

УДК 541.49:546.71.712:543.422.25

Е.К.Трунова, А.В.Шовковая, М.Ю.Русакова, А.О.Гудима, Б.Н.Галкин

КОМПЛЕКСООБРАЗУЮЩАЯ СПОСОБНОСТЬ И БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ ФОСФОНОМЕТИЛАМИНОЯНТАРНОЙ КИСЛОТЫ

Исследованы комплексы фосфометиламиноянтарной кислоты (phmas) с 3d-металлами (Co^{2+} , Ni^{2+} , Cu^{2+}) в водных растворах при соотношениях $\text{M}^{2+} : \text{phmas} = 1:1; 1:2; 2:1$ в широком диапазоне pH (1—10). Независимо от природы металла показано образование комплексов общего состава $\text{M}_k(\text{H}_n\text{phmas})_m(\text{OH})_q$ ($k = 1; 2; n = 3-0; m = 1, 2; q = 0-1$), в которых реализуется квазиоктаэдрическое строение. Для комплексов Co при $\text{pH} > 8$ происходит перестройка координационного полиэдра октаэдр \rightarrow тетраэдр. Рассчитаны константы устойчивости образующихся разнопротонированных комплексов и построены диаграммы их распределения. Близкий порядок изменения в значениях $\lg K_{\text{уст}}$ комплексов свидетельствует об однотипном строении их внутренней координационной сферы. Изучена биологическая активность phmas по отношению к непатогенным бактериальным видам микроорганизмов *Pseudomonas fluorescens* и *Pseudomonas aureofaciens*. Результаты исследования показали стимулирующее воздействие phmas на рост грамположительных бактерий.

ВВЕДЕНИЕ. Одной из важнейших задач современной координационной химии является разработка и создание новых веществ, имеющих полезные свойства. С этой точки зрения перспективными являются координационные соединения с комплексонами — многоосновными хелатирующими органическими кислотами. Изучение таких соединений проводится в нескольких направлениях: с одной стороны, исследование их способности связывать ионы жизненно важных металлов, с другой — определение их биологической активности и выяснение возможности применения самих комплексонов и их соединений, например, в медицине [1—6]. Полидентатный характер лигандов-комплексонов позволяет синтезировать новые соединения с рядом уникальных свойств, а также открывает перспективы для получения большого количества высокоустойчивых комплексов, разнообразных как по составу, так и по форме циклических структур [7—10].

В последнее время акцентируется внимание на модифицировании молекул комплексонов с целью создания широкого набора лигандов, обладающих большим диапазоном комплексообразующих свойств. В этом смысле синтез новых комплексонов идет по двум направлениям: увеличение дентатности лигандов за счет введения в молекулу дополнительных донорных групп, содержащих гетероатомы (азот, фосфор, сера), а также за счет замены традиционных карбоксильных групп на фосфоновые, что приводит к

повышению кислотности комплексонов, и увеличению потенциальной дентатности лигандов. Объединение в одной молекуле различных по химической природе функциональных групп (карбоксильных, фосфоновых и аминогрупп) позволяет получить новые координационные соединения, в которых проявляется возможность образования нескольких пяти- и шестичленных хелатных циклов с центральным атомом, что приводит к повышению устойчивости получаемых комплексов вплоть до реализации максимальной координационной емкости катиона.

В работе [11] описан синтез нового аминокарбоксифосфонового комплексона фосфометиламиноянтарной кислоты (H_4phmas , H_4L), который содержит в своем составе фрагменты аспарагиновой и аминометилфосфоновой кислот. Методом pH-потенциометрического титрования исследованы кислотные свойства комплексона и его эквивалентные комплексы с некоторыми 3d-металлами. Цель настоящей работы — установление закономерностей комплексообразования биологически активных 3d-металлов (Co^{2+} , Ni^{2+} , Cu^{2+}) с фосфометиламиноянтарной кислотой в растворе в зависимости от концентрации металла, pH среды и соотношения компонентов.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ. Была использована фосфометиламиноянтарная кислота, синтезированная по методике [11]. Для синтеза комплексов использовали неорганические

соли нитратов или сульфатов соответствующих 3d-металлов марки ч.д.а. Исследование комплексообразования rhmas с 3d-металлами проводили в водных растворах методом электронной спектроскопии при соотношении металл : лиганд = 1:1, 1:1, 2:1 и $C_{M(II)} = 1 \cdot 10^{-3}, 1 \cdot 10^{-2}, 1 \cdot 10^{-1}$ моль/л. Конформационные состояния rhmas изучали методом ЯМР на ядрах ^{13}C и ^{31}P в зависимости от pH растворов.

Электронные спектры поглощения записывали на спектрофотометре Specord M-40 в области 30000—11000 см^{-1} . Величину pH контролировали с помощью pH-метра pH-150 МА. Спектры ЯМР ^{13}C и ^{31}P записывали на спектрометре Avance 400 фирмы Bruker.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ. Комплексообразующая способность лиганда зависит от особенности строения его конформеров в растворе. Поэтому для определения наиболее реакционноспособной формы H_4rhmas был проведен конформационный анализ строения анионов лиганда в растворе методом ЯМР на ядрах ^{13}C и ^{31}P в зависимости от pH среды (рис. 1). Молекула H_4rhmas содержит 5 неэквивалентных атомов углерода: в сильных полях расположены сигналы метиленовых атомов углерода $-\text{CH}_2$ при разных функциональных группах лиганда. Сигнал 1 (~33 м.д.) отвечает $-\text{CH}_2$ -группе при α -карбоксовой группе, сигнал 2 (~40 м.д.) относится к $\text{N}-\text{CH}_2-\text{P}$ -группировке. Сигнал метиленового углерода $-\text{CH}_2$ (3) фиксируется при ~59 м.д. В слабом поле (171—173 м.д.) расположены 2 сигнала атомов углерода неравноценных карбоксильных групп: (ацетатная $\beta-\text{CH}_2\text{COOH}$ (4) и $\alpha-\text{COOH}$ (5) соответственно).

