

ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНІ РОБОТИ

УДК 541.49:546.47

КООРДИНАЦИОННЫЕ СОЕДИНЕНИЯ ЦИНКА С N-ЗАМЕЩЕННЫМИ ТИОКАРБАМОИЛ-N'- ПЕНТАМЕТИЛЕНСУЛЬФЕНАМИДАМИ – МОДИФИКАТОРЫ АКТИВНОСТИ ЭНЗИМОВ ПРОТЕОЛИТИЧЕСКОГО И ГЛИКОЛИТИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ

Л. Д. ВАРБАНЕЦ¹, Е. В. МАЦЕЛЮХ¹, Е. В. ГУДЗЕНКО¹, Н. В. БОРЗОВА¹,
И. И. СЕЙФУЛЛИНА², Г. Н. ХИТРИЧ²

¹Институт микробиологии и вирусологии им. Д. К. Заболотного НАН Украины, Киев;
e-mail: varbanets@serv.imv.kiev.ua;

²Одесский национальный университет им. И. И. Мечникова, Украина

Исследование влияния ряда координационных соединений цинка с N-замещенными тиокарбамоил-N'-пентаметиленсульфенамидами на активность эластазы, α -L-рамнозидазы и α -галактозидазы свидетельствует о возможности использования их в качестве стимуляторов или ингибиторов указанных энзимов. Показано, что все вещества в концентрации 0,1 и 0,01% практически в одинаковой степени (90–100%) ингибируют активность эластазы *Bacillus thuringiensis* 27-88Els⁺. Комплексы $[Zn(L_2)Br_2]$, $[Zn(L_1)(NCS)_2]$ и $[Zn(L_3)(NCS)_2]$ при экспозиции в течение 20 час активируют α -L-рамнозидазную активность *Cryptococcus albidus* 1001. Остальные соединения либо не влияют на активность, либо ингибируют ее на 7–23%. Полученные результаты свидетельствуют, что решающую роль в этом процессе играют не отдельные фрагменты (L-лиганд и анионы), а молекулы комплексов цинка в целом. Можно также говорить о том, что присутствие хлоридного аниона во всех случаях уменьшает α -L-рамнозидазную активность *C. albidus* 1001. Показано повышение α -L-рамнозидазной активности *Eupenicillium erubescens* 248 от 7 до 60% под влиянием всех исследуемых комплексов, кроме $[Zn(L_3)(NCS)_2]$. Повышение активности α -галактозидаз *Aspergillus niger* и *Cladosporium cladosporioides* при использовании исследованных координационных соединений цинка в концентрации 0,01% (время экспозиции 60 мин) не наблюдается. Активность α -галактозидазы *Penicillium canescens* ингибируется в этих условиях (на 20%). Из полученных данных следует, что характер взаимодействия исследованных комплексов цинка изменяется в зависимости от изучаемого энзима и штамма, его продуцирующего.

Ключевые слова: эластаза *Bacillus thuringiensis* 27-88Els⁺, α -L-рамнозидаза *Cryptococcus albidus* 1001, *Eupenicillium erubescens* 248, α -галактозидаза *Aspergillus niger*, *Cladosporium cladosporioides*, *Penicillium canescens*, координационные соединения цинка.

Несмотря на то, что энзимы присутствуют у животных, растений и микроорганизмов, наиболее технологичными источниками получения этих биополимеров являются микроорганизмы, поскольку они очень быстро размножаются и осуществляют синтез в условиях, контролируемых человеком. Эффективность микробиологических производств неразрывно связана с проблемой повышения жизнедеятельности продуцентов, с разработкой приемов интенсификации их роста и повышения продуктивности. К основным факторам, влияющим на рост и метаболизм микроорганизмов, относятся фи-

зико-химические условия культивирования, состав питательной среды, введение веществ, способствующих увеличению выхода энзима, что проявляется в повышении его активности.

Среди биологически активных комплексов переходных металлов с производными дитиокарбаминовых кислот (дитиокарбаматы, эфиры, тиурамдисульфиды, тиокарбамоилсульфенамиды) наиболее изучены соединения цинка с дитиокарбаматами. Однако в литературе полностью отсутствуют сведения о биологической активности комплексов цинка с тиокарбамоилсульфенамидами, которые (с учетом их строения) также можно отнести к потенци-

альным биологически активным соединениям. Известно, что ионы цинка в зависимости от состава и структуры их соединений могут оказывать как активирующее, так и ингибирующее действие на ферменты [1]. Учитывая то, что, как ионы цинка, так и производные дитиокарбаминовых кислот, обладают биологической активностью, можно ожидать не только проявления значительного синергизма, но и специфики их действия.

В связи с этим целью настоящей работы было изучение влияния координационных соединений цинка с N-замещенными тиокарбамоил-N'-пентаметиленсульфенамидами на ферменты, которые, согласно данным литературы, различаются структурой каталитического центра и характером действия. Это ферменты протеолитического (эластаза) и гликолитического (α -L-рамнозидаза и α -галактозидаза) действия.

Материалы и методы

Объектами исследований были штаммы: *Bacillus thuringiensis* 27-88EIs⁺, ранее полученный путем химического мутагенеза [2] из исходного штамма *B. thuringiensis* 27, выделенного из воды Черного моря, *Eupenicillium erubescens* 248, *Cryptococcus albidus* 1001, *Penicillium canescens* 239, *Aspergillus niger* 185ш, *Cladosporium cladosporioides* 189.

Культивирование бацилл проводили на жидкой среде (г/л): KH_2PO_4 – 1,6, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ – 0,75, $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ – 0,25, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ – 0,5, мальтоза – 1,0, желатин – 10,0, дрожжевой автолизат – 0,15, pH – 6,5 [3]; микромицетов – на среде Чапека (г/л): NaNO_3 – 2, KH_2PO_4 – 1, KCl – 0,5, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ – 0,015, рамноза – 1, pH – 5,5; дрожжей – на среде, содержащей (г/л): рамнозу – 1, пептон – 5, дрожжевой экстракт – 3, мальтэкстракт – 3, pH – 6,0.

Для получения препарата эластазы *B. thuringiensis* 27-88EIs⁺ культивировали в колбах Эрленмейера в течение 1 сут при 38–40 °C со 100 мл жидкой питательной среды описанного выше состава. Ферментный комплекс выделяли из культуральной жидкости путем фракционирования сульфатом аммония. Для этого к культуральной жидкости добавляли сухую соль до конечной 90%-й концентрации. Смесь выдерживали 24 час при 4 °C, центрифугировали при 5000 g, 30 мин. Разделение ферментного комплекса проводили на колонках с Toyopearl DEAE-650(M) (2,5 x 40 см) и Toyopearl HW-55 (2,0 x 30 см) фирмы Toyosoda (Япония). Элюцию осуществляли 0,01M Tris-HCl буфером, pH 7,5. Линейный градиент при ионообменной

хроматографии создавали раствором хлорида натрия от 0 до 1 M.

Активность эластазы (ЭА) определяли колориметрически по интенсивности окрашивания раствора при ферментатическом гидролизе эластина, окрашенного конго-рот [4]. При определении активности эластазы в качестве субстрата использовали нативный эластин, полученный путем экстракции из бычьих шейных связок (Реахим, Россия). Инкубационная смесь содержала 2,5 мл 0,01 M фосфатного буфера pH 7,5, 5 мг эластина, окрашенного 0,002%-ым раствором конго-рот и 1 мл раствора культуральной жидкости. Смесь инкубировали в течение 5 час при 37 °C. Реакцию останавливали, выдерживая пробирки с реакционной смесью на бане со льдом в течение 30 мин. Негидролизированный эластин отделяли центрифугированием при 3000 g, 10 мин. Интенсивность окраски измеряли на спектрофотометре СФ-26 при длине волны 515 нм. За единицу активности принимали количество фермента (концентрация протеина 1 мг/мл), которое катализирует гидролиз 1 мг субстрата за 1 мин в стандартных условиях.

