

Л.Д. Варбанець<sup>1</sup>, О.В. Мацелюх<sup>1</sup>, Н.А. Нідялкова<sup>1</sup>, О.В. Гудзенко<sup>1</sup>, К.В. Авдіюк<sup>1</sup>,  
Н.В. Шматкова<sup>2</sup>, І.Й. Сейфулліна<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Інститут мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України,  
вул. Заболотного, 154, Київ ДСП, Д03680, Україна

<sup>2</sup>Одеський національний університет ім. І.І. Мечнікова

## ВПЛИВ КООРДИНАЦІЙНИХ СПОЛУК ГЕРМАНІЮ (IV) ТА СТАНУМУ (IV) НА АКТИВНІСТЬ ДЕЯКИХ ГЛІКОЛІТИЧНИХ І ПРОТЕОЛІТИЧНИХ ФЕРМЕНТІВ МІКРООРГАНІЗМІВ

Досліджували вплив координаційних сполук германію (IV) і стануму (IV): комплекс германію (IV) з нікотинамідом (Nad)  $[GeCl_2(Nad)]Cl_2$  (1), комплекси стануму (IV) з 2-гідроксибензоїлгідразоном 4-диметиламінобензальдегіду (2-OH-HBdb)  $[SnCl_4(2-OH-Bdb-H)]$  (2), 3-гідрокси-2-нафтоїлгідразоном 2-гідроксинафтальдегіду (3-OH-H<sub>2</sub>Ln)  $[SnCl_4(3-OH-HLn)]$  (3) та ізонікотиноїлгідразоном 2-гідроксибензальдегіду  $[SnCl_4(Is-H)]$  (4) на активність пептидаз 1 і 2 *Bacillus thuringiensis*, α-L-рамнозидаз *Cryptococcus albidus*, *Eupenicillium erubescens* та α-амілази *Aspergillus flavus* var. *oryzae*. Результати свідчать, що всі досліджені сполуки по-різному впливають на активність досліджуваних ферментів: суттєво не змінюють еластолітичну активність пептидаз 1 і 2 *B. thuringiensis*, повністю інгібують α-амілазу *A. flavus* var. *oryzae*, активують або пригнічують активність α-L-рамнозидаз *C. albidus* та *E. erubescens*. Значні відмінності впливу сполук (3, 4) на активність були спостережені у разі останніх. Особливість впливу (1) порівняно з (2-4) вірогідно пов'язана з наявністю різних центральних атомів комплексоутворювачів: германію (IV) (1) та стануму (IV) (2-4). Деяку подібність в пригніченні α-L-рамнозидази *C. albidus* сполуками (1) і (4) можна пояснити присутністю піридинового кільця в молекулах їх лігандів. Найменш активно виявилася сполука (2) з координаційним вузлом  $\{SnCl_4ON\}$ . Характери активності (3, 4) виявилися зовсім різними: суттєве підвищення α-L-рамнозидази *C. albidus* і повне пригнічення α-L-рамнозидази *E. erubescens* (3), а для (4) спостерігалась зворотна картина. З урахуванням однакового координаційного вузла  $\{SnCl_4O_2N\}$  головну роль у даному випадку відіграє зміна гідразидного фрагменту в молекулах їх лігандів.

**Ключові слова:** *Bacillus thuringiensis*, *Cryptococcus albidus*, *Eupenicillium erubescens*, *Aspergillus flavus* var. *oryzae*, пептидази, α-L-рамнозидази та α-амілаза, координаційні сполуки германію (IV) і стануму (IV).

Германій і станум – електронні аналоги, їх тетрахлориди – кислоти Льюїса, мають близьку комплексоутворюючу здатність. Координаційні сполуки германію (IV) і стануму (IV), особливо з біолігандами, характеризуються низькою токсичністю, широким спектром і синергізмом дії складових [19, 13, 16, 24, 15, 8]. Для вивчення впливу на активність ферментів було взято: молекулярний комплекс тетрахлориду германію з нікотинамідом, запантетований як сполука, що проявляє антигіпоксичну активність [13], комплекси стануму (IV) з гідразонами на основі гідразиду саліцилової кислоти, яка використовується при виробництві антисептиків, антиревматичних та інших засобів [2], а також гідразиду ізонікотинової кислоти – ефективного в комбінованій терапії туберкульозу препарату «Тубазид» [14]. Інтерес до лігандних властивостей гідразонів обумовлений наявністю в їх молекулах аналога пептидної групи – C(O)NH, яка, разом з іншими функціональними групами [7], істотно впливає на біологічну (протимікробну, протипухлинну, протизапальну, протигрибкову) активність цього класу сполук [21, 23]. Метою даної роботи було на прикладі вибраних сполук простежити вплив метала-комплексоутворювача, а також складу координаційного вузла стануму (IV) –  $\{SnCl_4ON\}$ ,  $\{SnCl_4O_2N\}$  і молекул гідразонів на еластолітичну і фібринолітичну активність пептидаз 1 і 2 *Bacillus thuringiensis* IMB B-7324, α-L-рамнозидаз *Cryptococcus albidus*, *Eupenicillium erubescens* та α-амілаз *Aspergillus flavus* var. *oryzae*.

**Матеріали та методи.** Об'єктами досліджень були позаклітинні пептидази *Bacillus thuringiensis* IMB B-7324 з еластолітичною і фібринолітичною активністю, α-L-рамнозидази *Eupenicillium erubescens* 248, *Cryptococcus albidus* 1001 та α-амілаза *Aspergillus flavus* var. *oryzae*.

