

УДК 541.49:546.742

СИНТЕЗ И СТРОЕНИЕ КОМПЛЕКСНЫХ СОЕДИНЕНИЙ НИКЕЛЯ(II) НА ОСНОВЕ ДИАНИЛИНГЛИОКСИМА. СТИМУЛИРУЮЩИЕ ПРОТЕОЛИТИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА $[\text{Ni}(\text{DAnH}_2)] \cdot 0.25\text{H}_2\text{O}$

© 2021 г. Э. Б. Корочану^{1,2,*}, Д. Уреке^{1,2}, А. П. Риж^{1,2}, А. А. Чилочи³, С. Ф. Клапко³, Е. Г. Дворнина³, И. И. Булхак¹, М. Коку¹, П. Н. Боурош^{1,4}

¹Институт химии, Кишинев, Республика Молдова

²Тираспольский государственный университет, Кишинев, Республика Молдова

³Институт микробиологии и биотехнологии, Кишинев, Республика Молдова

⁴Институт прикладной физики, Кишинев, Республика Молдова

*e-mail: coropceanu.eduard@ust.md

Поступила в редакцию 18.05.2020 г.

После доработки 02.07.2020 г.

Принята к публикации 29.07.2020 г.

При взаимодействии дианилинглиоксима (DAnH_2) с хлоридом никеля(II) в разных условиях получены два новых бис- и трис-сольватоморфа с формулами $[\text{Ni}(\text{DAnH}_2)] \cdot 0.25\text{H}_2\text{O}$ (I) и $[\text{Ni}(\text{DAnH}_2)_3]\text{Cl}_2 \cdot 6\text{CH}_3\text{OH}$ (II). Молекулярное строение комплексов I и II установлено методом РСА (CIF files CCDC № 1998570 и 1998571 соответственно). Комплексное соединение I в оптимально подобранных концентрациях обеспечивает стимулирующее действие на синтез протеаз штамма микромицетов биотехнологического значения *Fusarium gibbosum* CNMN FD 12, увеличивая активность на 83.0% кислых протеаз и на 68.2% нейтральных протеаз по сравнению с контролем, и его можно рассматривать как потенциальный биостимулятор ферментообразования у некоторых штаммов мицелиальных грибов.

Ключевые слова: дианилинглиоксим, координационные соединения никеля(II), ИК- и ЯМР-спектры, РСА, микроскопические грибы, протеазы

DOI: 10.31857/S0132344X21010023

Диоксимины представляют собой удобные хелатные лиганды для синтеза устойчивых координационных соединений (КС) с широким спектром практического применения: в аналитической и биологической химии, медицине, окраске хлопчатобумажных тканей и т.д. [1]. Помимо того, что диоксимины кобальта могут служить моделями витамина B_{12} [2], этот класс соединений продолжает вызывать интерес в качестве веществ, способных влиять на физиологические процессы микромицет, водорослей и сельскохозяйственных растений [3–10]. При этом клатратохелатные трис-диоксимины проявляют свойства, которые могут позволить вовлечь их в исследования в области раковой терапии, а реакция самосборки клатратохелатов и их взаимодействие с нуклеиновыми кислотами может быть широко использовано в иммунологии и молекулярной биологии [11–13]. Би- и полиядерные соединения на основе диоксиминов могут служить началом для получения пористых и люминесцентных материалов [14–16]. Интерес представляет синтез КС этого класса

от моноядерных до координационных полимеров [17–24].

Получение виц-диоксиминов открывает новые возможности для повышения разнообразия комплексов с новым составом, структурой и свойствами, которые могут зависеть от природы “крыльев” этих хелатных лигандов в моно- и полиядерных соединениях [25, 26]. Так как комплексы $\text{Co}(\text{III})$, содержащие сульфаниламид, проявляют свойства биостимуляторов процессов ферментообразования [27], представляют интерес присоединение этого фрагмента к молекуле диоксима с целью получения новых лигандов и выявление степени влияния КС переходных металлов с последними на биологические процессы. Кроме того, более объемные диоксимины могут создать благоприятные условия для образования пористых материалов.

Дианилинглиоксим (DAnH_2) получен поэтапно, в результате трех известных реакций (глиоксим–дихлорглиоксим– DAnH_2), а его взаимодействие с хлоридом никеля приводит к образова-

нию новых сольватоморфов известных *bis*- и *tris*-лигандных комплексов $[\text{Ni}(\text{DAnH})_2]$ и $[\text{Ni}(\text{DAnH}_2)_3]\text{Cl}_2$ [28] с формулами $[\text{Ni}(\text{DAnH})_2] \cdot 0.25\text{H}_2\text{O}$ (I) и $[\text{Ni}(\text{DAnH}_2)_3]\text{Cl}_2 \cdot 6\text{CH}_3\text{OH}$ (II), состав и структура которых определены методами элементного анализа, ИК-, ЯМР-спектроскопии и РСА. Для соединения I исследовано стимулирующее действие на синтез протеаз штамма микромицетов биотехнологического значения *Fusarium gibbosum* CNMN FD 12. Ранее мы получили кристаллы и определили структуру DAnH_2 в виде гидратных солей $[\text{DAnH}_3](\text{ClO}_4) \cdot \text{H}_2\text{O}$, $[\text{DAnH}_3](\text{ClO}_4) \cdot 1.25\text{H}_2\text{O}$ и трех биядерных соединений цинка(II) и марганца(II) с этим лигандом [29].

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Для синтеза использовали коммерческие химические соединения, в том числе растворители, без предварительной очистки. Синтезы проводили согласно методикам: для глиоксима [29], дихлорглиоксима [30], DAnH_2 [31].

