ОТРИМАННЯ ПРЕПАРАТУ КАРБОКСИЛЕСТЕРАЗИ З МІКРОСОМАЛЬНОЇ ФРАКЦІЇ ПЕЧІНКИ СВИНІ ТА ДОСЛІДЖЕННЯ ЙОГО ВЛАСТИВОСТЕЙ

Зименко Н. О.

Науковий керівник – канд. хім. наук, доц. ФХІ ім. О.В. Богатського НАН України

Романовська І.І.

Карбоксилестераза (КФ 3.1.1.1) печінки свині має широку субстратну специфічність, високу стереоселективність і є перспективною для дослідження метаболізму і активації лікарських речовин і проліків in vitro, в тому числі естерів 1,4-бенздіазепін-2-ону, а також стереоселективного гідролізу і синтезу. Через високу вартість комерційного ферменту перспективним є застосування виділеного частково очищеного препарату карбоксилестерази.

Метою роботи була модифікація методу отримання частково очищеного препарату карбоксилестерази печінки свині (КЕПС) та вивчення його властивостей для створення біокаталізатору реакції гідролізу нових естерів 1,4-бенздіазепін-2-ону.

Розроблений спосіб складається з отримання мікросомальної фракції методом низькошвидкісної седиментації з використанням іонів Ca^{+2}, з подальшою екстракцією ферменту розчином 0,1 моль/дм^3 пірофосфату натрію і фракційним осадженням сульфатом амонію (45-70% насичення). Заміна солюбілізації дезоксихолатом Na на екстракцію 0,1 М пірофосфатом Na дозволило збільшити вихід за білком і питому активність КЕПС в 3,9 і 10,9 рази, відповідно; додатково переосадження осаду після 45% насичення сульфатом амонію, призвело до збільшення естеразної активності на 26 %. Вивчено вплив 21 іону металів на активність КЕПС. Показано збільшення естеразної активності при додаванні Li^+ і Na^+ (на 5,4 і 15,7%, відповідно); інші іони є інгібіторами КЕПС.

За допомогою виділеного препарату КЕПС в розроблених умовах (pH 7,0, t =37 °С, час реакції – 2,5 год) здійснено гідроліз 3-ацетокси-7-бром-5-феніл-1,2-дигідро-3Н-1,4-бенздіазепін-2-ону з утворенням як кінцевого продукту 3-гідроксипохідного (з 50 % виходом), що підтверджено методами ТШХ, УФ-спектроскопії і мас-спектрометрії.