Для синтезу позаклітинних пептидаз *B. thuringiensis* IMB B-7324 культивували на рідких живильних середовищах, оптимізованих нами раніше. Для синтезу еластази використовували середовище наступного складу, (г/л):  $KH_2PO_4$  – 1,6;  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$  – 0,75;  $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$  – 0,25;

© Л.Д. Варбанець, О.В. Мацелюх, Н.А. Нідялкова, О.В. Гудзенко, К.В. Авдіюк, Н.В. Шматкова, І.Й. Сейфулліна, 2014

$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  – 0,5; арабіноза – 1,5; желатин – 10,0; дріжджовий автолізат – 0,15, pH 6,5 [11], а для накопичення фібринолітичної пептидази, (г/л): мальтоза – 19,0,  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  – 12,0,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  – 1,6,  $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  – 0,25,  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  – 0,75, pH 7,5 [9]. Штам вирощували протягом 18 год (для одержання еластолітичної пептидази 1) і 48 год (для одержання фібринолітичної пептидази 2) в колбах на качалках (150-200 мл середовища, 42 °С, 200 об/хв). Інокулом одержували на відповідних середовищах протягом 18 год і засівали в колби в кількості  $10^5$ - $10^6$  КУО/мл.

Очистку пептидаз із супернатанта культуральної рідини продуцента здійснювали осадженням білків сульфатом амонію 90 % насичення і розділенням на колонках з нейтральними і зарядженими TSK-гелями Toyopearl HW-55 і DEAE-650(M) («Toyo Soda», Японія), розміри яких складали 1,8 x 40 см і 2,5 x 40 см, відповідно. Вміст білка на всіх стадіях очистки реестрували на СФ-26 при 280 нм. Гомогенність пептидаз була підтверджена електрофорезом в системі SDS-PAGE [10, 12]. В результаті очистки було одержано пептидазу 1 зі специфічністю до еластину і фібрину та пептидазу 2 – лише до фібрину. Еластазну активність визначали колориметрично за інтенсивністю окраски розчину при ензиматичному гідролізі еластину, забарвленого конго-рот [25]. Інкубаційна суміш містила 5 мг еластину, 2,0 мл 0,01 М Tris-HCl буфера (pH 7,5) при додаванні 0,005 М  $\text{CaCl}_2$  і 1 мл розчину досліджуваного препарату. Суміш інкубували протягом 5 год при 37 °С. Негідролізований еластин відділяли центрифугуванням при 8000 g, 10 хв. Інтенсивність забарвлення вимірювали на спектрофотометрі СФ-26 при 515 нм. Активність розраховували за стандартною кривою, яка була одержана при вимірюванні забарвлення супернатанта при повному ензиматичному гідролізі відомих кількостей еластину, зафарбованого конго-рот. За одиницю активності приймали таку кількість ензиму, яке каталізує гідроліз 1 мг субстрату за 1 хв в стандартних умовах.

Фібринолітичну активність вимірювали за методом Masada [22], а як субстрат використовували фібрин, який був одержаний із плазми крові людини. Реакційна суміш містила 1 мг фібрину, 1,8 мл 0,01 М Tris-HCl буфера (pH 7,5) із додаванням 0,005 М  $\text{CaCl}_2$  та 0,2 мл розчину досліджуваного препарату. Інкубаційну суміш витримували 30 хв при 37 °С. Утворення продуктів розщеплення визначали на спектрофотометрі СФ-26 при 275 нм. За одиницю фібринолітичної активності брали таку кількість ензиму, яка підвищує оптичну густину реакційної суміші на 0,01 за 1 хв в умовах досліду.

Специфічна активність пептидази 1 складала 197,3 од/мг білка (для еластазної активності) і 100 од/мг білка (для фібринолітичної активності), а для пептидази 2 із фібринолітичною активністю – 87,9 од/мг білка. Вміст білка – 0,1 мг/мл.

Продуценти  $\alpha$ -L-рамнозидаз *C. albidus* і *E. erubescens* вирощували глибинним методом протягом чотирьох діб при температурі 28 °С, на качалках при 220 об/хв. *C. albidus* культивували на оптимізованому раніше [4] середовищі наступного складу, г/л: рамноза – 1, пептон – 5, дріжджовий екстракт – 3, мальтекстракт – 3, pH – 6, а *E. erubescens* – на середовищі Чапека [4], г/л:  $\text{NaNO}_3$  – 2;  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  – 1;  $\text{KCl}$  – 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 – 2,5, pH – 5,5.

$\alpha$ -L-Рамнозидази виділяли із культуральних фільтратів продуцентів осадженням сульфатом амонію (до 90 % насичення) з подальшою очисткою хроматографією на колонках з нейтральними та зарядженими TSK-гелями Toyopearl HW-60 та DEAE-650(S) («Toyo Soda», Японія), розміри яких складали 2,5 x 90 см та 3 x 35 см, відповідно, як описано раніше [5, 6].