Синтез комплекса I. Навеску DAnH_2 (0.27 г, 1 ммоль) растворяли в 10 мл метанола и нагревали на водяной бане при 50°C в течение 15 мин. К полученному раствору добавляли 0.12 г (0.5 ммоль) $\text{NiCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ в 10 мл метанола. Через 5 мин к раствору добавляли 1–2 капли аммиачного раствора. Образованный коричневый осадок фильтровали, промывали холодным метанолом, затем эфиром. Выход ~56%. Кристаллы пригодные для РСА получали перекристаллизацией комплекса из метанола. Вещество растворимо в ДМФ, но слабо растворимо в спиртах и ДМСО.

Найдено, %: С 55.64; Н 4.36; N 18.46; Ni 9.61.
Для $\text{C}_{28}\text{H}_{26.5}\text{N}_8\text{O}_{4.25}\text{Ni}$
вычислено, %: С 55.88; Н 4.44; N 18.62; Ni 9.75.

Синтез комплекса II. К теплomu раствору, содержащему 0.27 г (1 ммоль) DAnH_2 , растворенного в 20 мл метанола, добавляли 0.15 г (0.5 ммоль) $\text{NiCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ в 10 мл метанола, после чего подкисляли 1–2 каплями HCl (1 : 1) для сохранения кислой среды раствора (pH ~ 2). Через 2–3 сут в растворе образовывались кристаллы в форме призм зеленого цвета. Выход ~34%. Вещество растворимо в спиртах, ДМФ и ДМСО.

Найдено, %: С 50.77; Н 5.64; N 14.73; Ni 5.02.
Для $\text{C}_{48}\text{H}_{66}\text{N}_{12}\text{O}_{12}\text{Cl}_2\text{Ni}$
вычислено, %: С 50.90; Н 5.87; N 14.84; Ni 5.18.

Состав и строение соединений I и II установили на основе элементного анализа, ИК-, УФ-, ЯМР-спектроскопии, а для их монокристаллов провели РСА. ИК-спектры снимали на FT-IR Per-

kin-Elmer Spectrum 100 в вазелиновом масле в области $4000\text{--}400\text{ см}^{-1}$ и АТР в области $4000\text{--}650\text{ см}^{-1}$, УФ-спектры – на спектрофотометре Perkin-Elmer Lambda 25, спектры ЯМР ^1H , ^{13}C – на спектрометре 400 Bruker с рабочей частотой 400.13 MHz для ^1H и 100.61 MHz для ^{13}C в растворах ДМСО- d_6 , используя внутренний стандарт TMS. Сигналы выражены в м.д.

РСА. Структурные данные получены при комнатной температуре на дифрактометре Xcalibur E, излучение MoK_α ($\lambda = 0.71073 \text{ \AA}$), графитовый монохроматор и ω -сканирование. Параметры элементарных ячеек уточнены по всему массиву экспериментальных данных. Кристаллические структуры решены прямыми методами и уточнены полноматричным МНК по F_{hkl}^2 в анизотропном приближении для неводородных атомов (SHELX-97) [32]. Позиции атомов водорода частично рассчитаны геометрически, частично определены их Фурье синтезов и уточнены изотропно в модели “жесткого тела”. Кристаллографические данные и характеристики эксперимента для I и II приведены в табл. 1, межатомные расстояния и валентные углы в координационных полиэдрах – в табл. 2, геометрические параметры водородных связей – в табл. 3.

Полная структурная информация для I и II депонирована в Кембриджском банке структурных данных (КБСД) (№ 1998570 и 1998571 соответственно; www.ccdc.cam.ac.uk/data_request/cif).

Биологические методы. Биологические свойства синтезируемых КС оценивали по степени их воздействия на процесс ферментобразования микромицетов *Fusarium gibbosum* CNMN FD 12 – активными продуцентами протеолитических ферментов [33]. Штаммы хранятся в Национальной Коллекции Непатогенных Микроорганизмов Республики Молдова при Институте микробиологии и биотехнологии.

Культивирование продуцентов осуществляли глубинным способом в конических колбах объемом 0.5 л с 0.1 л питательной среды ранее подобранного оптимального состава [34, 35] при $28\text{--}30^\circ\text{C}$, в условиях постоянного перемешивания на качалке со скоростью вращения 200 об./мин. Продолжительность культивирования для штамма *Fusarium gibbosum* CNMN FD 12 – 6 сут. Комплексные соединения вносили в стерильную питательную среду в растворенном виде в концентрациях 5, 10, 15 мг/л одновременно с посевным материалом. Контролем служила среда без добавления КС. В качестве посевного материала использовали водную суспензию спор 12–15-и сут культуры, выращенной на скошенной сусло-агаровой среде, в количестве 10% от инокулированного объема с плотностью спор $1\text{--}3 \times 10^6$ в мл.

