

УДК 661.162.66

О.В. Груздєва, О.С. Матросов

ОДЕРЖАННЯ СТИМУЛЯТОРІВ РОСТУ РОСЛИН У ВИГЛЯДІ ХЕЛАТІВ КУПРУМУ ТА ЦИНКУ

ДВНЗ “Український державний хіміко-технологічний університет”, м. Дніпропетровськ

Були синтезовані та одержані у кристалічному стані комплексні сполуки біометалів (Cu, Zn) з індоліл-3-оцтовою кислотою (ІОК), які можна використовувати у сільському господарстві як стимулятори росту рослин. Досліджено за допомогою ІК-, УФ-спектроскопії та кількісного аналізу структуру та склад сполук.

В наш час регулятори росту рослин знаходять широке застосування у сільському господарстві як засоби збільшення врожайності культур і покращення якості сільськогосподарської продукції. Тому важливим є виявлення особливостей розвитку рослин під впливом передпо-

сівного оброблення насіння комплексами індоліл-3-оцтової кислоти з біометалами Cu, Zn у порівнянні з природним гормоном росту – вільною ІОК. Не дивлячись на те, що рослини мають здатність синтезувати гормони, в більшості випадків введення їх з зовні має позитивний вплив [1].

© О.В. Груздєва, О.С. Матросов, 2014

Для біологічних систем слід, по-перше, відзначити здатність ІОК істотно збільшувати швидкість перенесення катіонів металів через модельні фосфоліпідні мембрани [2] і модулювати іонний транспорт в рослинних клітинах. По-друге, комплекси ряду лантаноїдів (Ln^{3+}) з ІОК складу $\text{LnL}_3 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ (де L-індол-3-ацетат) в концентраціях порядку 10^{-2} М і менше, за літературними даними [3], показували значно вищу ауксинову активність, ніж вільна ІОК або хлориди відповідних металів, що вказує на синергізм їх дії в комплексах. По-третє, взаємодія ауксину з іоном металу в ауксин зв'язуючому центрі білка АВР1 (auxin-binding protein 1), який, за сучасними уявленнями, є одним з найбільш ймовірних рецепторів ауксину в рослинах, являє собою один з основних етапів у процесах молекулярного розпізнавання, рецепції ауксину і, можливо, передачі сигналу, механізми яких багато в чому незрозумілі до цих пір [4]. Нарешті, при ферментативній окисній деструкції ІОК в якості початкової стадії показано утворення потрійного комплексу пероксидаза – ІОК – кисень з наступним переходом ферро-форми ферменту $\{\text{Fe}^{3+}\}$ в ферро-форму $\{\text{Fe}^{2+}\}$ [5,6].

Комплексні сполуки ІОК та іонів міді та цинку цікаві, по-перше, завдяки активності ІОК та здатності ІОК збільшувати швидкість перенесення катіонів металів через модельні фосфоліпідні мембрани і модулювати іонний транспорт в рослинних клітинах. По-друге, мідь необхідна для життєдіяльності рослинних організмів. Майже вся мідь листя зосереджена в хлоропластах і тісно пов'язана з процесами фотосинтезу; вона бере участь у синтезі таких складних органічних сполук, як антоціан, залізопорфірини і хлорофіл; мідь стабілізує хлорофіл, оберігає його від руйнування. Встановлено позитивний вплив міді на синтез білків у рослинах і завдяки цьому – на водовмісну здатність рослинних тканин. Навпаки, при нестачі міді гідрофільність колоїдів тканин зменшується. Очевидно, внаслідок цього мідь у вигляді добрив має значення для додання рослинам посухо- та морозостійкості, а також, можливо, стійкості до бактерійних захворювань.

Цинк є компонентом низки ферментних систем. Він необхідний для утворення дихальних ферментів – цитохромів А і Б, цитохромоксидази (активність якої різко падає при недостатності цинку), входить до складу ферментів алкогольдегідррази і гліцилгліциндіпептидази.

Синтез і дослідження комплексних з'єднань, які утворюються в металовмісних водних розчинах ІОК, їх виділення у твердому стані та ідентифікація є дуже актуальним у розвитку направлення синтетичних замінників рослинних гормонів для оброблення насіння з метою збільшення врожайності культур.