$\alpha$ -L-Рамнозидазну активність визначали методом Davis [20], використовуючи як субстрат нарингін. За одиницю активності ензиму приймали таку його кількість, яка гідролізує в умовах досліду 1 мкмоль субстрату за хв. Реакційна суміш містила 0,1 мл розчину ензиму в 0,1 М фосфат-цитратному буфері (ФЦБ), pH 5,2, 0,1 мл 2,5 мМ розчину субстрату. Суміш інкубували протягом 30 хв. при 37 °С. Реакцію зупиняли додаванням 3 мл 4 М розчину  $\text{NaOH}$ . Через 30 хв. вимірювали інтенсивність забарвлення реакційної суміші при довжині хвилі 310 нм на спектрофотометрі СФ-26 (ЛЮМО, СССР). Специфічна активність  $\alpha$ -L-рамнозидази складала 12 та 120 од/мг білка для *C. albidus* і *E. erubescens*, відповідно. Вміст білка – 0,01 мг/мл.

Продуцент  $\alpha$ -амілази *A. flavus* var. *oryzae* 80428 вирощували на рідкому поживному середовищі Чапека з крохмалем наступного складу (г/л):  $\text{NaNO}_3$  – 1;  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  – 1;  $\text{KCl}$  – 0,5;  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  – 0,5;  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  – 0,015; нерозчинний картопляний крохмаль – 10;  $\text{H}_2\text{O}$  – до 1 л; pH 6,0 [1]. Культивування мікроорганізму проводили глибинним способом в 0,75 л

колбах Ерленмейера, які містили 100 мл поживного середовища, на качалках з інтенсивністю перемішування 220 об/хв. за температури 24 °С протягом 5 діб. Біомасу відділяли фільтруванням через чотири шари марлі. У фільтраті визначали вміст білка і амілолітичну активність. Методи виділення і очистки  $\alpha$ -амілаз описано раніше [1]. Вони включали: гель-фільтрацію на нейтральному TSK-гелі – Тоуорpearl HW-50 (“Toyo Soda”, Японія) та іонообмінну хроматографію на гелі DEAE-Тоуорpearl 650 M (“Toyo Soda”, Японія). Амілолітичну активність визначали йодометричним методом відповідно до ГОСТу 20264.4-89 [3].

Наявність білка на всіх етапах дослідження реєстрували на спектрофотометрі СФ-26 при 280 нм, а його вміст – за методом Lowry et al [3].

Питома активність очищеного препарату  $\alpha$ -амілази *A. flavus* var. *oryzae* складала 229 од/мг білка.

Комплекс германію (IV) з нікотинамідом (Nad) складу  $[\text{GeCl}_2(\text{Nad})_4]\text{Cl}_2$  (1) синтезували взаємодією  $\text{GeCl}_4$  «о.с.ч.» з (Nad, «о.с.ч.») в оцтовій кислоті за методикою [13]. Комплекси стануму (IV) з 2-гідроксибензоїлгідразоном 4-диметиламінобензальдегіду (2-ОН-НВdb) складу  $[\text{SnCl}_4(2\text{-OH-Bdb-H})]$  (2), 3-гідрокси-2-нафтоїлгідразоном 2-гідроксинафталальдегіду (3-ОН-Н<sub>2</sub>Lnf) складу  $[\text{SnCl}_4(3\text{-OH-HLnf})]$  (3) було отримано взаємодією  $\text{SnCl}_4$  «о.с.ч.» з відповідними гідразонами в ацетонитрилі за методиками [17] та [18] (схема 1). Їх склад та будову охарактеризовано сукупністю фізико-хімічних методів дослідження: ІЧ (1-3) та ПМП спектроскопія (2, 3), мас-спектрометрія (2, 3), кондуктометрія (1-3), термогравіметрія (1-3).

Комплекс  $[\text{SnCl}_3(\text{Is-H})]\cdot(4)$  (схема 1) синтезували додаванням 0,002 моль  $\text{SnCl}_4$  до гарячої суспензії ізонікотиноїлгідразону саліцилового альдегіду ( $\text{H}_2\text{Is}$ : 0,002 моль в суміші метанол : ацетонитрил = 1 : 1, V = 20 мл). Жовто-помаранчевий осад, що утворюється при охолодженні розчину, відділяли на фільтрі Шотта і промивали діетиловим ефіром. Вихід 78 %. ІЧ,  $\text{cm}^{-1}$  (KBr):  $\nu(\text{C}=\text{N})=1618$ ;  $\delta(\text{Py})=1010, 413$ ;  $\nu(\text{Sn}-\text{O})=552$ ;  $\nu(\text{Sn}-\text{N})=427$ . ПМП ( $\text{DMF-d}_6$ ),  $\sigma$ , м.д.: 9.563 с ( $\text{CH}=\text{N}$ ), 8.703-8.686 м (2H, ArH), 7.783-7.541 м (3H, ArH), 7.412 d (1H, ArH), 7.029 м (1H, ArH), 6.895 d (1H, ArH). Т. розкладання 370 °С.

