

Секция «Биоинженерия и биоинформатика»

ИММОБИЛИЗАЦИЯ МИКРОСОМАЛЬНОЙ ФРАКЦИИ ПЕЧЕНИ
СВИНЬИ В КРИОГЕЛЕ ПОЛИВИНИЛОВОГО СПИРТА

Шестеренко Евгения Аркадиевна

Соискатель

*ФХИ им. А.В. Богатского НАН Украины, отдел Медицинской химии, Одесса,
Украина*

E-mail: shesterenkoE@mail.ru

Карбоксилэстераза печени млекопитающих, благодаря широкой субстратной специфичности и высокой стереоселективности, является перспективным биокатализатором энантиоселективного гидролиза и синтеза обширного ряда алициклических, карбоциклических и гетероциклических соединений, в том числе сложных эфиров 3-гидрокси-1,4-бенздиазепин-2-она, потенциальных лекарственных препаратов с анксиолитическим и снотворным действием.

Карбоксилэстераза обладает рядом положительных свойств: отсутствием кофермента и суицидальной инактивации, однако недостатками ее применения является нестабильность, высокая стоимость коммерческого препарата и однократность его использования. Поэтому актуальным для проведения стереоселективного гидролиза сложных эфиров 3-гидрокси-1,4-бенздиазепин-2-она является применение препарата карбоксилэстеразы в составе микросомальной фракции (МФ) печени свиньи, а также разработка методов иммобилизации микросомальной фракции на полимерных носителях.

В результате иммобилизации микросомальной фракции печени свиньи в криогеле поливинилового спирта (ПВС) (М.м. 120 000) получен нерастворимый в воде биокатализатор с 65 % сохранением исходной эстеразной активности.

Изучен выход белка из иммобилизованного препарата МФ. Показано, что максимальный выход белка наблюдается при массовом отношении белок: ПВС = 1:2 и составляет 10 % в течение 24 часов. Поскольку при высвобождении белка снижается эстеразная активность препарата и загрязняется конечный продукт реакции, использование массовых отношений белок: ПВС = 1:6 и 1:10, при которых выход белка не превышает 5 %, является более перспективным.

Для оптимизации условий проведения реакции стереоселективного гидролиза 3-ацетокси-7-бром-1-метил-5-фенил-1,2-дигидро-3Н-1,4-бенздиазепин-2-она изучены зависимость эстеразной активности иммобилизованной микросомальной фракции от рН и температуры инкубационной среды. Показано незначительное расширение рН-профиля в области щелочных значений рН иммобилизованной микросомальной фракции по сравнению со свободной.

Однако обнаружено, что при иммобилизации происходит расширение термопрофиля препарата при температуре 50-60 °С, что может объясняться стабилизирующим влиянием носителя, препятствующим дезагрегации микросомальных мембран и денатурации карбоксилэстеразы.

Иммобилизация микросомальной фракции в криогеле ПВС позволила многократно использовать полученный биокатализатор.

В оптимизированных условиях (Na-фосфатный буферный раствор 0,01 моль/ дм³ рН 7,0, t = 37 °С, τ = 1 ч, концентрация диметилсульфоксида – 40 %) осуществлен сте-

реоселективный гидролиз соединения 3-ацетокси-7-бром-1-метил-5-фенил-1,2-дигидро-3H-1,4-бенздиазепин-2-она с 50 % степенью трансформации в течение 5 циклов использования в реакторе периодического действия.