Поскольку комплексон в растворе существует в виде цвиттер-иона, что характерно для соединений подобного класса [1], за счет лабильных протонов на PO_3H_2 -группе и COOH возможно образование внутримолекулярных водородных связей между аминогруппой H_4rhmas и приведенными выше группами, которые пространственно приближены к NH . Как видно из рис. 1, а, б при увеличении pH раствора сигналы ^{13}C всех групп кислоты смещены в слабое поле, что обусловлено уменьшением поляризации связи $\text{C}-\text{O}$ и $\text{C}-\text{N}$ за счет увеличения отрицательного заряда на атоме кислорода и положительного заряда на атоме углерода при отщеплении протона. Поэтому смещение сиг-

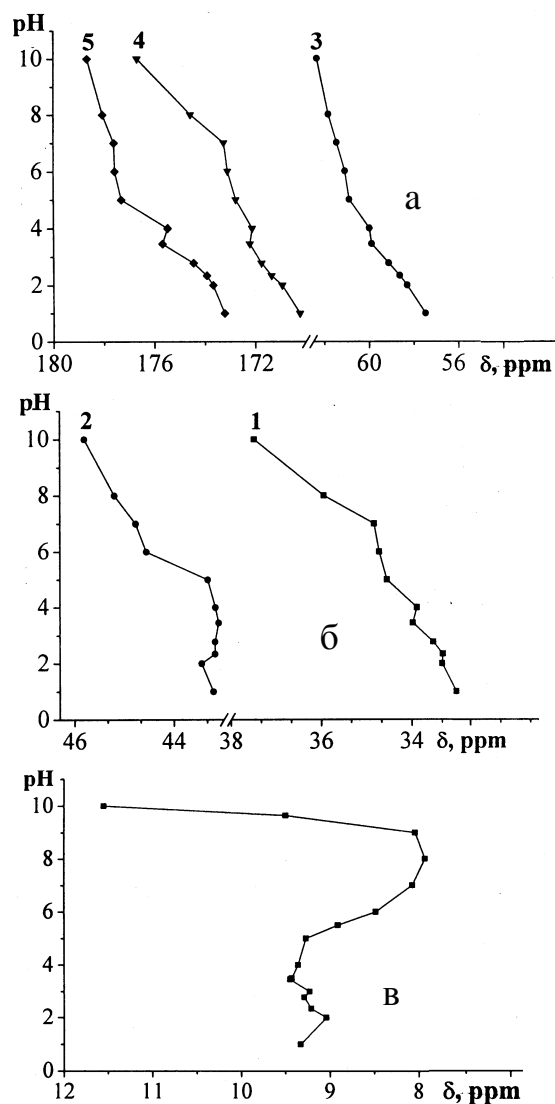
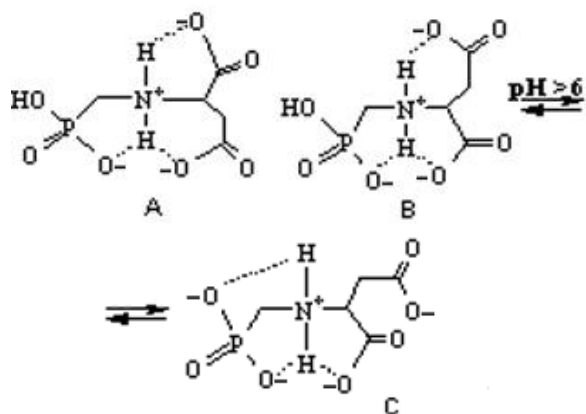


Рис. 1. Зависимость сдвигов сигналов ЯМР ^{13}C (а, б) и ЯМР ^{31}P (в) от pH для H_4rhmas .

налов 2 ($\text{CH}-$) и 3 (CH_2-), расположенных рядом с атомом азота, в слабopольную область можно рассматривать как результат дезэкранирования связи $\text{C}-\text{N}$ при депротонировании карбоксильных групп. При этом происходит фиксирование лабильного карбоксильного протона на аминогруппе вследствие образования водородной связи.

Поэтому в кислых средах возможно существование двух конформеров А и В с равной вероятностью. В них бетаиновый атом азота формирует два 5-членных цикла (глициновый и аминоксифосфоновый) и один 6-членный β -аланино-

вый, которые отличаются различным пространственным расположением циклов относительно друг друга. В этом случае ион металла очень легко может заместить один или два атома водорода с образованием дипротонированного комплекса.



Химический сдвиг атомов ^{31}P (рис. 1, в) при низких значениях pH очень незначителен, что может быть связано с экранированием фосфоновой группы за счет образования аниона на карбоксилатных группах. При повышении pH (>6) сигнал атомов ^{31}P испытывает значительный сдвиг в область слабых полей за счет депротонирования бетаинового атома азота и сильного дезэкранирующего эффекта. Аналогичные эффекты (при pH 4.5 и 6.2) наблюдаются и в ходе ступенчатого депротонирования карбоксильных групп (рис. 1, б). Кроме того, в этих же областях pH значительный сдвиг претерпевают и сигналы $-\text{CH}_2$ и $-\text{CH}$ -групп, что указывает на преобладание в растворах конформера С, который соответствует монопротонированному аниону Hphmas^{3-} .

