгусток плазминогена активатором, так и лизис фибрина образующимся плазмином. Это ингибирующее действие лизина в основном связано с тем, что он снижает сорбцию активатора, плазминогена и плазмина на фибрине, конкурируя с фибрином за их лизинсвязывающие участки, а также ухудшает связывание активатора с плазминогеном.

В плазминогене человека (в латентной тяжелой цепи плазмина) имеется пять гомологичных структур — кринглов, играющих важную роль в регуляции фибринолитической системы [1]. Эти кринглы содержат лизинсвязывающие центры, которые участвуют во взаимодействии плазмин(оген)а с фибрином [2], антиплазмином [3] и ω -аминокислотами [4—6]. Плазминоген содержит один центр с высоким сродством (K_d 9 мкМ) и пять центров со слабым сродством (K_d 5 мМ) к ϵ -аминокапроновой кислоте (АСА) [7]. Показано, что лизинсвязывающий центр с высоким сродством — основной центр взаимодействия плазмин(оген)а с фибрином [2] и антиплазмином [3]. По крайней мере один дополнительный центр локализован в легкой цепи плазмина (в его активном центре) и ответственный за слабое конкурентное ингибирование фермента ω -аминокислотами [8]. Из вышесказанного очевидно, что влияние ω -аминокислот и их производных на взаимодействия компонентов фибринолитической системы весьма сложное. Наиболее детально и количественно изучено влияние АСА и *транс*-4-аминометилциклогексанкарбоновой кислоты (АМСНА) на эстеразную, активаторную и фибринолитическую активности плазмина и активаторного комплекса

Сокращения: АСА — ϵ -аминокапроновая кислота, АМСНА — *транс*-4-аминометилциклогексанкарбоновая кислота, -ОНр — *n*-нитрофенокси, рНА- — *n*-нитроанилид, S-2251 — *D*-Val-Leu-Lys-pNA, Pg — плазминоген. Все аминокислоты, кроме особо указанных, *L*-ряда.

* Здесь и далее активатор — активаторный комплекс плазмин—стрептокиназа.

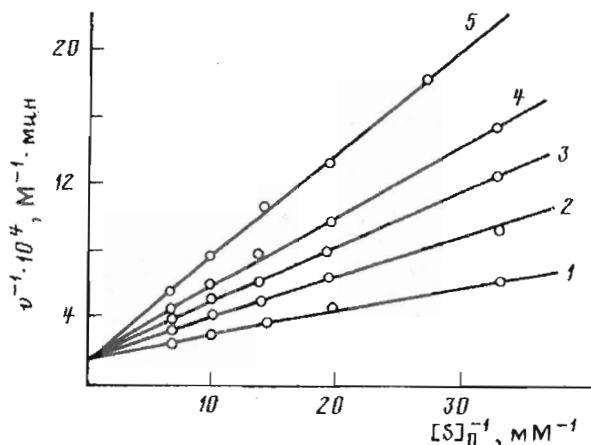


Рис. 1. Зависимость Лайнуивера—Берка для реакции гидролиза Z-Lys-ONp, катализируемого комплексом плазмин—стрептокиназа, в присутствии лизина в концентрациях 0 (1), 0,05 (2), 0,08 (3), 0,2 (4) и 0,38 М (5). Условия: 0,1 М фосфатный буфер, 0,15 М NaCl, pH 6,2, 20° С; [плазмин—стрептокиназа] 70,6 нм

плазмин—стрептокиназа [9—12]. Ингибирующее влияние лизина на эти реакции количественно не охарактеризовано. Однако лизин (0,02—0,2 М) часто используется для стабилизации растворов плазмينا и активаторного комплекса плазмин—стрептокиназа [10, 13—16]. При этом не учитывается, что его ингибирующее действие на некоторые реакции, катализируемые ферментом и активатором, может быть существенным.

Задача данной работы — изучение влияния лизина на кинетические свойства плазмينا и активаторного комплекса плазмин—стрептокиназа. Для решения этой задачи была проведена серия экспериментов по определению констант ингибирования лизином активации плазминогена, реакции гидролиза эфирного субстрата, катализируемого комплексом плазмин—стрептокиназа, а также фибринолиза в присутствии плазмينا и активатора.