Експериментальна частина

Для проведення синтезів були використані такі реактиви: індоліл-3-оцтова кислота, кваліфікації, “ч.д.а.”, ізопропіловий спирт “ос.ч.”, купрум ацетат, “ч.”, цинк ацетат, “ч.д.а.”.

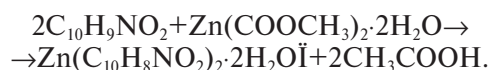
Для виконання реакцій комплексоутворення можливе використання тільки ацетатів металів, тому що в результаті реакції утворюється слабка та достатньо летка оцтова кислота. Сильні кислоти можуть руйнувати комплекс і ліганд.

Синтез комплексних сполук

Одержання комплексу виконували змішуванням водно-спиртових розчинів ІОК та ацетату металу.

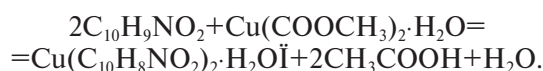
Для одержання розчину кислоти (ІОК) змішували 20 мл ізопропілового спирту з 20 мл дистильованої води, додавали 0,5 г індоліл-3-оцтової кислоти (2,86 ммоль) та інтенсивно перемішували при температурі 50°C до повного розчинення кислоти.

Для одержання розчину солі цинку розчиняли 0,31 г $\text{Zn}(\text{СППCH}_3)_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (1,41 ммоль) в суміші 10 мл ізопропілового спирту та 10 мл дистильованої води при нагріванні та інтенсивному перемішуванні до повного розчинення солі. Розчини кислоти та солі змішували та залишали у відкритому стакані для упарювання. Після змішування у розчині протікає реакція, що характеризує процес комплексоутворення:



Після упарювання протягом 5–7 діб одержуємо кристали з жовтим відтінком. Завдяки тому, що в результаті реакції не утворюється твердих побічних продуктів висушування можна виконувати майже повністю.

Для одержання розчину солі міді розчиняли 0,285 г $\text{Cu}(\text{СППCH}_3)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (1,43 ммоль) в суміші 3 мл ізопропілового спирту та 12 мл дистильованої води при нагріванні та інтенсивному перемішуванні до повного розчинення осаду солі. Також у водно-спиртовому розчині розчиняли 0,5 г індоліл-3-оцтової кислоти (2,86 ммоль) при інтенсивному перемішуванні ($t=50^\circ\text{C}$) до повного розчинення кислоти. Після змішування розчину ІОК та солі у розчині протікає реакція комплексоутворення, що супроводжується осадженням малорозчинного продукту взаємодії:



У випадку з міддю довготривала кристалізація не потрібна, оскільки комплексна сполука зеленого кольору малорозчинна і кількісно випадає в осад. Осад промивали водою та висушували при кімнатній температурі.

Дослідження структури та складу

Для доведення структури одержаних комплексів використовували методи УФ-спектрофотометрії, ІЧ-спектроскопії та елементний аналіз.

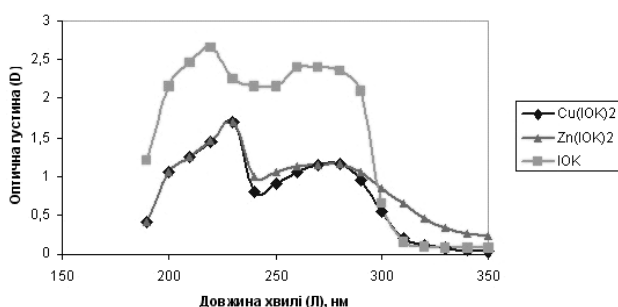


Рис. 1. Залежність оптичної густини розчину отриманих комплексів від довжини хвилі

Згідно з даними УФ-спектроскопії (рис. 1) можна зробити висновок, що при утворенні комплексу не відбулося руйнування ліганду, оскільки максимуми поглинання комплексу і ліган-

ду співпадають при цьому спостерігається зсув першого максимуму у бік збільшення довжини хвилі з 220 до 230 нм для одержаних комплексів порівняно з похідною кислотою.