Таблица 1. Кристаллографические данные и характеристики эксперимента для I и II

Параметры	Значение	
	I	II
<i>M</i>	601.78	1132.74
Сингония	Моноклинная	Тригональная
Пр. гр.	$P2_1/c$	$R\bar{3}c$
Параметры элементарной ячейки		
<i>a</i> , Å	13.9314(14)	14.5230(5)
<i>b</i> , Å	13.6263(11)	14.5230(5)
<i>c</i> , Å	14.7047(13)	48.521(2)
α , град	90	90
β , град	105.468(9)	90
γ , град	90	120
<i>V</i> , Å ³	2690.3(4)	8862.9(6)
<i>Z</i>	4	6
ρ (выч.), г/см ³	1.486	1.273
μ , мм ⁻¹	0.774	0.484
<i>F</i> (000)	1250	3576
Размеры кристалла, мм	0.18 × 0.12 × 0.04	0.30 × 0.30 × 0.15
Область θ , град	2.87–25.50	3.08–25.49
Интервалы индексов отражений	$-16 \leq h \leq 15$, $-16 \leq k \leq 8$, $-17 \leq l \leq 17$	$-16 \leq h \leq 17$, $-15 \leq k \leq 13$, $-24 \leq l \leq 22$
Число измеренных/независимых рефлексов (<i>R</i> _{int})	8423/4979 (0.0526)	11279/1848 (0.0302)
Число рефлексов с $I > 2\sigma(I)$	1986	1292
Заполнение, %	99.3 ($\theta = 25.50^\circ$)	99.8 ($\theta = 25.49^\circ$)
Число уточняемых параметров	374	147
GOOF	1.006	1.007
<i>R</i> ₁ , <i>wR</i> ₂ ($I > 2\sigma(I)$)	0.0424, 0.0859	0.0290, 0.0722
<i>R</i> факторы (по всему масиву)	<i>R</i> ₁ = 0.1339, <i>wR</i> ₂ = 0.1168	<i>R</i> ₁ = 0.0468, <i>wR</i> ₂ = 0.0748
$\Delta\rho_{\max}$, $\Delta\rho_{\min}$, e Å ⁻³	0.287, -0.227	0.219, -0.198

Активность кислых (pH 3.6) и нейтральных (pH 7.4) протеаз определяли по методу Вильштеттера, основанному на определении количества свободных карбоксильных групп, образовавшихся при гидролизе 5%-ного раствора желатина. За единицу протеолитической активности принимали количество фермента, которое образует 1 мг аминного азота за 1 ч в стандартных условиях опыта [36].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

При взаимодействии хлорида никеля(II) с дианилинглиоксимом в различных условиях получены

бис-диоксимат и *трис*-диоксимин никеля(II). При этом для образования *трис*-диоксимиана необходим pH ~ 2, а *бис*-диоксимата – pH ~ 5–6; создание в растворе менее кислой или щелочной среды осуществлялось добавлением 1–2 капель аммиачного раствора, а кислой – соляной кислоты.

Для комплексов [Ni(DAnH₂)₂] · 0.25H₂O (I), [Ni(DAnH₂)₃]Cl₂ · 6CH₃OH (II) была определена кристаллическая структура. В результате установлено, что (хотя эти КС известны в литературе [28]) изменение условий синтеза привели к образованию новых сольватоморфов, отличающихся как внешней сферой, так и способом упаковки компонентов.

Таблица 2. Межатомные расстояния (d) и валентные углы (ω) в координационных полиэдрах соединений I и II*

Связь	$d, \text{Å}$	
	I	II
Ni(1)–N(1)	1.851(4)	2.075(1)
Ni(1)–N(2)	1.847(4)	
Ni(1)–N(3)	1.863(3)	
Ni(1)–N(4)	1.875(4)	
Угол	$\omega, \text{град}$	
N(1)NiN(2)/N(1) ^{#1}	82.9(2)	166.32(7)
N(1)NiN(3)/N(1) ^{#2}	177.9(2)	76.73(7)
N(1)NiN(4)/N(1) ^{#3}	97.4(2)	94.08(5)
N(2)/N(1)NiN(3)/N(1) ^{#4}	96.5(2)	96.64(7)
N(2)/N(1)NiN(4)/N(1) ^{#5}	175.5(2)	94.08(5)
N(3)NiN(4)	83.1(2)	

* Преобразования симметрии: ^{#1} $-x+4/3, -x+y+2/3, -z+1/6$; ^{#2} $y+1/3, x-1/3, -z+1/6$; ^{#3} $-x+y+1, -x+1, z$; ^{#4} $x-y+1/3, -y+2/3, -z+1/6$; ^{#5} $-y+1, x-y, z$ (II).

Структурные исследования показали, что соединения с подобным *бис*-лигандным комплексом I и $[\text{Ni}(\text{DAnH})_2] \cdot \text{DMF}$ (III) [28] кристаллизуются в пространственных группах $P2_1/c$ (табл. 1) и $P2_1/n$ моноклинной сингонии соответственно, но для них определены разные параметры элементарной ячейки (для III: $a = 9.2341(4)$, $b = 12.8587(5)$, $c = 15.0715(6)$ Å, $\beta = 102.566(2)^\circ$, $V 1746.70(12)$ Å³). При этом I содержит в кристалле остатки молекул воды, а III содержит молекулы DMF в соотноше-

нии к комплексам 2 : 1. Кроме того, если *бис*-лигандный комплекс III центросимметричный, то в I атом комплексообразователя находится в общем положении. Однако в комплексе I, так же как и в III, квадратно-плоскостной координационный полиэдр атома Ni(1) (рис. 1а) сформирован четырьмя атомами азота, принадлежащих двум монодепротонированным лигандам дианилинглиоксима. Длины связей Ni–N находятся в интервале 1.847(4)–1.875(4) Å (табл. 2) и сопоставимы со значениями, представленными в [28]. В результате N,N-бидентатного координирования этих лигандов образуются два пятичленных металлоцикла, расположенных практически в одной плоскости (± 0.020 Å). Выход атома никеля из плоскости донорных атомов N₄ не превышает 0.056 Å. В комплексе между моноанионами диоксима образуются две внутримолекулярные водородные связи (BC) O–H...O с расстоянием донор...акцептор 2.486(4) и 2.492(4) Å. Такой способ стабилизации двух подобных лигандов с образованием псевдомacroцикла обнаружен практически во всех *бис*-диоксиматах переходных металлов найденных в КБСД [37].