При определении фибринолитической активности активаторного комплекса плазмин—стрептокиназа по времени полного лизиса фибринового сгустка, обогащенного плазминогеном, нами было обнаружено значительное торможение фибринолиза 0,02 М лизином. Известно, что фибринолиз под действием активатора включает в себя сорбцию активатора на фибрине, активацию им включенного в сгусток плазминогена и лизис фибрина образующимся плазмином [2]. Лизин может комплексно влиять на этот сложный процесс фибринолиза, ухудшая связывание компонентов фибринолиза друг с другом и ингибируя активные центры плазмينا и активатора. Для сравнительной оценки этих эффектов нами изучено влияние лизина на отдельные реакции, катализируемые плазмином и комплексом плазмин—стрептокиназа.

На рис. 1 показано влияние лизина в различных концентрациях на реакцию гидролиза низкомолекулярного субстрата — 4-нитрофенилового эфира N^α-карбобензоксиг-*L*-лизина (Z-Lys-ONp) комплексом плазмин—стрептокиназа. Значения кинетических параметров гидролиза субстрата активатором (k и K_m), найденные из зависимости $1/v$ от $1/[S]_0$ в отсутствие ингибитора, и значение K_i , вычисленное из зависимости начальной скорости гидролиза от концентрации лизина в координатах Диксона, приведены в таблице. Из полученных данных видно, что лизин является слабым конкурентным ингибитором активного центра комплекса плазмин—стрептокиназа, а следовательно, и плазмينا. Причем он слабее ингибирует эстеразную активность комплекса плазмин—стрептокиназа (K_i 116 мМ), чем АСА (K_i 58 мМ) [11] и АМСНА (K_i 23 мМ) [12].

Для исследования активаторных свойств комплекса плазмин—стрептокиназа

Реакция	$k, \text{с}^{-1}$	$K_m, \text{мкМ}$	$K_i^*, \text{мМ}$
Гидролиз Z-Lys-ONp комплексом плазмин—стрептокиназа	15,6	100,0	116,0
Активация плазминогена комплексом плазмин—стрептокиназа **	0,57	0,625	8,0
Фибринолиз плазмином	—	—	3,9 (метод 1)* 3,0 (метод 2)*

* Описание методов см. текст.

** Константы обозначены как k_{pg} и K_{pg} .

был использован метод сопряжения в кювете спектрофотометра реакции активации плазминогена активатором и гидролиза субстрата H-DVal-Leu-Lys-pNa (S-2251) образующимся плазмином. В работе [17] дана общая математическая модель, описывающая стационарную кинетику активации плазминогена различными активаторами в присутствии субстрата плазмينا. На основании этой модели по начальным скоростям (A_{405}/t) накопления продукта гидролиза субстрата S-2251 при различных концентрациях плазминогена нами были определены кинетические параметры активации плазминогена (k_{pg} и K_{pg}). Для этого из тангенсов углов наклонов зависимостей A_{405}/t от t вычисляли значения величины b , которая пропорциональна начальной скорости образования плазмина при данных концентрациях плазминогена ($[Pg]_0$) и активатора ($[A]_0$) [17]:

$$b = \frac{k \cdot \varepsilon \cdot k_{pg} \cdot [A]_0 \cdot [Pg]_0}{[Pg]_0 + K_{pg}}, \quad (1)$$

где k — каталитическая константа скорости гидролиза S-2251 плазмином (определенная в отдельном эксперименте $k = 27 \text{ с}^{-1}$); ε — молярный коэффициент поглощения *n*-нитроанилида.

Из зависимости $1/b$ от $1/[Pg]_0$ (рис. 2а, кривая 1) по тангенсу угла наклона и отрезку, отсекаемому на оси ординат, определяли значения k_{pg} и K_{pg} (таблица). Зависимости $1/b$ от $1/[Pg]_0$ в присутствии лизина в двух концентрациях представлены на том же рисунке (кривые 2 и 3). Были использованы достаточно низкие концентрации лизина (5,0 и 10 мМ), в которых он, как следует из вышеприведенных данных, не влияет на ферментативную активность плазмينا и комплекса плазмин—стрептокиназа по отношению к низкомолекулярным субстратам. Следовательно, данные, приведенные на рис. 2, демонстрируют конкурентное ингибирование лизином реакции активации плазминогена активатором. Зависимость $1/b$ от $1/[Pg]_0$ в присутствии ингибитора (1) принимает вид:

$$\frac{1}{b} = \frac{1}{k \cdot \varepsilon \cdot k_{pg} \cdot [A]_0} + \frac{K_{pg} (1 + [I]/K_i)}{k \cdot \varepsilon \cdot k_{pg} \cdot [A]_0} \cdot \frac{1}{[Pg]_0}, \quad (2)$$

