

СОФИЙСКИ УНИВЕРСИТЕТ „СВ. КЛ. ОХРИДСКИ”
ХИМИЧЕСКИ ФАКУЛТЕТ
Катедра Аналитична химия
Лаборатория по биokoординационна и биоаналитична химия

Румяна Жорова Низамова

КОМПЛЕКСИ НА ПОЛИЕТЕРНИТЕ ЙОНОФОРНИ
АНТИБИОТИЦИ МОНЕНЗИН И САЛИНОМИЦИН С
ДВУЗАРЯДНИ МЕТАЛНИ ЙОНИ:
ПОЛУЧАВАНЕ, СТРУКТУРА И БИОЛОГИЧНИ СВОЙСТВА

АВТОРЕФЕРАТ

на дисертация, представена за присъждане
на образователната и научна степен “доктор”

Научен ръководител: проф. дхн Мариана Митева

Научен консултант: гл. ас. д-р Ивайла Панчева-Кадрева

София

2011 г.

Дисертацията съдържа 131 страници, в които са включени 17 фигури, 12 таблици и 113 цитирани литературни източника.

Дисертационният труд е обсъден и насочен за защита от Катедрения съвет на катедра Аналитична химия към Химически факултет на Софийски университет “Св. Кл. Охридски”, състоял се на 21.01.2011 г.

Дисертантът е била редовен докторант към катедра Аналитична химия, ХФ на СУ “Св. Кл. Охридски”.

Защитата на дисертационния труд ще се състои на 30.05.2011 от 14 ч. в Заседателната зала на ХФ, СУ “Св. Кл. Охридски”.

Материалите по защитата са на разположение на интересуващите се в канцеларията на ХФ, СУ “Св. Кл. Охридски”.

Въведение

Антибиотиците принадлежат към най-широко използваните медикаменти в хуманната и ветеринарната медицина. Развитието на антибиотичната индустрия след Втората Световна Война играе основна роля върху контрола и изкореняването на епидемични болести и удължаване на продължителността на живота. Те имат и важна роля в молекулярната биология и проучванията върху клетъчните функции. До момента са известни близо 10 000 антибиотика и подобни природни биологично активни вещества, изолирани от микроорганизми, растения и животни. В допълнение има над 100 000 частично или изцяло синтетични производни, получени от по-малки антибиотични групи (β -лактами, макролиди, аминогликозиди, тетрациклини и др.).

Броят на новите продукти, наложили се във ветеринарната медицина през последните години, не се е увеличил съществено. Причините са твърде високата цена при разработването на нови антибиотици, дългото време, необходимо за медицински изследвания и маркетингови проучвания, строгите правила при издаване на разрешителни и конкуренцията с препарати, вече наложили се на пазара. Това налага разработването на продукти, получени от познати медикаменти, подобряване на качествата им и увеличаване на ефективността им.

За голям брой препарати наличната информация не е достатъчна. Разширяването на областта на изследване на техните свойства ще даде информация както за ефекта им върху различни микроорганизми и животински видове, така и за влиянието им върху човешкия организъм при контакт с източник на зараза или прием на храни от животински произход.

Широко приложение във ветеринарната медицина намират полиетерните йонофорни антибиотици, които намаляват значително смъртността при птиците, дължаща се на кокцидиоза.

Кокцидиозата е паразитна болест, която е причинена от *Eimeria spp.* Осем вида *Eimeria* причиняват сериозни увреждания, други 22 водят до по-леки усложнения. Клиничната картина при засегнатите птици се характеризира с поява на депресивно състояние, загуба на апетит и тегло, понижаване на репродуктивната им способност, диария. Клиничната фаза често завършва със смърт.

“Идеалният” кокцидиостатик трябва да инхибира кокцидиите в техния ранен стадий на развитие, без да предизвиква увреждане на чревния епител, както и да потиска изхвърлянето на ооцисти. В повечето случаи профилактичният прием на кокцидиостатиците намалява тяхната ефективност поради появата на резистентност в паразитната популация.

Първите средства, прилагани за лечение на кокцидиоза, са сулфонамидите, последвани от широк спектър съединения - оксихинолини, нитрофурани и др.

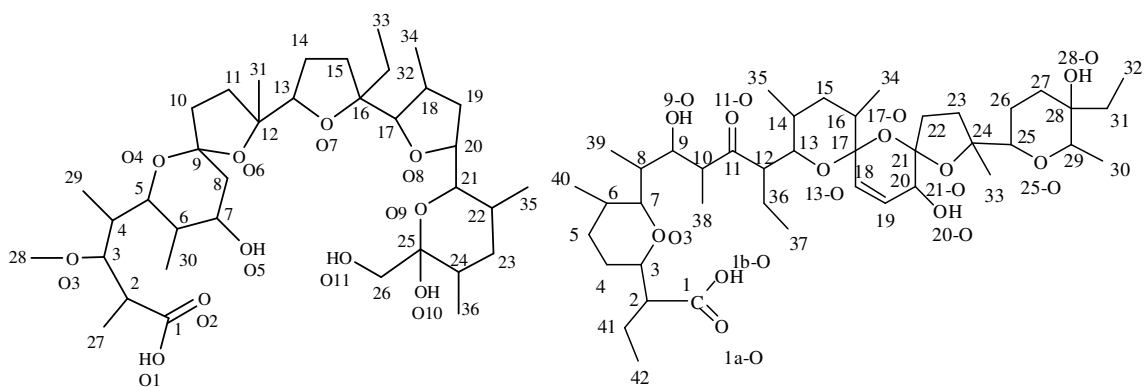
И до днес, обаче, най-използвани са карбоксилните полиетерни антибиотици, които представляват голяма група природни биологично активни съединения, продуцирани от бактерии от род *Streptomyces spp.*

Техни представители са монензин и салиномицин, които притежават кокцидиостатични свойства. Те намират приложение в птицевъдството за лечение на редица паразитни инфекции, а в последните години - и като хранителна добавка.

В Лабораторията по „Биокоординационна и Биоаналитична Химия” при Химически факултет към СУ „Св. Климент Охридски”, беше доказано, че активността на природния полиетерен йонофорен антибиотик монензин може значително да се повиши чрез реакции на комплексообразуване с двузарядни метални йони.

Способността на полиетерните йонофорни антибиотици монензин киселина и салиномицин натрий (Фиг. 1) да комплексообразуват с йони на двузарядни метални йони следва детайлно да се проучи с оглед на синтезиране на вещества с подобрена биологична активност.

Това бе причина да се насочат усилията към изследване комплексообразуването им в присъствие на двузарядните метални йони магнезий, калций, никел и цинк и изследване състава и структурата на получените комплекси.



Фиг. 1. Структура на антибиотиците с номерация на въглеродните и кислородните атоми

Цел и задачи

Цел на настоящия дисертационен труд е да се изследва комплексообразователната способност на полиетерните йонофорни антибиотици монензин и салиномицин с двузрядните метални йони магнезий, калций, никел и цинк и да се проучат някои от биологичните свойства на получените комплекси.

За осъществяване на поставената цел бе необходимо решаването на следните задачи:

1. Получаване на комплексите при оптимални реакционни условия и съотношения метал - лиганд.

2. Охарактеризиране на получените комплекси чрез физико-химични методи като инфрачервена (IR) спектроскопия, ядрен магнитен резонанс (NMR), мас-спектрометрия с ускорени атоми (FAB-MS), рентгеноструктурен анализ на монокристали и др.

3. Изследване на микробиологичната активност на свободните лиганди и структурно охарактеризираните им метални комплекси срещу Грам(+) аеробни и анаеробни бактерии.

4. Определяне на остра токсичност (LD_{50}) на лигандите и новополучените комплекси.

Експериментална част

Методи за синтез

Синтез на лиганда монензин киселина ($\text{MonH}\cdot\text{H}_2\text{O}$)

Монензин киселина е получена от монензин натрий по следната методика: към разтвор на $\text{MonNa}\cdot\text{H}_2\text{O}$ се прибавя HCl . Разтворът се разбърква 2 часа при стайна температура, след което следва екстракция с етер. Етерната фаза се промива няколко пъти с дестилирана вода, а водната - с диетилов етер. Етерните фракции се събират и се оставят за концентриране до сухо. След разтваряне в ацетон киселината $\text{MonH}\cdot\text{H}_2\text{O}$ се отделя като твърда фаза след утаяване с вода. Получената утайка се филтрува, промива се с вода и се суши при стайна температура. Добив: 98%. Елем. анализ за $\text{C}_{36}\text{H}_{64}\text{O}_{11}$ (MW 688.88): *Теор.* Н, 9.31; С, 64.45; О, 26.23. *Експер.* Н, 9.14; С, 63.62; О, 27.60%. $^1\text{H-NMR}$ данни: (600 MHz, δ , мултиплетност, интензитет, J -константи, CDCl_3): 6.25 (br, 1-ОН, 10-ОН (тясна), 11-ОН, H_2O), 4.50 (br d, 1H, 7.9, 5-ОН), 4.33 (ddd, 1H, 10.8, 5.9, 2.9, 20CH), 4.07 (dd, 1H, 11.6, 2.1, 5CH), 4.03 (d, 1H, 4.0, 17CH), 3.94 (dd, 1H, 10.5, 2.7, 21CH), 3.86 (br s, 1H, 7CH), 3.69 (d, 1H, 11.2, 26 CH_2'), 3.50 (d, 1H, 11.2, 26 CH_2''), 3.44 (dd, 1H, 10.7, 4.6, 13CH), 3.37 (s, 3H, 28 OCH_3), 3.22 (dd, 1H, 10.2, 2.1, 3CH), 2.62 (dq, 1H, 10.2, 6.7, 2CH), 2.25-2.13 (4H, 18CH, 15 CH_2' , 4CH, 19 CH_2'), 2.10 (m, 1H, 6CH), 1.98 (dd, 1H, 14.2, 3.5, 8 CH_2'), 1.97 (dd, 1H, 12.3, 8.4, 10 CH_2'), 1.89 (dt, 1H, 11.9, 8.7, 11 CH_2'), 1.74-1.52 (m, 5H, 8 CH_2'' , 11 CH_2'' , 10 CH_2'' , 14 CH_2), 1.55 (m, 2H, 32 CH_2), 1.52-1.33 (m, 5H, 23 CH_2' , 24CH, 15 CH_2'' , 19 CH_2'' , 23 CH_2''), 1.48 (s, 3H, 31 CH_3), 1.35 (m, 1H, 22CH), 1.27 (d, 3H, 6.7, 27 CH_3), 1.10 (d, 3H, 6.9, 29 CH_3), 0.95 (t, 3H, 7.4, 33 CH_3), 0.92 (d, 3H, 6.9, 34 CH_3), 0.88 (d, 3H, 7.1, 30 CH_3), 0.87 (d, 3H, 6.4, 36 CH_3), 0.85 (d, 3H, 6.5, 35 CH_3).

Моноядрени комплекси на $\text{MonH}\cdot\text{H}_2\text{O}$ с Mg^{2+} (1), Ca^{2+} (2), Ni^{2+} (3) и Zn^{2+} (4)

Разтвор, съдържащ $\text{MonH}\cdot\text{H}_2\text{O}$ и Et_4NOH се разбърква 5 min на електромагнитна бъркалка. Бавно, на капки се прибавя разтвор на съответната метална сол $\text{MgCl}_2\cdot 6\text{H}_2\text{O}$, CaCl_2 , $\text{Ni}(\text{NO}_3)_2\cdot 6\text{H}_2\text{O}$ и $\text{Zn}(\text{NO}_3)_2\cdot 6\text{H}_2\text{O}$. Смесването на разтвори на лиганда и солта води до получаването на утайки със състав $[\text{M}(\text{Mon})_2(\text{H}_2\text{O})_2]$ ($\text{M} = \text{Mg}^{2+}$, Ca^{2+} , Ni^{2+} , Zn^{2+}).