Задачею ІЧ-спектроскопії в даному випадку є доведення утворення хімічного зв'язку метал-нітроген (табл. 1). ІЧ-спектри записувалися в режимі пропускання в діапазоні 4000–400 cm^{-1} за допомогою ІЧ-спектрофотометра Spektrum VX (виробництво Германія). Комп'ютерну обробку спектрів виконували за допомогою стандартного програмного забезпечення, що постачається разом з спектрофотометром. Всі вимірювання проводилися при кімнатній температурі (292–298 К).

В ІЧ-спектрі кислоти присутні дві полоси поглинання, що характерні для групи NH одна при довжині хвилі 3389 cm^{-1} , друга при довжині хвилі 518 cm^{-1} . У спектрі мідного комплексу вони також присутні, але зміщені не суттєво (рис. 2). Перша полоса поглинання при довжині хвилі 3384 cm^{-1} , а друга при 523 cm^{-1} . Таким чином можна зробити висновок, що утворення лока-

Таблиця 1

Основні полоси поглинання (cm^{-1}) в ІЧ-спектрах ІОК та продуктах окислення мідного та цинкового комплексу індоліл-3-оцтової кислоти

Характеристичні частоти поглинання ІЧ-спектрів			Віднесення коливань
ІОК	Cu(IOK) ₂	Zn(IOK) ₂	
3389(д.с.)	3389 (с.)	3390(с.)	Валентне N–H (пірольний цикл)
2914–3125 (сл.)	2911–3050 (сл.)	2898–3033(сл.)	Валентне симетричне та асиметричне CH ₂
2732 (сл.)	–	–	Валентне O–H
1700 (д.с.)	1595(с.)	1558(с.)	Валентне C=O
1619 (сл.)	1557(сл.)	–	Валентне асиметричне COO ⁻
1457 (с.)	1490(ср.)	1462(ср.)	Деформаційні площинні C–C (бензольного циклу)
1421 (с.)	1424(ср.)	1432(ср.)	Валентне C–O
1248 (с.)	1252(д.с.)	1275(д.с.)	Триплет комбінованих коливань карбоксильної групи (валентне C–O та деформаційні площинні O–H)
1223 (с.)	1228(ср.)	1225(с.)	
1207 (с.)	–	–	
741 (д.с.)	744 (с.)	740 (с.)	Деформаційні позаплощинні C–H (бензольного циклу)

Примітки: д.с. – дуже сильна; с. – сильна; ср. – середньої сили; сл. – слабка; риска вказує на повну або практично повну відсутність полоси в спектрі.

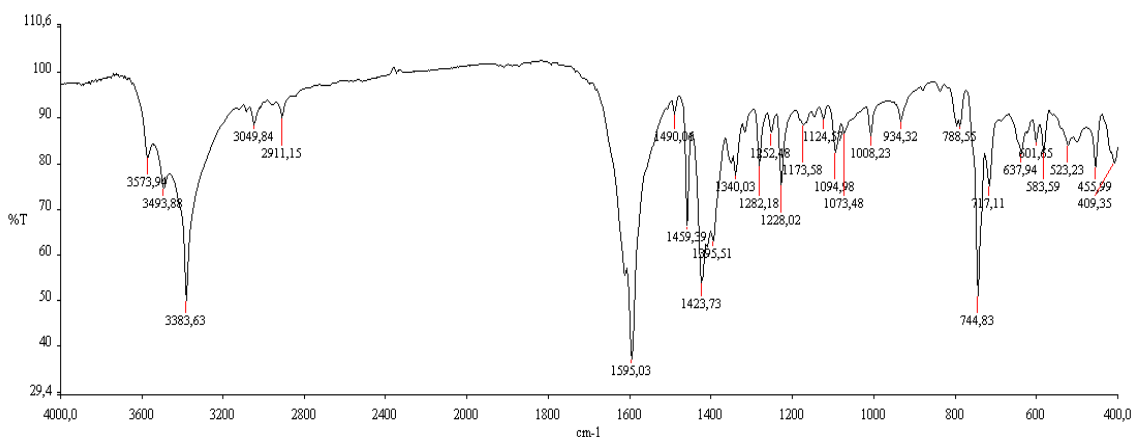


Рис. 2. Інфрачервоний Фур'є-спектр зразка мідного комплексу індоліл-3-оцтової кислоти

лізованого ковалентного зв'язку по атому нітрогену не відбувається. Що відповідає літературним даним [7].

