

**СОФИЙСКИ УНИВЕРСИТЕТ “СВЕТИ КЛИМЕНТ ОХРИДСКИ“
ФАКУЛТЕТ ПО ХИМИЯ И ФАРМАЦИЯ**

КАТЕДРА АНАЛИТИЧНА ХИМИЯ

Ивайла Негялкова Панчева-Кагрева

**МЕТАЛНИ КОМПЛЕКСИ НА
КАРБОКСИЛНИТЕ ПОЛИЕТЕРИ МОНЕНЗИН И САЛИНОМИЦИН:
СТРУКТУРА, СВОЙСТВА & БИОЛОГИЧНА АКТИВНОСТ**

АВТОРЕФЕРАТ

НА ДИСЕРТАЦИОНЕН ТРУД

за присъждане на научната степен „доктор на науките“

Област 4. Природни науки, математика и информатика
Професионално направление 4.2. Химически науки (Аналитична химия)

София

2023 г.

Ивайла Недялкова Панчева-Кагрева

**МЕТАЛНИ КОМПЛЕКСИ НА
КАРБОКСИЛНИТЕ ПОЛИЕТЕРИ МОНЕНЗИН И САЛИНОМИЦИН:
СТРУКТУРА, СВОЙСТВА & БИОЛОГИЧНА АКТИВНОСТ**

АВТОРЕФЕРАТ

НА ДИСЕРТАЦИОНЕН ТРУД

за присъждане на научната степен „доктор на науките“

Научно жури:

- проф. г-р Агриана Бакалова**
- проф. г-р Ивелина Георгиева**
- проф. г-р Ирина Караджова**
- проф. г-р Огнян Петров**
- доц. г-р Мартин Цветков**
- доц. г-р Нели Минчева**
- доц. г-р Силвия Ангелова**

Дисертационният труд съдържа 155 страници, онагледен е с 59 фигури, 30 таблици и 5 приложения. Библиографската справка обхваща 188 литературни източници.

Дисертационният труд е обсъден, приет и насочен за защита пред научно жури от Катедрения съвет на Катедра „Аналитична химия“, Факултет по химия и фармация при Софийски университет „Св. Климент Охридски“, проведен на 27.10.2023 г.

Публичната защита на дисертационния труд ще се състои на г. от ч. в Заседателната зала на Факултета по химия и фармация, СУ „Св. Климент Охридски“, гр. София, бул. „Дж. Баучър“ № 1.

Материалите по защитата са на разположение на интересуващите се в канцеларията на Факултета по химия и фармация при СУ „Св. Климент Охридски“, бул. „Дж. Баучер“ № 1, стая 107, и на интернет страницата на ФХФ.

Съдържание

1. Въведение / 1

2. Цел на дисертационния труд / 4

3. Резултати и дискусия:

Комплекси на монензин и салиномицин – структура и спектрални свойства / 5

3.1. „Класически“ комплекси на монензин и салиномицин / 5

3.1.1. Рентгеноструктурен анализ на монокристали / 6

3.1.2. Инфрачервена спектроскопия (IR) / 8

3.1.3. Масспектрометрия с ускорени частици (FAB-MS)

или електроспрей йонизация (ESI-MS) / 11

3.1.4. Ядрен магнитен резонанс (NMR) / 15

3.1.5. Електронен парамагнитен резонанс (EPR) / 18

3.1.6. Допълващи експерименти за индивидуални комплексни съединения / 20

3.1.7. Структури на „класическите“ комплекси на монензин и салиномицин / 23

3.2. „Некласически“ комплекси на монензин и салиномицин / 25

3.2.1. Комплекси $[\text{HgMon}(\text{H}_2\text{O})]$ и $[\text{PbSal}(\text{NO}_3)]$ / 25

3.2.2. Комплекси на монензин и салиномицин $[\text{CeL}(\text{NO}_3)_2(\text{OH})]$ / 29

3.2.3. Смесено-метални комплекси на монензин натрий / 32

3.3. Обобщение / 36

4. Резултати и дискусия:

Комплексообразване на монензин и салиномицин в разтвор – експериментални и теоретични изследвания / 37

4.1. Експериментално CD-изследване на взаимодействието

на монензин с g - и тризарядни метални йони / 37

4.1.1. CD спектроскопия в ултравиолетовата област (UV-CD) / 37

4.1.2. CD-анализ във видимата (Vis-CD) и

близката инфрачервена (NIR-CD) области / 44

4.1.3. UV-CD-спектроскопия в системите „лантаниден йон – монензин“ / 48

4.2. Експериментално и теоретично CD изследване

на комплекси на монензин с еднозарядни метални катиони / 52

4.3. Теоретично изследване на процесите на конкуренция

между металните катиони от IA и IB групи при комплексообразване

с монензин или салиномицин / 56

4.3.1. Общи бележки / 57

4.3.2. Монензин / 59

4.3.3. Салиномицин / 62

4.4. Обобщение / 69

5. Резултати и дискусия:

Биологична активност на полиетерните йонофори и техните метални комплекси / 70

5.1. Антибактериална активност / 70

5.2. Цитотоксичност / 74

5.2.1. Обща характеристика / 74

5.2.2. Карцином на шийката на матката (HeLa) / 76

5.2.3. Левкемични клетки (BV-173, K-562, SKW-3) / 78

5.3. Токсикологични изследвания / 79

5.3.1. Остра токсичност (LD₅₀) / 80

5.3.2. Клинико-лабораторни показатели / 81

5.4. Обобщение / 82

6. Изводи / 84

7. Приноси / 85

8. Публикации по темата на дисертацията / 86

1. Въведение

More animals have been medicated with ionophores, such as monensin, for control of disease than any other medicinal agents in the history of veterinary medicine.

Chapman, Jeffers, Williams, 2010

Предизвиканите от микроорганизми и паразити заболявания представляват обект на широко интердисциплинарно изследване с цел създаването на ефективни лекарствени средства. Въвеждането на антибиотиците в клиничната практика дава мощен тласък в лечението на редица инфекциозни заболявания, но през последните години човечеството се изправя пред изключително сериозен проблем – появата на мултирезистентни щамове. За лечението на състояния, причинени от подобни микроорганизми, няма или съществуват ограничен брой лекарствени препарати с широкоспектърно антибиотично действие. При подобни ситуации се налага употребата на няколко химиотерапевтика със специфично действие. Приемът на комбинация от препарати води до претоварване на организма, съпътствано с проява на страничните ефекти на всяко отделно лекарство и поява на кръстосана резистентност. В този смисъл инфектираният организъм е изложен на допълнителен стрес и редица негови жизненоважни функции могат да бъдат негативно повлияни от страничното действие на антибиотиците. Ето защо усилията днес са насочени главно към получаване на комбинирано действащи препарати, които да проявяват терапевтичен ефект срещу мултирезистентни инфекциозни агенти.

Важно предизвикателство, на което трябва да се наблегне при търсенето на нови активни лекарствени субстанции, е оптимизиране свойствата на веществата в посока повишаване тяхната селективност на действие. В момента основен недостатък на някои от препаратите е неспецифичният им начин на действие, в резултат на което те оказват своя ефект не само върху микроорганизмите (положителен, лечебен ефект за пациента), но въздействат и върху самия пациент (отрицателно или странично действие на лекарствения препарат). Проблемът за намирането на ефективни широко-спектърни антибиотици поставя редица отворени въпроси пред съвременната медицинска наука, вкл. и в България, и налага активизиране на изследвания, в които взимат участие учени от различни области на познанието (химия, биология, молекулярна биология, хуманна и ветеринарна медицина).