I: Добив 65%. Елем. анализ за комплекса $\text{MgC}_{72}\text{H}_{126}\text{O}_{24}$ (MW = 1400.08): *Теор.* Н, 9.07, С, 61.77, Mg, 1.74. *Експер.* Н, 8.76, С, 60.17, Mg, 2.14%. Бавното концентриране на разредената реакционна смес за няколко дни при стайна температура води до образуване на безцветни кристали със състав $[\text{Mg}(\text{Mon})_2(\text{H}_2\text{O})_2]\cdot 5\text{MeCN}$ (*I*). $^1\text{H-NMR}$ данни (600 MHz, δ , CDCl_3): 10.98 (11-ОН), 6.60 (10-ОН), 4.98 (H_2O), 4.85 (5-ОН),

4.30 (20CH), 4.09 (21CH), 4.04 (17CH, 5CH), 3.73 (7CH), 3.78 (26CH₂'), 3.68 (26CH₂''), 3.52 (br, 2H, 13CH), 3.33 (28OCH₃), 3.24 (d, 2H, 3CH), 2.46 (2CH), 2.33 (6CH), 2.23 (18CH), 2.17-2.04 (15CH₂', 19CH₂', 4CH), 2.00-1.94 (8CH₂', 10CH₂''), 1.85 (11CH₂''), 1.75-1.68 (14CH₂''), 1.70-1.50 (8CH₂'', 11CH₂'', 10CH₂'', 14CH₂'', 32CH₂', 23CH₂'), 1.54 (31CH₃), 1.50-1.40 (19CH₂'', 32CH₂'', 15CH₂''), 1.37 (24CH), 1.29 (23CH₂'', 22CH), 1.18 (27CH₃), 1.08 (29CH₃), 0.98-0.82 (33CH₃, 34CH₃, 30CH₃, 36CH₃, 35CH₃).

2: Добив 68%. Елем. анализ за комплекса CaC₇₂H₁₂₆O₂₄ (MW = 1415.86): *Теор.* Н, 8.97, С, 61.08, Са, 2.83. *Експер.* Н, 8.56, С, 58.12, Са, 3.20%. Калциевият димонензинат е разтворим в MeOH, CHCl₃ и октанол и притежава много ниска разтворимост в MeCN и DMSO. Бавното концентриране на разредената реакционна смес за 2-3 дни при стайна температура води до образуване на безцветни кристали със състав [Ca(Mon)₂(H₂O)₂].H₂O.5MeCN (**2**). ¹H-NMR (600 MHz, δ, CDCl₃): 4.95 (5-OH), 4.32 (20CH), 4.23 (17CH), 4.04 (5CH, 21CH), 3.86-3.68 (7CH, 26CH₂'), 3.56 (26CH₂''), 3.50 (13CH), 3.37 (28OCH₃), 3.24 (3CH), 2.48 (2CH), 2.37 (6CH), 2.30 (18CH), 2.22-2.11 (15CH₂', 19CH₂'), 2.09 (4CH), 2.00-1.88 (8CH₂', 10CH₂', 11CH₂'), 1.76-1.58 (8CH₂'', 11CH₂'', 10CH₂'', 14CH₂'), 1.58-1.40 (32CH₂, 23CH₂', 24CH, 31CH₃, 15CH₂'', 19CH₂''), 1.40-1.26 (23CH₂'', 22CH), 1.19 (27CH₃), 1.12 (29CH₃), 0.98-0.83 (33CH₃, 34CH₃, 30CH₃, 36CH₃, 35CH₃).

3: Добив 57%. Елем. анализ за комплекса NiC₇₂H₁₂₆O₂₄ (MW = 1657.72): *Теор.* Н, 8.85, С, 60.29, Ni, 4.09. *Експер.* Н, 8.92, С, 60.31, Ni, 4.40%. Комплексът е добре разтворим в MeOH, CHCl₃ и октанол. Бавното концентриране на разредената реакционна смес води до образуване на бледо зелени кристали със състав [Ni(Mon)₂(H₂O)₂].H₂O.5MeCN (**3**).

4: Добив 75%. Елем. анализ за комплекса ZnC₇₂H₁₂₆O₂₄ (MW = 1643.90): *Теор.* Н, 8.81, С, 60.01, Zn, 4.54. *Експер.* Н, 8.58, С, 59.83, Zn, 4.35%. От получената реакционна смес след няколко дни при стайна температура израстват бели кристали със състав [Zn(Mon)₂(H₂O)₂].H₂O.4.5MeCN (**4**). ¹H-NMR (600 MHz, δ, CDCl₃) 10.22 (OH), 6.50-6.33 (OH), 4.80 (H₂O), 4.30 (20CH), 4.07 (17CH), 4.03 (5CH), 3.97 (21CH), 3.78 (7CH), 3.69 (26CH₂), 3.47 (13CH), 3.34 (28OCH₃), 3.21 (3CH), 2.54 (2CH), 2.23 (6CH, 18CH), 2.13 (19CH₂'), 2.10 (4CH), 1.95 (8CH₂'), 1.93 (10CH₂'), 1.90-1.84 (11CH₂), 1.69-1.60 (14CH₂, 8CH₂'', 10CH₂''), 1.58-1.51 (32CH₂, 15CH₂), 1.48 (31CH₃, 23CH₂'), 1.43 (24CH), 1.41 (19CH₂''), 1.33 (23CH₂''), 1.27 (22CH), 1.21 (27CH₃), 1.08 (29CH₃), 0.94-0.91 (33CH₃, 34CH₃), 0.86 (30CH₃), 0.83 (35CH₃, 36CH₃).

Синтез на лиганда салиномицин киселина (SalH)

Салиномицин киселина е получена от салиномицин натрий като към разтвор на SalNa се прибавя HCl. Разтворът се разбърква 2 часа при стайна температура, след което следва екстракция с хлороформ.

Хлороформената фаза се промива няколко пъти с дестилирана вода, а водната - с хлороформ. Хлороформените фракции се събират и се оставят за концентриране до сухо. След разтваряне в ацетон киселината SalH се отделя като твърда фаза след утаяване с вода. Получената утайка се филтрува, промива се с вода и се суши при стайна температура. Добив: 62%. Елем. анализ за $C_{42}H_{70}O_{11}$ (MW 751.01): *Теор.* Н, 9.39; С, 67.17; О, 23.43. *Експер.* Н, 9.44; С, 67.17; О, 23.60%.

Моноядрени комплекси на Sal с Mg^{2+} (5), Ca^{2+} (6), Ni^{2+} (7) и Zn^{2+} (8)

Комплексите на салиномицин са получени посредством смесването на разтвори, съдържащи: SalNa и съответната метална сол. Реакционната смес се разбърква при стайна температура, което води до получаването на бели утайки със състав $[M(Sal)_2(H_2O)_2]$ ($M = Mg^{2+}, Ca^{2+}, Ni^{2+}, Zn^{2+}$). Получените утайки са филтрувани, промити с MeOH и изсушени на въздуха.

5: Добив 34%. Елем. анализ за комплекса $MgC_{84}H_{142}O_{24}$ (MW = 1560.33): *Теор.* Н, 9.17, С, 64.66, Mg, 1.56. *Експер.* Н, 8.90, С, 64.23, Mg, 1.50%.

6: Добив 68%. Елем. анализ за комплекса $CaC_{84}H_{142}O_{24}$ (MW = 1576.09): *Теор.* Н, 9.08, С, 64.01, Ca, 2.54. *Експер.* Н, 9.10, С, 63.61, Ca, 2.49%.

7: Добив 80%. Елем. анализ за комплекса $NiC_{84}H_{146}O_{26}$ (MW = 1630.76): *Теор.* Н, 9.02, С, 61.87, Ni, 3.60. *Експер.* Н, 8.69, С, 61.91, Ni, 3.08 %.

8: Добив 85%. Елем. анализ за комплекса $ZnC_{84}H_{142}O_{24}$ (MW = 1601.42): *Теор.* Н, 8.94, С, 63.00, Zn, 4.08. *Експер.* Н, 8.58, С, 62.65, Zn, 3.57%.

Методи за анализ

Структурното охарактеризиране на комплексите **1-8** е извършено с методите на IR, NMR, FAB-MS спектроскопии, метода на рентгеноструктурен анализ на монокристални образци и елементен анализ. Антибактериалната активност е определена по метода “дифузия в агар”, острата токсичност – по метода на Прозоровски.

Резултати и обсъждане

I. Моноядрени комплекси на MonH с Mg^{2+} (1), Ca^{2+} (2), Ni^{2+} (3) и Zn^{2+} (4)

Взаимодействието на антибиотика монензин киселина (MonH) с двузрядните метални йони на магнезий, калций, никел и цинк води до получаването на моноядрени комплекси (димонензинати). Оптимални резултати бяха получени при молни съотношения метал – лиганд = 1:1. Бяха използвани редица органични разтворители, сред които най-подходящи се оказаха смесените системи MeCN/MeOH, $H_2O/MeCN$ или $H_2O/MeOH$ в обемни съотношения 10:1.

Реакцията между монензин киселина и металните соли в присъствие на органична база (Et_4NOH) води до получаването на комплекси със състав $[M(Mon)_2(H_2O)_2]$, където $M = Mg^{2+}$, Ca^{2+} , Ni^{2+} и Zn^{2+} . Прибавянето на Et_4NOH е важно за координацията на лиганда към двузрядните метални йони, тъй като способства за депротонирането на карбоксилната група на йонофора, респективно за координацията ѝ към металните йони.

Използването на органична база (вместо KOH или NaOH) се налага с цел да се възпрепятства координацията на алкалния йон във вътрешността на монензин.

Рентгеноструктурен анализ на моноядрените комплекси на MonH

Подходящи монокристали от изолираните димонензинати с металните йони Mg^{2+} , Ca^{2+} , Ni^{2+} и Zn^{2+} бяха подложени на рентгеноструктурен анализ. Кристалографските данни са представени в **Табл. 1 и 2**.

Изследваните метални комплекси на монензин представляват неутрални съединения със състав $[M(Mon)_2(H_2O)_2]$. Те кристализират в моноклинна пространствена група $P 2_1$. Металният йон е координиран с шест атома кислород и е с октаедрична геометрия (**Фиг. 2**). Основният хромофор в комплексите е MO_6 . В състава на $[M(Mon)_2(H_2O)_2]$ участват два аниона лиганд и две молекули H_2O . Полиетерният йонофор комплексообразува като бидентатен лиганд с депротонираната карбоксилна група и с крайната хидроксилна група.

Двете молекули лиганд са разположени в *цис*-положение спрямо металния йон и заемат четири места в координационната сфера на M^{2+} . Другите две координационни места са заети от две молекули H_2O . Йоните на четирите изследвани метала не “влизат” в кухнята на лиганда, както се наблюдава при комплексите на монензин с еднорядни метални йони, най-вероятно поради голяма разлика в размерите на кухнята и металния йон.

