

УДК 546.03+543.429.2

ОСОБЕННОСТИ ЛИГАНДНОГО ОБМЕНА В БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ КОМПЛЕКСАХ НА ОСНОВЕ ТРИЭТАНОЛАМИНА ПО ДАННЫМ СПЕКТРОСКОПИИ ЯМР ВЫСОКОГО РАЗРЕШЕНИЯ

Воронов В.К., Дударева О.В.

*Иркутский государственный технический университет, Иркутск, Россия**e-mail: voronov@istu.edu.ru*

Получены и проанализированы данные спектров ЯМР ^1H , ^{13}C , ^{15}N ряда металлированных алканоламмониевых ионных жидкостей в широком интервале температур исследуемых образцов. Установлено, что в биомиметических условиях исследованные соединения существуют в виде моно-, би- и трициклических структур, которые находятся в равновесии.

Ключевые слова: триэтаноламин, металлированные ионные жидкости, спектроскопия ЯМР.

PECULIARITIES OF LIGAND EXCHANGE IN BIOLOGICALLY ACTIVE COMPLEXES ON THE BASIS OF TRIETHANOLAMINE: HIGH RESOLUTION NMR STUDY

Voronov V.K., Dudarev O.V.

*Irkutsk state technical university, Irkutsk, Russia**e-mail: voronov@istu.edu.ru*

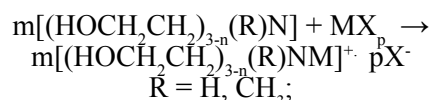
^1H , ^{13}C , and ^{15}N NMR spectra of a series of metalated alkanolammonium ionic liquids have been recorded and analyzed in a wide temperature range of the studied samples. It is found that under biomimetic conditions, the studied compounds exist as equilibrium mono-, bi- and tricyclic structures.

Keywords: metalated ionic liquids, NMR spectroscopy

Введение

Ранее реакцией биогенных (участвующих в жизнедеятельности организма) 2-гидрокси-этиламинов с биологически активными арилхалькогенилукусусными кислотами синтезированы соли $[(\text{HOCH}_2\text{CH}_2)_{3-n}(\text{R})\text{NH}]^+ \cdot [\text{OOCCH}_2\text{XAr}]^-$, где $\text{R} = \text{H}, \text{CH}_3$; $\text{X} = \text{O}, \text{S}, \text{SO}_2$; $n = 0-2$, которые могут быть отнесены к протонным алканоламмониевым ионным жидкостям (ПАИЖ). Полученные ПАИЖ обладают высокой фармакологической активностью, превосходящей активность исходных кислот и алканоламинов. Они проявляют адаптогенные, противоопухолевые, гемопозестимулирующие и иммуномодулирующие свойства, усиливают сопротивляемость животных к высотной гипоксии, гипер- и гипотермии, интоксикации, действию ультразвука и СВЧ-облучения [3].

Эссенциальные (жизненно необходимые) металлы (Ca, Mg, Co, Ni, Zn и др.) входят в состав ферментов, витаминов и обеспечивают потребности организма в необходимых микроэлементах. Замещение N^+H -протона в ПАИЖ на эссенциальные металлы может привести к существенному изменению их биологических свойств и с этой целью синтезировали ряд металлированных алканоламмониевых ионных жидкостей (МАИЖ) реакцией 2-гидроксиэтиламина с солями металлов схеме:



$\text{M} = \text{Na}, \text{Mg}, \text{Ca}, \text{Mn}, \text{Fe}, \text{Co}, \text{Ni}, \text{Cu}, \text{Zn}, \text{Rh}$;
 $\text{X} = \text{Cl}, \text{OOCCH}_3, \text{OOCCH}_2\text{XAr}$;
 $m = 1,2$; $n = 0-2$; $p = 2,3$.

Действительно, среди МАИЖ на основе триэтанолamina (MX_2 -ТЭА), предварительные фармакоогические исследования выявили соединения с выраженными иммуномодулирующими и антипролиферативными свойствами. МАИЖ - трис(2-гидроксиэтил)-амин-бис-(2-метил-феноксиацетат) цинка в полтора раза повышает активность фермента триптофанил-тРНК-синтетазы, которая обладает антиангиогенным и антиатерогенным действием [2, 4, 5].

Целью настоящей работы является изучение методом ЯМР-спектроскопии лигандного обмена и поведения МАИЖ в водных растворах, моделирующих реальные процессы в живых организмах.