В кристалле I можно выделить цепочки из комплексов, связанных между собой межмолекулярными BC N–H...O, в которых в качестве доноров протонов вовлечены группы NH, а в качестве акцепторов – атомы кислорода оксимных групп, стабилизированные дополнительно слабыми межмолекулярными BC C–H...O (табл. 3, рис. 2). Однако комплексы Ni(II) объединены как напрямую, посредством водородных связей N–H...O, так и посредством молекул кристаллизационной воды с образованием водородных связей типа N–H...O(w) и O(w)–H...O (табл. 3,

Таблица 3. Геометрические параметры внутри- и межмолекулярных водородных связей в структуре I и II

Контакт D–H...A	Расстояние, Å			Угол DHA, град	Координаты атомов A
	D–H	H...A	D...A		
I					
O(1)–H(1)···O(4)	0.82	1.70	2.492(4)	161	x, y, z
O(3)–H(2)···O(2)	0.82	1.71	2.486(4)	158	x, y, z
N(11)–H(1)···O(3)	0.85	2.37	3.062(5)	139	$x, -y+1/2, z-1/2$
N(21)–H(1)···O(1w)	0.92	2.20	2.91(1)	133	$-x+2, -y+1, -z$
N(31)–H(1)···O(1)	0.88	2.26	3.081(5)	155	$x, -y+1/2, z+1/2$
N(41)–H(1)···O(4)	0.87	2.19	2.944(5)	145	$-x+1, -y, -z$
O(1w)–H(1)···O(2)	0.85	2.36	3.21(1)	179	$-x+2, -y+1, -z$
O(1w)–H(2)···O(2)	0.86	1.95	2.77(1)	158	x, y, z
II					
O(1)–H(1)···Cl(1)	0.76	2.50	3.223(2)	160	x, y, z
O(2)–H(1)···Cl(1)	0.93	2.33	3.232(2)	164	$-x+2, -y+1, -z$
N(2)–H(1)···O(2)	0.79	2.11	2.853(2)	158	x, y, z