Таким образом, в зависимости от pH раствора анионы $\text{H}_2\text{phmas}^{2-}$ и Hphmas^{3-} имеют свернутые конформации, в которых реализуются внутримолекулярные циклы за счет протонов карбоксильных и фосфоновой групп и при комплексообразовании ион металла будет вытеснять протон с минимальным изменением структуры конформера

Для успешного проведения синтеза комплексов металлов с фосфометиламинояктарной кислотой необходимо было определить условия, в которых эти комплексы образуются, определить состав хелатов, оценить их устойчивость, установить области существования комп-

лексов, их состав и строение.

На рис. 2 приведены ЭСП эквимольных систем $\text{M}^{2+}-\text{H}_4\text{phmas}$ ($\text{M} = \text{Cu}^{2+}, \text{Co}^{2+}, \text{Ni}^{2+}$) при pH 3.0 и 8.0, в которых наблюдаются основные максимумы поглощения, характерные для $d-d$ -переходов ионов $3d$ -металлов в октаэдрическом окружении. Так, в ЭСП комплексов Ni^{2+} с H_4phmas максимум 25840 см^{-1} относится к ${}^3\text{A}_{2g} \rightarrow {}^3\text{T}_{1g}$ -переходу, а максимум 15240 см^{-1} характерен для перехода ${}^3\text{A}_{2g} \rightarrow {}^3\text{T}_{2g}$ (рис. 2, кривая 1). При увеличении pH происходит расщепление этой полосы на термы ${}^3\text{A}_{2g} \rightarrow {}^3\text{T}_{1g}$ ($\nu_{\text{max}} = 15400 \text{ см}^{-1}$) и ${}^3\text{A}_{2g} \rightarrow {}^1\text{E}_g$ ($\nu_{\text{max}} = 13720 \text{ см}^{-1}$) (рис. 2, кривая 2), что обусловлено близостью энергий уровней ${}^1\text{E}_g$ и ${}^3\text{T}_{1g}$.

В ЭСП системы $\text{Co}^{2+}-\text{H}_4\text{phmas}$ (рис. 2, кривая 3) $\nu_{\text{max}} = 19560 \text{ см}^{-1}$ соответствует ${}^4\text{T}_{1g}(\text{F}) \rightarrow {}^4\text{T}_{1g}(\text{P})$ -переходу, а при $\text{pH} > 8$ (рис. 2, кривая 4) максимум поглощения в области $15600-16800 \text{ см}^{-1}$ соответствует переходу ${}^4\text{A}_{2g}(\text{F}) \rightarrow {}^4\text{T}_{1g}(\text{P})$, что характерно для Co^{2+} в тетраэдрическом окружении. Таким образом, в данной системе происходит перестройка координационного полиэдра октаэдр \rightarrow тетраэдр (см. схему далее).

Для системы $\text{Cu}^{2+}-\text{H}_4\text{phmas}$ (рис. 2, кривая 5) максимум в области $14200-12200 \text{ см}^{-1}$ соответствует ${}^2\text{E}_g \rightarrow {}^2\text{T}_g$ -переходу, который за счет эффекта Яна-Геллера расщепляется: ${}^2\text{E}_g \rightarrow {}^2\text{B}_{1g} + {}^2\text{A}_{1g}$, что приводит к тетрагональному искажению октаэдрической структуры и появлению

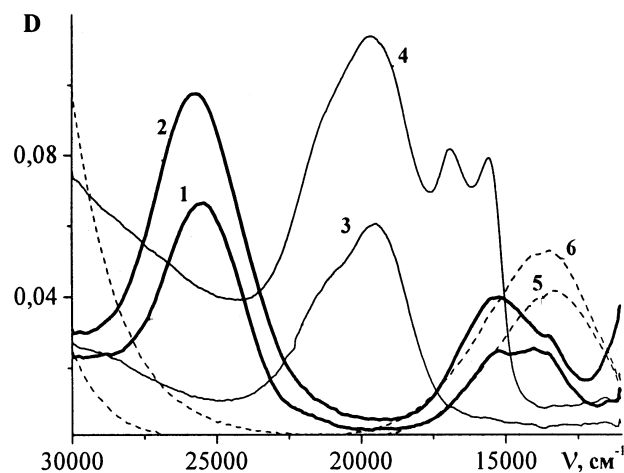
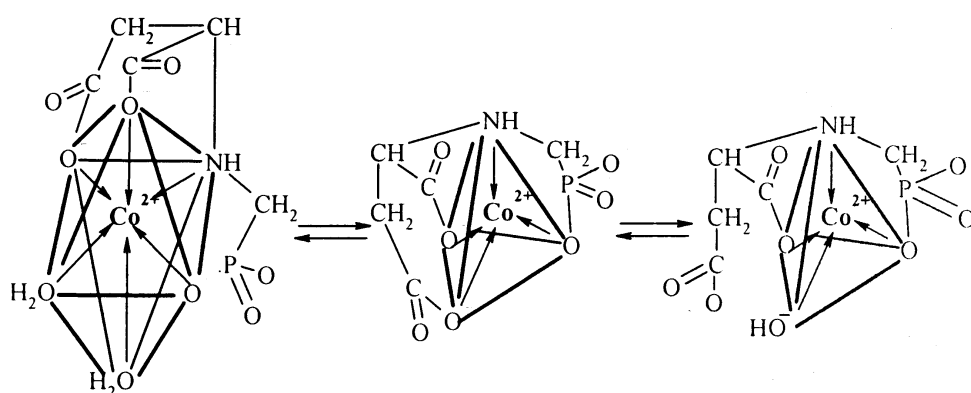


Рис. 2. ЭСП систем $\text{M}^{2+} : \text{H}_4\text{phmas}$ (1:1): 1,2 — $\text{M}^{2+} = \text{Ni}^{2+}$, pH 3.0 и 8.0, $C_{\text{Ni(II)}} = 10^{-2} \text{ М}$; 3,4 — $\text{M}^{2+} = \text{Co}^{2+}$, pH 3.0 и 8.5, $C_{\text{Co(II)}} = 10^{-2} \text{ М}$; 5,6 — $\text{M}^{2+} = \text{Cu}^{2+}$, pH 3.0 и 8.0, $C_{\text{Cu(II)}} = 10^{-3} \text{ М}$.



