

УДК 541.49+546.562

Г. И. ГОРБАЦЕВИЧ¹, Т. В. ПЕТРАШЕВСКАЯ¹, Т. В. КОВАЛЬЧУК¹,
Н. В. ЛОГИНОВА¹, Н. П. ОСИПОВИЧ², И. И. АЗАРКО¹, Г. И. ПОЛОЗОВ¹

БИОАКТИВНЫЕ КОМПЛЕКСЫ Cu(II) И Zn(II) С ОСНОВАНИЯМИ МАННИХА

¹Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь

²НИИ физико-химических проблем

Белорусского государственного университета, Минск, Беларусь

Изучен процесс комплексообразования ионов Cu(II) и Zn(II) с основаниями Манниха в среде «вода – тетрагидрофуран (THF)». Методом потенциометрии установлено, что образуются комплексы с соотношением M : L = 1 : 2, определены их константы устойчивости ($\beta = 11,78–14,26$). Показано, что синтезированные комплексы Cu(II) и Zn(II) являются нейтральными, рентгеноаморфными и термически устойчивыми. Их координационные полиэдры имеют состав $[MN_2O_2]$ и плоскоквадратную или тетраэдрическую форму. Установлена высокая антрафунгальная активность ($RI = 100\%$) металлокомплексов в отношении плесневых грибов *Alternaria alternata*, *Fusarium spp.*, *Sclerotinia sclerotiorum*.

The process of complexation of Cu(II) and Zn(II) ions with Mannich bases in water – tetrahydrofuran (THF) was investigated. It was found potentiometrically that complexes with the ratio M : L = 1 : 2, were formed, their stability constants were determined ($\beta = 11,78–14,26$). The complexes synthesized were shown to be neutral, amorphous and thermally stable. Their coordination polyhedra have the composition $[MN_2O_2]$ and square-planar or tetrahedral geometry. A high antifungal activity ($RI = 100\%$) of the metal complexes against moulds *Alternaria alternata*, *Fusarium spp.*, *Sclerotinia sclerotiorum* was established.

Ключевые слова: комплексообразование; ионы Cu(II) и Zn(II); константы устойчивости; antimикробная активность.

Keywords: complexation; Cu(II) and Zn(II) ions; stability constants; antimicrobial activity.

Известно, что координационные соединения Cu(II) и Zn(II) с разнообразными органическими лигандами обладают антиконвульсационной, антипролиферативной, антивоспалительной, антивирусной, антипаразитарной и antimикробной активностью [1]. Кроме того, ионы этих биометаллов способны повышать фармакологический эффект некоторых лекарственных средств за счет комплексообразования и предотвращать их побочное действие (так называемую лигандную патологию). В связи с быстро распространяющейся резистентностью микроорганизмов к широко используемым антибиотикам для

медицинской практики наиболее востребована разработка антимикробных комплексов Cu(II) и Zn(II) [1]. Более высокий антимикробный эффект этих комплексов по сравнению с исходными лигандами реализуется за счет роста липофильности при комплексообразовании, а также влияния ионов металлов на клеточные структуры и процессы [2]. Для создания эффективных антимикробных средств требуется дальнейшее исследование комплексов Cu(II) и Zn(II) с уже известными и новыми лигандами, определение их структурных, термодинамических и фармакологических характеристик. В данной статье рассмотрены особенности синтеза и физико-химические свойства комплексов Cu(II) и Zn(II) с основаниями Маннixa, которые по результатам первичного фармакологического скрининга проявили высокую антимикробную активность.

