

Секция «Биоинженерия и биоинформатика»

**БИОКАТАЛИЗАТОР МНОГОРАЗОВОГО ПРИМЕНЕНИЯ НА ОСНОВЕ
ИММОБИЛИЗОВАННОЙ В АЛЬГИНАТ Са МИКРОСОМАЛЬНОЙ
ФРАКЦИИ ПЕЧЕНИ СВИНЬИ**

Шестеренко Е.А.¹, Чумаченко А.В.², Васильева Е.Л.³

*1 - ФХИ им. А.В. Богатского НАН Украины, отдел Медицинской химии, 2 - ФХИ
им. А.В. Богатского, отдел медицинской химии, 3 - ФХИ им. А.В. Богатского НАН
Украины, отдел медицинской химии, Одесса, Украина*

E-mail: shesterenkoE@mail.ru

Карбоксилэстераза (КФ 3.1.1.1) микросомальной фракции (МФ) печени млекопитающих является перспективным биокатализатором энантиоселективного гидролиза и синтеза сложных эфиров, в том числе новых 3-ацилокси-1,2-дигидро-3*H*-1,4-бенздиазепин-2-онов [1]. Для получения оптически активных соединений перспективно использование биокатализаторов многоразового действия – иммобилизованных ферментов, субклеточных фракций.

Цель работы – разработка биокатализатора стереоселективного гидролиза 1-метил-5-фенил-3-ацетокси-7-бром-1,2-дигидро-3*H*-1,4-бенздиазепин-2-она многоразового применения на основе иммобилизованной в альгинат Са МФ печени свиньи.

Ранее нами было показано, что МФ печени свиньи в разработанных условиях (эстеразная активность МФ 130 ед/см³, t= 37°C, τ= 2,5 час, ДМСО: К-фосфатный буфер рН 7,0 = 2:3) катализирует стереоселективный гидролиз 1-метил-5-фенил-3-ацетокси-7-бром-1,2-дигидро-3*H*-1,4-бенздиазепин-2-она (соединение I) с 50% степенью трансформации субстрата, с образованием 1-метил-5-фенил-7-бром-3-гидрокси-1,2-дигидро-3*H*-1,4-бенздиазепин-2-она (соединение II). Выявлено, что не трансформировавшийся энантиомер соединения I имеет S-конфигурацию и угол вращения = +195,3° (C=1 в хлороформе) [2]; что свидетельствует о большей специфичности карбоксилэстеразы МФ печени свиньи к R-энантиомеру субстрата.

Для получения биокатализатора многоразового действия микросомальную фракцию иммобилизовали с использованием альгината Са. Показано, что оптимальные концентрации альгината Na и модификатора (CaCl₂) составляют 4 и 5 %, соответственно. В результате иммобилизации МФ в разработанную матрицу был получен биокатализатор с 70 % сохранением исходной эстеразной активности (350 ед/г иммобилизованного препарата) в форме прочных гранул сферической формы, диаметром 2 мм. Показано отсутствие значительных отличий рН (8,0) и температурных (37 °C) оптимумов активности свободного и иммобилизованного препаратов.

С помощью иммобилизованной МФ в оптимизированных условиях (τ = 1 час), осуществлен стереоселективный гидролиз соединения I со степенью превращения 50 % в течение 8 циклов применения. После 8 циклов применения наблюдалось разрушение гранул биокатализатора под действием используемой водно-органической среды. Для увеличения числа циклов использования иммобилизованного препарата буферный раствор был заменен на дистиллированную воду, что потребовало повышения эстеразной активности на 30 %, однако позволило увеличить количество циклов применения биокатализатора до 12 с 50 % степенью гидролиза исследуемого субстрата.

Литература

1. Андронати С.А., Шестеренко Е.А., Севастьянов О.В. и др. Гидролиз сложных эфиров 7-бром-3-гидрокси-5-фенил-1,2-дигидро-3Н-1,4-бенздиазепин-2-она микросомальной фракцией печени свиньи // Вісник ОНУ, Сер. Хімія. 2008. Т. 13. No 11. С. 37-45.
2. Шестеренко Е.А., Романовская И.И., Андронати С.А., и др. Стереоселективный гидролиз 1-метил-5-фенил-3-ацетокси-7-бром-1,2-дигидро-3Н-1,4-бенздиазепин-2-она с помощью свободной и иммобилизованной микросомальной фракции печени свиньи // Доповіді НАНУ. 2011. No 2. С. 166-172.