Таблица 1. Кристалографски данни за 1 и 2

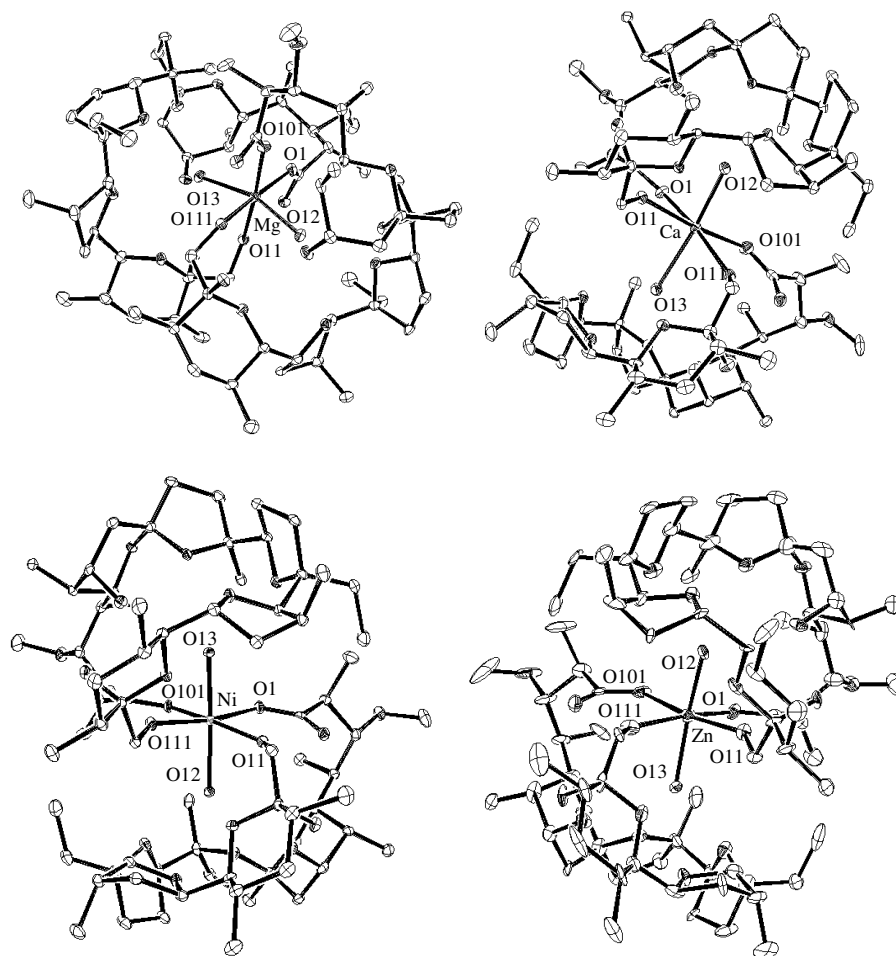
	Комплекс 1	Комплекс 2
Емпирична формула	MgC ₈₂ H ₁₄₁ O ₂₄ N ₅	CaC ₈₂ H ₁₄₃ O ₂₅ N ₅
Молекулна маса	1605.31	1639.09
Кристална система	Моноклинна	Моноклинна
Пространствена група	P 2 ₁	P 2 ₁
<i>a</i> [Å]	12.3337(5)	12.1855(4)
<i>b</i> [Å]	25.1619(9)	25.0185(11)
<i>c</i> [Å]	14.3112(6)	14.6551(5)
β [°]	91.101(4)	90.292(3)
<i>V</i> [Å ³]	4440.5(3)	4467.7(3)
<i>Z</i>	2	2
<i>D_c</i> [Mg/m ³]	1.201	1.218
<i>F</i> (000)	1728	1780
μ [mm ⁻¹]	0.093	0.145
Размер на кристала [mm]	0.10 × 0.13 × 0.21	0.38 × 0.35 × 0.17
θ _{min} -θ _{max} [°]	3.25 – 27.66	3.22 - 27.61
Dataset (<i>h, k, l</i>)	- 16 16, - 31 32, -18 18	-15 15, -18 31, -18 18
Total Refl./Unique Refl.	57624 / 20116	33530 / 14670
Obs. Refl. [<i>I</i> > 2σ(<i>I</i>)]	9019	8758
Data/restraints/parameters	20116 / 8 / 984	14670 / 6 / 1020
R1, wR2 [<i>I</i> > 2s(<i>I</i>)]	0.0605, 0.1398	0.0490, 0.1052
Residuals/eÅ ⁻³	1.290 / -0.363	0.865 / -0.439
GOF	0.807	0.850

Таблица 2. Кристалографски данни за 3 и 4

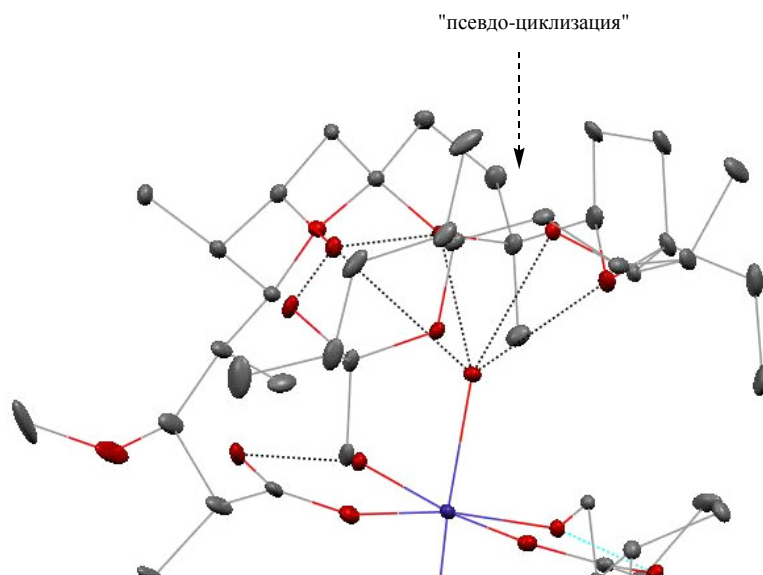
	Комплекс 3	Комплекс 4
Емпирична формула	NiC ₈₂ H ₁₄₃ O ₂₅ N ₅	ZnC ₈₁ H _{141.5} O ₂₅ N _{4.5}
Молекулна маса	1657.72	1643.90
Кристална система	Моноклинна	Моноклинна
Пространствена група	P 2 ₁	P 2 ₁
<i>a</i> [Å]	12.3151(5)	12.5051(8)
<i>b</i> [Å]	24.768(2)	24.7970(16)
<i>c</i> [Å]	14.2427(10)	14.2701(12)
β [°]	91.758(5)	92.809(7)
<i>V</i> [Å ³]	4342.4(5)	4419.7(5)
<i>Z</i>	2	2
<i>D_c</i> [Mg/m ³]	1.268	1.235
<i>F</i> (000)	1796	1778
μ [mm ⁻¹]	0.300	0.352
Размер на кристала [mm]	0.13 × 0.18 × 0.18	0.10 × 0.12 × 0.26
θ _{min} -θ _{max} [°]	3.31 - 27.66	2.85 - 25.11
Dataset (<i>h, k, l</i>)	-16 16, -32 32, -18 9	-14 14, -29 29, -16 17
Total Refl./Unique Refl.	44509 / 20011	33928 / 15576
Obs. Refl. [<i>I</i> > 2σ(<i>I</i>)]	14454	3814
Data/restraints/parameters	20011 / 1 / 1041	15576 / 72 / 1016
R1, wR2 [<i>I</i> > 2s(<i>I</i>)]	0.0353, 0.0649	0.0451, 0.0508
Residuals/eÅ ⁻³	-0.365, 0.513	-0.239, 0.259
GOF	0.817	0.511

Свързването на лиганда към металния йон е от типа “глава – опашка”: карбоксилатният йон и хидроксилната група са разположени в двата края на молекулата на йонофора. Взаимодействието им с металния йон води формирането на т. нар. “псевдо-циклична структура”. Образуват се два силно нагънати 22-членни цикъла, които се стабилизират чрез три вътрешномолекулни водородни връзки от типа $\text{OH}\cdots\text{OH}$, $\text{CH}_2\text{OH}\cdots\text{O}=\text{C}$ (COO^-), $\text{OH}\cdots\text{O}$ (лактон) (**Фиг. 3**).

В координационната сфера на металния йон две молекули H_2O се координират в аксиално положение. Те изпълняват ролята на допълнително стабилизиращ псевдо-циклите фактор, образувайки и четири вътрешномолекулни водородни връзки с лиганда. В елементарната клетка на комплексите не се наблюдават междумолекулни водородни връзки (**Фиг. 4**). От получените досега резултати може да се заключи, че природата на двузрядните метални йони (йонен радиус) не променя съществено геометрията на новополучените съединения в екваториалната плоскост, но оказва влияние върху аксиалната позиция на лиганда, водейки до различна деформация на октаедричната структура около металния център.



Фиг. 2. Кристални структури на комплексите 1, 2, 3 и 4

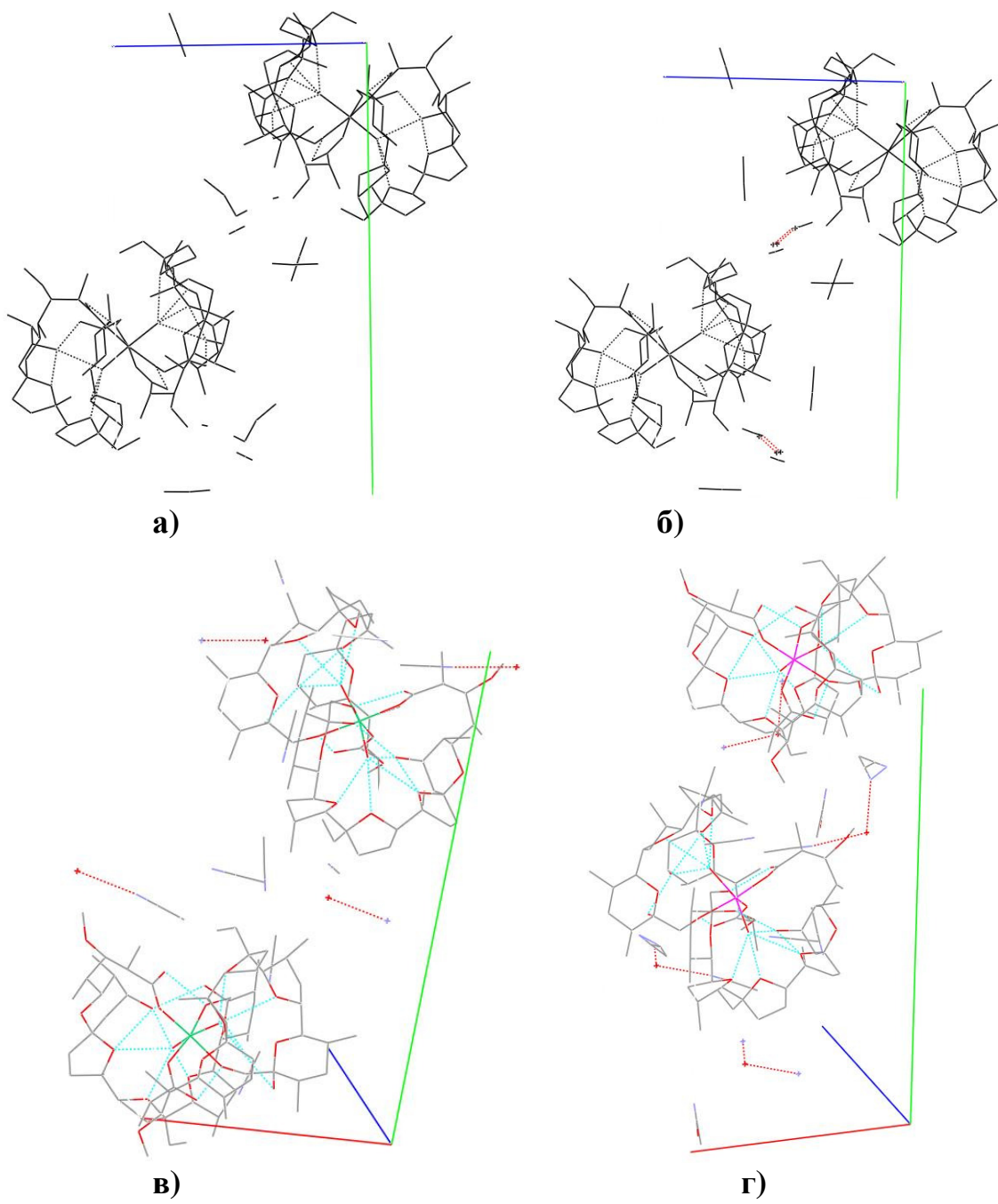


Фиг. 3. Нагъване на молекулата на лиганда и образуване на водородни връзки

Охарактеризираните с помощта на рентгеноструктурен анализ монокристали от **1-4** съдържат молекули разтворител (MeCN и/или H₂O), които не повлияват начина на координация на монензин и не участват в образуването на вътрешномолекулни водородни връзки.