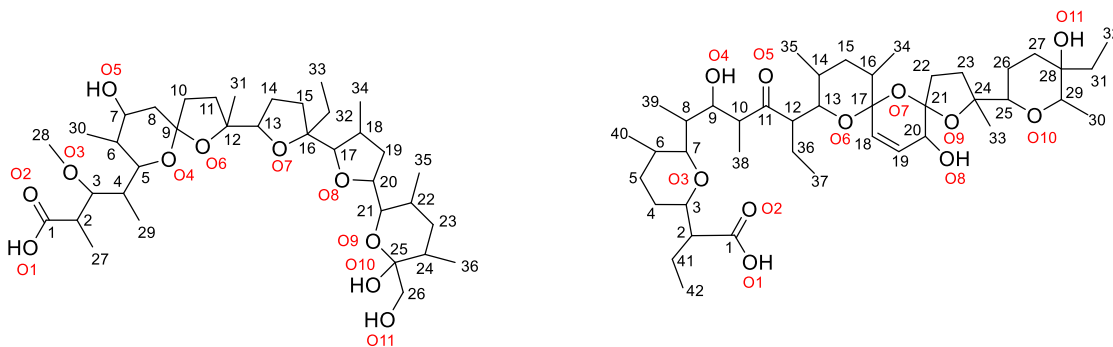
Един подход, който успешно се развива през последните десетилетия, се основава на модифициране свойствата на вече доказали се в медицината препарати чрез комплексообразуването им с метални йони. В клиничната практика са известни редица съединения, които, приложени под формата на метални комплекси, притежават по-силно изразено терапевтично действие. Повишената активност на металните комплекси е свързана пряко с принципа, че колкото е по-нисък един организъм, толкова по-силно зависи той от концентрацията на метални йони. В този смисъл незначително повлияване на металната хомеостаза в системата “низш-висш организъм” би рефлектирало значително върху състоянието на низшия (микроорганизъм или паразит) организъм, но ще се отрази минимално на висшия (приемник – човек или животно). С оглед намирането на ефективни препарати за борба с мултирезистентни щамове микроорганизми подходът за синтез на метални комплекси на биологично активни вещества притежава своите ясно изразени положителни страни.

От антибиотиците, използвани днес, най-интензивно се изучават тези, намерили приложение в хуманната медицина. За препаратите, използвани във ветеринарната медицина, няма достатъчно пълна информация. В повечето случаи тя е получена косвено по аналогия с ефекта на съединения, прилагани при хората. Липсата на достатъчно факти за ветеринарните препарати налага да се разшири областта на изследване на техните свойства. Необходими са детайлни проучвания за ефекта им както върху микроорганизми и животински видове, така и за евентуалното им влияние върху човешкия организъм при контакт с източника на зараза или при прием на храна от животински произход.

Клас антибиотици, най-широко разпространен във ветеринарната медицина, е този на природните полиетерни йонофори, които са средство на първ избор при лечение на кокцидиоза - заболяване, причинено от паразитите *Eimeria spp.* През последните години е установено, че освен кокцидиостатична активност, тези вещества притежават ясно изразени антибактериални и фунгицидни свойства. Особен интерес представлява откритието през 2009 г., че представителят на този клас съединения – салиномицин – е сред първите три средства на избор (от 16000 съединения) при третиране на туморни стволови клетки при рак на млечната жлеза. В тази връзка се наблюдава повишено изследователско внимание относно изучаването на потенциалните противотуморни свойства на монензин, салиномицин, лазалоциг – йонофори с пряко приложение във ветеринарната медицина, както и на техни разнообразни химични модификации.

В настоящото изследване фокусът е концентриран върху двете йонофора – монензин и салиномицин (**Фиг. 1**). Изборът им се определя от няколко фактора:

- монензин е антибиотикът с най-широка употреба във ветеринарната медицина;
- салиномицин притежава обещаващ антитуморен потенциал;
- не на последно място – България е производител и на двете йонофора, което създава условия за едно по-широко и целенасочено изследване на техните свойства.



Фиг. 1. Структура и номерация на МонН (ляво) и СалН (дясно)

От направения преглед на научната литература се очертават област на вече известно познание, и такава, в която съществуват „бели петна“, които следва да бъдат изучени по-подробно.