где K_i — константа ингибирования реакции активации плазминогена (М).

Из зависимости $1/b$ от $[I]$ при данных концентрациях $[A]_0$ и $[Pg]_0$ (рис. 2б) была вычислена константа ингибирования лизином реакции активации плазминогена активатором, которая составляет 8 мМ. Таким образом, лизин — более слабый ингибитор комплекса плазмин—стрептокиназа по сравнению с АСА (K_i 0,96 мМ [9]) и АМСНА (K_i 0,186 мМ [9]) также и в отношении его активаторной активности. Тем не менее ингибирование лизином активаторной

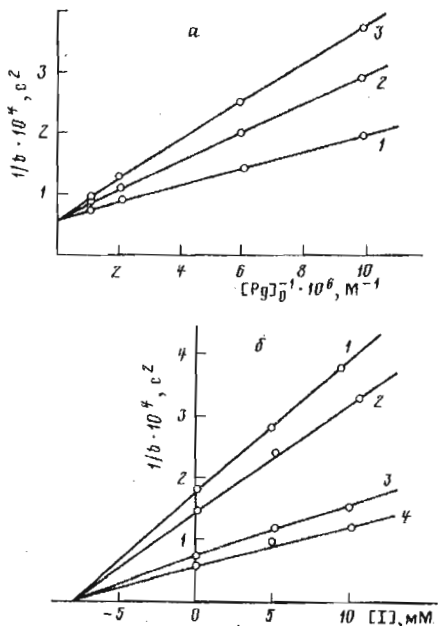


Рис 2

Рис. 2. Зависимость ингибирования лизином реакции активации плазминогена комплексом плазмин—стрептокиназа от концентрации ингибитора в координатах Лайнуивера—Берка (а) и Диксона (б). Условия реакции: 0,05 М трис-НСl-буфер, рН 7,4, 0,15 М NaCl, 37° С. [S-2251] 0,5 мМ, [плазмин-стрептокиназа] 1,0 нМ; для «а» [Lys]₀ 0 (1), 5 (2) и 10 мМ (3), для «б» [Pg]₀ 0,08 (1), 0,1 (2), 0,5 (3) и 1 мкМ (4)

Рис. 3. Кинетика фибринолиза комплексом плазмин—стрептокиназа (1,8 мкг/мл) (а) и плазмином (20 мкг/мл) (б) в присутствии лизина в концентрации 0 (1), 2 (2), 5 (3), 7 (4) и 9 мМ (5). Условия см. в подписи к рис. 2; Δt — см. «Экспер. часть»

Рис. 4. Зависимость от концентрации лизина обратной скорости фибринолиза (1/v_ф) (см. «Экспер. часть») (а) и времени полного лизиса фибринового сгустка (T) в присутствии плазмина. Условия см. в подписи к рис. 2; а — [плазмин] 20 (1) и 40 мкг/мл (2); б — [фибриноген] 1 (1), 2 (2) и 3 мг/мл (3) (по коагулируемому белку), [плазмин] = 25 мкг/мл