МЕТОДИКА ЭКСПЕРИМЕНТА

В качестве лигандов для синтеза комплексов Cu(II) и Zn(II) использовали производные оснований Маннixa: 3-тетрагидро-1Н-1-пирролилметил-5-тритил-1,2-дигидроксибензол (HLI), 3-пиперицино-метил-5-тритил-1,2-дигидроксибензол (HLII), 3-(1-азепанилметил)-5-тритил-1,2-дигидроксибензол (HLIII), 3-морфолинометил-5-тритил-1,2-дигидроксибензол (HLIV), 3-(4-метилпiperазинометил)-5-тритил-1,2-дигидроксибензол (HLV). Комплексообразование ионов Cu(II) и Zn(II) с вышеуказанными лигандами изучали методом pH-метрического титрования в смеси тетрагидрофуран (ТГФ) : вода = = 7 : 3 и атмосфере аргона с использованием иономера И-160МП при постоянной ионной силе. Расчет констант устойчивости образующихся в растворе металлокомплексов осуществляли по методу Бьееррума в программе MathCad [3]. Металлокомpleксы синтезировали и выделяли в твердую фазу по ранее разработанной методике [3]. Рентгенофазовый анализ комплексов проводили на приборе ДРОН-2 (CuK_α-излучение). ИК-спектры порошков лигандов и комплексов регистрировали на приборе FT-IR Nicolet 380 фирмы Thermo Electron Corporation с использованием Smart Performer в диапазоне 4000–500 см⁻¹. Термограммы комплексов записывали на приборе NETZSCH STA 449 C при изменении температуры от 20 до 450 °C со скоростью 5 град/мин. Элементный анализ синтезированных соединений выполняли согласно стандартным методикам [4]. Оптические спектры поглощения растворов лигандов и их комплексов в ацетонитриле записывали на спектрофотометре SPECORD M500 в диапазоне длин волн 220–900 нм с точностью ±2 нм с использованием стандартной (1 см) кюветы. Спектры ЭПР образцов регистрировали на приборе Varian E-112 (Х-диапазон; 9,3 ГГц) при температуре кипения жидкого азота (77 K) и при комнатной температуре с использованием в качестве стандартов 1,1-дифенил-2-пикрилгидразильный свободный радикал и ион Mn²⁺ в решете MgO. Коэффициент распределения (P_{ow}) лигандов и комплексов оценивали с использованием метода распределения этих веществ в воде и октаноле-1 [5].

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Методом потенциометрического титрования в среде «вода – ТГФ» было установлено, что ионы Cu(II) и Zn(II) образуют с соединениями HL^I – HL^V комплексы состава $M(II) : L = 1 : 2$, а общие константы устойчивости имеют значения в интервалах $\lg\beta = 13,41$ – $14,26$ (для комплексов Cu(II)) и $\lg\beta = 11,78$ – $13,27$ (для комплексов Zn(II)).

Комpleксы Cu(II) и Zn(II) с соединениями HL^I – HL^V практически нерастворимы в воде, мало растворимы в этаноле и ацетоне, легко растворимы в ацетонитриле, диметилсульфоксиде и тетрагидрофуране. Данные рентгенофазового анализа свидетельствуют об аморфном состоянии полученных осадков. Рентгенограмма аморфных образцов имеет характерный вид – широкая линия с угловой шириной $2\theta = 10$ – 20° .

Величины молярной электропроводности растворов комплексов в ацетонитриле ($56,1$ – $86,2 \text{ W}^{-1} \cdot \text{см}^2 \cdot \text{моль}^{-1}$ и $5,4$ – $10,9 \text{ W}^{-1} \cdot \text{см}^2 \cdot \text{моль}^{-1}$ для комплексов Cu(II) и Zn(II) соответственно) позволяют отнести их к неэлектролитам [6].

Согласно результатам элементного анализа (табл. 1), состав комплексов Cu(II) и Zn(II) соответствует общей формуле ML_2 .

Таблица 1

Результаты элементного анализа комплексов Cu(II) и Zn(II) с соединениями HL^I – HL^V