Монензин и салиномицин са представители на монокарбоксилните полиетерни йонофори; предпочитано свързват егдозарядни метални катиони; намират приложение във ветеринарната практика като кокцидиостатици и антибактериални средства; показват потенциал в терапията на онкологични заболявания; обкръжаващата среда повлиява техните биологични свойства.

Какво не знаем за монензин и салиномицин: може ли обкръжаващата среда (наличие на различни метални йони) да оказва влияние върху ефекта им чрез комплексообразуване и евентуално по какъв начин? Какво е поведението на двете йонофора в присъствие на метални катиони в по-висока степен на окисление? Ако съществуват условия за изолване на нови метал-съдържащи комплексни видове, то как би се повлияла биологичната активност на монензин и салиномицин, свързани в тези координационни частици?

Отговор на тези въпроси дава настоящият дисертационен труд, който прави преглед на постигнатото в областта на координационната химия на полиетерните йонофори монензин и салиномицин.

2. Цел на дисертационния труд

Цел на дисертацията е да представи спецификата на комплексообразователните процеси с участието на полиетерните йонофорни антибиотици монензин и салиномицин и свойствата на съответните комплексни видове. Резултатите са обобщени в три направления:

- ✓ получаване, изолиране и структурно охарактеризиране на координационни съединения с метални йони в различна степен на окисление;
- ✓ изследвания на системите „метален йон – йонофор“ в разтвор;
- ✓ оценка на биологичните свойства на комплексите и сравнение на данните с тези за некоординираните лиганди.

Дисертационният труд разглежда проучванията на г-р Ивайла Панчева в областта на координационната химия за периода 2008-2023 г. Представените данни са изцяло или частично публикувани в 27 научни труда в пълен текст, от които 21 статии в реферирани и индексирани списания и 4 глави от колективни монографии. По публикациите за участие в процедурата за придобиване на НС „доктор на науките“ са забелязани общо 204 независими цитирания (122 от които в базата данни Scopus).

Част от изследванията са били обект на успешно защитени 9 дипломни работи (5 в ОКС „бакалавър“ и 4 в ОКС „магистър“) и 3 дисертации за придобиване на ОНС „доктор“. В момента е в подготовка и 4-ти дисертационен труд за ОНС „доктор“. Голяма част от експериментите са извършени с финансовата подкрепа на Фонд „Научни Изследвания“ (ДО-02-84/2008 г., КП-06-Н29/3-2018 г.)

3. Резултати и дискусия:

Комплекси на монензин и салиномицин – структура и спектрални свойства

В настоящата глава са разгледани всички комплекси на монензин и салиномицин (HL), които след оптимизиране на условията за синтез, са изолирани в химически чист вид и охарактеризирани с набор от спектрални методи (UV-Vis, CD, IR, NMR, EPR, FAB-MS), елементарен анализ и рентгенова дифракция (при наличие на монокристали). Към момента структурните изследвания по отношение координационните съединения на монензин и салиномицин с метални катиони във втора-четвърта степен на окисление са преди всичко с български принос.

Резултатите са представени в два подраздела: „класически“ комплекси на полиетерните йонофори, в които координацията на лиганда е осъществена бидентатно от типа „глава-опашка“, и „некласически“ – където се наблюдава различен начин на свързване на антибиотиците според особеностите на комплексния вид.

3.1. „Класически“ комплекси на монензин и салиномицин

Обект на изследване са координационните съединения, съдържащи алкалоземни или преходни метални йони $M^{2+} - [ML_2(H_2O)_2]$, лантанидни катиони $M^{3+} - [ML_3(H_2O)_3]$ и $Ce^{4+} - [ML_2(OH)_2]$. Те са получени при взаимодействие на съответните метални соли с моноаниони на лигандите (монензинат или салиномицинат), които са резултат от депротонирането на $MonH / SalH$ с органична основа (R_4NOH / Et_3N)¹.