Т а б л и ц а 1
Расчет строения экваториальной плоскости комплексов для системы Cu^{2+} — H_4phmas

Экваториальные донорные группы	Комплекс	$\lambda_{\text{max}}, \text{см}^{-1}$		$\Delta\lambda/2$
		расчитано	найденно	
$\text{PO}, 3\text{H}_2\text{O}$	CuH_3L	782	818	18.0
$\text{CO}, \text{PO}, 2\text{H}_2\text{O}$	CuH_2L	749	788	19.5
$\text{CO}, \text{PO}, \text{NH}, \text{H}_2\text{O}$	CuL	672	742	35.0
$2\text{CO}, \text{NH}, \text{H}_2\text{O}$		689		26.5
$\text{CO}, \text{PO}, \text{NH}, \text{OH}$	$\text{CuL}(\text{OH})$	632	717	41.5

в спектрах при $\text{pH} \approx 8$ небольшого плеча (рис. 2, кривая б).

Аналогичные полосы в ЭСП наблюдаются и в системах $\text{M}^{2+} : \text{H}_4\text{phmas} = 2:1$ и $1:2$. Однако ν_{max} в системах с избытком металла или лиганда смещены в длинноволновую область относительно соответствующих максимумов поглощения в эквимольных системах, что обусловлено образованием бигомоядерных или бис-комплексов соответственно.

По данным электронной спектроскопии определено предполагаемое ближайшее окружение ц.а. в экваториальной плоскости комплексов фосфометиламиносукцинатов меди (табл. 1), при этом учитывалось влияние донорных атомов в аксиальных положениях полиэдра, которые приводят к смещению максимума поглощения в длинноволновую область [12, 13].

Исходя из данных табл. 1, для эквимольных комплексов меди экваториальную плоскость октаэдра составляют в кислой среде ато-

мы кислорода карбоксильной и фосфононовой групп, а при увеличении pH в координации участвует и атом азота аминогруппы. Аналогичное строение координационного узла можно предположить и для других $3d$ -металлов.

Таким образом, практически для всех

исследуемых систем в комплексах реализуется октаэдрическая структура и только в системе $\text{Co}(\text{II})$ — H_4phmas при увеличении pH растворов ($\text{pH} > 8$) происходит перестройка координационного полиэдра октаэдр—тетраэдр, чего не наблюдается для комплексов других $3d$ -металлов. Это обусловлено тем, что по мере насыщения координационной сферы ц.а. $\text{Co}(\text{II})$ донорными атомами лиганда происходит энергетически выгодная структурная перестройка строения комплекса [14].

Для количественной оценки комплексообразования была проведена обработка экспериментальных данных с помощью математической программы CLINP 2.1 [15], которая позволяет определить состав, константы устойчивости и области существования разнопротонированных комплексов. Значения $\lg K_{\text{уст}}$ образующихся комплексов $3d$ -металлов с H_4phmas приведены в табл. 2. Из нее видно, что $3d$ -металлы образуют с фосфометиламиноянтарной кислотой устойчивые комплексоны разного протонного состава: от высокопротонированных до нормальных. При этом практически для всех исследуемых комплексных форм, независимо от концентрации и соотношения компонентов, наблюдается постепенное увеличение устойчивости комплексов при их последовательной депротонизации.

Близкий порядок изменения в значениях $\lg K_{\text{уст}}$ комплексов свидетельствует об однотипном строении их внутренней координационной сферы и одинаковых структурных перестройках при переходе от более протонированных к менее протонированным формам. Различия в константах устойчивости комплексов разной степени протонирования связаны с координацией раз-

Т а б л и ц а 2

Значения констант устойчивости и области существования комплексов 3d-металлов с фосфонометиламиноянтранной кислотой

Форма комплекса	Co ²⁺		Ni ²⁺		Cu ²⁺	
	lgK _{уст}	pH	lgK _{уст}	pH	lgK _{уст}	pH
MN ₃ L	2.85	0.5–3.5	2.16	0.5–4.0	3.15	0.5–3.5
MN ₂ L	7.38	0.5–6.5	7.13	0.5–6.0	10.57	0.5–4.0
MNL	12.47	2.0–10.0	11.97	1.5–10.0	16.67	0.5–6.5
ML	17.67	7.0–10.0	18.81	5.0–10.0	21.60	3.0–10.0
M(OH)L	17.45	>7.5	—	>8.0	22.12	>6.5
M(H ₃ L) ₂	—	—	—	—	6.34	0.5–3.5
M(H ₂ L) ₂	12.15	0.5–5.0	11.60	0.5–5.5	14.56	0.5–4.0
M(HL) ₂	17.61	3.0–8.5	17.07	1.0–7.5	20.24	2.0–8.0
M(L) ₂	24.76	5.0–10.0	22.04	3.5–10.0	32.80	3.5–10.0
M ₂ H ₃ L	1.23	0.5–3.5	—	—	3.58	0.5–2.5
M ₂ H ₂ L	8.41	0.5–6.5	8.97	0.7–6.5	8.17	0.5–6.5
M ₂ NL	10.92	1.5–8.0	10.61	1.2–8.0	13.29	1.9–7.8
M ₂ L	16.06	4.0–10.0	16.65	3.0–10.0	22.46	6.5–10.0

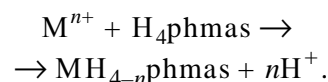
ного числа функциональных групп лиганда. Меньшая устойчивость три- и дипротонированных комплексов обусловлена координацией только кислотных групп H₄phmas (карбокислых и/или фосфоновых) без изменения основности атома азота. Повышение устойчивости комплексов при образовании моно- и депротонированных форм связано с координацией центральными атомами аминогруппы H₄phmas.