Основните дължини и ъгли на връзките метал – лиганд са представени в **Табл. 3**. В **Табл. 4** са представени вътрешномолекулните водородни връзки, наблюдавани в кристалните структури на димонензинатните комплекси.

Данните от рентгеноструктурния анализ за дължините на връзките метал – лиганд, наблюдавани във всички моноядрени комплекси с двузарядни метални йони, показват, че техните дължини нарастват с увеличаване на йонните радиуси в реда Ni²⁺ < Mg²⁺ < Zn²⁺ < Ca²⁺. В същото време, обаче, природата на металния йон не засяга в значителна степен валентните ъгли в екваториалната равнина на комплексите, тъй като всички те са в интервала от 3-4°, а именно: от 169.55° (Ni²⁺) до 172.16° (Ca²⁺) (O1-M-O111 валентен ъгъл) и от 169.36° (Ni²⁺) до 173.95° (Ca²⁺) (O101-M-11 валентен ъгъл) съответно, с отклонение от порядъка на приблизително 10° от идеалния ъгъл (180°). От данните за структурите, получени досега, може да се отбележи, че йонният радиус на двузарядните метални йони повлиява до известна степен валентните ъгли H₂O-M-H₂O, които нарастват с намаляване на металния йонен радиус в реда: Ni²⁺ (164.2°) > Mg²⁺ (160.4°) > Zn²⁺ (156.0°) > Ca²⁺ (151.2°). Това отклонение, вариращо в рамките на 10°, не повлиява значително дължината на водородните връзки с участие на водните молекули, които са в интервала 2.70-3.03 Å за всички изучени досега съединения.



Фиг. 4. *Элементарна клетка на 1 (а), 2 (б), 3 (в) и 4 (г)*

Таблица 3. Дължини на връзки (Å) и големина на ъгли (°) в димонензинатните комплекси 1-4

Дължина на връзките (Å)	Комплекс 1	Комплекс 2	Комплекс 3	Комплекс 4
M-O1	2.029(3)	2.266(3)	2.0225(14)	2.038(5)
M-O101	2.029(3)	2.253(3)	2.0136(14)	2.047(4)
M-O11	2.130(3)	2.358(3)	2.0762(14)	2.188(4)
M-O111	2.136(3)	2.370(3)	2.0817(14)	2.145(5)
M-O12	2.107(3)	2.341(2)	2.0900(13)	2.159(4)
M-O13	2.102(3)	2.340(3)	2.0849(14)	2.166(5)
Големина на ъглите (°)				
O1-M-O11	86.17(12)	82.44(9)	87.86(6)	87.69(19)
O101-M-O1	88.84(12)	94.63(10)	84.00(6)	88.49(19)
O1-M-O111	171.29(13)	172.17(9)	169.37(6)	170.40(18)
O101-M-O111	85.89(12)	82.54(10)	87.81(6)	86.4(2)
O111-M-O11	99.81(12)	101.03(9)	101.00(6)	97.8(3)
O101-M-O11	172.00(13)	173.94(9)	169.57(6)	171.6(2)
O12-M-O13	160.41(12)	151.22(9)	164.21(6)	155.98(16)

Симетрична позиция: -x, y+1/2, -z

Таблица 4. Вътрешномолекулни водородни връзки (Å) в димонензинатните комплекси 1-4

H-връзки	Комплекс 1	Комплекс 2	Комплекс 3	Комплекс 4
O2-O11	2.575	2.612	2.514	2.518
O102- O111	2.587	2.623	2.517	2.488
O5-O6	2.763	2.808	2.762	2.782
O105-O106	2.771	2.794	2.775	2.762
O5-O10	2.676	2.668	2.675	2.712
O105-O110	2.689	2.650	2.672	2.705
O5-O12	3.006	2.930	2.939	2.934
O105-O13	2.909	2.873	2.896	2.886
O6-O12	3.081	3.027	3.032	2.998
O106-O13	3.024	2.974	2.979	2.981
O7-O12	2.778	2.730	2.776	2.760
O107-O13	2.772	2.720	2.750	2.718
O8-O12	2.970	2.885	2.985	2.964
O108-O13	2.968	2.880	2.973	2.918
N2' OW			2.971 ^a	
N2' OW32				2.944 ^b
N42' OW32				3.043 ^b
O2-O11			2.514	2.518
O102- O111			2.517	2.488

Симетрична позиция : -x, y+1/2, -z (за 1 и 2); x, y, z (за 3 и 4);

^a 1 + x, y, z; ^b 1 - x, 1/2 + y, -z

IR спектрални данни

С цел по-пълно изследване на спектралните им свойства, моноядрените комплекси на монензин киселина бяха анализирани и с метода на IR спектроскопия.

В IR спектъра на $\text{MonH}\cdot\text{H}_2\text{O}$ ивицата при 3520 cm^{-1} се дължи на ν_{OH} от кристализационна вода, а ивицата при 3320 cm^{-1} е отнесена към валентните трептения на хидроксилните групи, участващи във водородни връзки. В спектъра на комплексите в областта $3500\text{-}3100\text{ cm}^{-1}$ се наблюдават ивица при 3490 cm^{-1} , дължаща се на ν_{OH} от координираните към M^{2+} водни молекули и ивици при $3360, 3280\text{ cm}^{-1}$, свързани с ν_{OH} от хидроксилните групи, участващи в разнообразни вътрешномолекулни връзки (координационни и водородни).

Ивицата при 1700 cm^{-1} , която се дължи на наличието на свободна карбоксилна група в монензин киселина, не се наблюдава в спектъра на комплексите, което е доказателство за депротонирането на карбоксилната група на MonH .

В сравнение със спектъра на лиганда, в спектъра на комплексите в областта $1750\text{-}1350\text{ cm}^{-1}$ се наблюдават съществени промени, а именно - регистрирани са две нови ивици при 1550 и 1400 cm^{-1} , които са отнесени към асиметричното ($\nu_{\text{COO}^{\text{as}}}$) и симетричното ($\nu_{\text{COO}^{\text{s}}}$) валентни трептения на карбоксилатния йон, координиран към металния йон. Разликата между двете трептения ($\Delta\nu = 150\text{ cm}^{-1}$) е информативна за монодентатния тип на координиране на карбоксилатния йон в комплексите. В областта $1100\text{-}400\text{ cm}^{-1}$ между спектрите на лиганда и в новосинтезираните комплекси не се забелязват съществени промени.

NMR спектрални изследвания

В настоящата работа детайлно са отнесени NMR сигналите на лиганда и неговите комплекси с Mg^{2+} , Ca^{2+} и Zn^{2+} . Поради ниската разтворимост на металните комплекси в MeCN , NMR спектрите са регистрирани в CDCl_3 .

Резонансните честоти на 1-OH (COOH), 10-OH и 11-OH в монензин киселина се появяват като уширен сигнал при 6.25 ppm, сигналът на 5-OH се наблюдава при 4.50 ppm. Най-надеждното доказателство за депротонирането на карбоксилната група е отсъствието на сигнала на 1-OH в $^1\text{H-NMR}$ спектъра на комплексите. Наблюдава се положително отместване на 5-OH към по-слабо магнитно поле от 4.50 ppm при MonH към 4.85 ppm за $[\text{Mg}(\text{Mon})_2(\text{H}_2\text{O})_2]$, **1** и 4.95 ppm за $[\text{Ca}(\text{Mon})_2(\text{H}_2\text{O})_2]$, **2**, съответно. Получените резултати дават основание да се приеме, че в разтвор тази група е по-силно стабилизирана с вътрешномолекулни водородни връзки, отколкото същата в свободния лиганд, което е в съгласие с данните от рентгеноструктурния анализ. Както може да се види от кристалографските данни, 5-OH участва в три

водородни връзки, взаимодействайки с H₂O-12 от лиганда, етерния кислород O6 и хидроксилната група 10-OH.

При отнасянето на ¹³C{¹H}-NMR спектри на лиганда и комплексите му е най-важно да се обърне внимание на позицията на тези C-атоми, които са повлияни в резултат на координацията и чиито резонансни честоти са значително отместени в сравнение с позицията им в спектъра на свободния монензин. Както се вижда от **Табл. 5**, позицията на 1C значително се отмества към по-ниско поле в спектрите на комплексите в сравнение с тази на MonH ($\Delta = 4.85$ ppm при [Mg(Mon)₂(H₂O)₂], **1**, $\Delta = 4.72$ ppm при [Ca(Mon)₂(H₂O)₂], **2** и $\Delta = 4.57$ ppm при [Zn(Mon)₂(H₂O)₂], **4**, $\Delta = \delta_{\text{комплекс}} - \delta_{\text{MonH}}$). Тези резултати са доказателство за депротониране на карбоксилната група от лиганда, а също така показва, че и в разтвор металният йон е свързан в комплекс с монензин. Подобно отместване се наблюдава при 2, 3, 25, 27 и 29 C-атоми ($\Delta = 0.7-2.5$ ppm), които се намират в непосредствена близост до атомите O1 и O11, координирани с двузарядния метален йон. Образуването на H-връзки между двете водни молекули от лиганда (H₂O-12 и H₂O-13) и етерния кислород O5-O8 също променят значително някои резонансни честоти в ¹³C-NMR спектър.

В **Табл. 5** са представени данните за химичните отмествания на лиганда и на комплексите [Mg(Mon)₂(H₂O)₂], **1**, [Ca(Mon)₂(H₂O)₂], **2** и [Zn(Mon)₂(H₂O)₂], **4** в съответния ¹³C-NMR спектър.

Въпреки че данните от рентгеноструктурния анализ показват известно отклонение от правилната октаедрична структура, никеловият димонензинат [Ni(Mon)₂(H₂O)₂], **3** е с парамагнитни свойства. Това бе потвърдено от проведения ¹H-NMR анализ, който не е информативен, тъй като сигналите са силно разширени и се наблюдават в интервала 71 ppm-0.3 ppm.

Експерименталните данни показват наличието както на положителни, така и на отрицателни отмествания в зависимост от степента на деформация, която търпи лиганда по време на комплексообразуването. Данните от ¹³C-ЯМР за комплексите на монензин с Mg²⁺ (**1**), Ca²⁺ (**2**) и Zn²⁺ (**4**) потвърждават, че:

- Начинът на координиране на йонофора е идентичен за трите комплекса.

- Монензин остава бидентатно свързан както в твърдо състояние, така и в разтвор.