В спектрі комплексу з'являються максимуми в областях 3574 см^{-1} , 3494 см^{-1} . За нашими припущенням це координаційно зв'язана вода.

Згідно з літературними даними валентно-симетричні коливання групи COO^- знаходяться в області 1545 см^{-1} . В отриманих спектрах ІОК присутні дві полоси середньої інтенсивності 1557 см^{-1} , 1619 см^{-1} . В спектрі області ці полоси відсутні. Що свідчить про зміну оточення групи COO^- в зв'язку з приєднанням атома металу. В спектрі комплексу присутня інтенсивна полоса групи C=O в області 1595 см^{-1} , яка за даними літератури повинна знаходитися в інтервалі $1765\text{--}1645\text{ см}^{-1}$. В спектрах ІОК ця полоса знаходиться в області 1700 см^{-1} . Сильне зміщення свідчить про зміну оточення карбоксильної групи, тобто приєднання металу [8].

Літературні дані, що стосуються структури комплексу дещо відмінні, на думку автора [9] відбувається координація між атомами міді та атомами нітрогену індольного кільця. Але за іншими даними [10] є думка про те, що в координації, ІОК з металами з утворенням комплексу задіяне індольне ядро. Вважаємо, що і те та інше має місце. Неподілена пара електронів нітрогену деякою мірою асоційована з електронною густиною ароматичного ядра. Тому говорити про те, що метал координується тільки за нітрогеном не зовсім коректно. З іншої сторони атом нітрогену збагачений електронною густиною тому місце перекривання електронних хмар зміщене до атома нітрогену, що підтверджується ІЧ-спектрами, де ми спостерігаємо незначне зміщення характеристичної полоси. Однак величина зсуву 3 нм не дозволяє говорити про утворення локалізованого ковалентного зв'язку Cu-N .

Полоси поглинання, що характерні для групи NH також присутні у спектрі цинкового комплексу. Перша полоса поглинання при довжині хвилі 3390 см^{-1} , а друга при 520 см^{-1} , тут ми

також спостерігаємо розщеплення характеристичної полоси поглинання, що говорить про зміну оточення зв'язку N-H .

В спектрі синтезованого цинкового комплексу присутня інтенсивна полоса групи C=O в області 1559 см^{-1} , яка за даними літератури повинна знаходитися в інтервалі $1765\text{--}1645\text{ см}^{-1}$. В спектрах ІОК ця полоса знаходиться в області 1700 см^{-1} . Сильне зміщення свідчить про зміну оточення карбоксильної групи, тобто приєднання металу.

На участь карбоксильної групи ІОК в координуванні цинку(ІІ) можуть свідчити наступні зміни в спектрі (рис. 4) в порівнянні зі спектром ІОК (рис. 3):

– згладжування області коливань $\nu(\text{OH})$ некоординованої карбоксильної групи (2732 см^{-1}) для цинкового комплексу ця полоса відсутня.

– зниження відносної інтенсивності полос $\nu(\text{C=O})$, $\nu(\text{C-O})$ при 1558 та 1432 см^{-1} відповідно і триpletу в області $1225\text{--}1275\text{ см}^{-1}$, характерних для групи $-\text{COOH}$.

Отримані дані зведені у табл. 1.

Для визначення складу комплексів було виконано елементний аналіз. Вміст C , N , H встановлювався спектральним методом, аналіз металів виконували за допомогою титриметричних методів [11-12].

Визначення вуглецю і водню виконували за допомогою мікроаналітичного методу Прегля. Кількість азоту проводиться за методами Дюма і Кельдаля.

Елементний аналіз для $\text{Cu}(\text{ІОК})_2$ був виконаний за допомогою спектрометра Перкін-Елмер моделі 240. В табл. 2 наводимо результати елементного аналізу мідного та цинкового комплексу.