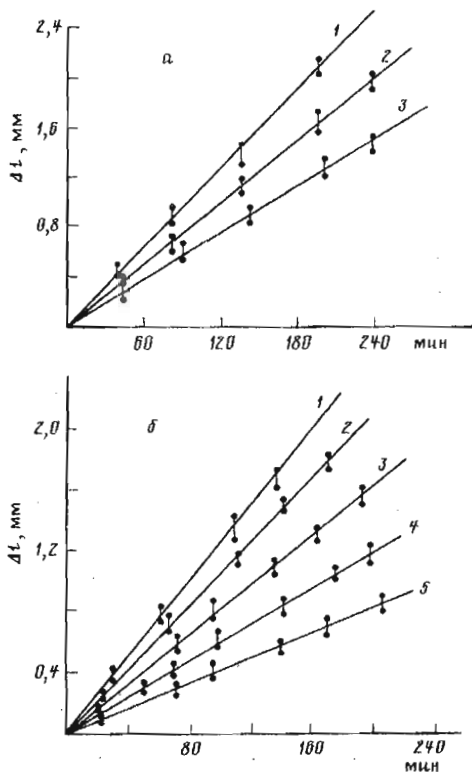


Рис. 3

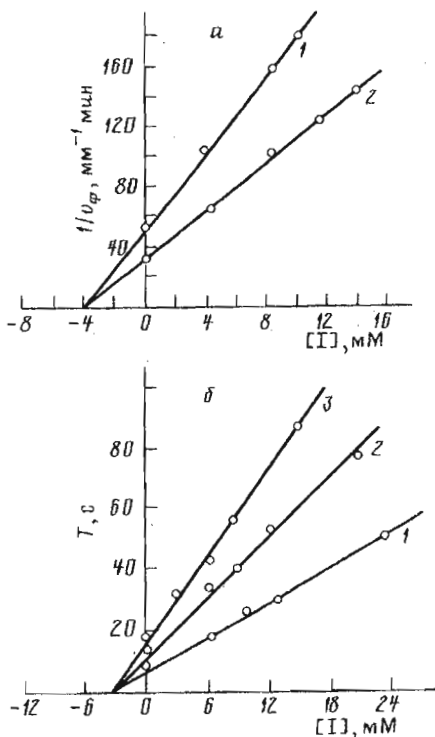


Рис. 4

активности комплекса плазмин—стрептокиназа наблюдается при достаточно низких концентрациях ингибитора (10^{-3} — 10^{-2} М), в которых он не влияет на эстеразную активность активатора. В работе [18] показано, что ω -аминокислоты в низких концентрациях вызывают конформационные изменения молекулы нативной Glu-формы плазминогена (но не модифицированной Lys-формы), которые приводят к увеличению скорости активации Glu-плазминогена урокиназой. Поскольку в данной работе использована Lys-форма зимогена, снижение скорости образования плазмينا в присутствии лизина в низких концентрациях, вероятно, обусловлено ингибированием связывания активатора с молекулой Lys-плазминогена. Различие в константах ингибирования лизином эстеразной и активаторной активностей комплекса плазмин—стрептокиназа (таблица) свидетельствует о том, что лизин ухудшает связывание активатора с белковым специфическим субстратом плазминогеном значительно сильнее, чем с низкомолекулярным субстратом.

На рис. 3 представлено влияние лизина на кинетику фибринолиза комплексом плазмин—стрептокиназа и плазмином. В этих экспериментах фибриновые сгустки сформированы в отсутствие ингибитора и активатора (или плазмينا) по методу 1, описанному в работе [19]. При введении последних в жидкость над сгустком лизин конкурирует с лизиновыми участками фибрина за связывание с лизинсвязывающими участками активатора или плазмينا. В результате этого с ростом концентрации лизина уменьшается концентрация сорбированного на фибрине активатора (или плазмينا), что приводит к снижению скорости фибринолиза (рис. 3а, б). Однако в случае активатора (рис. 3а) снижение скорости фибринолиза обусловлено также параллельным влиянием лизина на сорбцию и активацию включенного в сгусток плазминогена, поскольку заводской препарат фибриногена человека содержал 0,3% плазминогена. О значительном вкладе активации включенного в сгусток плазминогена в фибринолиз активатором говорит тот факт, что сравнимые скорости фибринолиза наблюдаются при концентрациях добавленного активатора (1,8 мкг/мл) и плазмينا (20 мкг/мл), различающихся на порядок (рис. 3а, б). Очистка фибриногена на Lys-сефарозе не привела к полному удалению плазминогена, но его концентрация в фибриногене уменьшилась на порядок (0,03%). Обедненный плазминогеном фибрин лизировался активатором (1,8 мкг/мл) в 4 раза медленнее (рисунок не приведен). Однако при равных концентрациях (20 мкг/мл) скорость лизиса фибрина, обедненного плазминогеном, под действием активатора в 2,4 раза выше, чем скорость лизиса фибрина под действием плазмينا. Наличие остаточной примеси плазминогена не позволяет вычислить константу ингибирования фибринолитической активности комплекса плазмин—стрептокиназа.