Особеност, която обединява всички тези комплекси, са донорните групи на йонофорите – карбоксилатна и хидроксилна, разположени в двата края на молекулите на антибиотиците. Едновременно им свързване във вътрешната координациона сфера на дадения метален йон създава предпоставки за нагъване на полимерната верига на йонофора, в резултат на което се образува силно деформирана макроциклична структура. В повечето случаи нейното стабилизиране се осъществява чрез водна молекула или хидроксиден анион, разположени в хидрофилната кухина на лигандите и участващи в образуването на редица водородни

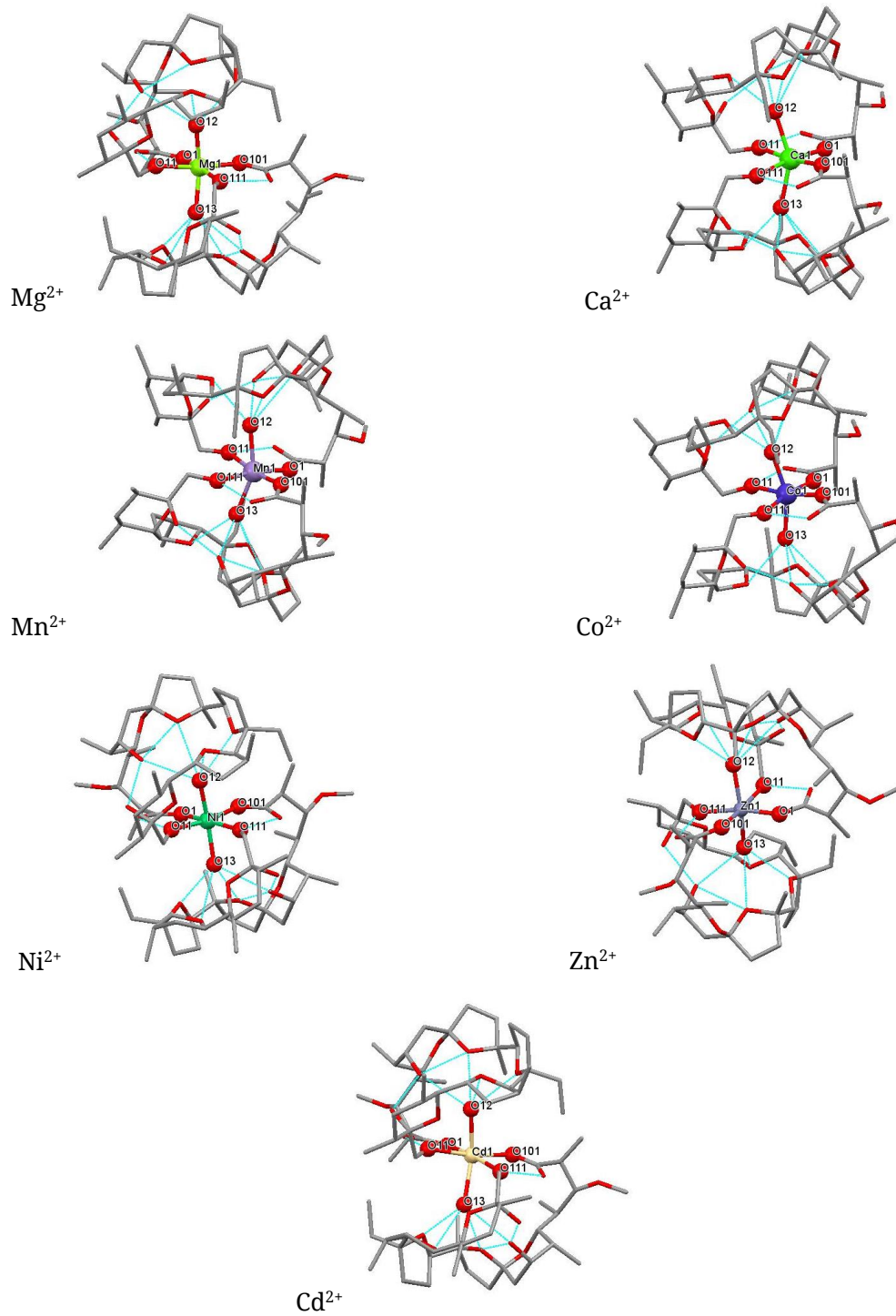
¹ Получаването на комплексите може да се извърши с монензин калий (MonK) или салиномицин натрий (SalNa). За целите на последващия анализ на продуктите използването на киселите форми на антибиотиците след депротониране е препоръчително.