Устойчивость в растворе депротонированных комплексов для всех исследованных металлов всегда выше, чем в случае протонированных комплексов для одного и того же катиона. То есть происходит повышение эффективной дентатности лиганда по мере уменьшения степени протонирования комплексона. При этом для всех исследуемых металлов сохраняется координационное число 6. Максимальная устойчивость наблюдается для комплексонатов меди независимо от заряда комплексного аниона. Очевидно, что по мере формирования 3d-оболочки происходит усиление связей металл–лиганд и, в первую очередь, M–N, а у ионов меди за счет эффекта Яна–Теллера происходит сильное искривление октаэдрической структуры и реализуется возможность более эффективной коорди-

нации иона меди функциональными группами комплексона, особенно амино-группы — вследствие большого сродства меди к атому азота.

По значениям констант устойчивости (табл. 2) были рассчитаны диаграммы распределения комплексных форм, образующихся в системах M(II)—H₄phmas в зависимости от pH. В качестве примера на рис. 3 приведены диаграммы распределения комплексных форм в системе Ni²⁺—H₄phmas.

Анализ экспериментальных данных показал, что для всех изученных систем комплексообразование металлов с H₄phmas начинается уже в сильнокислой области:



В этих условиях образуются в основном комплексы, содержащие лиганд в три- и дипротонированной форме. При дальнейшем увеличении pH про-

исходит образование менее протонированных комплексов не из аква-иона металла, а при диссоциации более протонированных форм:



где $n = 2$; $m = 1, 2$; $p = n + m$.

В растворах с равным pH при повышении концентрации лиганда образуются менее протонированные формы комплексов или комплексы с большим числом лигандов во внутренней координационной сфере. Следует отметить, что для всех фосфонометиламиносукцинатов 3d-металлов доминирующей формой являются комплексы с монопротонированным лигандом, что подтверждает вывод о наиболее реакционной способности данного аниона кислоты. При этом для всех 3d-металлов эти комплексы образуются в одинаковом диапазоне pH (3–8). При увеличении pH (>7) доминируют депротонированные комплексы. В щелочных растворах (pH > 8) накапливаются гидроксокомплексы ML(OH).

Таким образом, процессы комплексообразования во всех случаях протекают по аналогичной схеме с образованием дипротонированных, монопротонированных и, наконец, средних комплексов в зависимости от области pH, в которой

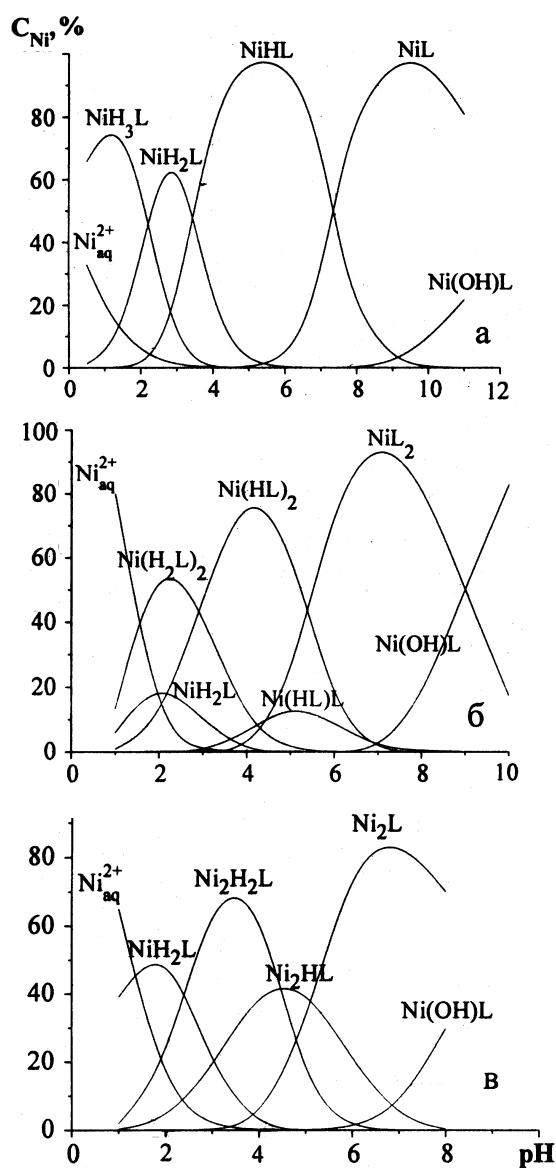


Рис. 3. Диаграмма распределения комплексных форм в системе Ni(II) : H₄phmas = 1:1 (а), 1:2 (б), 2:1 (в). C_{Ni(II)} = 10⁻³ моль/л.

ведется процесс. Схема комплексообразования 3d-металлов с фосфометиламиноянтарной кислотой приведена на рис. 4.