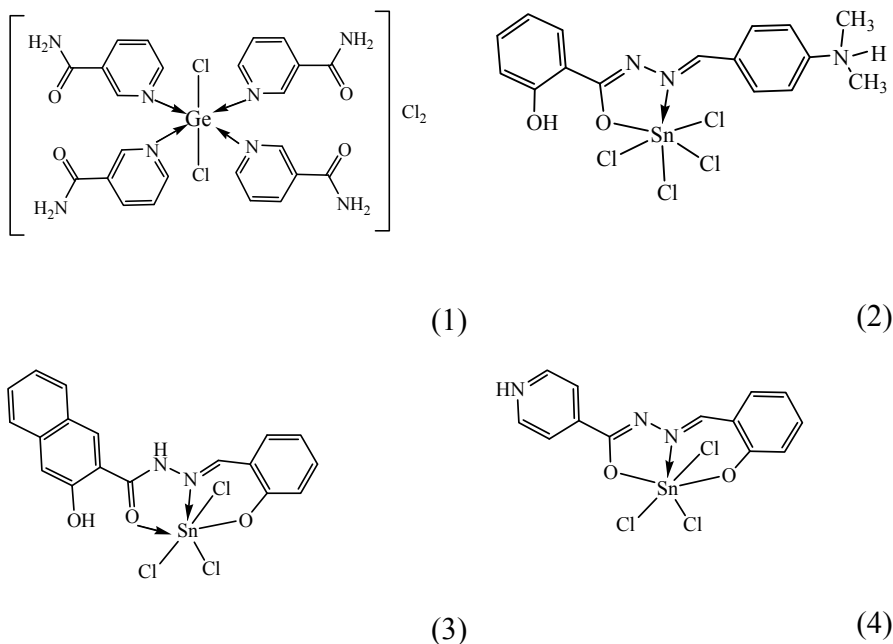
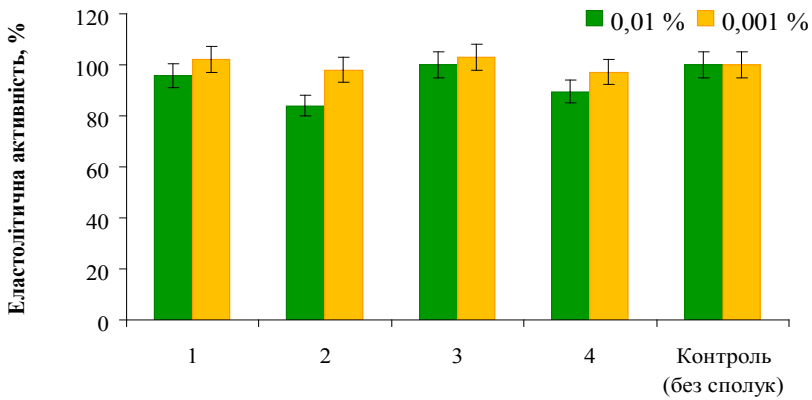


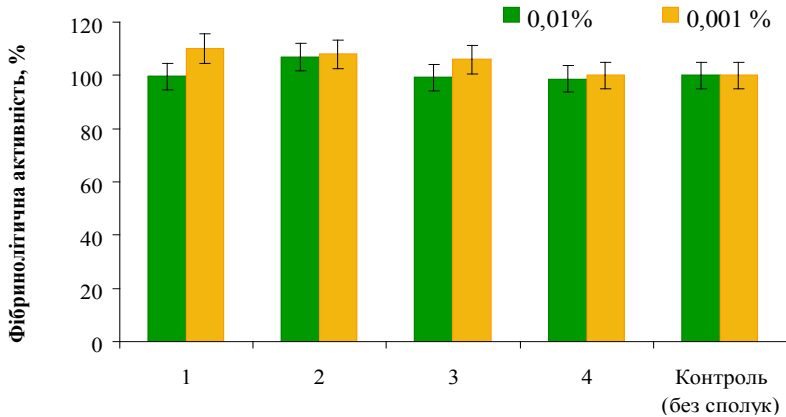
Схема 1. Схеми будови комплексів (1-4)

**Результати та їх обговорення.** Встановлено, що досліджені сполуки в концентраціях 0,01% і 0,001% проявляли стабілізуючий вплив як на еластолітичну, так і фібринолітичну активність пептидаз *B. thuringiensis* IMB B-7324. В деяких випадках відзначалось незначне пригнічення еластолітичної активності пептидази 1. Так, сполуки 2 і 4 в концентрації 0,01% знижували активність на 16 і 10,5 %, відповідно (рис. 1).

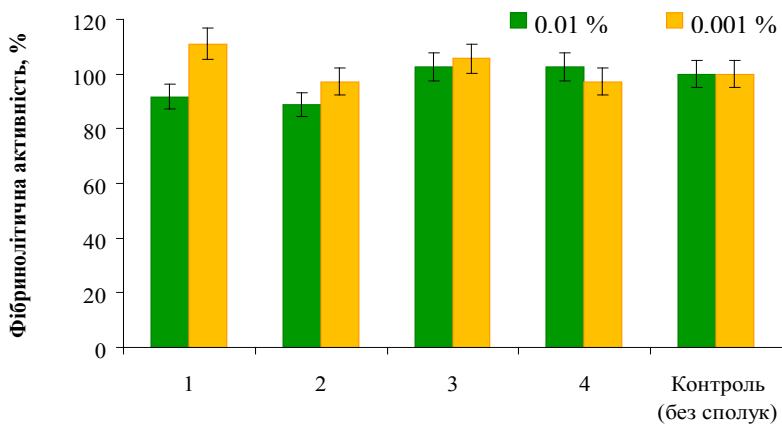


**Рис. 1. Вплив різних концентрацій координаційних сполук (1-4) на еластолітичну активність пептидази 1 *B. thuringiensis* IMB B-7324**

Дослідження впливу координаційних сполук на фібринолітичну активність пептидаз 1 і 2 показало (рис. 2), що сполуки 1 і 2 підвищували активність пептидази 1 на 10-8 %, а сполука 1 (0,001 %) – на 11 % пептидази 2. Поряд з цим, сполуки 1 і 2 в концентрації 0,01 % проявляли незначне пригнічення (8-10%) фібринолітичної активності пептидази 2.



