

## Влияние концентрации субстратов на выход кладрибина

Концентрация 2-ClAde, мМ	Выход кладрибина по завершении основной реакции, %	Суммарный выход процесса, %
10	72	73
20	71	91
40	72	94
60	72	97
80	69	95
100	64	92

Примечание. Молярное соотношение 2-ClAde и 2'-dGuo составляло во всех экспериментах 1:3. Содержание биокатализатора изменялось пропорционально концентрации 2-ClAde.

Описанный двухстадийный синтез кладрибина с последующим его выделением из реакционной смеси ионообменной хроматографией позволяет получать препараты, которые по данным элементного анализа, <sup>1</sup>H-ЯМР и УФ-спектроскопии идентичны химически синтезированному кладрибину [9].

В заключение следует отметить, что предложенный в работе подход лег в основу созданных нами лабораторного технологического регламента и экспериментальной установки по химико-ферментативному получению кладрибина в количестве 2 г за один цикл, что, учитывая его высокую активность, достаточно для лечения 20-30 больных некоторыми формами лейкомии [1].

## Литература

1. Пивник А.В., Кременецкая А.М., Яхнина Е.И., Романова М.И., Воробьев А.И. // Проблемы гематологии и переливания крови. 1996. № 2. С. 55-62.
2. Beutler E., Sipe J.C., Romine J.S., Koziol J.A., McMillan R., Zyroff J. // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1996. V. 93, N 4. P. 1716-1720.
3. Kazimierzczuk Z., Cottam H.B., Revankar G.R., Robins R.K. // J. Am. Chem. Soc. 1984. V. 106, N 21. P. 6379-6382.
4. Huang M., Hatfield K., Roetker A.W., Montgomery J.A., Blakley R.L. // Biochem. Pharmacol. 1981. V. 30, N 10. P. 2663-2671.
5. Blank W.A., Elder K.J., Gati W.P., Paterson A., Pickard M.A., Wilson J.S. // Biotechnol. Lett. 1992. V. 14, N 8. P. 669-672.
6. Votruba I., Holy A., Dvorakova H., Gunter J., Hockova D., Hrebabecky H., Cihlar T., Masojidkova M. // Collect. Czech. Chem. Commun. 1994. V. 59, N 10. P. 2303-2330.
7. Mikhailopulo I.A., Zinchenko A.I., Kazimierzczuk Z., Barai V.N., Bokut S.B., Kalinichenko E.N. // Nucleosides & Nucleotides. 1993. V. 12, N (3&4). P. 417-422.
8. Zinchenko A.I., Barai V.N., Bokut S.B., Kvasnyuk E.I., Mikhailopulo I.A. // Appl. Microbiol. Biotechnol. 1990. V. 32, N 3. P. 658-661.
9. Барай В.Н., Бравсевиц И.А., Кухарская Т.А., Зинченко А.И. // Весці Акадэміі навук Беларусі, сер. біял. навук. 1997. № 4. С. 67-72.

УДК 577.157.2

## СТРУКТУРА И СВОЙСТВА ПРОТИВООПУХОЛЕВОГО ПОЛИСАХАРИДА - ЦИННАБОРИН

**Леонтьев В.Н., Пленина Л.В., Хлюстов С.В., Кизино Т.Ф., Кранц И.О., Ахрамович А.В., Максимова Р.А.**

Белорусский государственный технологический университет (кафедра биотехнологии и биоэкологии), Минск, РБ

Предприятие диагностических и лекарственных препаратов «Диалек», Минск, РБ  
Московский государственный университет, Москва, Россия

Создание новых эффективных лекарственных препаратов для лечения различных форм злокачественных новообразований является в настоящее время одной из приоритетных задач биотехнологии. Среди наиболее интенсивно разрабатываемых препаратов выделяются полисахариды грибного происхождения, причем особый интерес представляют высшие базидиальные грибы, используемые народной медициной при лечении онкологических больных.

В Лаборатории антибиотиков МГУ из плодовых тел трутовика киноварно-красного был получен штамм *Russporogus cinnabarinus* 103п, характеризующийся высокой продуктивностью экзогенного полисахарида, получившего название - циннаборин. Исследования показали, что циннаборин активен против таких опухолей, как саркома-180, плазмоцитома Морс-40S, карциносаркома Уокера 256, карцинома Са45.

Максимальный выход циннаборина наблюдается к 142-му часу культивирования продуцента на неохмеленном пивном сусле при pH 5,6-5,8 и температуре 26-28°C.

Целью настоящей работы явилось изучение структуры и свойств циннаборина.