При изучении влияния различных соединений цинка использовали концентрации от 0,1 до 0,001%, время экспозиции с препаратом эластазы составляло 60 мин. Активность ее определяли как описано выше.

E. erubescens 248 и *C. albidus* 1001 культивировали при 25 и 28 °C соответственно. α -L-Рамнозидазу выделяли из культуральной жидкости осаждением серноокислым аммонием 90%-го насыщения, центрифугированием, диализом. Частично очищенные препараты фермента подвергали геле-фильтрации на TSK HW-60. Элюцию осуществляли 0,01 M фосфатным буфером, pH 7,0.

α -L-Рамнозидазную активность определяли по методу Davis [5], используя в качестве субстрата нарингин. За единицу активности фермента принимали такое его количество (концентрация протеина 1 мг/мл), которое гидролизует 1 мкмоль субстрата за 1 мин в условиях опыта. Реакционная смесь содержала 0,1 мл раствора фермента в 0,1 M фосфат-цитратном буфере (ФЦБ), pH 5,2, 0,1 мл 2,5 mM раствора субстрата. Смесь инкубировали в течение 30 мин при 37 °C. Реакцию останавливали добавлением 3 мл 4 M раствора NaOH. Через 30 мин образующуюся окраску измеряли на спектрофотометре СФ26 при длине волны 310 нм.

При изучении влияния различных соединений цинка их использовали в концен-

трации 0,01%, время экспозиции с препаратом α -L-рамнозидазы составляло 30 мин и 20 час. Активность энзима определяли как описано выше.

Penicillium canescens 239, *Aspergillus niger* 185ш, *Cladosporium cladosporioides* 189 культивировали при 26–28 °С. α -D-Галактозидазу выделяли из культуральных жидкостей продуцентов, как описано ранее [6].

Для определения активности α -галактозидазы к 0,1 мл раствора энзима добавляли 0,2 мл 0,1 М ФЦБ pH 5,2 и 0,1 мл 0,01 М раствора субстрата в ФЦБ. Реакционную смесь инкубировали в течение 10 мин при температуре 37 °С. Реакцию останавливали добавлением 2 мл 1 М раствора бикарбоната натрия. К контролю добавляли те же компоненты, однако в обратном порядке. Количество *n*-нитрофенола, который был отщеплен в результате гидролиза, определяли колориметрическим методом по поглощению при длине волны 400 нм [7]. За единицу активности энзима принимали такое его количество (концентрация протеина 1 мг/мл), которое гидролизует 1 мкмоль субстрата *n*-нитрофенил- α -D-галактопиранозида (Sigma, США) за 1 мин в условиях опыта.

При изучении влияния различных соединений цинка их использовали в концентрации 0,01%, время экспозиции с препаратом энзима составляло 60 мин и 20 час, а также в концентрации 0,04%, время экспозиции – 60 мин. Активность энзима определяли как описано выше.

Содержание протеина на всех этапах очистки регистрировали на спектрофотометре СФ-26 при длине волны 280 нм, количество его определяли методом Lowry et al. [8].

В качестве модификаторов активности энзимов использовали хлоридные, бромидные и роданидные комплексы цинка с N-замещенными тиокарбамоил-N'-пентаметилсульфенамидами [9]: [Zn(L₁)Br₂] (1), [Zn(L₁)Cl₂] (2), [Zn(L₁)(NCS)₂] (3), [Zn(L₂)Br₂] (4), [Zn(L₂)Cl₂] (5), [Zn(L₃)Br₂] (6), [Zn(L₃)Cl₂] (7), [Zn(L₃)(NCS)₂] (8), [Zn(L₄)Br₂] (9), [Zn(L₄)Cl₂] (10).

L₁ – N,N-диметилтиокарбамоил-N'-пентаметилсульфенамид;

L₂ – N,N-диэтилтиокарбамоил-N'-пентаметилсульфенамид;

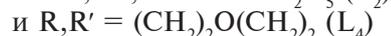
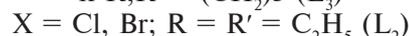
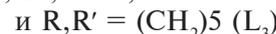
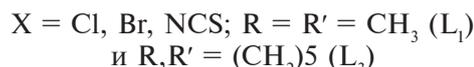
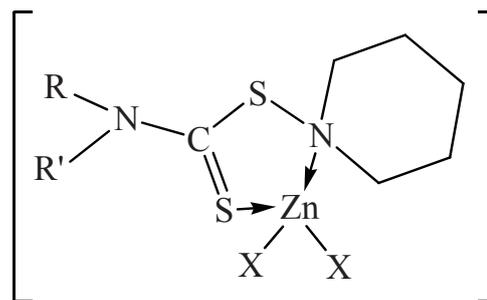
L₃ – N-пиперидинтиокарбамоил-N'-пентаметилсульфенамид;

L₄ – N-гексаметиленминтиокарбамоил-N'-пентаметилсульфенамид.

На рисунках приведены средние арифметические величины, отклонения от среднего значения не превышало 5%.

Результаты и обсуждение

Для повышения активности энзимов существует ряд методов, один из которых заключается в использовании различных соединений, которые могут модифицировать их и оказывать как стимулирующее, так и ингибирующее действие. В качестве модификаторов энзиматической активности были использованы молекулярные комплексы цинка с N-замещенными тиокарбамоил-N'-пентаметилсульфенамидами – неэлектролиты, состава [Zn(L)X₂], в которых реализуется однотипная бидентатная координация L (лиганда) через тионные атомы серы и сульфенамидные атомы азота с образованием пятичленных металлоциклов (строение бромидных комплексов цинка с L₁ и L₄ установлено методом рентгеноструктурного анализа [10, 11]):



Для исследования были выбраны энзимы: 1) протеиназа с эластолитической активностью, 2) α -L-рамнозидаза (α -L-рамнозид-рамногидролаза, КФ 3.2.1.40), 3) α -галактозидаза (α -D-галактозид-галактогидролаза, КФ 3.2.1.22).

В результате разделения комплексного энзимного препарата с эластазной активностью, полученного путем осаждения сульфатом аммония 90%-го насыщения из культуральной жидкости *B. thuringiensis* 27-88Els⁺, на колонке с DEAE-TSK 650 М (рис. 1) было идентифицировано две фракции. Фракция протеинов (I), проявляющая эластазную активность, выходила до начала линейного градиента NaCl.