Известно, что аминокарбоксифосфоновые комплексоны являются биологически активными соединениями и играют важную роль в процессах жизнедеятельности живых организмов [6, 16]. Например, фосфометилглицин (более известный как глипосат или Раундап) — герби-

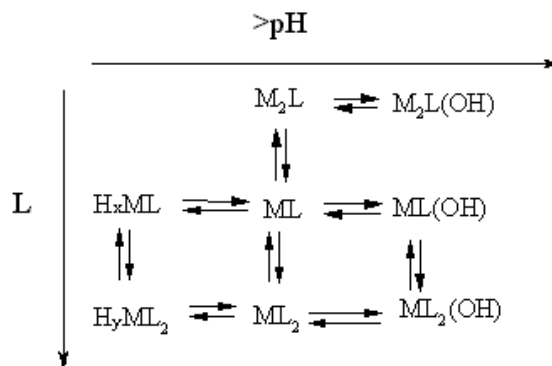


Рис. 4. Схема комплексообразования 3d-металлов с H₄phmas.

цид, который широко используется в агрономии, вследствие низкой фитотоксичности и быстрого биоразложения [2, 17]. Поскольку фосфометиламиноянтарная кислота — структурный аналог фосфометилглицина, представляло интерес изучение ее биологической активности.

Изучение биологической активности H₄phmas было проведено по отношению к таким микроорганизмам, как непатогенные бактериальные виды *Pseudomonas fluorescens* и *Pseudomonas aureofaciens*. Исследование данных видов вызывает большой интерес в связи с широким набором полезных для растений свойств. Вещества, обладающие способностью стимулировать подобные микроорганизмы, в свою очередь, становятся потенциальными объектами для разработки биопрепаратов для агробиотехнологии. Изучение биоактивности H₄phmas проводили в жидкой среде Гисса спустя 24, 48 и 72 ч после начала культивирования клеток в присутствии исследуемого вещества (рис. 5). Культуры микроорганизмов выращивали на скошенном питательном агаре в течение суток, затем с помощью стерильного физиологического раствора производили смыв клеточной биомассы. Рабочие суспензии бактерий содержали по 1·10⁶ клеток/мл. В предварительно простерилизованную среду Гисса, содержащую физиологический раствор или раствор H₄phmas, вносили по 0.02 мл рабочих суспензий бактерий. Результаты учитывали фотометрическим методом при длине волны 540 нм против среды Гисса.

Добавление фосфометиламиноянтарной кислоты к бактериальным культурам привело к стимуляции роста микроорганизмов. Учет ре-