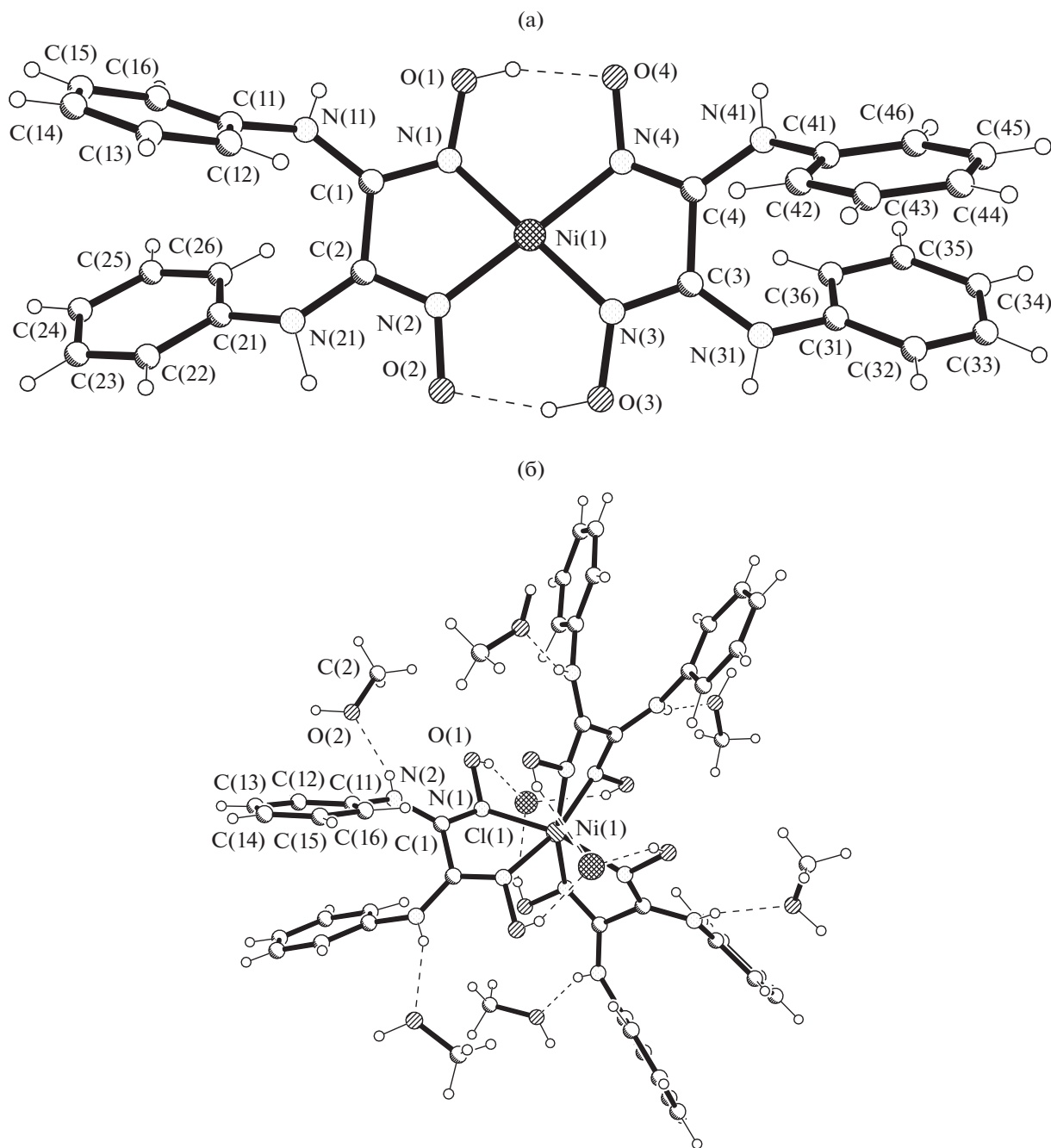


Рис. 1. Структура комплексного соединения $[\text{Ni}(\text{DAnH}_2)_2]$ в I (а) и ионного соединения $[\text{Ni}(\text{DAnH}_2)_3]\text{Cl}_2 \cdot 6\text{CH}_3\text{OH}$ (II) (б).

рис. 3а). В результате в кристалле комплексы объединены в трехмерный каркас. В кристалле III молекулы ДМФ также связаны с комплексами межмолекулярными ВС $\text{N}-\text{H}\cdots\text{O}$.

Соединение II кристаллизуется в тригональной пространственной группе $R\bar{3}c$ (табл. 1) в отличие от соединения с *трис*-лигандным комплексом $[\text{Ni}(\text{DAnH}_2)_3]\text{Cl}_2 \cdot 2\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ (IV) [28], содержащего в своем составе кристаллизационные молекулы этанола. Соединение IV кристаллизу-

ется в пространственной группе $P2_1/c$ моноклинной сингонии ($a = 9.2683(2)$, $b = 22.9694(7)$, $c = 24.0707(6)$ Å, $\beta = 91.484(2)^\circ$, $V = 5122.6(2)$ Å³). Соединение II, так же как и IV, ионное и состоит из комплексных катионов $[\text{Ni}(\text{DAnH}_2)_3]^{2+}$, анионов Cl^- и кристаллизационных молекул метанола в соотношении 1 : 2 : 6 (рис. 1б), но эти соединения отличаются сольватными молекулами. Симметрия комплексных катионов $[\text{Ni}(\text{DAnH}_2)_3]^{2+}$ в II и IV разная. Комплексный катион в II имеет

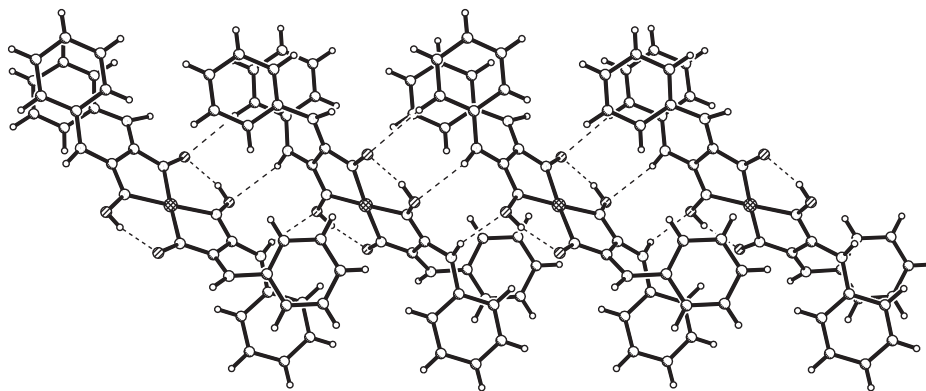


Рис. 2. Способ связывания $[\text{Ni}(\text{DAnH})_2]$ в цепочку в I.