За результатами елементного аналізу можна зробити висновок, що у одержаних сполуках до одного атома металу приєднується дві молекули індоліл-3-оцтової кислоти. Також всі сполуки містять дві молекули координаційно-зв'язаної води.

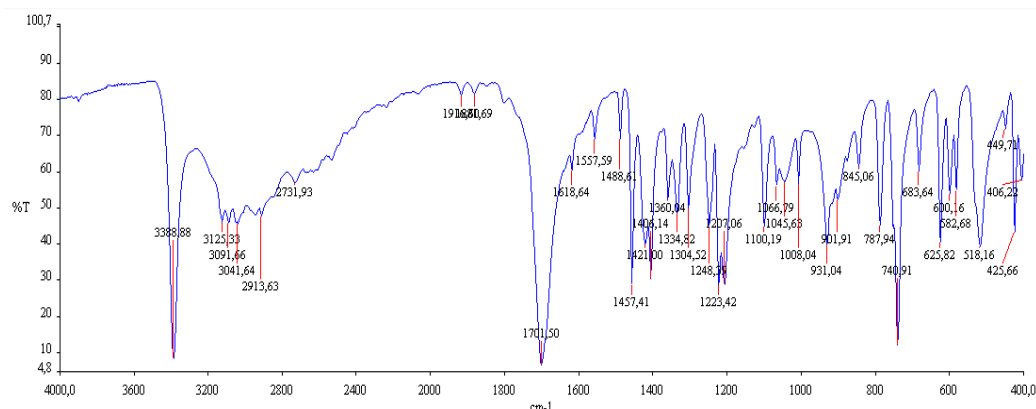


Рис. 3. Інфрачервоний Фур'є-спектр зразку ІОК

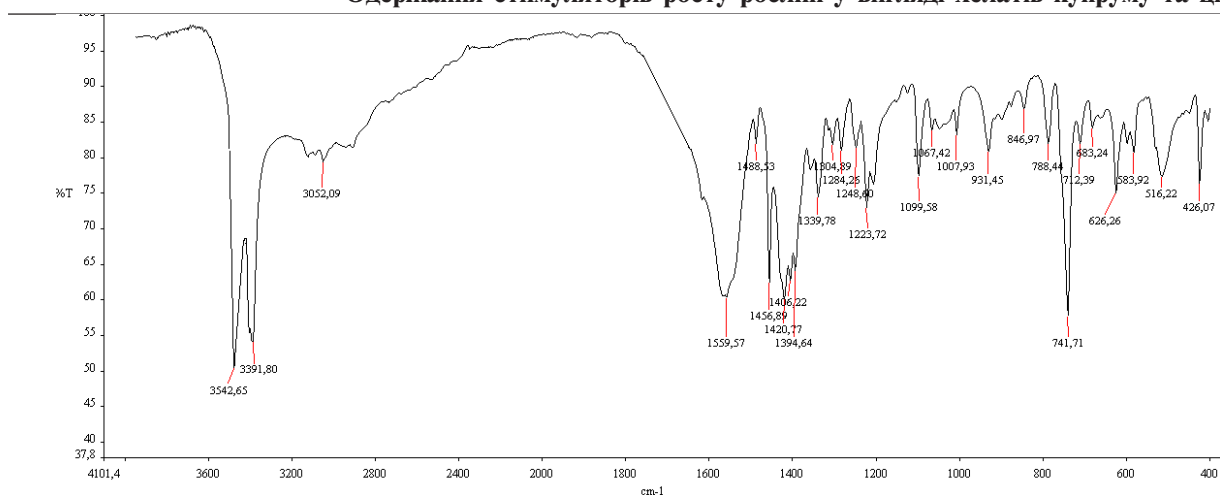


Рис. 4. Інфрачервоний Фур'є-спектр зразка цинкового комплексу індоліл-3-оцтової кислоти

Таблиця 2
Результати елементного аналізу комплексів

Елемент	Сполука	
	Zn(ІОК) ₂	Cu(ІОК) ₂
	розраховано/знайдено, %	
C	58,1/57,9	55,6/55,9
N	6,2/6,5	4,5/4,2
H	3,9/3,9	6,3/6,5
Zn	15,8/14,6	–
Cu	–	14,8/14,88

Висновки

Відпрацьована методика одержання похідних розчинів і комплексних сполук біметалів (Cu, Zn) з індоліл-3-оцтовою кислотою (ІОК).