Обсуждение результатов

С целью исследования строения полученных МАИЖ нами записаны и проанализированы спектры ЯМР на ядрах ^1H , ^{13}C , ^{15}N (растворитель D_2O). Совместное использование указанных ЯМР-данных позволяет наиболее адекватно отражать особенности строения исследованных нами соединений. Действительно, если спек-

тры ЯМР ^{13}C и ^{15}N несут ценную информацию об особенностях молекулярного строения углеродного скелета органических соединений и их комплексов, то сигналы от ядер водородов, которые находятся на периферии молекулы, делают спектральную ЯМР-информацию более полной. Ранее по-

добный анализ синтезированных МАИЖ не проводился, за исключением предварительного сообщения [1].

В процессе исследования мы сопоставили спектры ЯМР соединений $\text{MX}_2\text{TЭА}$ и $\text{MX}_2\text{2TЭА}$ с спектрами триэтанолмина (ТЭА) (рис. 1).

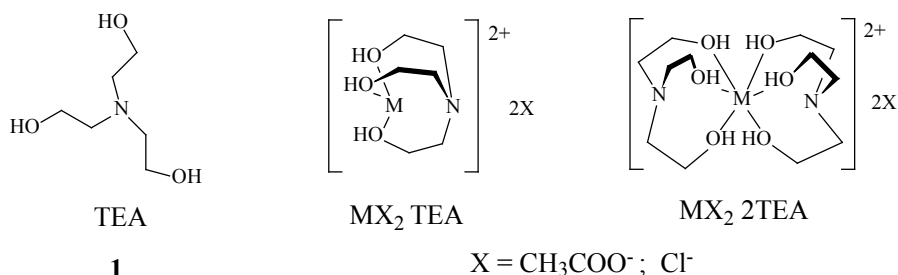


Рис. 1. Исследуемые соединения

Отнесение сигналов в спектрах ЯМР ^1H для исследованных МАИЖ однозначно. Так, в спектре ЯМР ^1H (1) представлены два триплета одинаковой интенсивности, относящиеся к сигналам протонов групп OCH_2 и NCH_2 . Слабопольный триплет отнесен к протонам OCH_2 -групп. На правильность такого вывода указывает значение прямой КССВ $^1\text{J}(\text{C},\text{H}) = 142.6$ Гц, измеренное по спутным сигналам ^{13}C . Для сильнопольного мультиплета NCH_2 -групп значение КССВ $^1\text{J}(\text{C},\text{H}) = 133.1$ Гц. Для ацетатов Zn и Cd в спектрах ЯМР ^1H присутствуют синглеты метильных групп. Наличие указанного сигнала позволяет легко установить соотношение $\text{M}(\text{ac})_2$ к ТЭА по интегральной интенсивности сигналов. Вследствие наличия в спектрах ЯМР ^1H сигнала остаточных протонов растворителя и склонности протонов OH групп к обмену, зарегистрировать индивидуальный сигнал OH групп в D_2O не удается.

В спектрах ЯМР ^{13}C характерными являются два сигнала атомов углерода групп OCH_2 и NCH_2 в диапазоне 57 – 60 м.д. Незначительная разность ХС не позволяет проводить отнесение сигналов без дополнительных экспериментов. Для этой цели использовались как значения прямой КССВ $^1\text{J}(\text{C},\text{H})$, измеренной в спектрах ЯМР ^{13}C записанных без развязки от протонов, так и анализ 2М спектров ^1H - ^{13}C HSQC в которых проявляются гетероядерные корреляции для непосредственно связанных ядер ^1H и ^{13}C .

Значения ХС атомов азота в спектрах ЯМР ^{15}N получены из 2М гетероядерных спектров ^1H - ^{15}N HMBC. Такой подход позволил работать с разбавленными растворами образцов и значительно сократить время получения данных. Импульсная после-

довательность оптимизировалась на значение дальней КССВ $\text{J}(\text{H},\text{N}) = 5$ Гц. В этом случае в 2М спектре проявляются корреляции только от протонов OCH_2 группы (через три связи), что дополнительно позволяет контролировать отнесение сигналов в спектрах ЯМР ^1H . Вся совокупность полученных нами спектральных данных собрана в таблице 1. Эти данные распадаются на две группы. Для первой группы (МАИЖ (2-4)) набор всех спектральных параметров близок к данным ЯМР для ТЭА (1). Во вторую группу попадают соединения (5-10), для которых данные ЯМР существенно отличаются. Особенно наглядно это отражено в значениях $\Delta = \delta^{13}\text{C}(\text{OCH}_2) - \delta^{13}\text{C}$

(NCH_2) (разница химических сдвигов сигналов ^{13}C от углеродов, связанных с азотом и кислородом), которые оказываются различными для двух указанных выше групп. Помимо этого, различными (примерно на 10-12 Гц) оказываются также прямые константы $^1\text{J}(\text{C},\text{H})$ метиленовой группы, связанной с атомом азота (таблица 1).