Таблица 5. Данни от $^{13}\text{C-NMR}$ за 1, 2 и 4

C-атом	δ [ppm]				Δ [ppm]		
	MonH	1	2	4	Δ_1	Δ_2	Δ_4
1	177.09	181.94	181.81	181.66	4.85	4.72	4.57
2	41.94	43.70	44.29	42.41	1.76	2.35	0.47
3	81.56	82.28	82.49	81.82	0.72	0.93	0.26
4	36.70	37.08	37.40	36.82	0.38	0.70	0.12
5	67.01	65.66	68.21	67.58	-1.35	1.20	0.57
6	34.54	34.31	34.23	34.40	-0.23	-0.31	-0.14
7	70.74	70.61	70.71	70.56	-0.13	-0.03	-0.18
8	34.03	34.36	34.33	34.21	0.33	0.30	0.18
9	107.79	107.65	107.55	107.68	-0.14	-0.24	-0.11
10	38.36	38.51	38.75	38.42	0.15	0.39	0.06
11	33.73	34.12	33.83	33.91	0.39	0.10	0.18
12	85.14	85.11	85.29	85.06	-0.03	0.15	-0.08
13	83.42	85.06	83.91	83.66	1.64	0.49	0.24
14	27.88	27.60	27.78	27.74	-0.28	-0.10	-0.14
15	31.49	29.26	32.83	30.80	-2.23	1.34	-0.69
16	86.18	87.91	87.12	87.23	1.73	0.94	1.05
17	85.11	85.44	84.35	85.06	0.33	-0.76	-0.05
18	34.45	34.31	34.23	34.31	-0.14	-0.22	-0.14
19	32.58	32.75	31.25	32.61	0.17	-1.33	0.03
20	77.01	77.58	77.46	77.44	0.57	0.45	0.43
21	73.83	72.94	73.56	73.31	-0.89	-0.27	-0.52
22	32.80	33.40	33.34	33.01	0.60	0.54	0.21
23	36.59	36.50	36.73	36.55	-0.09	0.14	-0.04
24	35.68	36.30	35.90	35.55	0.62	0.22	-0.13
25	96.99	98.38	98.63	97.72	1.39	1.64	0.73
26	67.98	67.85	66.35	66.38	-0.13	-1.63	-1.60
27	15.66	16.94	16.81	16.71	1.28	1.15	1.05
28	58.03	57.75	57.94	57.94	-0.28	-0.09	-0.09
29	10.37	11.23	11.36	11.38	0.86	0.99	1.01
30	10.75	10.67	10.76	10.58	-0.08	0.01	-0.17
31	27.69	27.93	27.43	27.81	0.24	-0.26	0.12
32	31.19	30.66	30.79	30.80	-0.53	-0.40	-0.39
33	8.61	8.84	8.73	8.72	0.23	0.12	0.11
34	15.75	15.84	15.74	15.80	0.09	-0.01	0.05
35	17.54	17.39	17.63	17.54	-0.15	0.09	0.00
36	16.32	16.88	16.97	16.71	0.56	0.65	0.39

$$\Delta_1 = \delta_1 - \delta_{\text{MonH}}; \Delta_2 = \delta_2 - \delta_{\text{MonH}}; \Delta_3 = \delta_4 - \delta_{\text{MonH}}$$

Масспектрално изследване

Основните молекулни йони, регистрирани във FAB-MS спектрите на комплексите **1-4**, са представени на **Схеми 1 и 2**.

Спектрите на **1** и **2** съдържат голям брой сигнали, някои от които се дължат на молекулни йони, получени след отделяне на водни молекули от комплексите, йон на лиганда и свързване на Na⁺ йони [M(C₃₆H₆₁O₁₁)Na]⁺ (**1a**: M = Mg; **2a**: M = Ca), както и на йони, образувани при процесите на асоциация/дисоциация, протичащи в газова фаза (**1b**, **2c-f**).

Съпоставянето на данните от мас-спектрите на димонензинатните комплекси, познати досега, показва, че могат да се наблюдават йони с различен състав при всеки един от случаите, в зависимост от тяхната стабилност в газова фаза и афинитета на комплексите да формират асоциати. В спектрите на новосинтезираните комплекси се наблюдават и пикове от [MopH]Na⁺, дължащи се на следи от натриеви йони в матрицата (1-хлоро-4-нитробензен), тъй като йонофорът има силно изразен афинитет към свързване на натриеви йони.

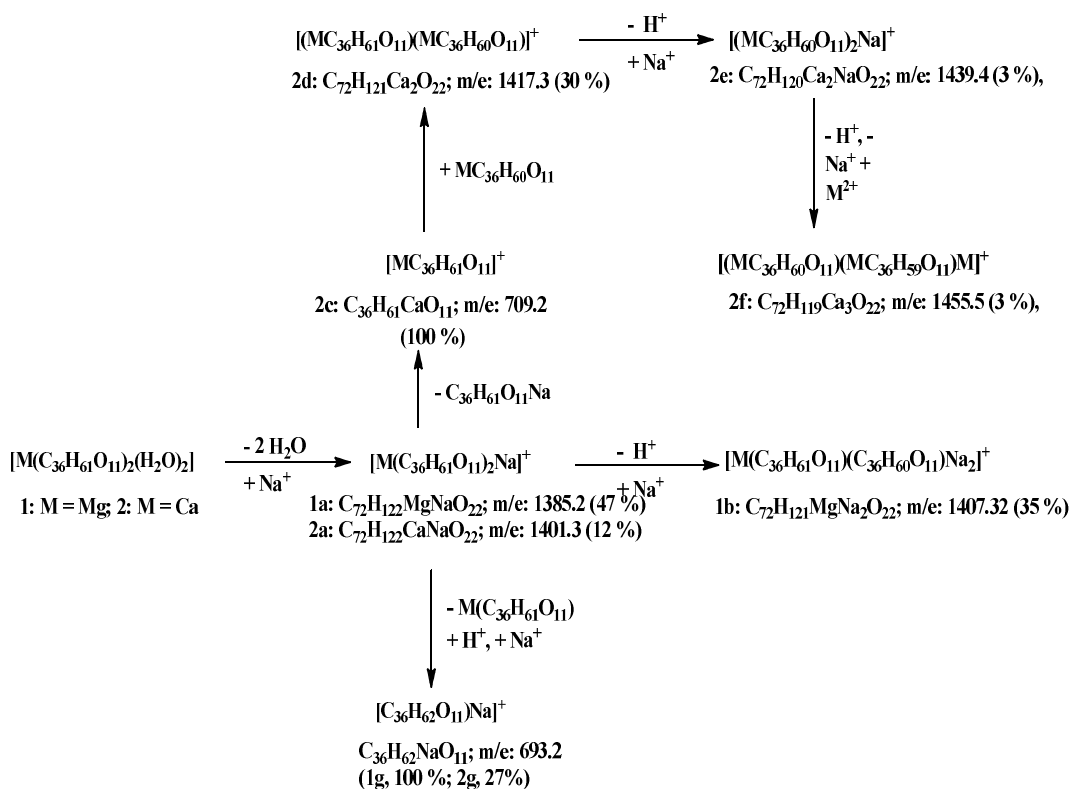


Схема 1. Основни йони, наблюдавани във FAB-MS спектрите на комплекси **1** и **2**

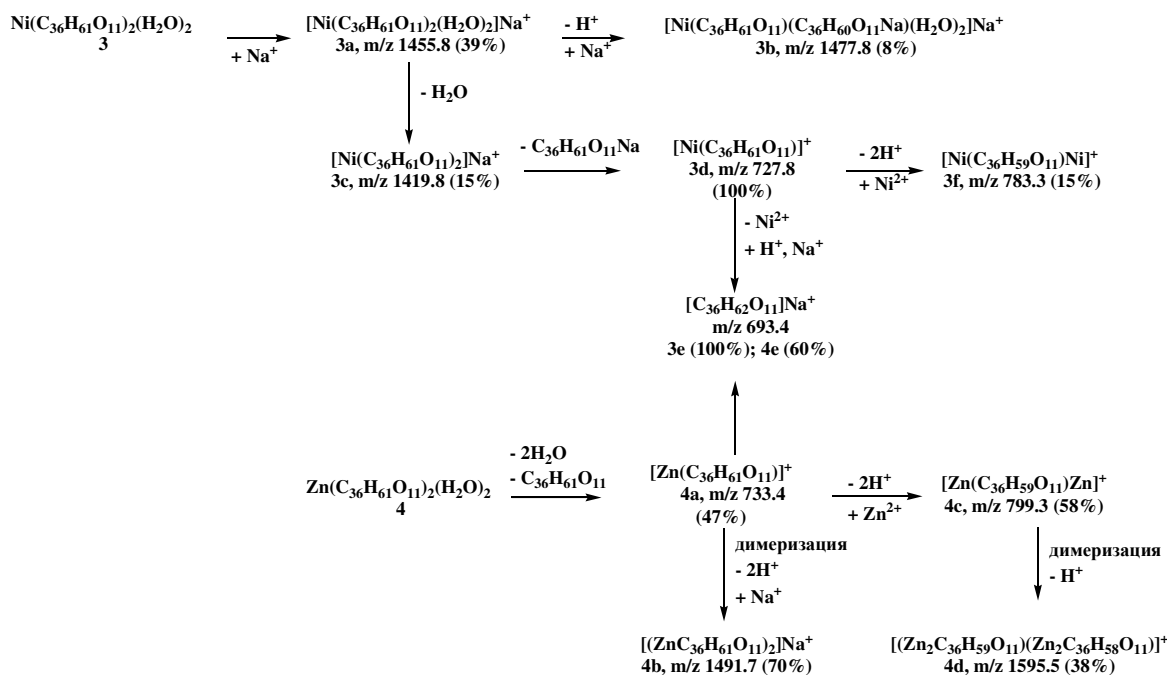


Схема 2. Основни йони във FAB-MS спектрите на 3 и 4

Както се вижда от представените резултати, FAB-MS данните потвърждават образуването на металните комплекси с монензин киселина.

II. Моноядрени комплекси на SalNa с Mg^{2+} (5), Ca^{2+} (6), Ni^{2+} (7) и Zn^{2+} (8)

Реакцията между салиномицин натрий и металните соли води до получаването на комплекси със състав $[\text{M}(\text{Sal})_2(\text{H}_2\text{O})_2]$, където $\text{M} = \text{Mg}^{2+}$, Ca^{2+} , Ni^{2+} и Zn^{2+} . Като реакционна среда бяха използвани редица органични разтворители, сред които най-подходящи се оказаха смесените системи MeCN/MeOH, $\text{H}_2\text{O}/\text{MeCN}$ или $\text{H}_2\text{O}/\text{MeOH}$ в съотношения 10:1. Резултатите от проведения елементарен анализ показват, че изчислените теоретични стойности за новополучените съединения са в добро съответствие с експериментално получените.

Двузарядните метални йони изместват Na^+ йон от “кухината” на лиганда, водейки най-вероятно до образуването на моноядрени комплекси със състав $\text{M} : \text{Sal} = 1 : 2$.

За разлика от металните комплекси на монензин, тези на салиномицин не кристализират в използваните за синтез смесени разтворители. С цел получаване на монокристали, подходящи за рентгеноструктурен анализ, бяха направени многобройни опити за прекристализация на комплексите в единичен и смесен разтворител. Като единични разтворители са използвани хексан, етанол, DMSO и MeOH. След бавно концентриране на получените разтвори при стайна температура се получават плочковидни кристали, които не са

подходящи за рентгеноструктурен анализ. Получаването на кристали при по-ниски температури не доведе до подобряване на качеството им. При използването на смесени разтворители (H₂O/MeOH, H₂O/MeCN и THF/хексан) също не бяха изолирани подходящи монокристали. По тази причина структурата на комплексите бе изследвана само с помощта на IR, NMR и FAB-MS методи.