**Рис. 2. Вплив різних концентрацій координаційних сполук (1-4) на фібринолітичну активність пептидази 1 *B. thuringiensis* IMB B-7324**



**Рис. 3. Вплив різних концентрацій координаційних сполук (1-4) на фібринолітичну активність пептидази 2 *B. thuringiensis* IMB B-7324**

Дослідження впливу сполук 1-4 на активність  $\alpha$ -L-рамнозидаз *C. albidus* та *E. erubescens* показали, що в концентрації 0,1 і 0,01% вони впливають на неї по-різному (рис. 4, 5). Так,  $\alpha$ -L-рамнозидазна активність порівняно з контролем змінювалась не істотно у разі використання сполук 1 і 2, за виключенням того, що в концентрації 0,1% сполука 1 інгібувала до 70 % активність  $\alpha$ -L-рамнозидази *C. albidus*.

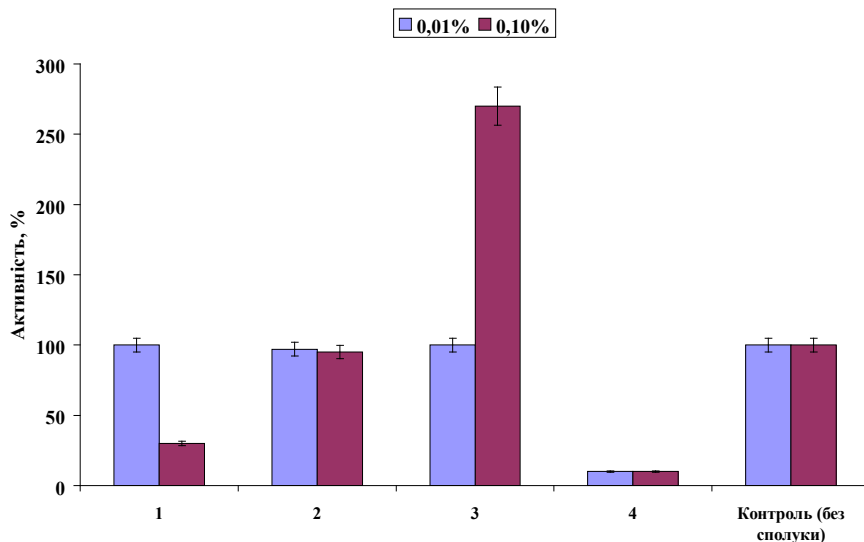


Рис. 4. Вплив різних концентрацій координаційних сполук (1-4) на активність  $\alpha$ -L-рамнозидази *C. albidus*

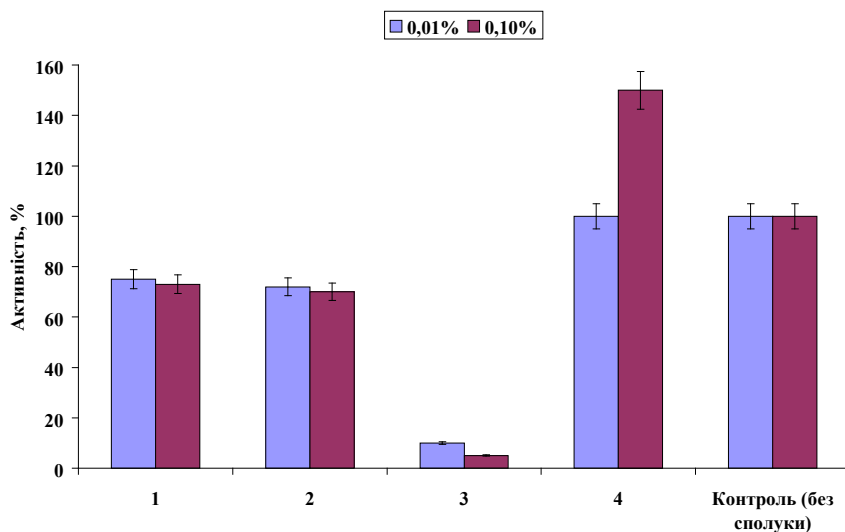


Рис. 5. Вплив різних концентрацій сполук (1-4) на активність  $\alpha$ -L-рамнозидази *E. erubescens*

Слід звернути увагу на те, що сполука 3 по-різному впливає на активність досліджуваних ензимів: в концентрації 0,01 % вона не змінює активності  $\alpha$ -L-рамнозидази *C. albidus*, в той час як підвищення концентрації сполуки до 0,1 % сприяє істотному (до 170 %) підвищенню активності, порівняно з контролем. Сполука 3, незалежно від концентрації, виявляла інгібуючу дію щодо активності  $\alpha$ -L-рамнозидази *E. erubescens*. Аналогічні дані отримані для сполуки 4, яка в обох досліджуваних концентраціях значно інгібувала активність  $\alpha$ -L-рамнозидази *C. albidus*. Щодо стосується іншого ензиму, то дана сполука в концентрації 0,1 % активувала

$\alpha$ -L-рамнозидазу *E. erubescens* на 50 %, в той час як при концентрації 0,01 % її активність залишалась на рівні контролю.