Комплекс	Брутто-формула	Элементное содержание (вычислено / найдено, %)			
		C	H	N	M
$Cu(L^I)_2$	$C_{60}H_{56}N_2O_4Cu$	77,29 / 77,15	6,01 / 5,59	3,01 / 2,75	6,82 / 6,99
$Cu(L^{II})_2$	$C_{62}H_{60}N_2O_4Cu$	77,54 / 77,30	6,25 / 5,87	2,92 / 2,74	6,62 / 6,71
$Cu(L^{III})_2$	$C_{64}H_{64}N_2O_4Cu$	77,77 / 78,04	6,48 / 6,65	2,84 / 2,96	6,43 / 6,31
$Cu(L^{IV})_2$	$C_{60}H_{56}N_2O_6Cu$	74,73 / 75,01	5,81 / 5,89	2,91 / 2,94	6,59 / 6,80
$Cu(L^V)_2$	$C_{62}H_{62}N_4O_4Cu$	75,19 / 74,99	6,27 / 6,19	5,66 / 5,49	6,42 / 6,59
$Zn(L^I)_2$	$C_{60}H_{56}O_4N_2Zn$	76,92 / 77,11	5,91 / 6,04	2,87 / 2,99	6,82 / 6,99
$Zn(L^{II})_2$	$C_{62}H_{60}O_4N_2Zn$	77,17 / 77,36	6,12 / 6,29	2,80 / 2,91	6,65 / 6,79
$Zn(L^{III})_2$	$C_{64}H_{64}O_4N_2Zn$	77,38 / 77,59	6,41 / 6,51	2,70 / 2,83	6,48 / 6,60
$Zn(L^{IV})_2$	$C_{60}H_{56}O_6N_2Zn$	74,42 / 74,56	5,71 / 5,84	3,03 / 2,89	6,52 / 6,76
$Zn(L^V)_2$	$C_{62}H_{64}O_4N_4Zn$	74,71 / 74,86	6,33 / 6,48	5,78 / 5,63	6,42 / 6,58

Для комплексов Cu(II) и Zn на кривых ДТА в области температур 60–150 °C не наблюдается эндотермических пиков, что свидетельствует об отсутствии молекул растворителя в их координационной сфере. Комpleксы термически устойчивы вплоть до 180–210 °C. Их термическое разложение характеризуется несколькими стадиями, проявляющимися на термограммах в виде эндотермических пиков: частичная деструкция лигандов при температуре 190–320 °C,

полное разложение комплексов при 230–450 °C, окончательное разложение лигандов выше при 450 °C. В результате полного разложения комплексов, согласно данным рентгенофазового анализа, образуются оксиды CuO и ZnO.

Нами были определены коэффициенты распределения соединений HL^I – HL^V и их комплексов Cu(II) и Zn(II) в системе «октанол – вода». Значения $\lg P_{ow}$ лигандов находятся в интервале 1,2–1,5, в то время как эти величины для комплексов составляют 2,9–3,4, что указывает на рост липофильности соединений при комплексообразовании.

Для определения состава координационных полизидров комплексов Cu(II) и Zn(II) использовали метод ИК-спектроскопии. В ИК-спектрах лигандов присутствуют полосы в области 3432–3392 cm^{-1} , которые относятся к валентным колебаниям гидроксильных групп (табл. 2).

Таблица 2

Основные максимумы полос поглощения (ν , см^{-1}) в ИК-спектрах соединений HL^I – HL^V и их металлокомплексов

Соединение	$\nu(\text{O–H})$	$\nu(\text{C–N})$	$\nu(\text{C=C})$	$\nu(\text{C–O})$	$\nu(\text{Cu–O}, \text{Cu–N})$
HL^I	3392 с	1380 ср 1353 ср 1287 с	1596 ср 1490 с	1244 ср 1116 ср	–
$Zn(L^I)_2$	3400 сл	1364 ср 1315 сл 1286 с	1594 ср 1479 с	1243 ср 1083 ср	573 ср 555 ср 521 сл
$Cu(L^I)_2$	3379 ср	1336 сл 1295 ср 1244 с 1191 ср	1556 ср 1466 с	1066 сл	580 ср 529 сл 441 с
HL^{II}	3414 ср	1385 сл 1309 с 1275 ср	1594 ср 1488 с	1152 ср 1118 ср	–
$Zn(L^{II})_2$	3439 ср	1366 сл 1295 ср 1261 сл	1592 ср 1478 с	1102 сл 1067 ср	527 с 506 сл
$Cu(L^{II})_2$	3400 ср	1353 сл 1254 с 1239 с	1555 ср 1466 с	1129 ср 1082 ср	562 ср 524 сл
HL^{III}	3432 ср	1393 сл 1355 сл 1331 сл 1321 ср	1594 ср 1487 с	1140 сл 1120 ср 1077 ср 1036 ср	–
$Zn(L^{III})_2$	3428 ср	1390 сл 1355 сл 1320 сл 1304 ср	1594 ср 1477 с	1140 сл 1120 сл 1067 ср 1034 ср	569 ср