IR спектрални данни

Спектралните свойства на новополучените съединения в твърдо състояние са изследвани посредством IR спектрален анализ. В IR спектрите на салиномицин натрий и салиномицин киселина се наблюдава широка ивица при 3500-3300 cm⁻¹, отнесена към хидроксилни групи, участващи във водородни връзки. Ивицата при 1710 cm⁻¹ съответства на валентното трептене на карбонилна група. В спектъра на салиномицин киселина ивицата, характерна за свободна карбоксилна група, се наблюдава при 1700 cm⁻¹, докато трептенията за депротонирана COO⁻ при салиномицин натрий и комплексните съединения са регистрирани при 1550 cm⁻¹ и 1400 cm⁻¹. В спектрите на комплексите на салиномицин ивицата при 3400 cm⁻¹ е отнесена за валентно трептене на хидроксилни групи от лиганда и водни молекули.

Ивиците при 1550 и 1400 cm⁻¹ са характерни съответно за асиметричното и симетричното валентни трептения на карбоксилатен анион. Съществена разлика между спектрите на лиганда салиномицин натрий и новополучените съединения не се наблюдава поради участието на аналогични функционални групи при координацията с Na⁺ и M²⁺ (M = Mg, Ca, Ni, Zn). Разлика, по-малка от 200 cm⁻¹ между ивиците, съответстващи на асиметрично и симетрично валентно трептене на карбоксилатен анион, показва, че се реализира монодентатен начин на координиране на депротонираната карбоксилна група към металния център. Регистрираната ивица при 1690 cm⁻¹ съответства на валентно трептене на карбонилната група C=O. Обобщените данни за валентните трептения в IR спектрите на лиганда и съединенията му са представени в **Табл. 6**.

Таблица 6. IR данни за валентните трептения на SalNa и новосинтезираните комплекси 5-8

<i>Ивици</i>	<i>SalNa</i>	<i>Комплекси 5-8</i>
ν_{OH}	3330 cm ⁻¹	3400 cm ⁻¹ 3450 cm ⁻¹
$\nu_{C=O}$	1710 cm ⁻¹	1690 cm ⁻¹
$\nu^{as}_{COO^-}$	1560 cm ⁻¹	1550 cm ⁻¹
$\nu^s_{COO^-}$	1400 cm ⁻¹	1400 cm ⁻¹

NMR спектрални данни

IR-данните сочат, че най-вероятно комплексите **5-8** са изоструктурни. За потвърждаване начина на координация на салиномицин в разтвор бе проведено мултиядрено изследване с ядрен магнитен резонанс върху комплекс **8**, използван като моделна система. Диамагнитният комплекс на цинк $[\text{Zn}(\text{Sal})_2(\text{H}_2\text{O})_2]$, **8**, салиномицин натрий и салиномицин киселина са разтворени в CD_3CN .

В **Табл. 7** са представени данните за химичните отмествания (^1H -NMR и ^{13}C -NMR) на салиномицин киселина, салиномицин натрий и Zn^{2+} комплекс на салиномицин, **8**.

Литературните данни от рентгеноструктурния анализ за салиномицин натрий показват, че кислородните атоми 1a, 1b, 21 и 25 (**Фиг. 1**) взаимодействат с Na^+ , докато кислородните атоми от всички хидроксилни групи не участват в координацията към Na^+ . Тези резултати са подкрепени и от NMR-данните, получени при сравняване на NMR-спектрите на салиномицин киселина и салиномицин натрий, регистрирани в разтвор.

Основно отместване в спектрите на SalNa и $[\text{Zn}(\text{Sal})_2(\text{H}_2\text{O})_2]$, **8** спрямо този на SalH се наблюдава за тези въглеродни атоми, които са в близост до O-атоми, координирани към металния йон. Сигналите за 1C, 2C, 3C и 11C в спектъра на SalNa са регистрирани в значително по-слабо поле вследствие координацията на Na^+ . Прави впечатление значителното отместване на сигнала за 11C, откъдето може да се направи изводът, че и в разтвор в комплекса SalNa кето-групата е координирана към Na^+ за разлика от комплекс $[\text{Zn}(\text{Sal})_2(\text{H}_2\text{O})_2]$, **8**.

Експерименталните данни показват значителни промени в химичното отместване на ^{13}C сигналите за комплекс **8** в сравнение със SalH и SalNa . Наблюдаваното химично отместване за 1C-атом доказва наличието на координирана карбоксилна група в комплексите с Na^+ и Zn^{2+} . Промени в химичното отместване в спектъра на Zn^{2+} комплекс се наблюдават и при въглеродни атоми 13C, 19C, 26C, 36C, което вероятно се дължи на тяхната близост до цинковия йон.

Разликата в позицията на повечето C-атоми в SalNa и цинковия комплекс в сравнение със салиномицин киселина предполага различна конформация на молекулата на лиганда вследствие на комплексобразователния процес. От друга страна, значителни отклонения се наблюдават и между спектрите на салиномицин натрий и комплекс **8**, което дава основание да се смята, че лигандът координира по различен начин с едно- и двузарядни метални йони.

Таблица 7. ^1H - и ^{13}C -NMR химични отмествания на салиномицин киселина, салиномицин натрий и комплекс 8 (CD_3CN)

C - атом	Салиномицин киселина		Салиномицин натрий			Комплекс 8		
	^1H	^{13}C	^1H	^{13}C	Δ^a	^1H	^{13}C	Δ^b
1		177.86		185.06	-7.20		185.30	-7.44
2	2.95	49.25	2.77	51.62	-2.37	2.93	49.55	-0.30
3	3.90	75.51	3.78	76.99	-1.48	3.91	76.09	-0.58
4	1.90/1.44	20.77	1.86/1.40	20.42	0.35	1.86/1.43	20.85	-0.08
5	1.84/1.44	26.94	1.84/1.43	27.43	-0.49	1.85	27.01	-0.07
6	1.80	29.06	1.71	28.94	0.12	1.80	29.12	-0.06
7	3.60	72.73	3.63	72.12	0.61	3.65	72.51	0.22
8	1.47	37.06	1.42	36.76	0.30	1.48	36.98	0.08
9	4.09	69.89	4.04	69.24	0.65	4.07	69.58	0.31
10	2.95	49.09	2.79	49.91	-0.82	2.70	49.53	-0.44
11		215.53		220.23	-4.70		212.80	2.73
12	2.66	56.80	2.75	56.55	0.25	2.70	57.00	-0.20
13	3.70	78.60	3.67	76.87	1.73	3.89	76.09	2.51
14	1.71	33.66	1.69	33.44	0.22	1.81	33.69	-0.03
15	1.58/1.12	39.09	1.67/1.16	39.16	-0.07	1.56/1.12	39.34	-0.25
16	1.59	41.42	1.62	41.48	-0.06	1.61	41.63	-0.21
*17		100.14		100.00	0.14		100.23	-0.09
18	6.06	123.43	6.05	123.57	-0.14	6.04	123.02	0.41
19	5.90	133.65	5.79	130.58	3.07	5.87	133.28	0.37
20	3.84	68.10	4.02	67.46	0.64	3.95	67.90	0.20
*21		107.72		107.52	0.20		107.64	0.08
22	2.24/1.88	37.49	2.17/1.94	38.10	-0.61	2.27/1.90	37.10	0.39
23	2.24/1.71	31.53	1.90/1.65	33.15	-1.62	1.34/1.29	32.10	-0.57
*24		89.04		89.20	-0.16		89.00	0.04
25	3.91	75.05	3.51	75.11	-0.06	3.91	75.10	-0.05
26	1.60/1.53	22.72	2.17/1.35	20.72	2.00	1.85/1.44	20.85	1.87
27	1.62/1.55	30.19	1.58	29.57	0.62	1.55/1.27	30.16	0.03
*28		71.47		70.80	0.67		71.67	-0.20
29	3.70. m	77.83	4.05	77.88	-0.05	3.76	77.88	-0.05
30	1.16	15.31	1.24	15.12	0.19	1.19	15.30	0.01
31	1.29	31.92	1.30/1.26	32.86	-0.94	1.28	32.11	-0.19
32	0.85	6.79	0.87	6.87	-0.08	0.85	6.88	-0.09
33	1.36	26.03	1.62	27.76	-1.73	1.41	26.54	-0.51
34	0.69	15.99	0.70	16.29	-0.30	0.69	16.00	-0.01
35	0.85	17.86	0.89	17.87	-0.01	0.86	18.05	-0.19
36	1.88/1.42	18.68	1.88/1.32	16.20	2.48	1.85/1.43	20.87	-2.19
37	0.79	14.15	0.76	13.31	0.84	0.79	13.92	0.23
38	0.77	13.47	0.79	12.94	0.53	0.79	13.53	-0.06
39	0.73	7.83	0.70	7.18	0.65	0.73	7.74	0.09
40	0.94	11.65	0.91	11.27	0.38	0.92	11.75	-0.10
41	1.44	23.47	1.33/1.23	24.17	-0.70	1.37	23.45	0.02
42	0.91	12.20	0.85	12.94	-0.74	0.88	12.49	-0.29

$$\Delta^a = \delta_{\text{SalH}} - \delta_{\text{SalNa}}; \Delta^b = \delta_{\text{SalH}} - \delta_8$$

Масспектрално изследване

Основните молекулни видове, регистрирани във FAB-MS спектрите на комплексите $[\text{Ni}(\text{Sal})_2(\text{H}_2\text{O})_2]$, **7** и $[\text{Zn}(\text{Sal})_2(\text{H}_2\text{O})_2]$, **8**, са представени на **Табл. 8**. Спектрите на комплексите съдържат голям брой сигнали, някои от които се дължат на молекулни йони, получени след отделяне на водни молекули от комплексите, анион на лиганда и свързване на Na^+ йони $[(\text{C}_{42}\text{H}_{69}\text{O}_{11})\text{Na}]\text{Na}^+$, както и на йони, образувани чрез процесите на асоциация/дисоциация, протичащи в газова фаза.

Съпоставянето на получените данни с тези от мас-спектрите на димонензинатните комплекси, познати досега, показва, че могат да се наблюдават йони с различен състав при всеки един от случаите в зависимост от афинитета на комплексите да формират асоциати и от тяхната стабилност в газова фаза. Регистрирани са пикове, съответстващи по маса/заряд на комплексни молекулни йони, в които се съдържат лигандът и съответният двузаряден метален йон.

Таблица 8. Данни от FAB-MS за салиномицин натрий и комплексите **7** и **8**

Съединения	Молекулни пикове	m/z
SalNa	$[(\text{C}_{42}\text{H}_{69}\text{O}_{11})\text{Na}]\text{H}^+$	773.4
	$[(\text{C}_{42}\text{H}_{69}\text{O}_{11})\text{Na}]\text{Na}^+$	795.4
Комплекс 7	$[(\text{C}_{42}\text{H}_{69}\text{O}_{11})\text{Ni}]^+$	807.5
	$[(\text{C}_{42}\text{H}_{69}\text{O}_{11})\text{Na}]\text{H}^+$	773.4
Комплекс 8	$[(\text{C}_{42}\text{H}_{69}\text{O}_{11})\text{Zn}]^+$	814.9
	$[(\text{C}_{42}\text{H}_{69}\text{O}_{11})\text{Na}]\text{H}^+$	773.6

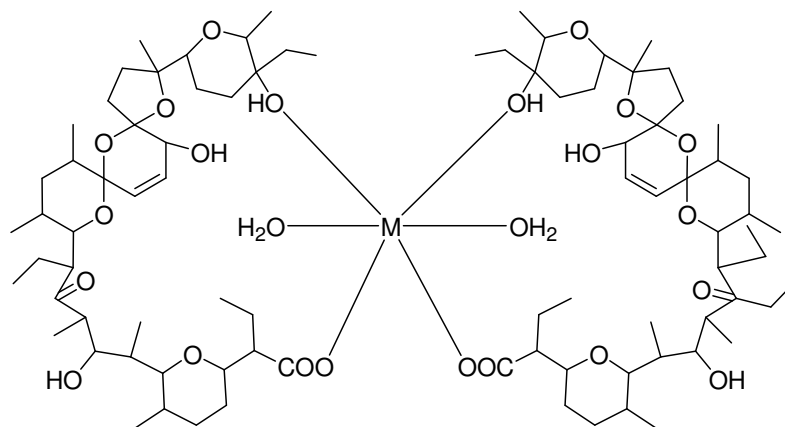
Предполагаема структура на дисалиномицинатните комплекси **5-8**

Елементният анализ за комплексите на салиномицин показва, че те не съдържат натрий, откъдето следва, че двузарядните метални йони го отстраняват от кухнята на лиганда и съединенията са със състав $[\text{M}(\text{Sal})_2(\text{H}_2\text{O})_2]$.