Приняв во внимание наличие в составе МАИЖ специфических групп, способных к обмену, мы предположили, что наблюдаемые особенности спектров ЯМР обусловлены строением и внутримолекулярной динамикой МАИЖ, что отражено на схеме 1. Из приведенной схемы следует, что при смещении равновесия вправо (структура I) параметры спектров ЯМР должны приближаться к таковым ТЭА, что и наблюдается для сигналов соединений Cd (2, 3) и Mg (4). В случае реализации структуры III данные ЯМР будут существенно отличаться от спектральных характеристик свободного ТЭА (Fe (8) и Rh (9, 10)).

Данные ЯМР ^1H , ^{13}C и ^{15}N МАИЖ в растворе D_2O

Соединение	δ , ^1H м.д.			δ , ^{13}C м.д. ($^1\text{J}(\text{C},\text{H})$, Гц)					δ , ^{15}N м.д.	
	NCH_2	OCH_2	CH_3	NCH_2	OCH_2	Δ	CH_3	$\text{C}=\text{O}$		
1	ТЭА	2.62	3.55	-	55.63 (133.1)	58.85 (142.6)	3.22	-	-	-351.9
2	$\text{Cd}(\text{ac})_2\text{ТЭА}$	2.78	3.69	1.82	55.07 (135.7)	57.21 (144.0)	2.14	22.67 (127.5)	181.60	-359.3
3	$\text{Cd}(\text{ac})_2\text{2ТЭА}$	2.70	3.61	1.79	55.17 (135.8)	57.31 (144.1)	2.14	22.65 (127.5)	181.62	-358.0
4	$\text{Mg}(\text{Cl})_2\text{2ТЭА}$	2.68	3.58	-	55.61 (134.7)	58.49 (143.1)	2.88	-	-	-349.9
5	$\text{Zn}(\text{ac})_2\text{ТЭА}$	3.23	3.77	1.77	55.03 (143.0)	55.34 (145.7)	0.31	22.95 (127.6)	181.57	-342.7
6	$\text{Zn}(\text{ac})_2\text{2ТЭА}$	3.20	3.73	1.73	55.82 (142.8)	55.70 (145.9)	-0.12	22.93 (127.6)	181.58	-340.1
7	$\text{Zn}(\text{Cl})_2\text{2ТЭА}$	3.16	3.76	-	55.46 (141.2)	56.11 (144.7)	0.65	-	-	-342.7
8	$\text{Fe}(\text{Cl})_3\text{2ТЭА}$	3.37	3.84	-	55.49 (143.8)	55.19 (144.5)	-0.30	-	-	-
9	$\text{Rh}(\text{Cl})_3\text{ТЭА}$	3.38	3.83	-	55.34 (144.5)	55.04 (145.3)	-0.30	-	-	-339.6
10	$\text{Rh}(\text{Cl})_3\text{2ТЭА}$	3.57	4.04	-	55.40 (144.5)	55.00 (145.0)	-0.40	-	-	-

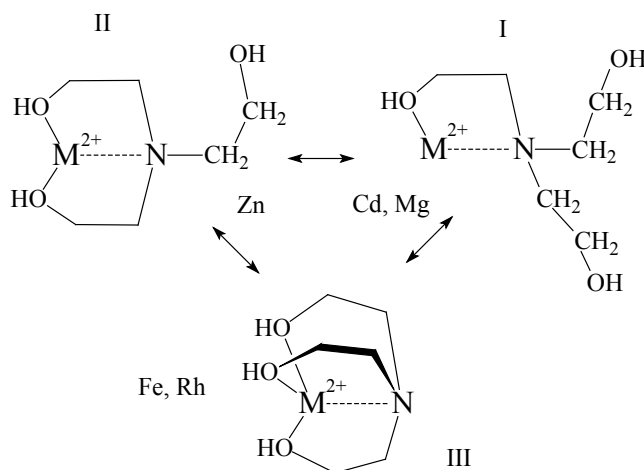
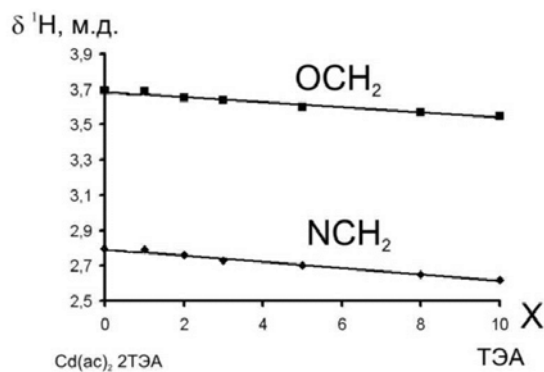