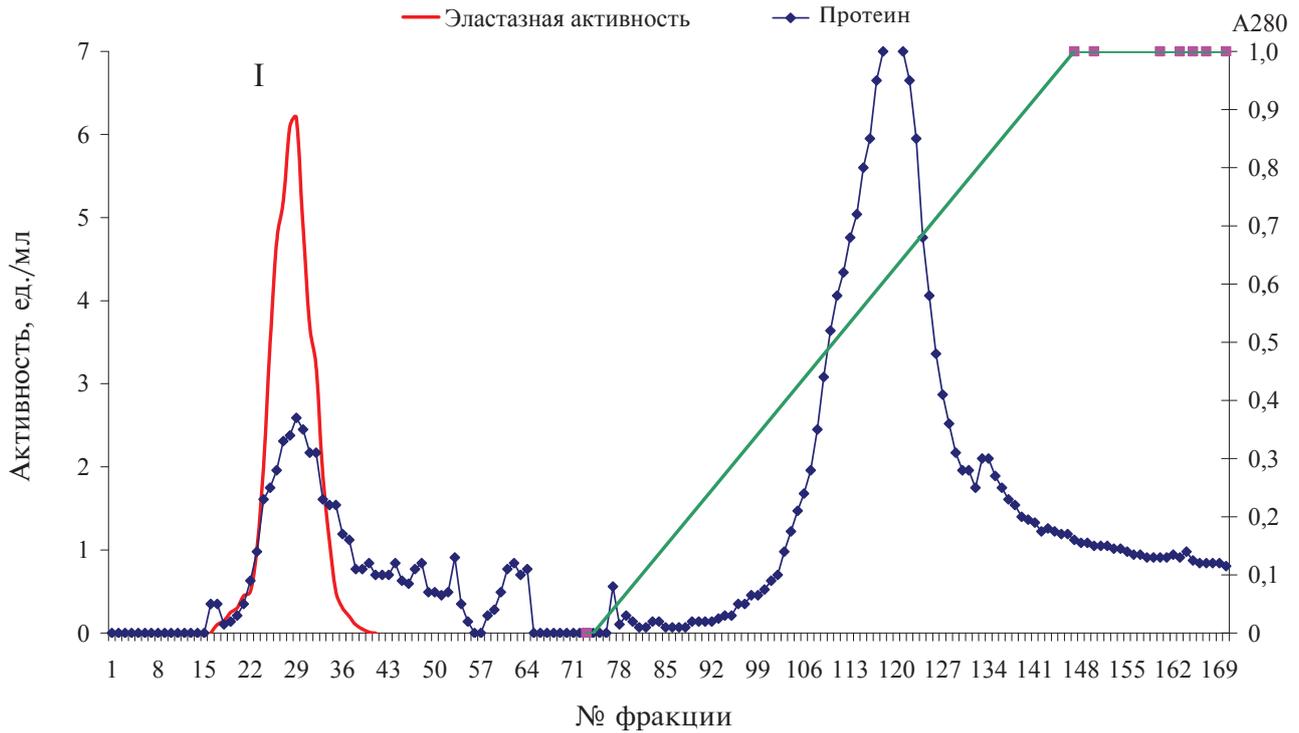


Рис. 1. Профиль элюции на TSK DEAE 650(M) препарата эластазы *B. thuringiensis* 27-88Els⁺

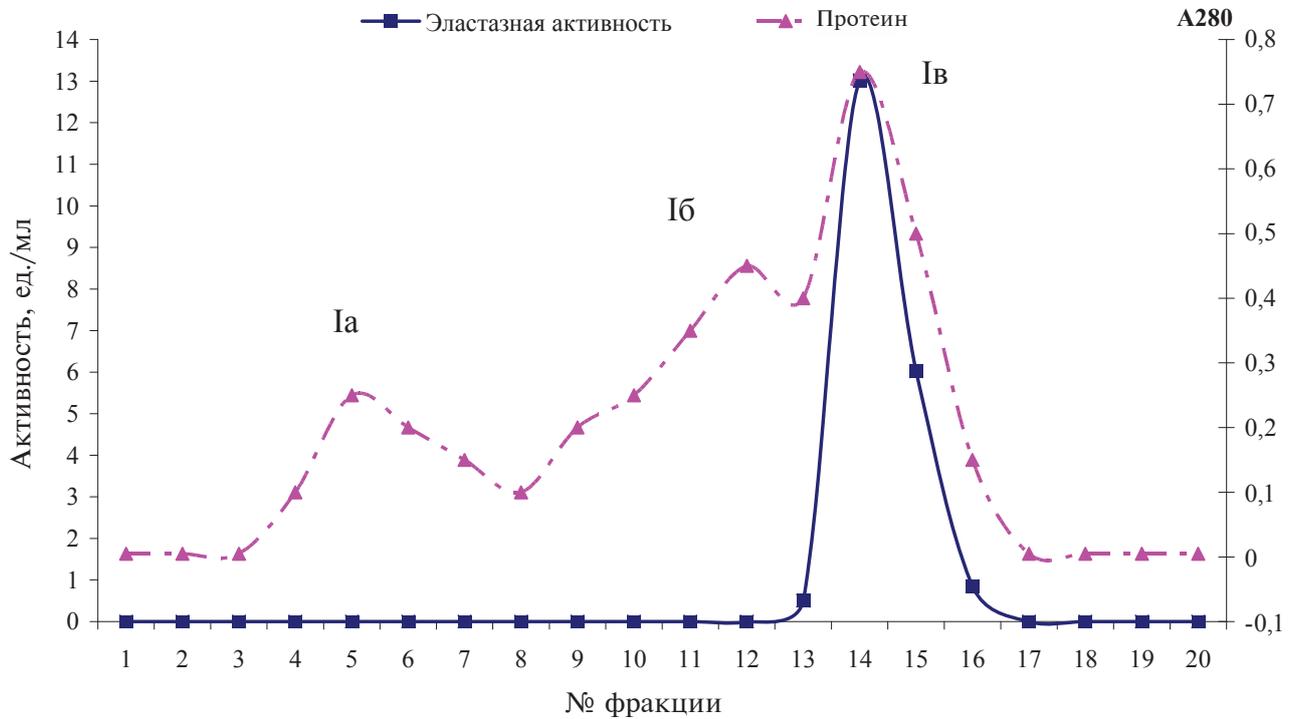


Рис. 2. Профиль элюции на TSK HW-55 фракции I, полученной после ионообменной хроматографии на TSK DEAE 650(M) препарата эластазы *B. thuringiensis* 27-88Els⁺

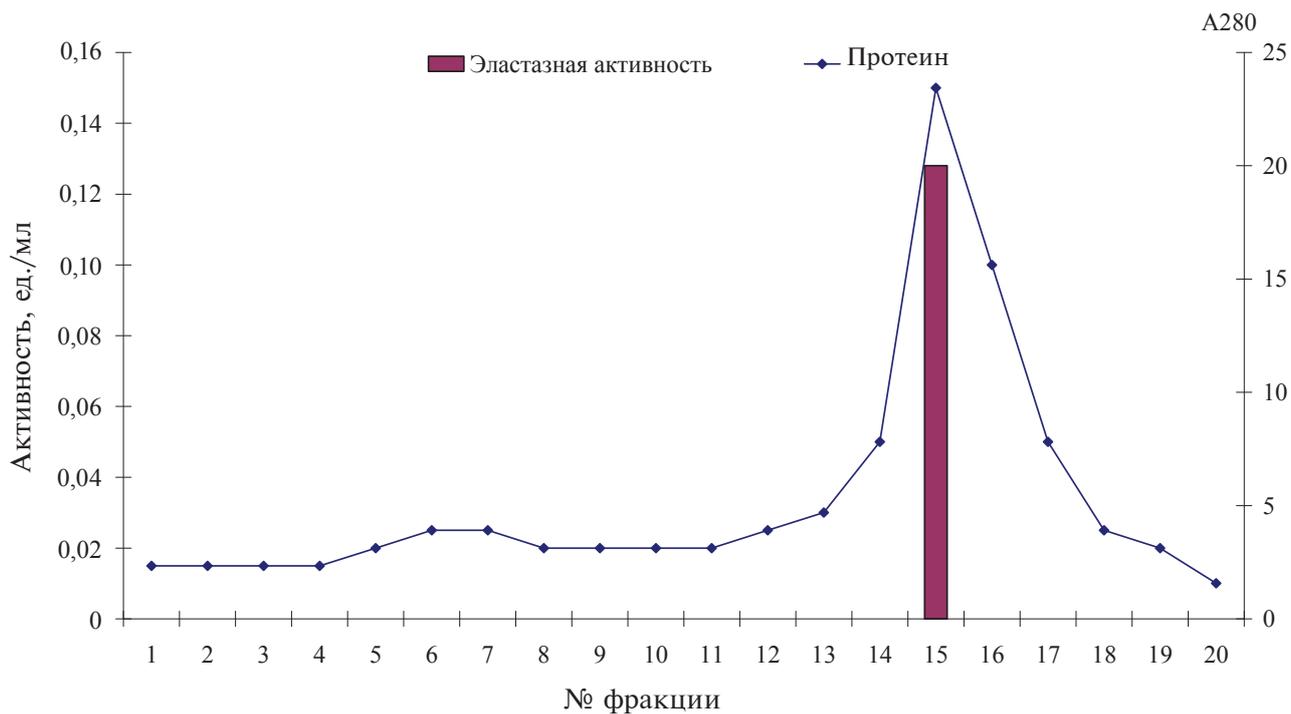


Рис. 3. Профиль элюции на Сефарозе 6В фракции Iв препарата эластазы *B. thuringiensis* 27-88Els⁺