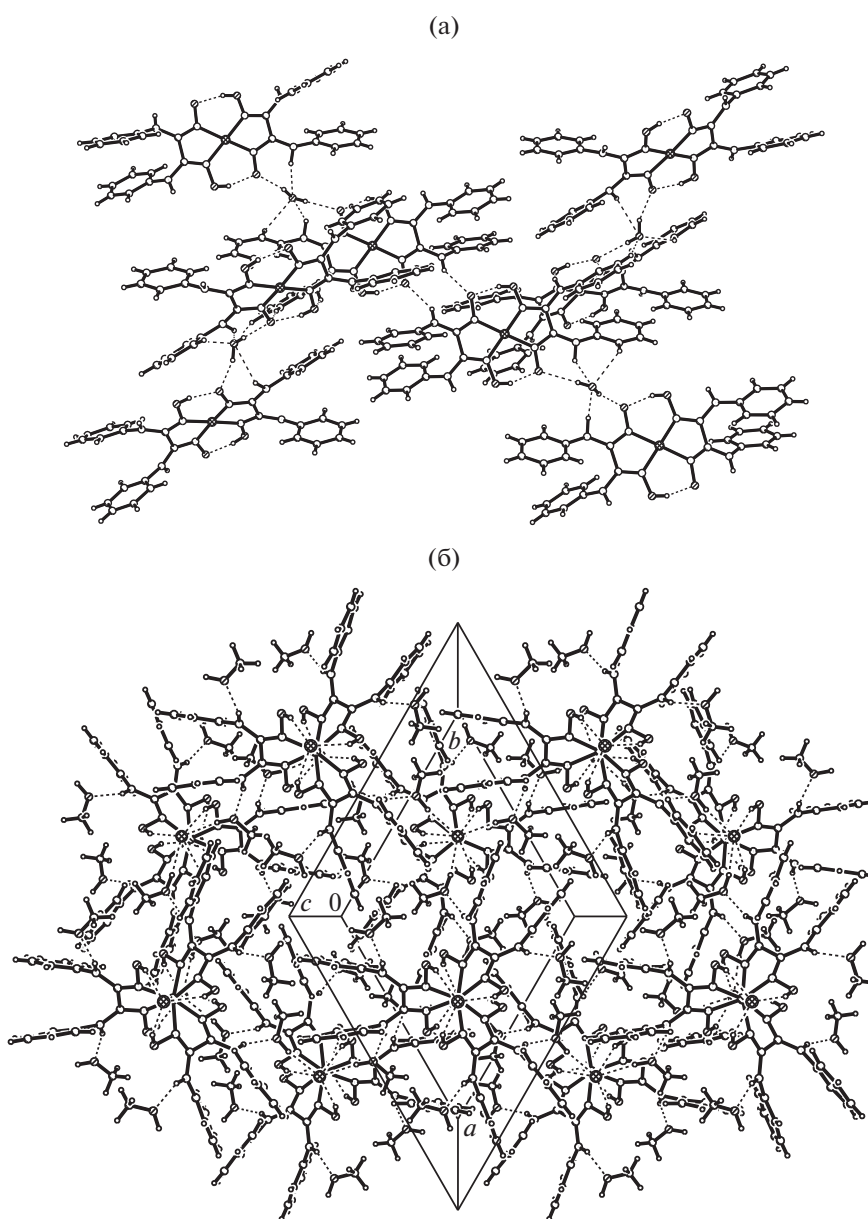


Рис. 3. Фрагменты кристаллической структуры I (а) и II (б).

симметрию D_3 , так как центральный атом расположен на инверсионной оси третьего порядка, а оксимный лиганд имеет симметрию C_2 , при этом атом Cl(1) находится на тройной оси. В результате в комплексном катионе три лиганда диоксима координируются в нейтральной форме к комплексообразователю посредством атомов азота оксимных групп хелатно-бидентатным способом, образуя три пятичленных металлоцикла. В октаэдрическом координационном полиэдре металла межатомные расстояния Ni–N равны 2.075 Å (табл. 2), и они соответствуют подобным в IV [28], где длина связи Ni–N находится в интервале 2.039(3)–2.110(3) Å.

В кристалле II между комплексными катионами и анионами хлорида, кроме электростатического взаимодействия, существует система межмолекулярных ВС, в которых в качестве доноров протонов вовлечены группы OH оксимных фрагментов (табл. 3, рис. 3б). Расстояние донор…акцептор в этих ВС равно 2.223(2) и 2.232(2) Å. При этом молекулы метанола объединены ВС как с анионами Cl⁻, в которых они вовлечены в качестве донора протонов, так и с комплексными катионами уже как акцепторы, в которых как доноры протонов выступают группы NH лигандов DAnH₂. Расстояние донор…акцептор в N–H…O равно 2.853(2) Å.

В кристаллической структуре II комплексные катионы объединены только посредством ВС, в которые вовлечены анионы и молекулы метанола. Таким образом, устойчивость кристаллической решетки соединения II зависит от молекул растворителя, а нестабильность на воздухе данного соединения по сравнению с I можно объяснить их потерей. Определено, что в I потеря молекул воды не приводит к изменениям в кристаллической структуре, поскольку ее остов образован системой межмолекулярных ВС, которая объединяет сами комплексы, а молекулы воды лишь нанизаны на образованную решетку. По-видимому, другие молекулы растворителя в кристаллической структуре II могли повлиять на структуру в целом, так как в *трис*-диоксимине Ni(II) IV [28] как кристаллизационные вовлечены молекулы этанола, которые образуют водородные связи только с комплексным катионом. Нельзя не учитывать и роль групп NH диоксиминного фрагмента в образовании супрамолекулярной структуры соединений, поскольку они участвуют в образовании ВС в кристаллах, тем самым способствуя их устойчивости.

Работы последних лет указывают на возможность использования комплексных соединений (КС) переходных металлов с различными органическими лигандами в качестве стимуляторов синтеза вторичных метаболитов у микроорганизмов, в том числе внеклеточных гидролитических ферментов [38–40]. В более ранних исследованиях мы выявили стимулирующее действие ряда диок-

симатов кобальта на биосинтез внеклеточных гидролаз (пектиназ, амилаз, липаз). Было показано, что комплексы кобальта(III) с диметилглиоксимом (DH₂): [Co(DH)₂(Thio)₂]₃F[SiF₆] · 1.5H₂O, [Co(DH)₂(Thio)₂]₂[SiF₆] · 3H₂O, [Co(DH)₂(Thio)₂][BF₄] · 3H₂O – эффективные стимуляторы пектолитической активности штамма *Rhizopus arrhizus* FD 03 и увеличивают биосинтез фермента на 97.1–115.3% [41], а комплексы [Co(DH)₂(An)₂]₂[TiF₆] · 3H₂O, [Co(NioxH)₂(Sam)₂]₂[TiF₆] · 3H₂O, [Co(NioxH)₂(An)₂]₂[TiF₆] · 3H₂O обеспечивают сокращение цикла культивирования микромицета *A. niger* 33-19 CNMN FD 02A на 24–48 ч с повышением амилитической активности на 23–64% [27].

Влияние координационного соединения I на биосинтез протеаз штамом микроскопического гриба *Fusarium gibbosum* CNMN FD 12 изучалось в динамике на 4–6-е сут культивирования (период, соответствующий максимуму биосинтеза изучаемых ферментов при классическом культивировании продуцента).