Окончание табл. 2

Соединение	$\nu(\text{O}-\text{H})$	$\nu(\text{C}-\text{N})$	$\nu(\text{C}=\text{C})$	$\nu(\text{C}-\text{O})$	$\nu(\text{Cu}-\text{O}, \text{Cu}-\text{N})$
$\text{Cu}(\text{L}^{\text{III}})_2$	3418 ср 1332 сл 1308 сл 1273 сл	1353 сл 1466 с	1556 ср 1083 ср 1059 ср 1018 ср	1129 сл 1083 ср	562 ср
HL^{IV}	3536 сл 3431 ср	1397 ср 1362 сл 1328 ср 1263 с	1595 ср 1488 с	1187 с 1084 ср	—
$\text{Zn}(\text{L}^{\text{IV}})_2$	3460 с	1361 ср 1340 сл 1319 ср 1246 с	1596 с 1490 ср	1121 с 1066 с	520 ср
$\text{Cu}(\text{L}^{\text{IV}})_2$	3473 сл	1361 ср 1336 сл 1280 ср 1240 с	1556 ср 1465 с	1128 с 1066 ср	559 с
HL^{V}	3410 ср	1400 ср 1331 ср 1312 ср	1595 ср 1491 с	1186 ср 1084 ср	—
$\text{Zn}(\text{L}^{\text{V}})_2$	3400 сл	1401 сл 1301 ср 1281 ср	1592 ср 1490 с	1151 ср 1049 ср	581 ср
$\text{Cu}(\text{L}^{\text{V}})_2$	3320 сл	1388 сл 1277 ср 1243 с 1152 ср	1557 ср 1468 с	1130 ср 1059 ср	595 с 575 сл 558 ср

В спектрах комплексов эти полосы смешены в область более низких частот, что позволяет утверждать, что одна из гидроксильных групп участвует в комплексообразовании. Кроме того, линии имеют меньшую интенсивность и несколько сузены по сравнению с сигналами в спектрах лигандов. Это позволяет предположить, что внутримолекулярная водородная связь между гидроксильными группами в комплексах отсутствует и что одна из гидроксильных групп, участвующих в комплексообразовании, депротонирована. Изменение частот колебаний $\nu(\text{C}=\text{C})_{\text{аром}}$ ароматического кольца ($1450\text{--}1600\text{ см}^{-1}$) в спектрах комплексов подтверждает образование координационных связей между ионом металла и лигандом [7]. В комплексообразовании задействована также третичная аминогруппа лигандов, так как относящиеся к ней полосы ($1360\text{--}1250\text{ см}^{-1}$) в ИК-спектрах комплексов смешены в область более низких частот. Появление в спектрах комплексов новых полос, относящихся к валентным колебаниям связей $\text{M}-\text{O}$ и $\text{M}-\text{N}$ (соответственно в областях $600\text{--}500$ и $500\text{--}400\text{ см}^{-1}$), подтверждает координационное взаимодействие ионов металла с атомами кислорода и азота лигандов [8]. Таким образом, координационные полиэдры исследуемых комплексов имеют состав $[\text{CuN}_2\text{O}_2]$ и $[\text{ZnN}_2\text{O}_2]$.

Электронные спектры комплексов Cu(II) с лигандами $HL^I - HL^V$ характеризуются низкоинтенсивными полосами поглощения в области 500–600 нм, характерными для $d-d$ -переходов в комплексах с плоскоквадратным хромофором $[CuN_2O_2]$ [9]. Полосы поглощения в спектрах комплексов Zn(II), согласно [7], реализуются для тетраэдрического или близкого к такому типу симметрии окружению иона Zn(II). Состав и геометрия координационных полиэдров были подтверждены данными ЭПР-спектроскопии, которые представлены в табл. 3.