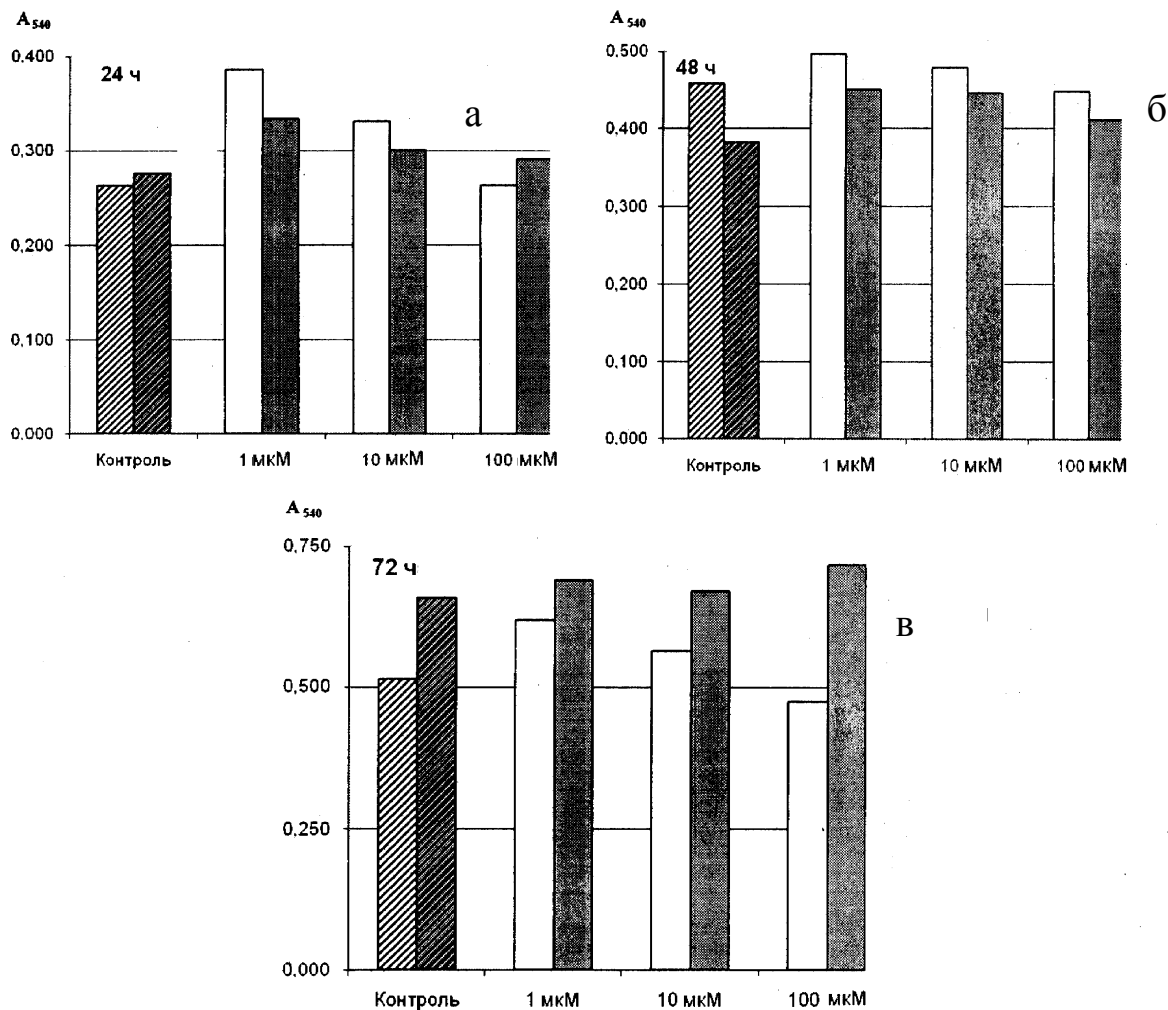


Рис. 5. Влияние H_4phmas на рост микроорганизмов в течение 24–72 ч (контроль — микроорганизмы, культивируемые без добавления исследуемого вещества).

зультатов осуществляли с помощью коэффициента прироста биомассы бактерий спустя 24 ч после начала культивирования по сравнению с контролем:

коэффициент прироста = $A_{phmas}/A_{контроль}$, отн. ед.,

где A_{phmas} и $A_{контроль}$ — значения оптической плотности бактериальной суспензии в присутствии исследуемого H_4phmas и без него.

Наиболее выраженным данный эффект оказался для 1 μM H_4phmas , оказывавшем воздействие на *Pseudomonas fluorescens*. Прирост клеток составил от 10 до 50 % по сравнению с контролем. При этом максимальная стимуляция размножения наблюдалась в течение первых суток

Т а б л и ц а 3

Прирост микроорганизмов в присутствии H_4phmas (24 ч культивирования)

$[H_4phmas]$, μM	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	<i>Pseudomonas aureofaciens</i>
0	1.00	1.00
1	1.28	1.55
10	1.10	1.45
100	1.04	1.19

культивирования (рис. 5, а, табл. 3). Через 48 и 72 ч (рис. 5, б, в) количество клеток в суспензии уже не превышало контрольное значение, сни-

жившись на 30—45 % по сравнению с предыдущим сроком. С увеличением концентрации фосфонометиламиносукцината было зафиксировано постепенное снижение стимулирующего воздействия. При добавлении 100 мкМ H_4rmas оптическая плотность клеточной суспензии оставалась на уровне контроля на всех этапах культивирования.

Из данных табл. 3 видно, что стимуляция одного из видов непатогенных псевдомонад носила более выраженный характер. Так, максимальный коэффициент прироста наблюдался в случае *Pseudomonas aureofaciens* и составил 1.55 в присутствии 1 мкМ вещества. С увеличением же концентрации комплексона происходило постепенное снижение данного значения до 1.19 (для 100 мкМ). Для микроорганизмов *Pseudomonas fluorescens* стимулирующее действие H_4rmas было менее выраженным. Максимальное увеличение прироста для 1 мкМ комплексона составило только 20 % по сравнению с контролем на вторые сутки культивирования. Что касается 100 мкМ H_4rmas , то стимуляция развития *Pseudomonas aureofaciens* с течением времени незначительно нарастала. В целом все исследуемые концентрации оказывали одинаковое влияние на данную культуру, осуществляя 10—20 %-е увеличение оптической плотности суспензии клеток.

Поскольку фосфонометиламиноянтарная кислота относится к соединениям полиаминокарбонного ряда, являясь также структурным “родственником” аспарагиновой кислоты, было проведено сравнение стимулирующих эффектов данного производного по отношению к *Pseudomonas aureofaciens* по сравнению с EDTA и аспарагиновой кислотой (Asp) (рис. 6).

В эксперименте было установлено, что 1 мкМ EDTA вызвал 20 %-е увеличение оптической плотности суспензии клеток. В присутствии 10 и 100 мкМ H_4rmas значение прироста биомассы *Pseudomonas aureofaciens* не превышало 10 % по сравнению с контролем (рост бактерий без добавления исследуемых веществ). В отличие от EDTA ни одна из исследуемых концентраций аспарагиновой кислоты не вызвала существенных изменений в развитии культуры. При этом фосфонометиламиноянтарат способствовал значительному увеличению биомассы микроорга-

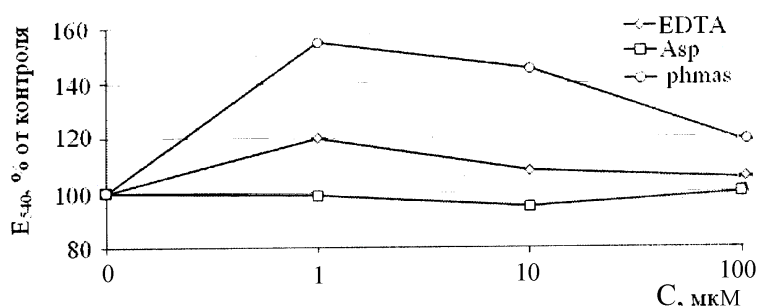


Рис. 6. Влияние H_4rmas на рост *Pseudomonas aureofaciens* в течение 24 ч по сравнению с EDTA и аспарагиновой кислотой.

низмов. Наибольшее значение, характерное для концентрации H_4rmas 1 мкМ, составило более 50 % по сравнению с контролем. С увеличением концентрации H_4rmas уровень оптической плотности постепенно снижался, но и в присутствии 100 мкМ количество бактериальных клеток было на 20 % выше, чем в контроле.