Известно, что при образовании комплекса плазмин—стрептокиназа лизинсвязывающие участки плазмينا не затрагиваются, а следовательно, не изменяется его сродство к фибрину [20]. В отличие от комплекса плазмин—стрептокиназа свободный плазмин не обладает активаторной активностью, поэтому наблюдаемое на рис. 3б ингибирование лизином фибринолиза плазмином связано только с ухудшением сорбции фермента на поверхности фибрина. Из зависимости обратной скорости фибринолиза плазмином от концентрации лизина (рис. 4а) была найдена константа ингибирования фибринолиза (таблица).

Влияние лизина на фибринолиз плазмином было изучено также методом 2, основанным на определении времени полного лизиса фибринового сгустка [10, 21]. При этом фермент и ингибитор включались в сгусток при его формировании. Время полного лизиса сгустка (T), пропорциональное обратной скорости фибринолиза, линейно зависит от концентрации ингибитора (I) [10]:

$$T = \frac{[F]_0}{k \cdot [P]_0} \cdot \left(1 + \frac{[I]}{K_i} \right), \quad (3)$$

где $[F]_0$ и $[P]_0$ — начальные концентрации фибриногена (фибрина) и плазмينا

(M); k — константа скорости фибринолиза (с^{-1}); K_i — константа ингибирования фибринолиза (M).

Как видно из рис. 4б, лизин является конкурентным ингибитором фибринолиза плазмином с K_i 3,0 мМ. Константы ингибирования лизином фибринолиза под действием плазмينا, полученные двумя разными методами, хорошо согласуются (таблица). Антифибринолитическое действие лизина в 2—2,5 раза сильнее, чем его антиактиваторное действие. По сравнению с АСА и АМСНА, которые используются в антифибринолитической терапии, лизин слабее ингибирует фибринолиз: K_i для лизина на порядок выше, чем для АСА (K_i 0,24 мМ [10]), и на два порядка выше, чем для АМСНА (K_i 0,036 мМ [10]).

Таким образом, лизин — более слабый ингибитор эстеразной, активаторной и фибринолитической активности комплекса плазмин—стрептокиназа (и плазмина) по сравнению с АСА и АМСНА. Это может быть объяснено тем, что лизин в отличие от АСА и АМСНА при используемых значениях рН имеет общий положительный заряд из-за наличия в его молекуле дополнительной α -аминогруппы. Однако при концентрациях, превышающих 1 мМ, лизин оказывает заметное ингибирующее действие на активацию плазминогена активатором и фибринолиз плазмином и активатором, что необходимо учитывать при использовании лизина в качестве стабилизатора растворов фермента и активаторного комплекса. Ингибирующее действие лизина на сложный процесс фибринолиза под действием активаторного комплекса плазмин—стрептокиназа в основном связано с тем, что ингибитор ухудшает связывание активатора, плазминогена и плазмина с фибрином, а также активатора с плазминогеном.

Экспериментальная часть

В работе использовали Lys-плазминоген человека, стрептокиназу (целиазу), фибриноген человека и бычий тромбин (КФ 3.4.21.5) (Предприятия диагностических и лекарственных препаратов, Минск); панкреатический ингибитор трипсина (Gedeon Richter, Венгрия) и лизин (Sigma, США). Буферные растворы: 0,1 М фосфатный буфер, рН 6,2, с 0,15 М NaCl (буфер А) и 0,05 М трис-НСl-буфер, рН 7,4, с 0,15 М NaCl (буфер Б).

Молярную концентрацию активного белка в препаратах плазминогена определяли титрованием плазмина, образовавшегося после активации зимогена каталитическим количеством стрептокиназы, панкреатическим ингибитором трипсина [22].