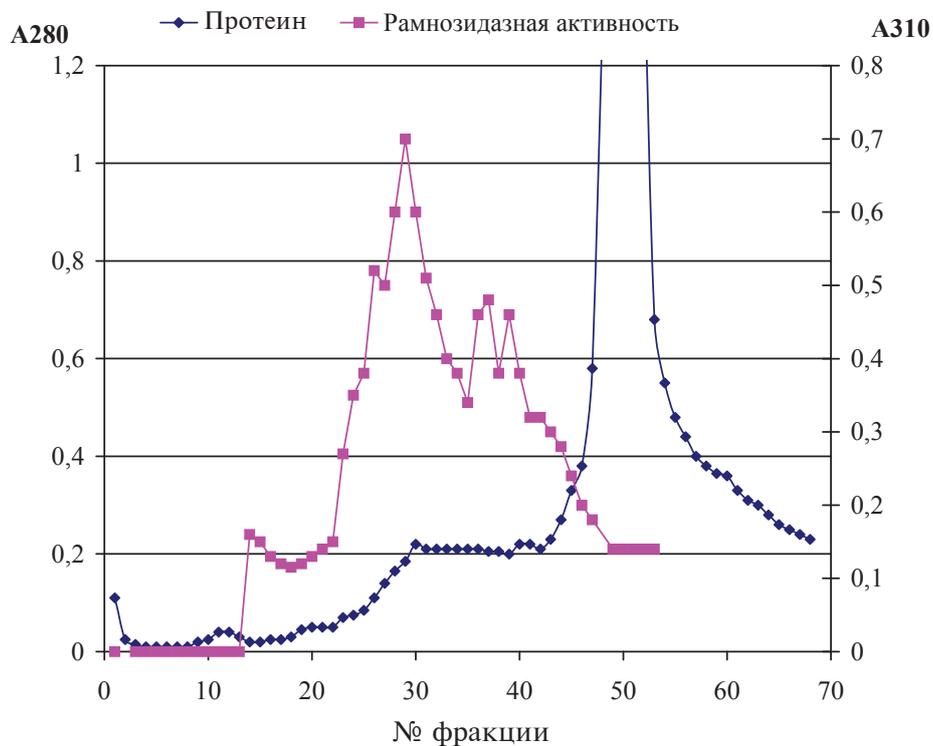


Рис. 4. Профиль элюции на TSK HW-60 препарата α -L-рамнозидазы *E. erubescens* 248

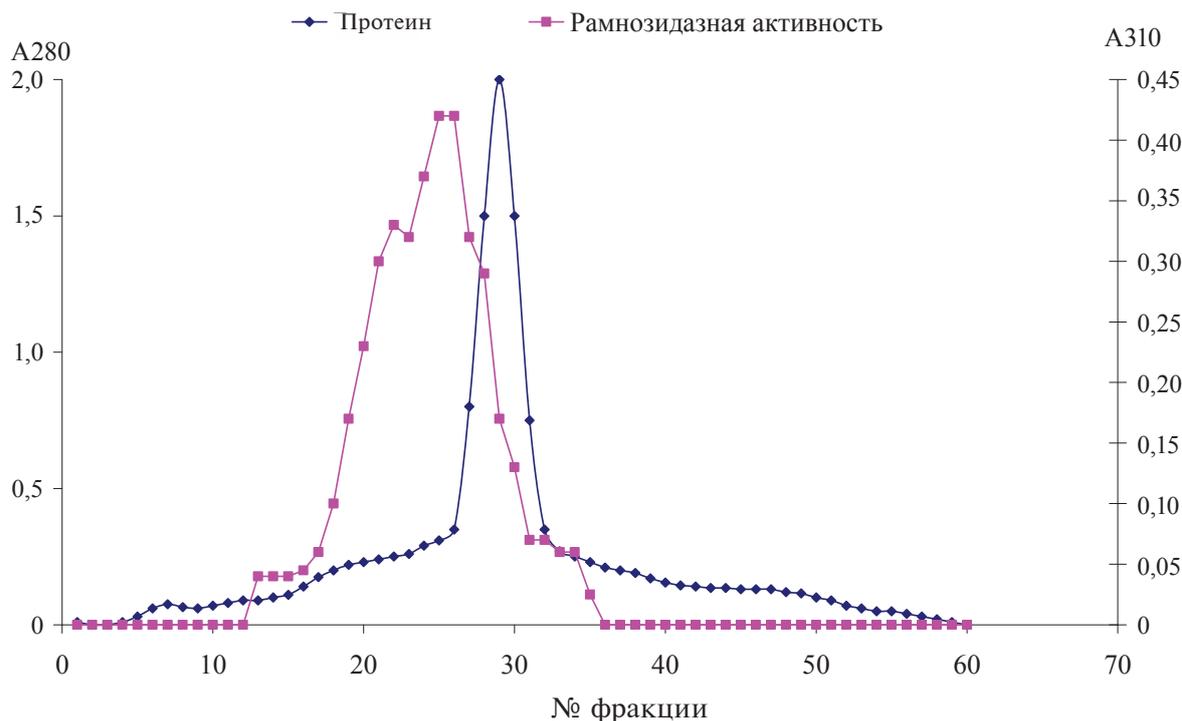
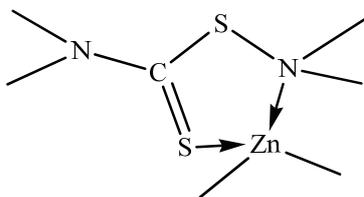


Рис. 5. Профиль элюции на TSK HW-60 препарата α-L-рамнозидазы *C. albidus* 1001

Путем гель-фильтрации ее на TSK HW-55 и сефарозе 6В (рис. 2, 3 соответственно) была проведена дальнейшая очистка препарата. Частично очищенные препараты α-L-рамнозидаз *E. erubescens* 248 (рис. 4) и *C. albidus* 1001 (рис. 5) получали путем гель-фильтрации комплексных препаратов на TSK HW-60. Очистка препаратов α-галактозидаз *Penicillium canescens* 239, *Aspergillus niger* 185ш, *Cladosporium cladosporioides* 189 была описана ранее [5].

Исследования влияния координационных соединений цинка на активность эластазы *B. thuringiensis* 27-88Els⁺ показали, что все комплексы в концентрации 0,1 и 0,01% практически в одинаковой степени (90–100%) ее ингибируют. Снижение концентрации соединений до 0,001% приводит к уменьшению (39–65%) ингибирования активности эластазы (рис. 6). По-видимому, в данном случае анионы не оказывают существенное влияние, а главную роль играет одинаковый центральный фрагмент комплексов цинка – координационный узел:



Несколько иная картина наблюдается при изучении влияния координационных соединений цинка на активность препаратов α-L-рамнозидазы *C. albidus* 1001 (рис. 7) и *E. erubescens* 248 (рис. 8). Комплексы $[Zn(L_2)Br_2]$, $[Zn(L_1)(NCS)_2]$ и $[Zn(L_3)(NCS)_2]$ при экспозиции в течение 20 час оказывают активирующее действие на активность α-L-рамнозидазы *C. albidus* 1001. Остальные соединения либо не влияют на активность, либо ингибируют ее на 7–23%. При этом различное время экспозиции (0,5 или 20 час) не оказывает существенное влияние на активность энзима. Полученные результаты свидетельствуют о том, что решающую роль играют не отдельные фрагменты (L и анионы), а молекулы комплексов цинка в целом. Можно также говорить о том, что присутствие хлоридного аниона во всех случаях уменьшает активность α-L-рамнозидазы *C. albidus* 1001.