Таблица 3
Основные полосы поглощения металлокомплексов с лигандами $HL^I - HL^V$

Комплексы	Хромофор	Полосы поглощения, λ_{max} , нм	Форма полиэдра
$Cu(L^I)_2 - Cu(L^V)_2$	CuN_2O_2	200, 250, 260–265, 270–280 <i>sh</i> (ВПЛ); 390–430 <i>sh</i> ($O_{phen} \rightarrow Cu^{II}$ ПЗЛМ); 290–310 <i>sh</i> ($N(s) \rightarrow Cu^{II}$ ПЗЛМ); 500–600 ($d-d$)	Плоскоквадратный
$Zn(L^I)_2 - Zn(L^V)_2$	ZnN_2O_2	220–247, 275–300 (ВПЛ); 305–340 ($O_{phen} \rightarrow Zn^{II}$ ПЗЛМ, $N(\sigma) \rightarrow Zn^{II}$ ПЗЛМ)	Тетраэдрический

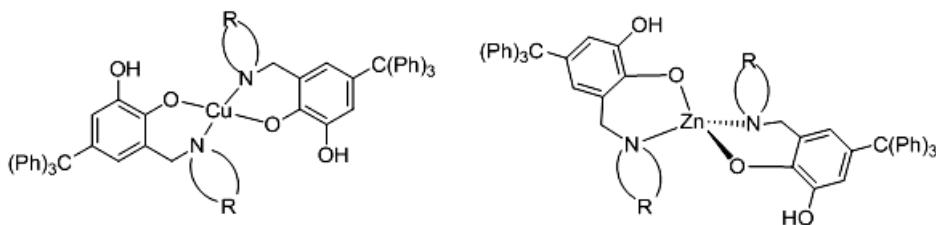
Параметры ЭПР спектров комплексов Cu(II) с лигандами $HL^I - HL^V$ близки, что свидетельствует об однотипном строении координационных полиэдров независимо от природы заместителей в молекуле оснований Манниха. Величины параметра $G = (g_{\parallel} - 2,0023) / (g_{\perp} - 2,0023)$ для всех комплексов Cu(II) превышают 4, что указывает на отсутствие обменного взаимодействия между медными центрами, т. е. комплексы являются моноядерными (табл. 4) [10]. Характерная анизотропия g -тензора ($g_{\parallel} > g_{\perp} > 2,0023$) подтверждает основное состояние $d_x^2 - y^2$ для иона-комплексообразователя и, следовательно, Cu(II) находится в плоскоквадратном или очень близком к такому типу симметрии окружении, которое образуют O,N-донорные группы лигандов [11]. В отличие от медных комплексов комплексы Zn(II) с лигандами $HL^I - HL^V$ проявляют диамагнитные свойства.

Таблица 4
Основные параметры спектров ЭПР комплексов Cu(II)

Комплекс	g_{\parallel}	g_{\perp}	G	ΔH
$Cu(L^I)_2$	2,295	2,056	5,45	65
$Cu(L^{II})_2$	2,305	2,058	5,43	70
$Cu(L^{III})_2$	2,300	2,059	5,25	70
$Cu(L^{IV})_2$	2,280	2,058	4,99	75
$Cu(L^V)_2$	2,305	2,059	5,34	55

В спектрах ЭПР синтезированных комплексов отсутствует характерный для феноксильных радикалов узкий синглетный сигнал с g -фактором 2,004–2,006, следовательно, лиганды не изменяют свое редокс-состояние при комплексообразовании и выделении комплексов из раствора в твердую фазу [12].

На рисунке приведено схематическое изображение структуры координационных полизэров комплексов Cu(II) и Zn(II), которая определена на основании спектральных данных.