Содержание активного белка в препаратах стрептокиназы определяли титрованием известной концентрации активного плазминогена возрастающими количествами стрептокиназы (500—100 000 ед./мг активного белка зимогена), регистрируя рост фибринолитической активности по методу Кристенсена [21]. Из точки эквивалентности, которой соответствует образование стехиометрического комплекса плазминоген—стрептокиназа и достижение максимальной фибринолитической активности, рассчитывали молярную концентрацию активной стрептокиназы в препарате целиазы. Кинетические константы из экспериментальных данных рассчитывали на основании молярной концентрации активных центров плазмина и комплекса плазмин—стрептокиназа.

Плазмин (КФ 3.4.21.7) и активаторный комплекс плазмин—стрептокиназа получали активацией плазминогена стрептокиназой в каталитической и эквимольярной концентрациях соответственно, контролируя полноту протекания реакции по ферментативной активности отобранных проб [23].

Эстеразную и амидазную активность плазмина и комплекса плазмин—стрептокиназа определяли по начальным скоростям гидролиза 0,2 мМ раствора Z-Lys-ONp в буфере А (для 4-нитрофенола ϵ_{340} 6860 $\text{M}^{-1}\text{см}^{-1}$) и 0,6 мМ раствора S-2251 в буфере Б (для 4-нитроанилина ϵ_{405} 10 000 $\text{M}^{-1}\text{см}^{-1}$). Объем реакционной смеси 1 мл.

При определении константы ингибирования лизином реакции гидролиза Z-Lys-ONp комплексом плазмин—стрептокиназа концентрацию субстрата варьировали в интервале 0,031—0,155 мМ, а концентрацию ингибитора — в интервале 0,05—0,38 М.

Для определения кинетических параметров реакции активации плазминогена активаторным комплексом плазмин—стрептокиназа (K_{p_g} и k_{p_g}), а также константы ингибирования этой реакции лизином активацию зимогена активатором изучали в кювете спектрофотометра (v 1 мл) в присутствии

0,5 мМ S-2251 в буфере Б (37° С). Концентрация активаторного комплекса составляла 1 нМ. Концентрацию лизина в активационной смеси варьировали в интервале 0,08—1,0 мкМ. При расчете кинетических параметров реакции активации плазминогена использовали начальные участки изменения поглощения (ΔA_{405}) от времени, соответствующие превращению менее 10% S-2251 и менее 5% плазминогена от исходных концентраций [17].

Ингибирование лизином реакции фибринолиза плазмином и комплексом плазмин—стрептокиназа изучали двумя методами. В *методе 1* сгустки формировали добавлением 25 мкл раствора тромбина (50 ед/мл) к 0,9 мл раствора фибриногена человека (3 мг/мл по коагулируемому белку) в стеклянных пробирках диаметром 10 мм. Растворы встряхивали и оставляли на 1,5—2 ч при 25° С для формирования фибриновых сгустков. В пробирки над сгустком добавляли 0,45 мл буфера Б с различными концентрациями лизина и выдерживали 30 мин при 25° С. В жидкость над сгустком вносили 50 мкл раствора плазмина или комплекса плазмин—стрептокиназа и следили за кинетикой лизиса фибрина при 37° С по уменьшению высоты его столба (Δl) от времени при помощи катетометра [19]. Скорость фибринолиза ($v_{\text{ф}}$) определяли как тангенс угла наклона начального участка зависимости $\Delta l \div \Delta t$ в мм/мин. При формировании сгустков *по методу 2* к 0,7 мл раствора фибриногена человека (1—3 мг/мл по коагулируемому белку) в буфере Б с 0,294 мкМ плазмином и 0—94 мкМ лизином добавляли 0,1 мл тромбина до конечной концентрации 3,75 ед/мл. Реакционную смесь быстро перемешивали, инкубировали при 37° С и измеряли время полного лизиса сгустка (T) с момента его образования [10].