Более разнообразное действие исследуемые соединения оказывают на активность α-L-рамнозидазы *E. erubescens* 248 (рис. 8). В этой серии экспериментов установлено влияние на активность как времени экспозиции, так и структуры исследуемых комплексов. При экспозиции в течение 0,5 час соединения $[Zn(L_1)Cl_2]$, $[Zn(L_4)Cl_2]$, $[Zn(L_2)Br_2]$, $[Zn(L_4)Br_2]$, $[Zn(L_1)(NCS)_2]$ и $[Zn(L_3)(NCS)_2]$ оказы-

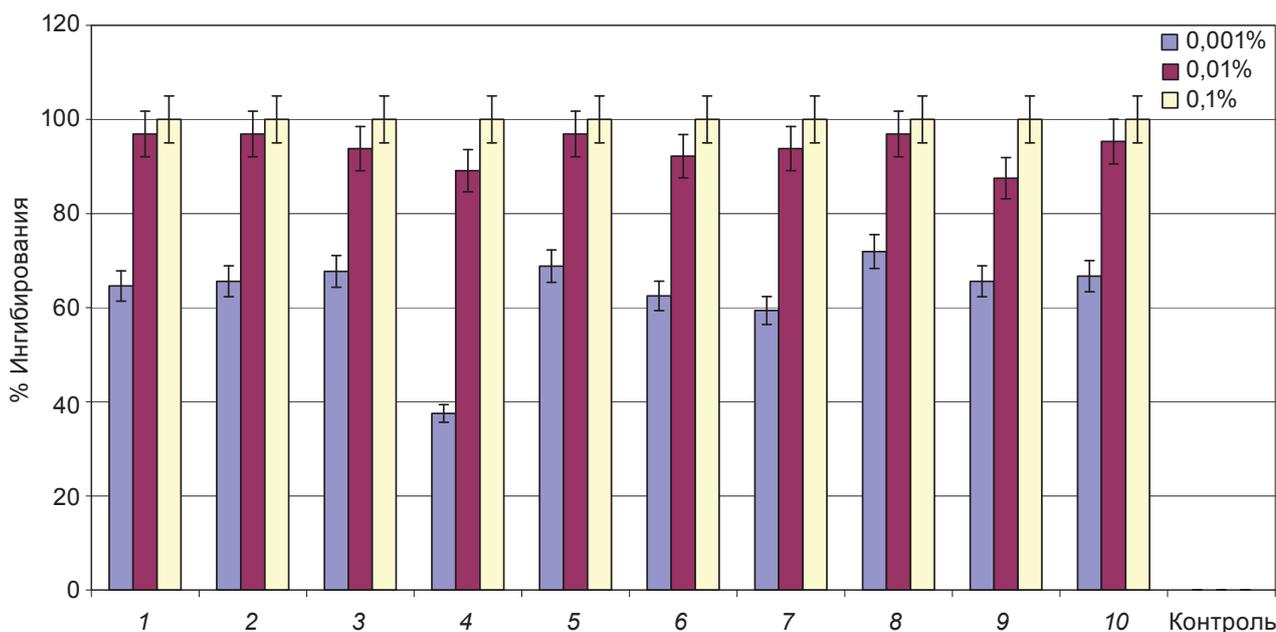


Рис. 6. Влияние координационных соединений цинка на эластазную активность *B. thuringiensis* 27-88Els⁺.
Примечание: на рис. 6–11: 1 – $[Zn(L_1)Br_2]$, 2 – $[Zn(L_1)Cl_2]$, 3 – $[Zn(L_1)(NCS)_2]$, 4 – $[Zn(L_2)Br_2]$, 5 – $[Zn(L_2)Cl_2]$, 6 – $[Zn(L_3)Br_2]$, 7 – $[Zn(L_3)Cl_2]$, 8 – $[Zn(L_3)(NCS)_2]$, 9 – $[Zn(L_4)Br_2]$, 10 – $[Zn(L_4)Cl_2]$

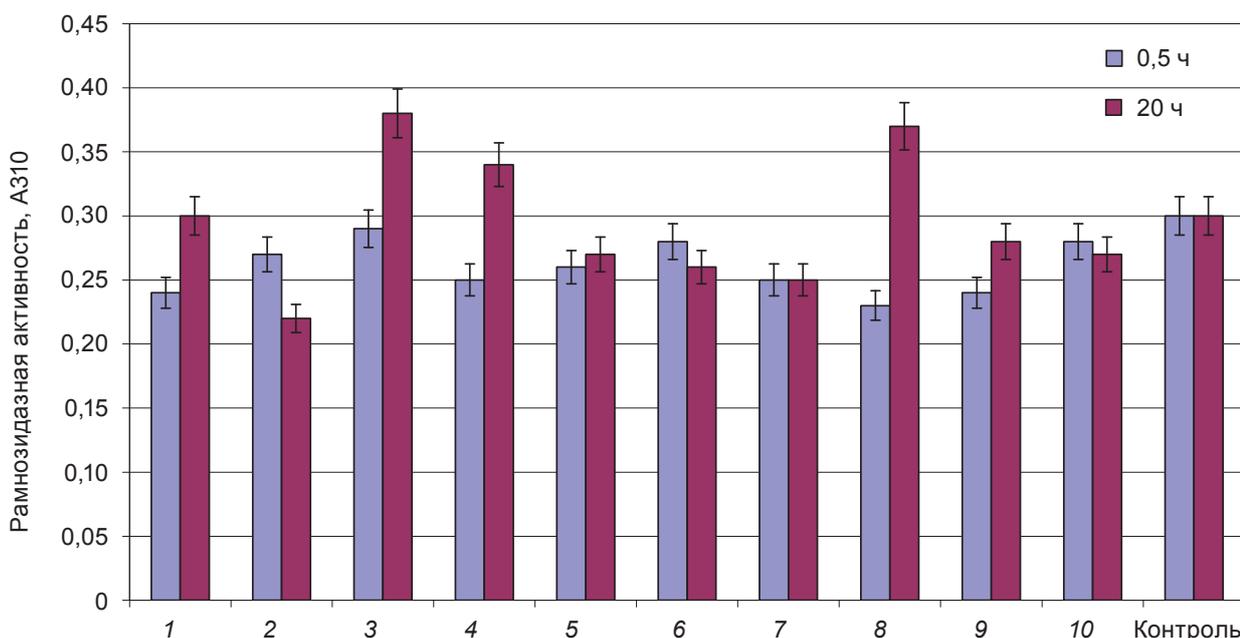


Рис. 7. Влияние координационных соединений цинка на α -L-рамнозидазную активность *C. albidus* 1001

вают ингибирующее действие, в то время как $[Zn(L_2)Cl_2]$, $[Zn(L_3)Cl_2]$, $[Zn(L_1)Br_2]$, и $[Zn(L_3)Br_2]$ – на уровне контроля. При экспозиции в течение 20 час все исследуемые комплексы, кроме $[Zn(L_3)(NCS)_2]$, повышают активность α -L-рамнозидазы *E. erubescens* 248 от 7 до 60%.