Схема 1. Возможные равновесные формы МАИЖ в растворе

Рис. 2. Зависимости ХС сигналов протонов OCH_2 и NCH_2 групп в спектре $\text{Cd}(\text{ac})_2\cdot\text{2ТЭА}$ (3) от избытка ТЭА (X, отн. ед.) в образце

С целью подтверждения предложенной схемы были проведены исследования спектров ЯМР ^1H соединений **2**, **3** и **6** в условиях варьирования концентрации ТЭА. На рис. 2 показана зависимость химических сдвигов сигналов протонов OCH_2 и NCH_2 групп в спектре ЯМР ^1H $\text{Cd}(\text{ac})_2 \cdot 2\text{TЭА}$ (**3**) от избытка ТЭА (X отн. ед.) в образце. Из данных графиков следует, что при увеличении доли свободного лиганда X от 0 до 10 резонансы OCH_2 и NCH_2 монотонно изменяются, приближаясь при X = 10 к величинам, характерным для значений химических сдвигов в спектре ЯМР ^1H ТЭА. Полученные данные характерны для случая быстрого лигандного обмена, который реализуется при данных условиях записи спектров.

В качестве резюме данной работы может быть следующий вывод. Проведен анализ спектров ЯМР на ядрах ^1H , ^{13}C , ^{15}N новых биологически активных металлованных ионных жидкостей в растворе D_2O , воспроизводящем биомиметические условия. В этих условиях МАИЖ существуют в виде моно-, би- и трициклических структур, которые находятся в равновесии. Сдвиг равновесия зависит от природы металла и отражается на изменении всех параметров в спектрах ЯМР.

Экспериментальная часть

Спектры ЯМР ^1H и ^{13}C записаны на импульсном спектрометре BrukerDPX250 при 298К в 5 мм ампулах с использованием методики, позволяющей детектировать резонансные сигналы от ядер, входящих в со-

став координационных соединений (см., например, [6]). В качестве растворителя применялась D_2O . Значения химических сдвигов в спектрах ЯМР ^1H и ^{13}C пересчитаны относительно тетраметилсилана. Химические сдвиги от сигналов ядер азота измерялись относительно сигнала нитрометана. Концентрации растворов при записи спектров ЯМР составляли: ^1H – 5%, ^{13}C – 10%, ^{15}N – 10%.

Выражаем признательность доценту Ушакову И.А. за помощь в проведении ЯМР-экспериментов.

Список литературы

1. Строение биологически активных металлованных (2-гидроксиэтил)аммониевых ионных жидкостей по данным мультіядерной спектроскопии ЯМР / В.К. Воронков, И.А. Ушаков, Д.В. Гришмановский и др. // Материалы 11-го Международного семинара по магнитному резонансу. Ростов-н-Д., 2013. С. 20.
2. Скрининг иммуноактивных свойств комплексов триэаноламина с солями биомикроэлементов / О.П. Колесникова, А.Н. Мирскова, С.Н. Адамович и др. // Бюллетень СО РАМН. 2009. Т. 140. № 6. С. 73-79.
3. 2-Гидроксиэтиламмониевые соли органилсульфонил (сульфонил)уксусных кислот – новые фармакологически активные соединения / А.Н. Мирскова, Р.Г. Мирсков, С.Н. Адамович, М.Г. Воронков // Химия в интересах устойчивого развития. 2011. Т. 15. № 5. С. 467-468.
4. Оберлис Д., Харланд Б., Скальный А. Биологическая роль макро- и микроэлементов у человека и животных. СПб.: Наука, 2008. 248 с.
5. Комплекс бис-(2-метилфеноксиацетата) цинка с трис-(2-гидроксиэтил-амином) – активатор синтеза суммарной триптофанил-тРНК-синтазы / М.М. Расулов, М.Г. Воронков, М.К. Нурбеков и др. // Доклады Академии наук. 2012. Т. 444. № 2. С. 219-224.
6. Peculiarities of intramolecular exchange and valence tautomerism in metal semiquinolates determined by high-resolution NMR spectroscopy / V.K. Voronov, I.A. Ushakov, V.V. Shmelev, D.P. Sagdeev // Magn. Reson. Chem. 2012. Vol. 50. № 3. P. 350-356.