Отже, дослідження впливу координаційних сполук германію (IV) та стануму (IV) показали, що максимальне збільшення активності  $\alpha$ -L-рамнозидаз спостерігається при використанні сполуки 3 в концентрації 0,1 % для ензиму *C. albidus*, що ж до  $\alpha$ -L-рамнозидази *E. erubescens*, то її активатором може виступати сполука 4.

Що стосується  $\alpha$ -амілази *A. flavus* var. *oryzae* 80428, то всі 4 досліджених сполуки в обох концентраціях (0,01 і 0,1 %) повністю інгібували її активність.

На підставі отриманих даних можна дійти висновку, що всі досліджені сполуки по-різному впливають на активність досліджуваних ферментів: вони суттєво не впливають на еластолітичну активність пептидаз 1 і 2 *B. thuringiensis*, повністю інгібують амілазу, активують або пригнічують активність  $\alpha$ -L-рамнозидаз *C. albidus* та *E. erubescens*. Значні відмінності впливу сполук (3, 4) на активність були спостережені у разі останніх.

Особливість впливу (1) в порівнянні з (2-4) вірогідно пов'язана з наявністю різних центральних атомів комплексоутворювачів: германію (IV) – (1) та стануму (IV) – (2-4). Певну подібність в пригніченні  $\alpha$ -L-рамнозидази *C. albidus* сполуками (1) і (4), можна пояснити присутністю піридинового кільця в молекулах їх лігандів. Найменш активною виявилася сполука (2) з координаційним вузлом  $\{SnCl_4ON\}$ . Характери активності (3, 4) виявилися зовсім різними: суттєве підвищення  $\alpha$ -L-рамнозидази *C. albidus* і повне пригнічення  $\alpha$ -L-рамнозидази *E. erubescens* (3), а для (4) спостерігалась зворотна картина. З урахуванням однакового координаційного вузла  $\{SnCl_3O_2N\}$ , головну роль у даному випадку відіграє зміна гідразидного фрагменту в молекулах їх лігандів.

Автори щиро вдячні співробітникам відділу систематики мікроміцетів та відділу фізіології промислових мікроорганізмів Інституту мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного НАНУ канд. біол. наук Курченко І.М. та канд. біол. наук Нагорній С.С. за надані для досліджень культури мікроорганізмів.

*Л.Д. Варбанец<sup>1</sup>, Е.В. Мацелюх<sup>1</sup>, Н.А. Нудялкова<sup>1</sup>, Е.В. Гудзенко<sup>1</sup>, Е.В. Авдіюк<sup>1</sup>,  
Н.В. Шматкова<sup>2</sup>, И.И. Сейфуллина<sup>2</sup>*

<sup>1</sup>Інститут мікробіології і вірусології НАН України, Київ  
<sup>2</sup>Одесский национальный университет им. И.И. Мечникова, Одесса

## **ВЛИЯНИЕ КООРДИНАЦИОННЫХ СОЕДИНЕНИЙ ГЕРМАНИЯ (IV) И СТАНУМА (IV) НА АКТИВНОСТЬ НЕКОТОРЫХ ГЛИКОЛИТИЧЕСКИХ И ПРОТЕОЛИТИЧЕСКИХ ФЕРМЕНТОВ МИКРООРГАНИЗМОВ**

### **Резюме**

Исследовали влияние координационных соединений германия (IV) и станума (IV): комплекс германия (IV) с никотинамидом (Nad)  $[GeCl_2(Nad)_4]Cl_2$  (1), комплексы станума (IV) с 2-гидроксibenзоилгидразоном 4-диметиламинобензальдегида (2-OH-HBdb)  $[SnCl_4(2-OH-Bdb-H)]$  (2), 3-гидрокси-2-нафтоилгидразоном 2-гидроксинафтальдегида (3-OH-H<sub>2</sub>Lnf)  $[SnCl_3(3-OH-HLnf)]$  (3) и изоникотиноилгидразоном 2-гидроксibenзальдегида  $[SnCl_3(Is-H)]$  (4) на активность пептидаз 1 и 2 *Bacillus thuringiensis*,  $\alpha$ -L-рамнозидаз *Cryptococcus albidus*, *Eupenicillium erubescens* и  $\alpha$ -амілазы *Aspergillus flavus* var. *oryzae*. Результаты свидетельствуют о том, что все исследованные соединения различаются по своему влиянию на активность исследованных ферментов: существенно не изменяют эластолитическую активность пептидаз 1 и 2 *B. thuringiensis*, полностью ингибируют амілазу *A. flavus* var. *oryzae*, активируют или угнетают активность  $\alpha$ -L-рамнозидаз *C. albidus* и *E. erubescens*. Значительные отличия в действии соединений (3, 4) на активность наблюдали в случае последних. Особенности влияния (1) по сравнению с (2-4) вероятно связано с наличием разных центральных атомов комплексообразователей: германия (IV) (1) и станума (IV) (2-4). Некоторую аналогию в угнетении  $\alpha$ -L-рамнозидазы *C. albidus* соединениями (1) и (4) можно объяснить присутствием пиридинового кольца в молекулах их лигандов. Наименее активной оказалось соединение (2) с координационным узлом  $\{SnCl_4ON\}$ . Характер активности (3, 4) выявился совсем разным: существенное повышение активности  $\alpha$ -L-рамнозидазы *C. albidus* и полное угнетение

$\alpha$ -L-рамнозидазы *E. erubescens* (3), а для (4) наблюдалась обратная картина. С учетом одинакового координационного узла  $\{SnCl_3O_2N\}$  главную роль в данном случае играет смена гидразидного фрагмента в молекулах их лигандов.