Таким образом, фосфонометиламиноянтарная кислота оказывает стимулирующее воздействие на рост грамположительных бактерий. Наибольший прирост микроорганизмов был зафиксирован в присутствии 1 мкМ H_4rmas и составил по сравнению с контролем для *Pseudomonas aureofaciens* 50 %, для *Pseudomonas fluorescens* — 20 %. Максимальное воздействие комплексона наблюдалось уже спустя 24 ч после начала культивирования микроорганизмов, постепенно снижаясь на третьи сутки.

РЕЗЮМЕ. Досліджено комплекси фосфонометил-аміноянтарної кислоти ($rmas$) з 3d-металами (Co^{2+} , Ni^{2+} , Cu^{2+}) у водних розчинах при співвідношеннях $M^{2+}:rmas = 1:1, 1:2, 2:1$ у широкому діапазоні рН (1—10). Незалежно від природи метала показано утворення комплексів загального складу $M_k(H_n rmas)_m(OH)_q$ ($k = 1, 2, n = 3-0, m = 1, 2, q = 0-1$), в яких реалізується квазіоктаедрична будова. Для комплексів Co при $pH > 8$ відбувається перебудова координаційного поліедру октаедр \rightarrow тетраедр. Розраховано константи стійкості різнопротонованих комплексів, що утворюються, і побудовано діаграми розподілу комплексних форм. Близький порядок зміни в значеннях $lgK_{ст}$ комплексів свідчать про однотипну будову їх внутрішньої координаційної сфери. Вивчено біологічну активність $rmas$ по відношенню до непатогенних бактеріальних видів мікроорганізмів *Pseudomonas fluorescens* і *Pseudomonas aureofaciens*. Результати дослідження показали стимулюючий вплив $rmas$ на ріст грампозитивних бактерій.

SUMMARY. The complexation of phosphonome-thylaminosuccinic acid (phmas) with 3d-metals (Co^{2+} , Ni^{2+} , Cu^{2+}) in aqueous solutions at ratios $\text{M}^{2+}:\text{phmas} = 1:1, 1:2, 2:1$ over a wide pH range (1–10) was investigated. Regardless of the nature of metal has been shown formation of the complexes with general composition $\text{M}_k(\text{H}_n\text{phmas})_m(\text{OH})_q$ ($k=1, 2, n=3-0, m=1, 2, q=0-1$) with the quasi-octahedral structure. There is a reorganization of the coordination polyhedron octahedron \rightarrow tetrahedron for complexes of Co at $\text{pH}>8$. The stability constants of complexes with different proton composition has been calculated and their distribution diagrams are presented. A similar order of magnitude change in the values of $\lg K_{\text{st}}$ complexes indicates the same type of internal structure of their coordination sphere. The biological activity of phmas with against non-pathogenic bacterial species *Pseudomonas fluorescens* and *Pseudomonas aureofaciens* was studied. The results of this investigation showed a stimulating effect of phmas on the growth grampositive bacteria.

ЛИТЕРАТУРА

1. Дятлова Н.М., Темкина В.Я., Попов К.И. Комплексоны и комплексолаты. -М.: Химия, 1988.
2. Biogeochemistry of Chelating Agents / Eds. by B.Nowack, J.M.VanBriesen. -ACS Symposium Series, Washington, DC, 2005. -P. 458.
3. Герасимчук А.И., Трунова Е.К., Мазуренко Е.А., Макотрик Т.А. // Укр. хим. журн. -2008. -74, -№ 9. -С. 22—27.
4. Matys S.V., Laurinavichius K.S., Krupyanko V.I., Ne-meyanova M.A. // Proc. Biochem. -2001. -36. -№ 8–9. -P. 821—827.
5. Шадчина Т.М., Прядкина Г.О., Трунова О.К. // Физиология и биохимия культ. растений. -2008. -40. -№ 5. -С. 435—440.
6. Kiss T., Lazar I., Kafarski P. // Met. Based Drugs. -1994. -1, № 2–3. -P. 247—264.
7. Nowack B. // Phosphorus in environmental Technology: Principles and Application. -London: IWA Publ., 2004. -P. 147—173.
8. Nowack B. // Water Reseach. -2003. -37, № 11. -P. 2533—2546.
9. Аль Ансари С.В., Аксенова Н.В., Попова Т.В. // Журн. координац. химии. -2001. -27, № 3. -С. 190—192.
10. Matczak-Jon E., Videnova-Adrabciska V. // Coord. Chem. Rev. -2005. -249, № 21—22. -P. 2458—2488.
11. Шовкова Г.В., Трунова О.К., Гудима А.О. // Укр. хим. журн. -2010. -76, № 8. -С. 79—85.
12. Billo E.J. // Inorg. Nucl. Chem. Lett. -1974. -10, № 8. -P. 613—617.
13. Prenesti E., Daniele P.G., Berto S., Toso S. // Polyhedron. -2006. -25, № 15. -P. 2815—2823.
14. Ливер Э. Электронная спектроскопия неорганических соединений. -М.: Мир, 1987. -Т. 2.
15. Холин Ю.В. Количественный физико-химический анализ комплексообразования в растворах и на поверхности химически модифицированных кремнезёмов: содержательные модели, математические методы и их приложения. -Харьков: Фолио, 2000. -С. 264—281.
16. Galezowska J., Gumienka-Kontecka E. // Coord. Chem. Rev. -2012. -256, № 1–2. -P. 105—124.
17. Carlisle S.M., Trevors J.T. // Water Air Soil Pollut. -1988. -39. -P. 409—420.

Институт общей и неорганической химии им. В.И.Вернадского НАН Украины, Киев Биотехнологический научно-учебный центр Одесского национального университета им. И.И.Мечникова

Поступила 04.04.2012