Обнаруженный факт различного влияния $[Zn(L_3)(NCS)_2]$ на активность α -L-рамнозидазы *C. albidus* 1001 и *E. erubescens* 248 позволяет предположить, что энзимы отличаются структурой. При экспозиции данного соединения с препаратом α -L-рамнозидазы *C. albidus* 1001

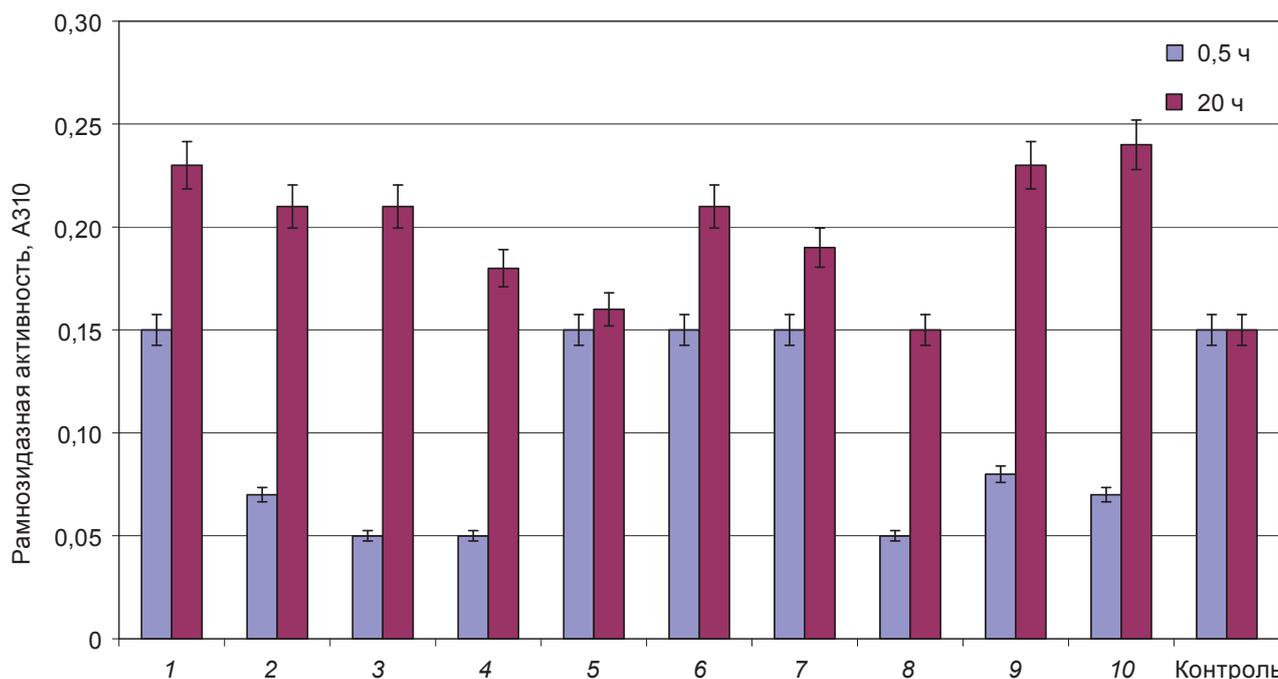


Рис. 8. Влияние координационных соединений цинка на α -L-рамнозидазную активность *E. erubescens* 248

в течение 0,5 час происходит незначительное ингибирование по сравнению с контролем, а при экспозиции в течение 20 час – существенное активирование. Соединения цинка вначале оказывают ингибирующее действие на активность α -L-рамнозидазы *E. erubescens* 248, а затем – активирующее. Поэтому можно предположить, что при взаимодействии комплексов цинка с препаратами *C. albidus* 1001 и *E. erubescens* 248 происходит изменение третичной структуры протеиновых молекул, и, как следствие, изменение конфигурации активного центра энзима во времени. Это сопровождается вначале уменьшением каталитической активности энзимов, а при достижении наиболее энергетически выгодного состояния – ее увеличением.

Изучение влияния координационных соединений цинка на активность α -галактозидаз показало, что все исследованные комплексы в концентрации 0,01%, при времени экспозиции 60 мин практически в одинаковой степени (в пределах погрешности опыта) влияют на активность энзимов *A. niger* и *C. cladosporioides*, в то же время оказывают ингибирующее действие (до 20%) на активность α -галактозидазы *P. canescens* (рис. 9). Увеличение времени экспозиции веществ с энзимами до 20 час свидетельствует об избирательности действия отдельных соединений. Так, комплексы $[\text{Zn}(\text{L}_1)\text{Br}_2]$ и $[\text{Zn}(\text{L}_4)\text{Cl}_2]$ полностью ингибируют ак-

тивность α -галактозидаз всех трех продуцентов, в то время как $[\text{Zn}(\text{L}_1)(\text{NCS})_2]$, $[\text{Zn}(\text{L}_3)(\text{NCS})_2]$ и $[\text{Zn}(\text{L}_4)\text{Br}_2]$ повышают их активность до 50% (рис. 10). Наибольшее активирующее действие по отношению к α -галактозидазе *A. niger* проявляет соединение $[\text{Zn}(\text{L}_3)(\text{NCS})_2]$. При повышении концентрации до 0,04% наблюдается ингибирование активности α -галактозидазы *A. niger* комплексом $[\text{Zn}(\text{L}_3)(\text{NCS})_2]$ на 44%, а $[\text{Zn}(\text{L}_3)\text{Cl}_2]$ – на 20%. Активность α -галактозидазы *C. cladosporioides* в присутствии $[\text{Zn}(\text{L}_3)(\text{NCS})_2]$ и $[\text{Zn}(\text{L}_1)(\text{NCS})_2]$ снижается более чем на 20% (рис. 11).

Из полученных данных следует, что характер взаимодействия исследованных комплексов цинка изменяется в зависимости от изучаемого энзима и штамма, его продуцирующего. Это указывает на то, что ответственными за связывание с модификаторами являются различные входящие в состав энзимов функциональные группировки, отличающиеся строением и донорными центрами.

Поскольку установлено, что эластазы некоторых микроорганизмов являются одним из факторов их патогенности, исследуемые координационные соединения цинка могут быть перспективными в качестве ингибиторов эластазы, в то время как активаторами α -L-рамнозидазы и α -галактозидаз являются $[\text{Zn}(\text{L}_1)(\text{NCS})_2]$, $[\text{Zn}(\text{L}_2)\text{Br}_2]$, $[\text{Zn}(\text{L}_3)(\text{NCS})_2]$ и $[\text{Zn}(\text{L}_1)(\text{NCS})_2]$, $[\text{Zn}(\text{L}_3)(\text{NCS})_2]$, $[\text{Zn}(\text{L}_4)\text{Br}_2]$ соответственно.

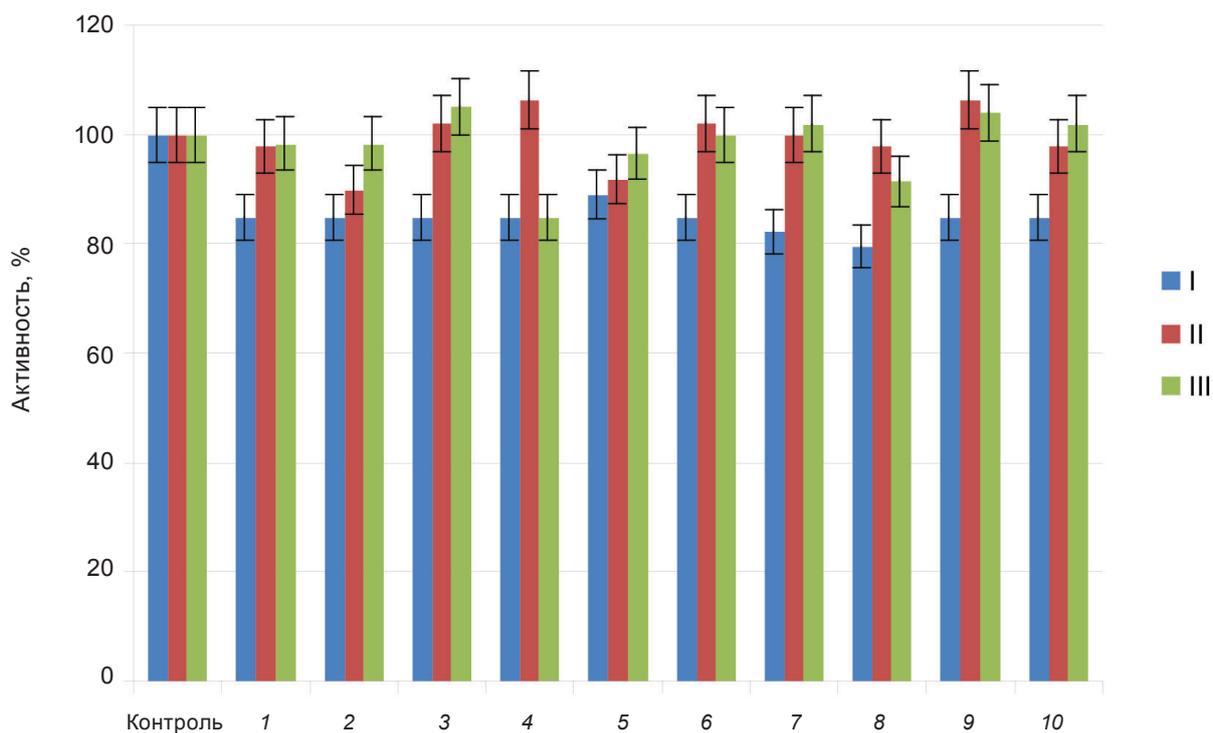


Рис. 9. Активность α -галактозидаз *A. niger* 185ш, *C. cladosporioides* 189, *P. canescens* 239 (I, II и III соответственно) в присутствии координационных соединений цинка (0,01%) (время экспозиции 60 мин)