Методом колоночной гель-хроматографии на Toyoearl HW-50 было установлено, что циннаборин имеет молекулярную массу около 15 кДа. Полимер имеет суммарный отрицательный заряд, вследствие чего связывается с DEAE-целлюлозой и снимается с нее 0,75M KCl.

В электронных спектрах поглощения циннаборина имеются 2 максимума при 264 и 306 нм, интенсивность которых разнонаправленно изменяется с изменением pH. При этом наблюдается изобестическая точка при 283 нм, свидетельствующая о взаимопревращениях двух форм препарата. По кривой спектрофотометрического титрования рассчитали значения pK, равные 6,1 и 9,25 для функциональных групп хромофора, диссоциация которых приводит к спектральным изменениям. После проведения кислотного гидролиза циннаборина и последующей нейтрализации раствора в электронном спектре поглощения оба максимума при 264 и 306 нм пропадают и появляется новый максимум при 280 нм.

Полученные результаты позволяют предполагать, что в качестве хромофорной группы в молекуле циннаборина выступает 4,7-диоксикумариновый фрагмент. Известно [1], что для 4-ОН pK=5,9, а для 7-ОН pK=9,22, что очень близко к полученным нами значениям.

Кислотный гидролиз кумаринов проходит с разрывом лактонного кольца, в результате чего образуется замещенная ароматическая структура, для которой и характерно поглощение в области 280 нм.

Хроматографический анализ гидролизата циннаборина показал наличие в его структуре глюкозы и маннозы, причем глюкоза является основным компонентом полисахарида.

Было также обнаружено слабое взаимодействие циннаборина с реактивом Фолина-Чикольте, характерное для ароматических аминокислот полипептидов, однако, в данном случае, вероятно, нельзя исключить участия в реакции хромофорной группы. В связи с этим, вопрос о том, является ли скелет циннаборина истинным полисахаридом или гликопротеином, остается открытым.

Исходя из среднего значения коэффициента молярной экстинкции для замещенных оксикумаринов ( $\epsilon=71000$ ), рассчитали, что одна хромофорная группа приходится на 20-40 моносахаридных звеньев циннаборина.

Одним из характерных свойств противоопухолевых лактонов является ингибирование сульфгидрильных ферментов [2]. Ингибиторный анализ показал, что циннаборин обратимо ингибирует активность алкогольдегидрогеназы (КФ 1.1.1.1) по смешанному типу с константой  $K_i=2 \cdot 10^{-6}M$ .

Таким образом, ингибирование активности сульфгидрильных ферментов оксикумариновым фрагментом циннаборина может быть одним из возможных механизмов противоопухолевой активности препарата.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Перельсон М.Е., Шейнкер Ю.Н., Савина А.А. Спектры и строение кумаринов, хромонов и ксантонов. - М.: Медицина, 1975. - 223 с.
2. Семенов А.А. Природные противоопухолевые соединения (структура и механизм действия). - Новосибирск: Наука, 1979. - 222 с.

УДК 577.157.2

## РАЗРАБОТКА МЕТОДА ВЫДЕЛЕНИЯ И ОЧИСТКИ ФИБРИНОЛИТИЧЕСКОГО ПРЕПАРАТА - ТРИАЗА

**Леонтьев В.Н.,** Пленина Л.В., Хлюстов С.В., Цыманович С.Г., Горбачевский А.В.,  
**Максимова Р.А., Серебрякова Т.Н.**

Белорусский государственный технологический университет (кафедра биотехнологии и биоэкологии), Минск, РБ

Предприятие диагностических и лекарственных препаратов «Диалек», Минск, РБ  
Московский государственный университет, Москва, Россия

Одним из приоритетных направлений современной биотехнологии является разработка методов получения новых лекарственных препаратов. Для нужд тромболитической терапии наиболее перспективным считается применение ферментных препаратов, получаемых микробиологическим синтезом.

Триаз - фибринолитический препарат широкого спектра действия. Он гидролизует фибрин, фибриноген, казеин, желатин, тромбин, синтетические эфиры аргинина [1]. В отличие от стрептокиназы и других аналогичных ферментных препаратов, триаза не ингибируется компонентами плазмы крови и, что самое главное, проявляет одновременно фибринолитическую и активаторную активность.

Продуцентом триазы является несовершенный сапрофитный гриб *Trichothecium roseum*. В естественных условиях продуцент встречается на различных растительных остатках (опавших листьях, плодах, орехах) как микопаразит или сапрофит. На плотных агаризованных средах *T.roseum* образует широкорастущие розовые колонии, окраска которых зависит от интенсивности развития розовых конидий [2]. Характерными особенностями *T.roseum* являются морфологическая и физиологическая изменчивость, что выражается в характере роста