Добавление КС в концентрациях 5 и 10 мг/л в среду культивирования продуцента оказывает явный стимулирующий эффект на биосинтез как кислых, так и нейтральных протеаз. Активность ферментов в экспериментальных вариантах превышает уровень контроля на весь период культивирования. При концентрации 5 мг/л стимулирующий эффект составляет: 199.3 (4), 183.0 (5), 174.5% (6 сут) – для кислых протеаз, и 188.7 (4), 168.2 (5), 150.0% (6 сут) – для нейтральных протеаз. При концентрации 10 мг/л стимулирующий эффект значительно ниже: 127.2% (4); 148.9% (5); 125.5% (6 сут) – для кислых протеаз, 136.2% (4); 128.9% (5); 133.3% (6 сут) – для нейтральных протеаз. Внесение в среду культивирования КС в более высокой концентрации (15 мг/л) оказывает ингибирующее воздействие, снижая активность кислых протеаз на 78.9% (4); 57.4% (5) и 71.5% (6 сут), а нейтральных – на 27.7% (4); 40.2% (5); 48.8% (6 сут) по сравнению с контролем (табл. 4).

Из табл. 4 видно, что максимум активности как кислых, так и нейтральных протеаз в контрольном варианте проявляется на 5-е сут культивирования продуцента и составляет 2.23 и 2.39 ед./мл соответственно. Сопоставление полученных результатов показывает, что этот максимум при использовании КС в концентрации 5 мг/л достигается на сутки (24 ч) раньше с превышением максимального контроля (5-е сут культивирования) на 31.4% (кислые протеазы) и 11.3% (нейтральные протеазы), составляя 2.93 и 2.66 ед./мл соответственно.

На 5-е сут культивирования продуцента – день проявления максимума в контрольном варианте, активности кислых и нейтральных протеаз в экспериментальных вариантах составляет 4.08 и

Таблица 4. Влияние комплекса $[\text{Ni}(\text{DAnH})_2] \cdot 0.25\text{H}_2\text{O}$ на протеолитическую активность микромицета *Fusarium gibbosum* CNMN FD 12

Концентрация координационных соединений, мг/л	Активность кислых протеаз (pH 3.6)					
	4-е сут		5-е сут		6-е сут	
	ед./мл	% к контролю	ед./мл	% к контролю	ед./мл	% к контролю
5	2.93 ± 0.02	199.3/131.4*	4.08 ± 0.08	183.0	3.49 ± 0.06	174.5
10	1.87 ± 0.04	127.2	3.32 ± 0.05	148.9	2.51 ± 0.01	125.5
15	0.31 ± 0.01	21.1	0.95 ± 0.01	42.6	0.57 ± 0.01	28.5
Контроль	1.47 ± 0.01	100.0	2.23 ± 0.04	100.0	2.00 ± 0.04	100.0
	Активность нейтральных протеаз (pH 7.4)					
5	2.66 ± 0.02	188.7/111.3*	4.02 ± 0.07	168.2	1.26 ± 0.01	150.0
10	1.92 ± 0.01	136.2	3.08 ± 0.05	128.9	1.12 ± 0.02	133.3
15	1.02 ± 0.02	72.3	1.43 ± 0.02	59.8	0.43 ± 0.01	51.2
Контроль	1.41 ± 0.01	100.0	2.39 ± 0.02	100.0	0.84 ± 0.01	100.0

* По отношению к максимуму контроля (5-е сут культивирования).

4.02 ед./мл соответственно, превышая контроль на 83.0 и 68.2% (табл. 4).

Комплексное соединение $[\text{Ni}(\text{DAnH})_2] \cdot 0.25\text{H}_2\text{O}$ в оптимально подобранной концентрации (5 мг/л) стимулирует биосинтез внеклеточных протеаз при глубинном культивировании микромицета *Fusarium gibbosum* CNMN FD 12, обеспечивая:

– при оптимальном периоде культивирования штамма (5 сут) повышение активности кислых протеаз на 83.0% и нейтральных протеаз на 68.2% по сравнению с активностью в контроле;