Були виділені у твердому стані та охарактеризовані з залученням низки сучасних фізико-хімічних методів аналізу комплекси індоліл-3-оцтової кислоти з біометалами міддю та цинком.

Методом УФ-спектроскопії встановлено, що утворення комплексних з'єднань відбувається без руйнування ліганду. Методом ІЧ-спектроскопії показано, що координація з металом здійснюється, по атому Оксигену карбоксильної групи ІОК та за участю електронної системи ароматичного фрагмента лігандів.

За допомогою елементного аналізу встановлено склад комплексних сполук.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. *Evolutionary patterns in auxin action* / T.J. Cooke, D.B. Poli, A.E. Szein, J.D. Cohen // *Plant Mol. Biol.* – 2002. – Vol.49. – № 3-4. – P.319-338.

2. *Scherer G.F.E. Secondary messengers and phospholipase A2 in auxin signal transduction* // *Plant Mol. Biol.* – 2002. – Vol.49. – № 3-4. – P.357-372.

3. *Wenmian H., Jian F., Zhengzhi Z. Effect of auxinhormone lanthanide complexes on the growth of wheat coleoptile* // *Biol. Trace Elem. Res.* – 1998. – Vol.64. – № 1-3. – P.27-35.

4. *Timpte C. Auxin binding protein: curiouser and curiouser* // *Trends Plant Sci.* – 2001. – Vol.6. – № 12. – P.586-590.

5. *Aerobic oxidation of indole-3-acetic acid catalysed by anionic and cationic peanut peroxidase* / Gazaryan I.G., Chubar T.A., Mareeva E.A., Lagrimini L.M., Van Huystee R.B., Thorneley R.N.F. // *Phytochemistry.* – 1999. – Vol.51. – P.175-186.

6. *Oxidation of indole-3-acetic acid by dioxygen catalysed by plant peroxidases: specificity for the enzyme structure* / Savitsky P.A., Gazaryan I.G., Tishkov V.I., Lagrimini L.M., Ruzgas T., Gorton L. // *Biochem. J.* – 1999. – Vol.340. – P.579-583.

7. *Преч Э., Бюльманн Ф., Афвольтер К. Определение строения органических соединений. Таблицы спектральных данных: Пер. с англ.* – М. Мир; БИНОМ. Лаборатория знаний. – 2006 – 438 с.

8. *Kamnev A. A., Kuzmann E. Mossbauer spectroscopic study of the interaction of indole-3-acetic acid with iron(III) in aqueous solution* // *Biochem. Mol. Biol. Int.* – 1997. – Vol.41. – № 3. – P.575-581.

9. *Sawhney S.S., Chandra N. Thermogravimetric study of the kinetics of the non-isothermal decomposition of metal derivatives of indole-3-acetic acid* // *Thermochimika Acta.* – 1983. – Vol.61. – P.357-360.

10. *Камнев А.А., Перфильев Ю.Д. Физико-химические и экологические аспекты взаимодействия индоліл-3-уксусной кислоты с железом(III)* // *Вестн. Моск. ун-та. Сер. 2. Хим.* – 2000. – Т.41. – № 3. – С.205-210.

11. *Живонисцев В.П., Селезнева Е.А. Аналитическая химия цинка.* – М.: Наука, 1975. – 200 с.

12. *Подчайнова В.Н., Симонова Л.Н. Аналитическая химия элементов. Медь.* – М.: Наука, 1990. – 279 с.

