

РАЗРАБОТКА КОНЬЮГАТОВ АСПАРАГИНАЗЫ *RHODOSPIRILLUM RUBRUM* С УЛУЧШЕННЫМИ БИОФАРМАЦЕВТИЧЕСКИМИ ХАРАКТЕРИСТИКАМИ

Н. В. Добрякова¹, Д. Д. Жданов², Н. Н. Соколов², Е. В. Кудряшова¹

¹Московский государственный университет им. М. В. Ломоносова

²НИИ биомедицинской химии им. В. Н. Ореховича, Москва

E-mail: natdobryak@gmail.com

Аннотация

Получены ковалентные конъюгаты L-аспарагиназы с сополимерами хитозан-ПЭГ, хитозан-гликоль и хитозан-ПЭИ и определена их противоопухолевая активность на клетках хронической миеломной лейкемии человека К-562.

Для лечения некоторых видов лейкозов, в частности острого лимфобластного лейкоза (ОЛЛ), применяют бактериальные аспарагиназы. Основной механизм действия L-аспарагиназ заключается в способности гидролизовать аминокислоту L-аспарагин до L-аспарагиновой кислоты и аммиака. Таким образом, при использовании препарата L-аспарагиназы концентрация L-аспарагина в крови снижается. Более чувствительные к недостатку данной аминокислоты раковые клетки перестают синтезировать ДНК, РНК и белки и гибнут.

На практике успешно применяют L-аспарагиназы *Escherichia coli* (EcA) и *Erwinia carotovora* (EwA). Однако данные ферменты могут вызывать различные побочные эффекты, связанные с нейро- и гепатотоксичностью, нарушением свертывания крови. Поэтому актуальной задачей является поиск ферментов из других источников с более подходящими свойствами. L-аспарагиназа *Rhodospirillum rubrum* (RrA), в отличие от коммерческих препаратов, обладает сниженной глутаминазой активностью, более короткой аминокислотной последовательностью (172 аминокислотных остатка) и низкой гомологией с препаратами EcA и EwA. Однако pH-оптимум RrA лежит в районе pH 9–9,5, что может сказываться на ее каталитической активности при физиологических условиях. Также фермент может подвергаться деградации в кровотоке под действием протеолитических ферментов. В нашей лаборатории ведется разработка методов конъюгирования L-аспарагиназ с различными полимерами для улучшения их свойств [1]. Предполагается, что использование ионных сополимеров, таких как ПЭГ-хитозан, гепарансульфат, полиэтиленмин (ПЭИ) и др. позволит регулировать каталитические свойства RrA, что будет способствовать увеличению ее цитотоксичности и устойчивости к биodeградации.

Для оптимизации состава конъюгатов по отношению к каталитическим параметрам и стабильности RrA в работе были получены полиэлектролитные комплексы (ПЭК) со следующими полимерами: хитозан-ПЭГ, ПЭИ-ПЭГ, ПЭИ, гепарин, хитозан, хитозан-гликоль. Измерение активности гидролиза L-аспарагина данными ПЭК показало наибольший прирост активности у комплекса RrA с ПЭИ (примерно на 30 %). Также для RrA-ПЭИ наблюдалось увеличение стабильности к трипсинолизу. При инкубации с трипсином при 37 °С в течение 1 ч сохранялось около 60 % от начальной активности фермента. Нативный фермент сохранял менее 20 % активности в таких условиях. В работе был синтезирован конъюгат RrA с сополимером хитозан-ПЭГ по реакции восстановительного аминирования. У конъюгата повышалась каталитическая активность и устойчивость к трипсинолизу. Для дальнейшей оптимизации каталитических свойств и цитотоксичности осуществлен синтез конъюгатов RrA с хитозан-ПЭИ, хитозан-ПЭГ, хитозан-гликоль. Для данных конъюгатов определена цитотоксическая активность в сравнении с нативным ферментом на клетках хронической миеломной лейкемии человека К-562. Противоопухолевая активность у RrA и ее конъюгатов была выше, чем для коммерчески доступных препаратов L-аспарагиназ из EcA и EwA.

Литература

1. Sukhoverkov K. V., Sokolov N., Abakumova O. et al. The formation of conjugates with PEG–chitosan improves the biocatalytic efficiency and antitumor activity of L-asparaginase from *Erwinia carotovora* // Moscow Univ. Chem. Bull. 2016. Vol. 71, № 2. P. 122–126.