– сокращение (на 24 ч) периода культивирования штамма (4 сут) при одновременном повышении активности на 31.4% (кислые протеазы) и на 11.3% (нейтральные протеазы) по сравнению с максимальной активностью, получаемой в контроле на сутки позже (5 сут).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Coropceanu E.* // Studia Universitatis Moldaviae. Ştiinţe reale şi ale naturii. 2013. № 6(66). P. 183.
2. *Schrauzer G.N., Lee L.P.* // J. Am. Chem. Soc. 1970. V. 92. № 6. P. 1551.
3. *Gerbeleu N., Simonov Yu., Deseatnic A. et al.* Patent MD 1203. 1999.
4. *Deseatnic A., Tiurin J., Gerbeleu N. et al.* Patent MD 1748. 2002.
5. *Gerbeleu N., Simonov Yu., Bouroush P. et al.* Patent MD 2833. 2005.
6. *Deseatnic A., Stratan M., Coropceanu E. et al.* Patent MD 3943. 2009.
7. *Боурoш П.Н., Корoпчану Э.Б., Десятник А.А. и др.* // Коорд. химия. 2009. Т. 35. № 10. С. 761 (*Bouroush P.N., Koropchanu E.B., Ciloci A.A. et al.* // Russ. J. Coord. Chem. 2009. V. 35. № 10. P. 751). <https://doi.org/10.1134/S1070328409100078>
8. *Боурoш П.Н., Корoпчану Э.Б., Чилоци А.А. и др.* // Коорд. химия. 2013. Т. 39. № 11. С. 669 (*Bouroush P.N., Coropceanu E.B., Ciloci A.A.* // Russ. J. Coord. Chem. 2013. V. 39. № 11. P. 777). <https://doi.org/10.1134/S107032841311002X>
9. *Rudic V., Coropceanu E., Cepoi L. et al.* Patent MD 4254. 2013.
10. *Ştefîrţă A., Bulhac I., Botnari V. et al.* Patent MD 813. 2014.
11. *Mokhir A., Kramer R., Voloshin Y.Z., Varzatskii O.A.* // Bioorg. Med. Chem. Lett. 2004. V. 14. № 11. P. 2927.
12. *Волошин Я.З., Варзатский О.А., Бубнов Ю.Н.* // Изв. АН. Сер. хим. 2007. № 4. С. 555.
13. *Voloshin Y.Z., Kostromina N.A., Kramer R.* Clathrochelates: Synthesis, Structure and Properties. Amsterdam: Elsevier, 2002. 419 p.
14. *Coropceanu E., Rija A., Lozan V.* // Cryst. Growth Des. 2016. V. 16. № 2. P. 814.
15. *Croitor L., Coropceanu E.B., Siminel A.* // Inorg. Chim. Acta. 2011. V. 370. P. 411.
16. *Croitor L., Coropceanu E.B., Siminel A.V.* // CrystEngComm. 2012. V. 14. P. 3750.
17. *Kabay N., Altunbaş A. K., Misir M.N., Gok Y.* // J. Incl. Phenom. Macrocycl. Chem. 2012. V. 74. P. 285.
18. *Coropceanu E.B., Croitor L., Fonari M.S.* // Polyhedron. 2012. V. 38. P. 68.
19. *Coropceanu E.B., Croitor L., Wicher B. et al.* // Inorg. Chim. Acta. 2009. V. 362. P. 2151.
20. *Coropceanu E.B., Croitor L., Siminel A.V., Fonari M.S.* // Inorg. Chem. Commun. 2011. V. 14. P. 1528.
21. *Coropceanu E.B., Croitor L., Botoshansky M.M., Fonari M.S.* // Polyhedron. 2011. V. 30. P. 2592.
22. *Croitor L., Coropceanu E., Masunov A. et al.* // J. Phys. Chem. C. 2014. V. 118. № 17. P. 9217.
23. *Croitor L., Coropceanu E., Petuhov O. et al.* // Dalton Trans. 2015. V. 44. № 17. P. 7896.
24. *Croitor L., Grabco D., Coropceanu E. et al.* // CrystEngComm. 2015. V. 17. № 12. P. 2450.

25. *Ocak U., Kantekin H., Gok Y., Misir M.N.* // New J. Chem. 2003. V. 27. № 8. P. 1251.
26. *Gumus G., Ahsen V., Lebrun C. et al.* // New J. Chem. 2004. V. 28. № 2. P. 177.
27. *Stratan M.* Biotehnologii de cultivare a tulpinii *Aspergillus niger* 33-19 CNMN FD 02A producător de amilaze. Chişinău: CEP USM. 2011. 30 p.
28. *Yuksel F., Gurek G., Durmus M. et al.* // Inorg. Chim. Acta. 2008. V. 361. № 8. P. 2225.
29. Glyoxime, Diaminofurazan and Some Energetic Derivatives, by АХТ // Sciencemadness.org. http://www.sciencemadness.org/member_publications/energetic_glyoxime_and_diaminofurazan_derivatives.pdf.
30. *Kurtoğlu M., Serin S.* // React. Inorg. Met.-Org. Chem. 2001. V. 31. № 7. P. 1129.
31. *Уреке Д., Булхак И., Ружа А. и др.* // Коорд. химия. 2019. Т. 45. № 12. С. 720 (*Ureche D., Bulhac I., Rija A. et al.* // Russ. J. Coord. Chem. 2019. V. 45. № 12. P. 843). <https://doi.org/10.1134/S107032841912008X>
32. *Sheldrick G.M.* // Acta Crystallogr. A. 2008. V. 64. P. 112.
33. *Deseatnic-Ciloci A., Tiurina J., Lupascu G. et al.* Patent MD 4186 // ВОПИ. 2012. № 11.
34. *Clapco S., Bivol C., Ciloc A. et al.* // Anal. Univ. din Oradea, Fasc. Biologie. 2013. V. 20. № 1. P. 53.
35. *Deseatnic-Ciloci A., Coropceanu E., Clapco S. et al.* // Studia universitatis moldaviae, seria Ştiinţe reale şi ale naturii. 2014. № 6(76). P. 57.
36. *Грачёва И.М., Грачёв Ю.П. и др.* Лабораторный практикум по технологии ферментных препаратов. М.: Легкая и пищ. пром-ть, 1982. 240 с.
37. *Allen F.H.* // Acta Crystalljgr. B. 2002. V. 58. № 3–1. P. 380.
38. *Варбанец Л.Д., Разаева О.Н., Авдюк Е.В. и др.* // Микробиол. журн. 2007. Т. 69. № 3. С. 11.
39. *Varbaneţ L.D., Matselyukh E. V., Gudzenko E. V. et al.* // Ukr. Biochem. J. 2011. V. 83. № 3. P. 25.
40. *Varbaneţ L.D., Matseliukh E.V., Seifullina I.I. et al.* // Ukr. Biochem. J. 2014. V. 86. № 3. P. 49.
41. *Coropceanu E., Deseatnic A., Tiurin J. et al.* // Analele USM. Ştiinţe chimico-biol. 2000. P. 256.