Най-вероятно два еднозаредени салиномицинатни аниона се координират към металния център, подобно на монензинатните аниони, т.е. посредством крайните депротонирана карбоксилна и хидроксилна групи. Такъв вид координация води до “псевдо-циклизация” на молекулата на лиганда. Салиномицинатните аниони реагират бидентатно в екваториалната равнина на металния йон, докато аксиалните позиции се заемат от двете молекули вода. Допълнителното стабилизиране на съединенията се осъществява посредством водните молекули и водородни връзки от етерните и хидроксилни групи от лиганда.

Резултатите от проведените анализи ни дават основание да предположим, че комплексите на салиномицин с двузарядните метални йони на магнезий, калций, никел и цинк са с октаедрична молекулна геометрия, аналогична на структурата на комплексите на монензин.

Въз основа на всички получени експериментални данни е предположена следната структура за комплекси 5-8 (**Фиг. 5**).



Фиг. 5. Предполагаема структура на комплексите на салиномицин с двузарядни метални йони

III. Биологични свойства на лигандите и комплекси 1-8

Действието на полиетерните карбоксилни йонофори и терапията с тях са насочени и към лечение на инфекции, причинени от Грам(+) бактерии. Интерес представлява сравнението на биологичните свойства на лигандите (монензин киселина, монензин натрий, салиномицин киселина и салиномицин натрий) с тези на новополучените и охарактеризирани досега комплекси с двузарядни метални йони. Познаването на този аспект от свойствата на полиетерните йонофори и техните комплекси би позволило използването им като моделна система, активна срещу Грам(+) микроорганизми, и да се обогатят познанията за терапията на бактериалните инфекции.

Резултатите от първоначалните биологични изследвания, получени за вече охарактеризирани комплекси на Mn^{2+} и Co^{2+} с MonH, дадоха основание да се проведе серия микробиологични тестове и с новосинтезираните комплекси и съответните лиганди.

Антибактериална активност на лигандите и новополучените комплекси 1-8 срещу Грам(+) аеробни микроорганизми

При *in vitro* експериментите са използвани три Грам(+) микроорганизма - *B. subtilis*, *B. mycoides* и *S. lutea*, които са бактерии, образуващи устойчиви спори. В настоящата дисертация са представени резултати, получени при изследванията на новосинтезираните

комплекси, използваните изходни метални соли и свободните лиганди срещу посочените три щама.

Ефектът на металните соли не влияе върху видимото прорастване на бактериите и може да бъде пренебрегнат, тъй като техните минимални инхибиращи концентрации (MIC) попадат в милимоларния концентрационен интервал. Обобщените резултати са изразени в μM и са представени в **Табл. 9**.

Таблица 9. MIC на монензин киселина, монензин натрий, салиномицин киселина и салиномицин натрий и комплекси 1-8

Съединения	Култура	<i>B. subtilis</i> MIC, μM	<i>S. lutea</i> MIC, μM	<i>B. mycoides</i> MIC, μM
монензин киселина		23.9	23.9	11.9
монензин натрий		23.2	23.2	11.3
салиномицин киселина		42.6	42.6	21.3
салиномицин натрий		20.2	20.2	10.1
[Mg(Mon) ₂ (H ₂ O) ₂], (1)		1.4	1.4	0.7
[Ca(Mon) ₂ (H ₂ O) ₂], (2)		1.4	1.4	0.7
[Ni(Mon) ₂ (H ₂ O) ₂], (3)		1.4	> 700	0.7
[Zn(Mon) ₂ (H ₂ O) ₂], (4)		1.4	> 700	0.7
[Mg(Sal) ₂ (H ₂ O) ₂], (5)		10.1	10.1	5.0
[Ca(Sal) ₂ (H ₂ O) ₂], (6)		10.1	10.1	5.0
[Ni(Sal) ₂ (H ₂ O) ₂], (7)		10.0	10.0	5.0
[Zn(Sal) ₂ (H ₂ O) ₂], (8)		9.9	9.9	1.2
MgCl ₂ .6H ₂ O		5 x 10 ³	5 x 10 ³	1 x 10 ³
CaCl ₂		5 x 10 ³	5 x 10 ³	1 x 10 ³
Ni(NO ₃) ₂ .6H ₂ O		3 x 10 ³	3 x 10 ³	3 x 10 ³
Zn(NO ₃) ₂ .6H ₂ O		3 x 10 ³	3 x 10 ³	3 x 10 ³

Известно е, че щамовете *Bacillus subtilis* и *Sarcina lutea* продуцират полизахаридна капсула около колониите си, която има защитна функция. Това обяснява и по-ниската им чувствителност спрямо изследваните препарати в сравнение с тази на *Bacillus mycoides*.

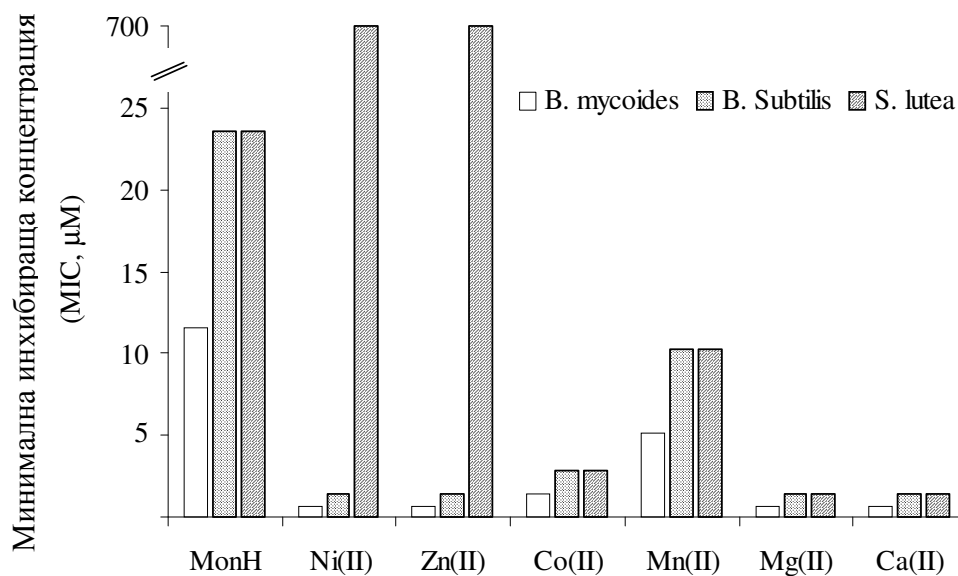
От експерименталните резултати се вижда, че монензин киселина проявява активност, аналогична на тази на монензин натрий. Очевидно “извличането” на алкалния йон от полиетерната верига на лиганда не повлиява съществено биологичната активност на MonH срещу изследваните бактерии. За разлика от тях, салиномицин киселина и салиномицин натрий се различават значително по отношение на активността си. От проведените микробиологични изследвания следва, че салиномицин киселина е около два пъти по-нетоксична от салиномицин натрий.

Монензин киселина инхибира бактериалното развитие при относително високи концентрации (MIC = 23.9 μM - *B. subtilis*, *S. lutea* и MIC = 11.9 μM - *B. mycoides*), докато активността на новосинтезираните комплекси 1-4 е значително по-висока (MIC = 1.4 μM - *B. subtilis* и MIC

= 0.7 μM - *B. mycooides*). Резултатите показват значително нарастване на цитотоксичното действие на комплексите (около 20 пъти) в сравнение с ефекта на некоординирания антибиотик. Същевременно трябва да се подчертае, че комплекси **3** и **4** не инхибират растежа на щама *S. lutea* в изследвания концентрационен интервал (700 μM - 0.17 μM), докато **1** и **2** проявяват повишена антибактериална активност в сравнение с монензин.

Комплексите, получени от монензин киселина, притежават повишена цитотоксичност срещу използваните щамове в сравнение с тази на свободния лиганд. Имайки предвид, че ефектът на металните соли е пренебрежим, може да се заключи, че антибактериалната активност на комплексите не се дължи на адитивен ефект от участващите в тях компоненти. Най-вероятно тя се дължи на повишената проникваща способност на димонензинатите през бактериалната клетъчна мембрана.

На **Фиг. 6** са сравнени минималните инхибиращи концентрации на всички получени досега комплекси на монензин киселина.



Фиг. 6. MIC на всички получени досега комплекси на MonH

Минималните инхибиращи концентрации на салиномицин киселина, салиномицин натрий и комплексите **5-8** са представени в **Табл. 9**.

Салиномицинатните комплекси проявяват по-висока антибактериална активност в сравнение със салиномицин киселина и салиномицин натрий. За разлика от комплекси **3** и **4** на монензин киселина, които не проявяват активност срещу *S. lutea*, салиномицинатните комплекси **7** и **8** с Ni^{2+} и Zn^{2+} проявят четири пъти по-висока антибактериална активност от SalH и два пъти по-висока от

SalNa. За разлика от съединения 5-8, комплексът на салиномицин с Mn^{2+} е най-нетоксичен, особено спрямо щама *S. lutea* (MIC = 78.6 μM). Данните за минималната инхибираща концентрация, получени и за други комплекси на салиномицин показват, че активността на комплексите зависи както от вида на металния йон, така и от вида на използвания микроорганизъм.

В заключение може да се направи изводът, че координацията на двузарядните метални йони е от изключително важно значение за повишаване активността на монензин и салиномицин срещу Грам(+) аеробни микроорганизми.

Антибактериална активност на MonH и новосинтезираните комплекси 1-4 срещу Грам(+) анаеробна бактерия

Извършено бе изследване на серия комплекси на природния полиетерен йонофорен антибиотик монензин киселина с двузарядни метални йони за оценка на тяхната цитотоксичност срещу бактерията *Clostridium perfringens*. Той е Грам положителен, пръчковиден, спорообразуващ и неподвижен анаероб, известен като един от причинителите на газовата гангрена.

Получените минимални инхибиращи концентрации за монензин и неговите комплекси с двузарядни метални йони от проведения експеримент срещу *Cl. perfringens* са представени в Табл. 10.

Таблица 10. Антибактериална активност на комплекси на MonH с двузарядни метални йони срещу *Cl. perfringens*

Съединения	Култура	<i>Cl. perfringes</i> MIC, μM
монензин киселина		11.60
монензин натрий		2.90
[Mg(Mon) ₂ (H ₂ O) ₂], (1)		0.70
[Ca(Mon) ₂ (H ₂ O) ₂], (2)		1.40
[Ni(Mon) ₂ (H ₂ O) ₂], (3)		0.70
[Zn(Mon) ₂ (H ₂ O) ₂], (4)		0.17

В сравнение с минималните инхибиращи концентрации срещу аеробните микроорганизми (*B. subtilis*, *B. mycoides* и *S. lutea*), при анаеробната бактерия *Cl. perfringens* прави впечатление разликата в проявената активност на изследваните лиганди - монензин натрий е значително по-токсичен в сравнение с монензин киселина.