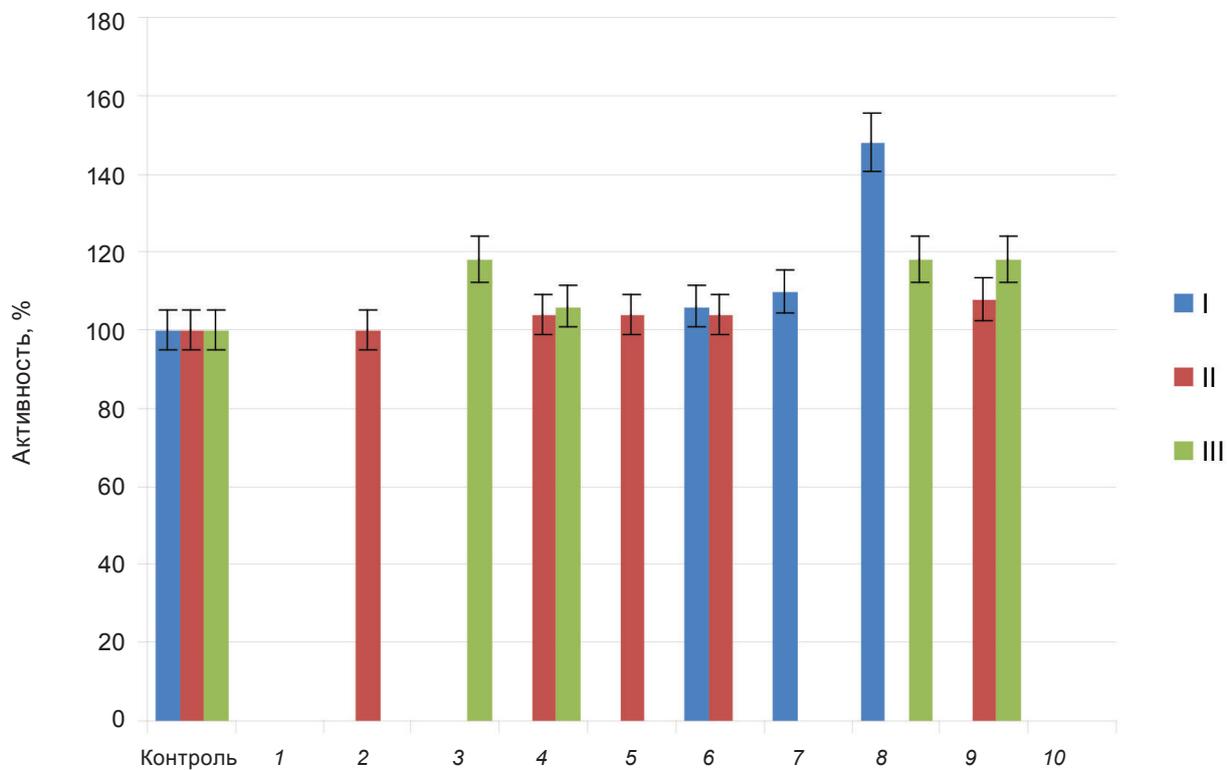


Рис. 10. Активность α -галактозидаз *A. niger*, *C. cladosporioides*, *P. canescens* (I, II, III соответственно) в присутствии координационных соединений цинка (0,01%) (время экспозиции 20 ч)

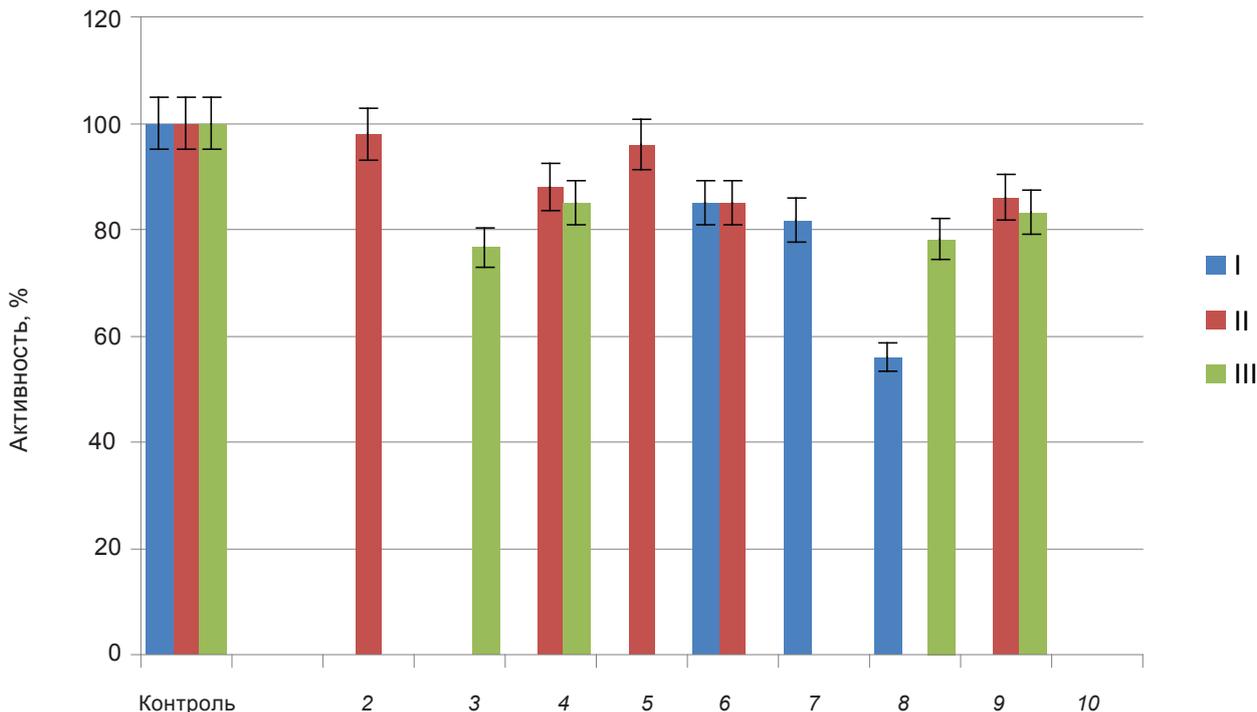


Рис. 11. Активность α -галактозидаз *A. niger*, *C. cladosporioides*, *P. canescens* (I, II, III соответственно) в присутствии координационных соединений цинка (0,04%) (время экспозиции 60 мин)

Штамм *C. albidus* 1001 был любезно предоставлен нам ст. научн. сотр., канд. биол. наук С. С. Нагорной из коллекции культур отдела физиологии промышленных микроорганизмов ИМВ НАНУ, *E. erubescens* 248 — докт. биол. наук, проф. Н. Н. Ждановой и зав. отделом физиологии и систематики микромицетов

ИМВ НАНУ канд. биол. наук И. Н. Курченко, *Bacillus thuringiensis* 27 — зав. кафедрой микробиологии и вирусологии Одесского национального университета им. И. И. Мечникова проф. В. А. Иваницей, за что мы выражаем им искреннюю благодарность.

