**Нанозимы «искусственная пероксидаза» для противовоспалительной терапии**

***Шнейдерман А.А., Комкова М.А., Карякин А.А.***

*Студентка, 2 курс магистратуры*

*Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия*

*E-mail: aleshneiderman@gmail.com*

Многочисленные гистохимические исследования демонстрируют, что подавление активных форм кислорода (АФК) является эффективной стратегией лечения ряда воспалительных заболеваний. Особый интерес в рамках такой терапии, благодаря своей высокой стабильности в среде организма и высокой каталитической активности, представляют неорганические наночастицы, обладающие ферментной активностью, главным образом, пероксидазной.

Высокую каталитическую активность в сравнении с другими нанозимами демонстрируют наночастицы на основе берлинской лазури (БЛ), синтезированные в ходе реакции активации пероксида водорода [1]. Показано, что пероксидазная активность наночастиц БЛ до 100 раз выше, чем для нанозимов CeO2, Mn3O4 и Fe3O4, традиционно применяемых для подавления АФК в тканях. Что, вероятно, обусловлено, с одной стороны, координацией железа, подобной гему пероксидазы, с другой – достаточной электронной проводимостью материала в водных средах.

С использованием подходов стационарной ферментативной кинетики определены значение константы скорость-лимитирующей стадии каталитического цикла (необратимой бимолекулярной реакции взаимодействия комплекса нанозима и восстанавливающего субстрата с пероксидом водорода, k2) для субстратов с разными редокс потенциалами (от жёлтой кровяной соли до 3,3’,5,5’-тетраметилбензидина, E0’(SOx/SRed) = 0.21 и 0.50 В соответственно). Показано, что k2 и энергии активации катализируемой нанозимами реакции, рассчитанные согласно уравнению Аррениуса, зависят от потенциала субстрата: чем ниже потенциал субстрата, тем выше каталитическая активность нанозима в реакции. При этом полученные значения энергии активации значительно ниже, чем для известных в литературе нанозимов, в сравнении с наиболее изученными нанозимами на основе Fe3O4 – до 5 раз ниже.

Помимо этого, исследована кинетика реакции восстановления пероксида водорода при катализе нанозимами разного размера от 30 до 360 нм. На микрофотографиях ПЭМ можно видеть, что такие наночастицы представляют собой ансамбли наноструктур, средний размер которых зависит от размера наночастицы. Показано, что зависимость k2 от размера наночастицы линеаризуется в билогарифмических координатах с тангенсом угла наклона близким к 2.7. Это указывает на вовлечение в каталитическую реакцию активных центров как на поверхности, так и в объеме наночастиц. Так, для нанозимов диаметром около 300 нм полученные значения k2 на 3-4 порядка величины превосходят константы для пероксидазы для стадии их взаимодействия с пероксидом водорода (наиболее быстрой стадии) и на 4-5 порядков – константы скорость-лимитирующей стадии действия фермента.

Благодаря своей высокой каталитической активности и низкой цитотоксичности наночастицы на основе БЛ обладают большим потенциалом для подавления АФК. Проведена инкубация клеток макрофагов RAW 264.7 в течение 3 часов в питательной среде, содержащей нанозимы. Методом проточной цитометрии с детекцией флуоресценции показано, что уже 10 мкг/мл нанозимов на основе БЛ позволяет на 65% снизить содержание АФК в клетках. При этом наблюдаемый эффект усиливается с увеличением концентрации БЛ при инкубации.

*Работа выполнена при поддержке гранта РНФ 19-13-00131.*

**Литература**

1. Komkova M.A. et al. Catalytic Pathway of Nanozyme “artificial Peroxidase” with 100-Fold Greater Bimolecular Rate Constants Compared to Those of the Enzyme // J. Phys. Chem. Lett. 2021. Vol. 12, № 1. P. 171–176.