Най-висока активност спрямо *Cl. perfringens* проявява димонензинатният комплекс с Zn^{2+} , докато комплексът с Ca^{2+} е най-слабо токсичен. Всички изследвани досега новополучени комплекси на монензин са с повишена цитотоксичност спрямо свободния лиганд.

Получените резултати са още едно доказателство, че влиянието на металния йон в състава на комплексите е различно при различните

видове микроорганизми и всяко новополучено комплексно съединение следва да бъде по-пълно охарактеризирано както в химично, така и в биологично отношение.

Остра токсичност на MonH, SalNa и цинковите комплекси [Zn(Mon)₂(H₂O)₂] (4), [Zn(Sal)₂(H₂O)₂] (8)

В хода на изследванията възникна въпросът дали има пряка връзка между антибактериалната активност и токсичността на изходните съединения и техните комплекси. За целта бе определена острата токсичност (LD₅₀) в опити *in vivo* по метода на Прозоровски. Третиранни са четири групи животни, като във всяка група са включени по два индивида. Определена е средната смъртна доза (LD₅₀) на следните моделни системи - цинковите комплекси [Zn(Mon)₂(H₂O)₂], 4, и [Zn(Sal)₂(H₂O)₂], 8, и данните са сравнени с тези за съответните антибиотици.

Поради ниската разтворимост на изследваните съединения, те се въвеждат в организма под формата на суспензия във вода чрез гастрална сонда. Преживяемостта на третираните животни е отчетена след 24 часа. С цел правилното интерпретиране на токсикологичния резултат и отстраняване на нежелани странични ефекти, животните се оставят без храна за период от 12 часа преди въвеждане на изследваното вещество.

Наблюдават се изменения в клиничната картина на третираните опитни животни в зависимост от вида и дозата на внесеното вещество.

Третираните с ниски дози **монензин киселина** животни не се характеризират с промяна в поведението, докато **цинковият димонензинат** [Zn(Mon)₂(H₂O)₂], 4, предизвиква адинамия, загуба на обръщателен рефлекс, задните крайници се изпъват встрани, при някои индивиди се наблюдава подскачане и клонични гърчове като дишането е затруднено.

При третиране на животните със **салиномицин натрий** се забелязва повишена двигателна активност, учестено дишане (тахипнея). На втория час се установява атаксия, загуба на рефлекс за обръщане (странично положение) и поведение, характеризиращо се с настръхване на козината и силно изразена агресия между индивидите. **Цинковият дисалиномицинат** не предизвиква съществени промени до един – два часа след въвеждането. Животните са жизнени, с повишена локомоторна активност. До няколко часа започват да се наблюдават значителни промени в поведението им – стават потиснати, сънливи и със загуба на рефлекс. Дозите изследвани съединения, причиняващи летален изход (LD₅₀), са обобщени в **Табл. 11**.

Таблица 11. LD₅₀ на монензин киселина, салиномицин натрий и цинкови комплекси 4 и 8

Проби	LD₅₀ [mg/kg]	LD₅₀ [mmol/kg]
MonH	87.0 (63-120)	0.130
[Zn(Mon) ₂ (H ₂ O) ₂], 4	34.2 (23-51)	0.024
SalNa	21.6 (15-32)	0.029
[Zn(Sal) ₂ (H ₂ O) ₂], 8	108 (73-160)	0.067

От резултатите за LD₅₀, представени в [mg/kg], следва, че цинковият дисалиномицинат е най-слабо токсичен в сравнение с останалите съединения. За коректното интерпретиране на получените данни е необходимо да се вземе предвид и състава на изследваните вещества.

От стойностите за леталната доза, изразена в [mmol/kg], следва, че монензин киселина е най-нетоксична, докато салиномицин натрий и цинковият комплекс на монензин са най-токсични. За разлика от MonH, съответният комплекс [Zn(Mon)₂(H₂O)₂], 4, е около пет пъти по-токсичен, докато комплексът [Zn(Sal)₂(H₂O)₂], 8, е около два пъти по-нетоксичен от SalNa.

Проведените изследвания върху острата токсичност на салиномицин натрий и цинковия дисалиномицинат показват, че цинковият комплекс 8 е с по-висока антибактериална активност, но е по-нетоксичен върху лабораторни животни спрямо изходния антибиотик.

Изследванията върху токсичността и на останалите метални комплекси на полиетерните йонофори следва да продължат и в бъдеще с цел по-пълно охарактеризиране на техните биологични свойства, както и за намирането на по-ефективни и същевременно по-нетоксични препарати с антибиотично действие.

Изводи

На базата на получените резултати могат да се направят следните изводи:

1. За първи път са синтезирани осем нови комплекса на полиетерните йонофорни антибиотици с йоните на биометалите магнезий, калций, никел и цинк. Тяхната структура е изследвана чрез методите на IR, NMR, FAB-MS спектроскопия. За четири от комплексите е дешифрирана структурата им с рентгенова дифракция на монокристални образци, които са с геометрия на деформиран октаедър и съотношението метал – лиганд е 1:2.

2. Цитотоксичните свойства на лигандите и новополучените комплекси са охарактеризирани срещу три Грам(+) аеробни и една Грам(+) анаеробна бактерии. Координирането на металните йони повлиява положително антибактериалната активност на свободните лиганди, т.е. комплексите са с по-силно изразена цитотоксичност.

3. За първи път е определена острата токсичност (LD_{50}) на цинкови комплекси на полиетерните йонофорни антибиотици върху лабораторни животни. Цинковият дисалиномицинат е по-ефективен препарат от салиномицин, тъй като съчетава по-висока антибактериална активност с по-ниска токсичност.

Списък

на научните публикации, включени в дисертационната работа
и забелязани цитати

1. I. N. Pantcheva, **R. Zhorova**, M. Io. Mitewa, W. S. Sheldick, Divalent Metal Complexes of the Monovalent Polyether Ionophorous Antibiotic Monensin, in: *Insights into Coordination, Bioinorganic and Applied Inorganic Chemistry*, M. Melník, P. Segl'a, M. Tatarko (Eds.), Press of Slovak University of Technology, Bratislava, (2009) pp. 257-268.

2. I. N. Pantcheva, **R. Zhorova**, M. Mitewa, S. Simova, H. Mayer-Figge, W. S. Sheldrick, First Solid State Alkaline-Earth Complexes of Monensic A Acid: X-ray Crystal Structure of $[M(\text{Mon})_2(\text{H}_2\text{O})_2]$ (M = Mg, Ca), Spectral Properties and Cytotoxicity against Gram-Positive Bacteria, *BioMetals* **23(1)** (2010) 59-70. (IF 3.172).

Забелязани цитати:

2.1. B. S. Sekhon, Metalloantibiotics and antibiotic mimics - an overview, *J Pharm Educ Res* **1(1)** (2010) 1-20.

2.2. D. Łowicki, A. Huczynski, B. Brzezinski, F. Bartl, ^1H , ^{13}C NMR, FT-IR, ESI MS and PM5 studies of a new 3,6,9-trioxadecylamide of monensin A and its complexes with Li^+ , Na^+ and K^+ cations, *J. Mol. Struct.* **990(1-3)** (2011) 121-131.

2.3. A. Huczynski, D. Łowicki, M. Ratajczak-Sitarz, A. Katrusiak, B. Brzezinski, Structural investigation of a new complex of N-allylamide of Monensin A with strontium perchlorate using X-ray, FT-IR, ESI MS and semiempirical methods, *J. Mol. Struct.* (2011)
doi:10.1016/j.molstruc.2011.03.024

3. I. N. Pantcheva, J. Ivanova, **R. Zhorova**, M. Mitewa, S. Simova, H. Mayer-Figge, W. S. Sheldrick, Nickel(II) and Zinc(II) Dimonensinates: Crystal Structure, Spectral Properties and Bactericidal Activity, *Inorg. Chim. Acta* **363** (2010) 1879-1886. (IF 2.322).

Забелязани цитати:

3.1. D. Łowicki, A. Huczynski, B. Brzezinski, F. Bartl, ^1H , ^{13}C NMR, FT-IR, ESI MS and PM5 studies of a new 3,6,9-trioxadecylamide of monensin A and its complexes with Li^+ , Na^+ and K^+ cations, *J. Mol. Struct.* **990(1-3)** (2011) 121-131.

3.2. A. Huczynski, D. Łowicki, M. Ratajczak-Sitarz, A. Katrusiak, B. Brzezinski, Structural investigation of a new complex of N-allylamide of Monensin A with strontium perchlorate using X-ray, FT-IR, ESI MS and semiempirical methods, *J. Mol. Struct.* (2011)
doi:10.1016/j.molstruc.2011.03.024

*Участия в конференции и семинари по темата на
дисертацията*

1. **R. Zhorova**, I. Pantcheva, M. Mitewa, Complexes of Ca(II) and Mg(II) with the Antibiotic Monensin, VIII National Chemistry Conference for Students and PhD Students, Faculty of Chemistry, Sofia University, Sofia, Bulgaria (May **2009**) – усстен доклад
2. **I. N. Pantcheva**, **R. Zhorova**, M. Mitewa, W. S. Sheldrick, Divalent Metal Complexes of the Monovalent Polyether Ionophorous Antibiotic Monensin, XXII International Conference on Coordination and Inorganic Chemistry (ICCBIC), Smolenice, Slovakia (June **2009**) – усстен доклад
3. **I. N. Pantcheva**, **R. Zhorova**, **M. Mitewa**, W. S. Sheldrick, Alkaline-Earth Complexes of Monensin Acid: Crystal Structure and Biological Properties, IV joint International Conference on Macrocyclic and Supramolecular Chemistry (ICMSC), Maastricht, The Netherlands (June **2009**) - постер
4. **Ju. Ivanova**, I. Pantcheva, **R. Zhorova**, M. Mitewa, H. Mayer-Figge, W. S. Sheldrick, Ni(II) and Zn(II) complexes of Monensin Acid: X-ray Crystal Structure and antibacterial activity, 10th International Symposium on Applied Bioinorganic Chemistry (ISABC), Debrecen, Hungary (Sept **2009**) – постер
5. **R. Zhorova**, I. N. Pantcheva, M. Mitewa, Microbiological activity of the polyether ionophore Monensic Acid and its Metal complexes, 4th Workshop “Biological Activity of Metals and Metal Compounds”, Sofia, Bulgaria (Nov **2009**) – усстен доклад
6. **I. N. Pantcheva**, **R. Zhorova**, V. Atanasov, M. Mitewa, Monensin – a challenge to complexation with metal(II) ions for improvement of its bactericidal properties, Ceremony and Symposium on Commemoration of International Exchange Agreement between School of Chemistry and Material Sciences, Shaanxi Normal University and Graduate School of Natural Science and Technology, Okayama University, Okayama, Japan (Dec **2009**) – постер

Използвани съкращения

MeCN – ацетонитрил
MeOH – метанол
CHCl₃ - хлороформ
HCl – солна киселина
HNO₃ – азотна киселина
Et₂O – диетилов етер
Me₂CO - ацетон
Solv – разтворител
DMSO – диметилсулфоксид
TMS - тетраметилсилан
Et₄NOH – тетраетиламониев хидроксид
MonNa – монензин натрий
MonH – монензин киселина
SalNa – салиномицин натрий
SalH – салиномицин киселина
IR – инфрачервена спектроскопия
NMR – ядрен магнитен резонанс
¹H-NMR – протонен NMR
¹³C-NMR – въглероден NMR
FAB-MS – мас-спектрометрия с ускорени атоми
X-ray – рентгеноструктурен анализ
MIC - минимална инхибираща концентрация
АТФ – аденозин трифосфат
АДФ – аденозин дифосфат
КОЕ – колония-образуваща единица
LD₅₀ – средно-смъртна доза