Надійшла до редакції 27.02.2014

PRODUCTION OF PLANT GROWTH STIMULANTS WHICH CONTAIN CHELATE WITH A METAL ION CU AND ZN

H.V. Gruzdeva, A.S. Matrosov

Ukrainian State University of Chemical Technology, Dnepropetrovsk, Ukraine

Biometal (Cu, Zn) complex compounds with indole-3-acetic acid (IAA) were synthesized and obtained in the crystalline state. On the basis of the preliminary researches one may assume that the introduction of metal in the structure of the growth will increase its biological activity. The method and conditions of obtaining of complex compounds were improved and optimized. It has been proved the creation of nitrogen-metal coordination bond by IR-spectroscopy. The UV-spectroscopy showed that the formation of complexes was without destruction of the ligand. The element analysis was carried out to determine the composition of the complexes. The contents of C, N, and H were determined by spectral method; metal analysis was performed using titrimetric methods. The determination of carbon and hydrogen was performed using screening Pregl's method. The amount of nitrogen was determined by Dumas and Kjeldahl methods. It was revealed that the synthesized compounds have formula $Cu(C_{10}H_8NO_2)_2 \cdot 4H_2O$ and $Zn(C_{10}H_8NO_2)_2 \cdot 4H_2O$. The compounds can be used in agriculture as plant growth stimulants.

Keywords: complex compounds; indole-3-acetic acid; biometals; plant growth stimulants.

REFERENCES

1. Cooke T.J., Poli D.B., Sztein A.E., Cohen J.D. Evolutionary patterns in auxin action. *Plant Mol. Biol.*, 2002, vol. 49, no. 3-4, pp. 319-338.
2. Scherer G.F.E. Secondary messengers and phospholipase A2 in auxin signal transduction. *Plant Mol. Biol.*, 2002, vol. 49, no. 3-4, pp. 357-372.
3. Wenmian H., Jian F., Zhengzhi Z. Effect of auxinhormone lanthanide complexes on the growth of wheat coleoptile. *Biol. Trace Elem. Res.*, 1998, vol. 64, no. 1-3, pp. 27-35.
4. Timpte C. Auxin binding protein: curiouser and

curiouser. *Trends Plant Sci.*, 2001, vol. 6, no. 12, pp. 586-590.

5. Gazaryan I.G., Chubar T.A., Mareeva E.A., Lagrimini L.M., Van Huystee R.B., Thorneley R.N.F. Aerobic oxidation of indole-3-acetic acid catalysed by anionic and cationic peanut peroxidase. *Phytochem.*, 1999, vol. 51, pp. 175-186.

6. Savitsky P.A., Gazaryan I.G., Tishkov V.I., Lagrimini L.M., Ruzgas T., Gorton L. Oxidation of indole-3-acetic acid by dioxygen catalysed by plant peroxidases: specificity for the enzyme structure. *Biochem. J.*, 1999, vol. 340, pp. 579-583.

7. Prech E., Byulmann F., Affolter K., *Opredelenie stroeniya organicheskikh soedineniy. Tablitsyi spektralnykh dannykh* [The determination of organic compounds composition. The tables of spectral data]. BINOM. Laboratoriya znaniy, Moscow, 2006. 438 p. (in Russian)

8. Kamnev A. A., Kuzmann E. Mossbauer spectroscopic study of the interaction of indole-3-acetic acid with iron(III) in aqueous solution. *Biochem. Mol. Biol. Int.*, 1997, vol. 41, no. 3, pp. 575-581.

9. Sawhney S.S., Chandra N. Thermogravimetric study of the kinetics of the non-isothermal decomposition of metal derivatives of indole-3-acetic acid. *Thermochim. Acta*, 1983, vol. 61, pp. 357-360.

10. Kamnev A.A., Perfilev Yu.D. Fiziko-himicheskie i ekologicheskie aspekty vzaimodeystviya indolil-3-uksusnoy kisloty s zhelezom(III) [Physicochemical and ecological aspects of the interaction between indole-3-acetic acid and iron(III)]. *Vestn. Mosk. un-ta. Ser. Khim.*, 2000, vol. 41, no. 3, pp. 205-210. (in Russian)

11. Zhivopistsev V.P., Selezneva E.A., *Analiticheskaya himiya tsinka* [Analytical chemistry of zinc]. Nauka, Moscow, 1975. 200 p. (in Russian)

12. Podchaynova V.N., Simonova L.N., *Analiticheskaya himiya elementov* [Analytical chemistry of elements]. Nauka, Moscow, 1990. 279 p. (in Russian)