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Wiman B., Wallen P. // Eur. J. Biochem. 1973. V. 36. № 1. P. 25—31.
2. Thorsen S. // Biochim. et biophys. acta. 1975. V. 393. № 1. P. 55—65.
3. Moroi M., Aoki N. // J. Biol. Chem. 1976. V. 251. № 19. P. 5956—5965.
4. Alkjaersig N. // Biochem. J. 1964. V. 93. P. 171—182.
5. Abiko Y., Iwamoto M., Tomikawa M. // Biochim. et biophys. acta. 1969. V. 185. P. 424—431.
6. Brockway W., Castellino F. J. // Arch. Biochem. and Biophys. 1972. V. 151. № 1. P. 194—199.
7. Markus G., De Pasquale J. L., Wissler F. C. // J. Biol. Chem. 1978. V. 253. № 3. P. 727—732.
8. Brockway W., Castellino F. J. // J. Biol. Chem. 1971. V. 246. P. 4641—4647.
9. Iwamoto M., Abiko Y., Shimizu M. // J. Biochem. 1968. V. 64. № 6. P. 759—767.
10. Iwamoto M., Abiko Y. // J. Biochem. 1969. V. 65. № 5. P. 821—823.
11. Christensen U., Sottrup-Jensen L., Magnusson S., Petersen T. E., Clemmensen J. // Biochim. et biophys. acta. 1979. V. 567. № 2. P. 472—481.
12. Petersen L. Ch., Brender J., Suenson E. // Biochem. J. 1985. V. 225. № 1. P. 149—158.
13. Abiko Y., Iwamoto M., Shimizu M. // J. Biochem. 1968. V. 64. № 6. P. 751—757.
14. Morris J. P., Blatt S., Powell J. R., Strickland D. K., Castellino F. J. // Biochemistry. 1981. V. 20. № 17. P. 4811—4816.
15. Sodetz J. M., Violand B. N., Castellino F. J. // Arch. Biochem. and Biophys. 1976. V. 174. P. 209—215.
16. Hummel B. C. W., Buck F. F., De Renzo E. C. // J. Biol. Chem. 1966. V. 241. № 15. P. 3474—3479.
17. Wohl R. C., Sumptaria L., Robbins K. C. // J. Biol. Chem. 1980. V. 255. № 5. P. 2005—2013.
18. Thorsen S., Müllertz S. // Scand. J. Clin. Lab. Invest. 1974. V. 34. № 1. P. 167—176.
19. Попова Г. Ю., Еремеев Н. Л., Айсина Р. Б., Казанская Н. Ф. // Бюлл. эксперим. биологии и медицины. 1989. № 5. С. 561—564.
20. Powell J. R., Castellino F. J. // Thrombos. Res. 1983. V. 30. P. 377—382.
21. Christensen L. R. // Proc. Soc. Biol. and Med. 1941. V. 46. P. 674—679. *
22. Айсина Р. Б., Попова Г. Ю., Казанская Н. Ф. // Вест. Моск. ун-та. Сер. 2. Химия. 1988. Т. 29. № 1. С. 88—92.
23. Айсина Р. Б., Житкова Ю. В., Федоренко Я. Э., Казанская Н. Ф. // Укр. биохим. журн. 1991. Т. 63. № 1. С. 13—20.

Поступила в редакцию
21.VII.1993

R. B. Aisina, E. S. Gaisarian, Ya. E. Snitko,
S. D. Varfolomeyev

INHIBITION OF THE ESTERASE, ACTIVATOR AND
FIBRINOLYTIC ACTIVITIES OF THE
PLASMIN—STREPTOKINASE ACTIVATOR COMPLEX BY *L*-LYSINE

M. V. Lomonosov Moscow State University, Department of Chemistry,
Moscow

The effect of *L*-lysine on some reactions catalysed by plasmin and the plasmin—streptokinase activator complex has been studied. The constants for competitive inhibition by *L*-lysine of the benzyloxycarbonyl-*L*-lysine *p*-nitrophenyl ester hydrolysis by the activator (K_i 116 mM), of the plasminogen activation by the activator (K_i 8 mM) and of fibrinolysis by plasmin (K_i 3 mM) were determined. It was found that *L*-lysine at concentrations below 0,05 M, which do not affect the activator's esterase activity, does inhibit fibrinolysis by plasmin and the activator complex. The effect of *L*-lysine on fibrinolysis under the action of the activator is complex: it inhibits both the activation of clot-entrapped plasminogen by the activator and lysis of fibrin by the plasmin formed. This inhibitory action of *L*-lysine is largely related to the fact that it lowers the sorption of the activator, plasminogen and plasmin on fibrin, competing with fibrin for their lysine-binding sites as well as worsens the activator—plasminogen binding.