Ключевые слова: *Bacillus thuringiensis*, *Cryptococcus albidus*, *Eupenicillium erubescens*, *Aspergillus flavus* var. *oryzae*, пептидазы,  $\alpha$ -L-рамнозидазы,  $\alpha$ -амилаза, координационные соединения германия (IV) и станума (IV).

L.D. Varbanets<sup>1</sup>, O.V. Matseliukh<sup>1</sup>, N.A. Nidialkova<sup>1</sup>, O.V. Gudzenko<sup>1</sup>, K.V. Avdiyuk<sup>1</sup>,  
N.V. Shmatkova<sup>2</sup>, I.I. Seifullina<sup>2</sup>

<sup>1</sup>D. K. Zabolotny Institute of Microbiology and Virology of the National Academy of Sciences of Ukraine, Kiev

<sup>2</sup>I. I. Mechnikov Odessa National University, Odessa

## INFLUENCE OF COORDINATIVE COMPOUNDS OF GERMANIUM (IV) AND STANUM (IV) ON ACTIVITY OF SOME MICROBIAL ENZYMES WITH GLYCOLYTICAL AND PROTEOLYTICAL ACTION

### S u m m a r y

Influence of coordinative compounds of germanium (IV) and stanum (IV) (complexes of germanium (IV) with nicotinamide (Nad)  $[GeCl_2(Nad)_4]Cl_2$  (1) and complexes of stanum (IV) with 2-hydroxybenzoylhydrazone 4-dimethylaminobenzaldehyde (2-OH-HBdb)  $[SnCl_4(2-OH-Bdb-H)]$  (2), 3-hydroxy-2-naphthoylhydrazone 2-hydroxynaphthaldehyde (3-OH-H<sub>2</sub>Lnf)  $[SnCl_3(3-OH-HLnf)]$  (3) and izonicotinoylhydrazone 2-hydroxybenzaldehyde  $[SnCl_3(Is\cdot H)]$  (4) on activity of peptidases 1 and 2 *Bacillus thuringiensis*,  $\alpha$ -L-rhamnosidase *Cryptococcus albidus*, *Eupenicillium erubescens* and  $\alpha$ -amylase *Aspergillus flavus* var. *oryzae*. Results testify that all studied compounds differ on their influence on activity of the enzymes tested: significantly don't change elastolytic activity of peptidases 1 and 2 *B. thuringiensis*, completely inhibit *A. flavus* var. *oryzae* amylase, activate or oppress of  $\alpha$ -L-rhamnosidase *C. albidus* and *E. erubescens*. Considerable differences in compounds (3, 4) on activity observed in case of the last. It's possible that peculiarity of influence (1) in compare with (2-4) is connected with existence of different central atoms of complexants: germanium (IV) (1) and stanum (IV) (2-4). A certain analogy in oppression of *C. albidus*  $\alpha$ -L-rhamnosidase by compounds (1) and (4) can explain with presence of a pyridinic ring at molecules of their ligands. The less activity displayed compound (2) with coordinative knot  $\{SnCl_4ON\}$ . Nature of compounds (3, 4) activity was absolutely different: essential increase of activity of *C. albidus*  $\alpha$ -L-rhamnosidase and full oppression of *E. erubescens*  $\alpha$ -L-rhamnosidase by compound (3), while the action of compound (4) was feed back. Taking into account identical coordination knot  $\{SnCl_3O_2N\}$  the major role in this case play change of a hydrazide fragment in molecules of their ligands.

Key words: *Bacillus thuringiensis*, *Cryptococcus albidus*, *Eupenicillium erubescens*, *Aspergillus flavus* var. *oryzae*, peptidases,  $\alpha$ -L-rhamnosidases,  $\alpha$ -amylase, coordinative compounds of germanium (IV) and stanum (IV).

1. Авдиюк Е.В., Варбанец Л.Д., Сафронова Л.А., Харкевич Е.С. Очистка  $\alpha$ -амилаз *Aspergillus flavus* var. *oryzae* и *Vacillus subtilis* и их свойства // Биотехнология. – 2012. – 5, № 5. – С. 91-99.
2. Базисная и клиническая фармакология / под. ред. Бертрама И. Катцунга. – М.:С-Пб, Бинум-Невский Диалект. – 1998. – 670 с.
3. Варбанец Л.Д., Борзова Н.В. Глікозидази мікроорганізмів і методи їх дослідження. – К.: Наук. думка, 2010. – 440 с.
4. Гудзенко О.В., Борзова Н.В., Варбанец Л.Д. Оптимізація умов культивування продуцентів  $\alpha$ -L-рамнозидаз – представників різних таксономічних груп мікроорганізмів // Мікробіол. журн. – 2011. – 73, № 3. – С. 46-53.
5. Гудзенко Е.В., Варбанец Л.Д. Очистка и физико-химические свойства  $\alpha$ -L-рамнозидазы *Eupenicillium erubescens*// Мікробіол. журн. – 2012. – 74, № 2. – С. 14-21.
6. Гудзенко Е.В., Варбанец Л.Д. Очистка и физико-химические свойства  $\alpha$ -L-рамнозидазы *Cryptococcus albidus*// Мікробіол. журн. – 2012. – 74, № 6, – С. 16-23.
7. Зеленін К.Н. Физиологически активные комплексы гидразонов // Соросовский Образовательный Журн. – 1996. – № 12. – С. 41-46.

