

**КАТАЛІЗОВАНЕ ЛАККАЗОЮ *TRAMETES VERSICOLOR* ОКИСНЕННЯ
7,8-ДИГІДРОКСИ-4-ГІДРОКСИМЕТИЛКУМАРИНУ**

Лаховець К. М.¹, Цяпало О. С.¹, Лесишина Ю. О.¹, Фрасинюк М. С.², Шендрик О. М.¹

¹Донецький національний університет імені Василя Стуса

²Інститут біоорганічної хімії та нафтохімії НАН України
a.tsyapalo@donnu.edu.ua

Лакказа (КФ 1.10.3.2, *n*-дифенол: кисень оксидоредуктаза) відноситься до класу мідьвмісних оксидаз, що каталізує реакцію відновлення молекулярного кисню до води за рахунок окиснення гідросилвмісних субстратів, минаючи стадію утворення пероксиду водню. Лакказа має широку субстратну специфічність, яку можна збільшити, використовуючи редокс-медіатори. До одних із ефективних субстратів лакказ відносять заміщені феноли, у тому числі і кумарини. Тому є актуальним дослідження каталізованого лакказою процесу окиснення похідних кумарину.

Мета роботи – дослідження кінетики реакції окиснення похідних кумарину молекулярним киснем за участю лаккази *Trametes Versicolor*. Об'єкт дослідження – вперше синтезоване похідне кумарину – 7,8-діокси-4-оксиметилкумарин, який використовували як субстрат лаккази. Лакказне окиснення кумарину проводили в цитратній буферній системі (рН 4.5) при атмосферному тиску та $T = 308$ К. Метод дослідження кінетики реакції – UV-Vis - спектроскопія.

Показано, що 7,8-діокси-4-оксиметилкумарин ефективно окиснюється в присутності лаккази. Розрахунок початкової швидкості V_0 ферментативного окиснення проводили за початковою прямолінійною ділянкою кінетичної кривої. Визначено початкові швидкості окиснення 7,8-діокси-4-оксиметилкумарину молекулярним киснем у присутності лаккази при різних концентраціях субстрату. За рівнянням Міхаеліса-Ментен в подвійних обернених координатах Лайнуівера-Берка, визначені максимальна швидкість V_{max} та константа Міхаеліса K_M лакказного окиснення 7,8-діокси-4-оксиметилкумарину.

Для порівняльної характеристики відновлювальної здатності 7,8-діокси-4-оксиметилкумарину як субстрату лаккази були визначені кінетичні параметри реакції лакказного окиснення стандартного субстрату лаккази – гідрохінону, а також флавоноїду кверцетину, який широко застосовується як антиоксидант в харчовій і фармацевтичній промисловості.

Таблиця 1

Кінетичні параметри лакказного окиснення при наявності різних субстратів

Субстрат	V_{max} , моль/л·с	K_M , мкМ
Кверцетин	4.5×10^{-7}	123
Гідрохінон	6.0×10^{-7}	221
7,8-діокси-4-оксиметилкумарин	6.4×10^{-7}	268

Отже, якщо порівняти відновлювальну здатність досліджуваних фенольних сполук в реакції їх лакказного окиснення молекулярним киснем за однакових умов, можна побачити, що найбільш активним є саме 7,8-діокси-4-оксиметилкумарин. Це свідчить про перспективність дослідження похідних кумарину як сполук з високою антиоксидантною активністю та потенційними медіаторними властивостями.