**КООРДИНАЦІЙНІ СПОЛУКИ ЦИНКУ
ІЗ N-ЗАМІЩЕНИМИ ТІОКАРБАМОІЛ-
N'-ПЕНТАМЕТИЛЕНСУЛЬФЕН-
АМІДАМИ – МОДИФІКАТОРИ
АКТИВНОСТІ ЕНЗИМІВ
ПРОТЕОЛІТИЧНОЇ І ГЛІКОЛІТИЧНОЇ
ДІЇ**

Л. Д. Варбанець¹, О. В. Мацелюх¹,
О. В. Гудзенко¹, Н. В. Борзова¹,
І. І. Сейфулліна², Г. Н. Хитрич²

¹Інститут мікробіології та вірусології
ім. Д. К. Заболотного НАН України, Київ;
e-mail: varbanets@serv.imv.kiev.ua;

²Одеський національний університет
ім. І. І. Мечникова, Україна

Дослідження впливу ряду координаційних сполук цинку із N-заміщеними тіокарбамоїл-N'-пентаметиленсульфенамідами на активність еластази, α -L-рамнозидази і α -галактозидаз свідчить про можливість їхнього використання як стимуляторів або інгібіторів вказаних ензимів. Показано, що всі речовини в концентрації 0,1 і 0,01% практично однаковою мірою (90–100%) інгібують еластазну активність *Bacillus thuringiensis* 27-88Els⁺. Комплекси $[\text{Zn}(\text{L}_2)\text{Br}_2]$, $[\text{Zn}(\text{L}_1)(\text{NCS})_2]$ і $[\text{Zn}(\text{L}_3)(\text{NCS})_2]$ за експозиції протягом 20 год активують α -L-рамнозидазну активність *Cryptococcus albidus* 1001. Решта сполук або не впливає на активність, або інгібує її на 7–23%. Одержані результати свідчать, що вирішальну роль відіграють не окремі фрагменти (L-ліганд і аніони), а молекули комплексів цинку в цілому. Можна також стверджувати, що присутність хлоридного аніону у всіх випадках зменшує α -L-рамнозидазну активність *C. albidus* 1001. Усі досліджувані комплекси, крім $[\text{Zn}(\text{L}_3)(\text{NCS})_2]$, підвищують α -L-рамнозидазну активність *Eupenicillium erubescens* 248 від 7 до 60%. Практично в однаковому ступені (в межах похибки досліду) на рівні контролю всі досліджувані речовини в концентрації 0,01% (час експозиції 60 хв) впливають на активність α -галактозидаз *Aspergillus niger* і *Cladosporium cladosporioides*, однак інгібують (на 20%) активність α -галактозидази *Penicillium canescens*. Підвищення часу експозиції речовин до 20 год свідчить про вибірковість дії окремих сполук на досліджувані ензими. Одержані дані показали, що характер взаємодії досліджуваних комплексів цинку змінюється залежно від ензиму і штаму, який його продукує.

Ключові слова: еластаза *Bacillus thuringiensis* 27-88Els⁺, α -L-рамнозидаза

Cryptococcus albidus 1001, *Eupenicillium erubescens* 248, α -галактозидаза *Aspergillus niger*, *Cladosporium cladosporioides*, *Penicillium canescens*, координаційні сполуки цинку.

**COORDINATIVE COMPOUNDS
OF ZINC WITH N-SUBSTITUTED
THIOCARBAMOIL-N'-
PENTAMETHYLENSULFENAMIDES –
ACTIVITY MODIFIERS OF ENZYMES
OF PROTEOLYTIC AND GLYCOLYTIC
ACTION**

L. D. Varbanets¹, E. V. Matselyukh¹,
E. V. Gudzenko¹, N. V. Borzova¹,
I. I. Seifullina², G. N. Khitrich²

¹Zabolotny Institute of Microbiology and Virology,
National Academy of Sciences of Ukraine, Kiev;
e-mail: varbanets@serv.imv.kiev.ua;

²Mechnikov Odessa National University, Ukraine

S u m m a r y

The influence of a number of coordinative compounds of zinc with N-substituted thiocarbamoil-N'-pentamethylensulfenamides on activity of elastase, α -L-rhamnosidase and α -galactosidases evidence for a possibility of their usage as stimulators or inhibitors of enzymes tested have been studied. It was shown that all the compounds in concentration of 0.1 and 0.01% inhibited by 90–100% *Bacillus thuringiensis* 27-88Els⁺ elastase activity. $[\text{Zn}(\text{L}_2)\text{Br}_2]$, $[\text{Zn}(\text{L}_1)(\text{NCS})_2]$ and $[\text{Zn}(\text{L}_3)(\text{NCS})_2]$ at 20 h exposition activated *Cryptococcus albidus* 1001 α -L-rhamnosidase activity. The rest of compounds influenced it on the control level or inhibited it by 7–23%. The obtained results testify that essential role is not played by separate fragments (L-ligand and anions), but by molecules of zinc complexes as a whole. All the studied complexes, except for $[\text{Zn}(\text{L}_3)(\text{NCS})_2]$, induced α -L-rhamnosidase activity of *Eupenicillium erubescens* 248 (7 to 60%). All zinc compounds (concentration 0.01%, exposition time – 60 min) influenced at the control level *Aspergillus niger* and *Cladosporium cladosporioides* α -galactosidases activity, however inhibited (up to 20%) activity of *Penicillium canescens* α -galactosidase. The increasing of exposition time of the compounds tested with enzymes up to 20 h testify to selective action of separate compounds on enzymes tested. The data obtained prove, that the character of interaction of zinc complexes is changed depending on the enzyme tested and its strain-producer.

Key words: *Bacillus thuringiensis* 27-88Els⁺ elastase, *Cryptococcus albidus* 1001 and

Eupenicillium erubescens 248 α -rhamnosidase, *Aspergillus niger*, *Cladosporium cladosporioides*, *Penicillium canescens* α -galactosidases, zinc coordinative compounds.

1. Медянцева Э. П., Вертлиб М. Г., Будников Г. К. // Успехи химии. — 1998. — **67**, № 3. — С. 252–260.
2. Мацелюх О. В. // Біотехнологія. — 2010. — **3**, № 2. — С. 42–47.
3. Бондарчук А. А., Ажицкий Г. Ю. // Микробиол. журн. — 1981. — **43**, № 6. — С. 687–690.
4. Trombridg G. O., Moon H. D. // Proc. Soc. Exp. Biol. Med. — 1972. — **141**, N 3. — P. 928–931.
5. Davis B. J. // Anal. Biochem. — 1985. — **149**, N 2. — P. 566–571.
6. Borzova N. V., Varbanets L. D. α -Galactosidase *Aspergillus niger*: purification and properties // Studia Biologica. — 2007. — **1**, N 1. — P. 53–64.
7. Carbohydrate analysis / Ed. M. E. Chaplin, J. E. Kennedy. — Oxford; Washington: IRL Press. — 1986. — 228 p.
8. Lowry O. H., Rosenbrough N. J., Farr A. L., Randall R. C. // J. Biol. Chem. — 1951. — **193**, N 1. — P. 265–275.
9. Хитрич Г. Н., Сейфуллина И. И., Хитрич Н. В. // Вісн. Одеськ. нац. ун-ту. Хімія. — 2007. — **12**, № 1. — С. 78–84.
10. Khitrich G. N., Seifullina I. I., Vologzhanina A. V. // Mendeleev Communications. — 2010. — **20**, N 3. — P. 180–181.
11. Сейфуллина И. И., Хитрич Г. Н., Вологжанина А. В. // Журн. неорг. химии. — 2011. — **56**, № 2. — С. 222–227.

Получено 09.02.2011