8. Зинченко О.Ю., Н.В. Шматкова, И.И. Сейфуллина, Б.Н. Галкин, Т.О. Филлипова. Антимикробная активность производных изоникотиновой кислоты и комплексов олова(IV) на их основе // Микробиология и биотехнология – 2013. – № 2. – С. 69-78.
9. Мацелюх О.В., Нідялкова Н.А., Варбанець Л.Д. Особливості росту і біосинтезу еластази мутантним варіантом *Bacillus* sp. 27-88ELS+// Біотехнологія. – 2011. – 4, № 3. – С. 43-50.
10. Мацелюх О.В., Нідялкова Н.А., Варбанець Л.Д. Очистка і фізико-хімічні властивості пептидази *Bacillus subtilis* IMB В-7324 з еластазою і фібринолітичною активністю// Укр. Біох. журн. – 2012. – 84, №6. – С. 25-36.
11. Нідялкова Н.А., Мацелюх О.В., Варбанець Л.Д. Оптимізація середовища для синтезу фібринолітичної пептидази *Bacillus thuringiensis* IMB В-7324 // Біотехнологія. – 2012. – 5, №4. – С.74-81.
12. Нідялкова Н.А., Мацелюх О.В., Варбанець Л.Д. Виділення фібринолітичної пептидази *Bacillus thuringiensis* IMB-7324 // Мікроб. Журн. – 2012. – 74, № 5. – С.9-15.
13. Пат. 59089 Україна, С07 F 7/00. Молекулярний комплекс тетрахлориду германію з нікотинамідом, який виявляє протигіпоксичну активність з термопротекторними властивостями / Лук'янчук В.Д., Вітохіна Н.В., Сейфулліна І.Й., Марцинко О.Е., Ткаченко В.М., Кравець Д.С. - Опубл. 10.05.2011, Біол. №9.
14. Страчунский Л.С., Козлов С.Н. Современная антимикробная химиотерапия. Руководство для врачей. – М.: Боргес – 2002. – 432 с.
15. Шматкова Н.В., Сейфуллина И. И., Зинченко О. Ю. Синтез, строение и противомикробная активность хелатов SnCl<sub>4</sub> с пиридиноилгидразонами ароматических альдегидов // Укр. хим. журнал. – 2013. – 79, № 3 – С. 33-39.
16. Шматкова Н.В., Сейфуллина И.И., Александрова А.И., Полищук А.В. Комплексы [тетрахлоро-(N-4-R-бензилиден-салицилоилгидразинато- N, O) олова (IV)], где R = OCH<sub>3</sub>, Br, N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub> и их противовоспалительная активность // Вісник ОНУ. Хімія. - 2013. - 18 – №2 (46) – С. 16-24.
17. Шматкова Н.В., Сейфуллина И.И., Согомонян В.Г., Самбурский С.Э. Продукты взаимодействия SnCl<sub>4</sub> с R-бензоилгидразонами бенз-(p-N,N-диметиламинобенз)-альдегидов в ацетонитриле // Вісник ОНУ. Хімія. – 2010. - 15, №.3. - С.77-84.
18. Шматкова Н.В., Яловский Г.В., Сейфуллина И.И., Самбурский С.Э. Комплексы Sn(IV) с 2-нафтоил-(3-гидрокси-2-нафтоил)гидразонами 2- гидроксинариальдегидов // Вопросы химии и хим. технологии – 2009. – №4. – С. 165-168.
19. Шутка А.О., Кравець Д.С., Сейфулліна І.Й., Марцинко О.Е., Пессарогло О.Г. Токсикометричні дослідження нового антигіпоксанта ОК-5 на основі координаційної сполуки германію з біолігандами // Токсикологія лікарських препаратів – 2010. – № 2-3. – С. 50-53.
20. Davis D.W. Assay of naringinase // Anal Chem. – 1947. – 19, N.1. – P. 46-48.
21. Gunjan J., Kumawat L. Synthesis, spectral and biological evaluation of some hydrazone Derivatives // International J. Pharmaceutical Sci. Res. – 2011. – Vol2.– № 9. – P. 2408-241222.
22. Masada M. Determination of the thrombolytic activity of Natto extract // Food style. – 2004. – 8, N 1. – P. 92-95
23. Sevim Rollas, Ş. Guniz Kucukguzel. Biological Activities of Hydrazone Derivatives // Molecules. –2007. – № 12. – P. 1910-1939.
24. K. Shiva Prasad, L. Shiva Kumar, Melvin Prasad, Hosakere D. Revanasiddappa. Novel Organotin(IV)-Schiff Base Complexes: Synthesis, Characterization, Antimicrobial Activity, and DNA Interaction Studies // Bioinorganic Chem. and Applic. – Vol. 2010. – Article ID 854514. – doi:10.1155/2010/854514.
25. Trombridg G.O., Moon H.D. Purification of human elastase // Proc. Soc. Exp. Biol. Med. – 1972. – 141, N 3. – P. 928-931.

Отримано 12.06.2014