УДК 634*0582.576.1

ДИАГНОСТИКА ЖИЗНЕННОГО СОСТОЯНИЯ ПОДРОСТА СОСНЫ КРЫЛОВА НА ГАРЯХ В ЦАСУЧЕЙСКОМ БОРУ

Пак Л. Н., Бобринев В.П.

Институт природных ресурсов, экологии и криологии СО РАН, Чита, Россия

e-mail: pak_lar@bk.ru

Оценка жизненного состояния подростка сосны Крылова (*Pinus sylvestris* subsp. *Krylovii* Serg. et Kondr.) проведена на горях в сухом Цасучейском бору на основании учета морфологических признаков: длины верхней осевой почки среднего текущего прироста, верхнего осевого побега, среднего количества ветвей в верхней мутовке, средней длины хвоинок на верхнем осевом побеге и отношения протяженности кроны к общей высоте подростка в %. На основании учета этих показателей учетный подрост разделили на три категории жизненного состояния и оценили естественное возобновление леса на горях в Цасучейском бору Забайкальского края.

Ключевые слова: Забайкальский край, Цасучейский бор, гарь, оценка возобновления леса

DIAGNOSTICS OF THE LIFE CONDITION OF THE SEEDLINGS OF PINE KRYLOV IN BURNED AREAS IN CAUCASICUM BOR

Pak L. N., Bobrinev B.N.

Institute of natural resources, ecology and Cryology of SB RAS, Chita, Russia

e-mail: pak_lar@bk.ru

Evaluation of the life condition of the seedlings of pine Krylov (*Pinus sylvestris* subsp. *Krylovii* Serg. et Kondr.) held in burned areas in dry caucasicum Bor on the account of morphological features: the length of the top axial kidney average current increment, top, axial escape, the average number of branches in the upper whorl, the average length of needles at the top of axial escape and relations length of the crown to a total height of undergrowth in %. On the basis of accounting these figures account undergrowth divided into three categories vitality and appreciated the natural regeneration of the forest on burned areas in caucasicum Bor TRANS-Baikal region.

Keywords: TRANS-Baikal territory, Caucasi Bor, cinder, assessment of forest renewal

Введение

Цасучейский бор представляет собой уникальный изолированный реликтовый сосновый массив леса естественно-го происхождения, расположенный в сухойстойной зоне на правом берегу реки Онон [1]. Общая протяженность бора с запада на восток более 60 км, ширина бора от 10 до 20 км. Общая площадь бора по данным на 01.01.2011 г. составляет 96,7 тыс. га.

Этот лесной массив выполняет средозащитные, рекреационные и другие важнейшие функции Ононского района Забайкальского края. Из-за сухого климата и участвовавших крупных лесных пожаров (в конце апреля 2012 года здесь сгорело 36 тыс. га) качество бора существенно ухудшилось – растет число не возобновившихся гарей, почвы подвергаются эрозии.

Для изучения актуальной проблемы восстановления Цасучейского бора были проведены исследования, направленные на оценку качества подростка. В Цасучейском бору вопрос о диагностике жизненного состояния качества подростка ранее не изучался, поэтому качество подростка сейчас при оценке возобновления леса определяется субъективно каждым лесоводом, проводящим учет.

В литературе для оценки качества подростка предложены разные показатели [2-5].

Объекты и методы исследований

Исследования проводились в сухостепной зоне Забайкальского края в сосновых насаждениях сосны Крылова (*Pinus sylvestris* subsp. *Krylovii* Serg. et Kondr.) Цасучейского бора. Район исследований характеризуется резко континентальным климатом с малым количеством осадков 260-310 мм, большой сухостью воздуха весной (22-25%), холодной продолжительной зимой (январь минус 38-40°C), коротким, жарким летом (июль +30-35°C) и большим перепадом температур как в течение суток (1-30°C), так и в течение года от +35 до минус 40°C.

Пробные площади закладывали в наиболее распространенных типах леса сосны Крылова в лишайниково-злаковом, спирейно-степном, сухо-кустарниковом, разнотравно-остепененном и сосняке с осинной в плоских понижениях (западинах) спустя 5, 10 лет после пожаров. Пробные площади закладывали в четырех повторностях, по 0,5 га каждая.

Учет подростка проводили по трем группам крупности: мелкий (высотой