Схематическое изображение структуры комплексов Cu(II) и Zn(II) с лигандами HL^I – HL^V

Согласно данным микробиологического исследования комплексы Cu(II) и Zn(II) проявляют *in vitro* высокий уровень активности в отношении тест-культур плесневых грибов *Alternaria alternata*, *Fusarium spp.*, *Sclerotinia sclerotiorum* (степень ингибирования радиального роста мицелия $RI = 80\text{--}100\%$). Следует отметить, что антифунгальная активность комплексов Zn(II) ($RI = 100\%$) превышает ингибирующее действие антибиотиков нистатина и тербинафина в отношении этих плесневых грибов ($RI = 40\text{--}60\%$). Все синтезированные комплексы умеренно активны в отношении тест-культур грамположительных бактерий (*Staphylococcus saprophyticus*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Sarcina lutea*, *Mycobacterium smegmatis*, МИК = 0,013–0,054 мкмоль/см³). Исходные лиганды, липофильность которых значительно ниже по сравнению с соответствующими комплексами, обладают низкой антимикробной активностью (МИК ≥ 0,1 мкмоль/см³).

ВЫВОДЫ

1. Показано, что в среде «вода – тетрагидрофуран» образуются комплексы Cu(II) и Zn(II) с основаниями Манниха HL^I – HL^V, в которых мольное отношение M(II) : L = 1 : 2, а величины общих констант устойчивости соответствуют $\lg\beta = 13,41\text{--}14,26$.

2. Установлено, что синтезированные комплексы Cu(II) и Zn(II) являются нейтральными, рентгеноаморфными и термически устойчивыми.

3. Определены состав и геометрия координационных полизэров комплексов Cu(II) и Zn(II) с соединениями HL^I – HL^V (плоскоквадратные $[\text{CuN}_2\text{O}_2]$ и тетраэдрические $[\text{ZnN}_2\text{O}_2]$).

4. Установлена высокая антифунгальная активность комплексов Cu(II) и Zn(II) в отношении плесневых грибов *Alternaria alternata*, *Fusarium spp.*, *Sclerotinia sclerotiorum* ($RI = 80–100\%$).

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЕ ССЫЛКИ

1. Metallotherapeutic Drugs and Metal-Based Diagnostic Agents. The Use of Metals in Medicine / ed. by M. Gielen, E. R. T. Tieckink. Weinheim : Wiley-VCH, 2005.
2. *Raman N., Muthuraj V., Ravichandran S.* [et al.]. Synthesis, characterisation and electrochemical behaviour of Cu(II), Co(II), Ni(II) and Zn(II) complexes derived from acetylacetone and p-anisidine and their antimicrobial activity// Proc. Indian Acad. Sci. (Chem. Sci.). 2003. Vol. 115, № 3. P. 161–167.
3. *Ковальчук Т. В.* Синтез и свойства биоактивных меди(II), кобальта(II), никеля(II) и цинка(II) с производными пространственно экранированных дифенолов и аминофенолов : дис. ... канд. хим. наук : 02.00.01. 2007.
4. *Климова В. А.* Основные микрометоды анализа органических соединений. М. : Химия, 1975.
5. *Leo A., Hansch C., Elkins D.* Partition coefficients and their uses // Chem. Rev. 1971. Vol. 71, № 6. P. 525–616.
6. *Geary W. J.* The use of conductivity measurements in organic solvents for the characterization of coordination compounds // Coord. Chem. Rev. 1971. Vol. 7. P. 81–122.
7. *Lewandowski W.* The influence of metals on the electronic system of biologically important ligands. Spectroscopic study of benzoates, salicylates, nicotinates and isoortotates // J. Inorg. Biochem. 2005. Vol. 99. P. 1407–1423.
8. *Накамото К.* ИК-спектры и спектры КР неорганических и координационных соединений. М : Мир, 1991.
9. *Ливер Э.* Электронная спектроскопия неорганических соединений : в 2 т. М. : Мир, 1987.
10. *Hathaway B. J.* The electronic properties and stereochemistry of mono-nuclear complexes of the copper(II) ion // Coord. Chem. Rev. 1970. Vol. 5. P. 143–207.
11. *Ларин Г. М.* Низкосимметричные искажения хелатного узла в комплексах меди(II). Параметры спин-гамильтониана и поворотная изомерия // Координац. химия. 1994. Т. 20, № 12. С. 883–910.
12. *Shultz D. A.* Preparation and Characterization of a Bis-Semiquinone: a Bidentate Dianion Biradical // J. Org. Chem. 1995. Vol. 60. P. 3578–3579.

Поступила в редакцию 01.12.2014