връзки². В изложението по-нататък $[ML_2(H_2O)_2]$ и $[ML_2(OH)_2]$ ще бъдат коментирани като моноядрени бис-комплекси, и $[ML_3(H_2O)_3]$ – като моноядрени трис-комплекси.

3.1.1. Рентгеноструктурен анализ на монокристали

От монензинатите $[ML_2(H_2O)_2]$ ($M = Mg, Ca, Co, Mn, Ni, Zn, Cd$) са изолирани кристали, подходящи за рентгенова дифракция, което позволи еднозначното охарактеризиране на тяхната структура в твърдо състояние (**Фиг. 3.1-1, Табл. 3.1-1**). Сравнението на кристалографските данни показва, че тези координационни съединения са изоструктурни помежду си – един метален йон взаимодейства с два аниона на йонофора, като в неговата кухина е разположена молекула вода. Образуваните четири връзки $M-O$ с COO^- и OH -групите на йонофора определят екваториалната равнина на комплексите и антибиотикът се нагъва в характерната за него циклична структура. Молекулите вода проявяват двойна функция: стабилизират получените макроцикли чрез вътрешномолекулни водородни връзки и участват в донорно-акцепторни връзки с металния катион. Наличието на водни молекули като лиганди в аксиална позиция обуславя деформирана октаедрична геометрия на вътрешната координационна сфера на комплексите $[MMon_2(H_2O)_2]$. Дължините на връзката $M-O$ се увеличават с увеличаване размера на металните йонни радиуси в реда $Ni^{2+} < Mg^{2+} < Co^{2+} < Zn^{2+} < Mn^{2+} < Cd^{2+} < Ca^{2+}$ (к. ч. 6). Природата на металния йон не влияе значително на ъглите на връзките в екваториалната равнина на комплексите: всички те са в рамките на $3-4^\circ$ както следва: от 169.55° (Ni^{2+}) до 172.16° (Ca^{2+}) (O1-M-O111), и съответно – от 169.36° (Ni^{2+}) до 173.95° (Ca^{2+}) (O101-M-11) (средно отклонение от около 10° от идеалния ъгъл 180°). Йонният радиус на двузарядните метални катиони оказва значителен ефект върху ъгъла на връзката H_2O-M-H_2O , който намалява в реда $Ni^{2+} (164.2^\circ) > Mg^{2+} (160.4^\circ) > Co^{2+} (159.4^\circ) > Zn^{2+} (156.0^\circ) > Mn^{2+} (154.4^\circ) > Ca^{2+} (151.2^\circ) > Cd^{2+} (149.5^\circ)$. Във всички координационни съединения от този тип органичните лиганди са разположени в *цис*-положение спрямо металния йон.

² Както ще бъде показано по-нататък, в отделни комплекси не се наблюдава участието на водни молекули, което не променя начина на координиране на йонофорите.



Фиг. 3.1-1. Структури на моноягрните комплекси на монензин с двувалентни йони (с пунктир са отбелязани вътрешномолекулните водородни връзки; водородните атоми са изпуснати за яснота)

Табл. 3.1-1. Избрани дължини на връзки (Å) и ъгли (°) в моноядрените комплекси на монензин [MMon₂(H₂O)₂]

Връзка	Метален(II) йон						
	Mg	Ca	Co	Mn	Ni	Zn	Cd
Дължина на връзка							
M-O1	2.029(3)	2.266(3)	2.057(3)	2.116(6)	2.0225(14)	2.038(5)	2.216(6)
M-O101	2.029(3)	2.253(3)	2.047(3)	2.109(6)	2.0136(14)	2.047(4)	2.233(6)
M-O11	2.130(3)	2.358(3)	2.141(3)	2.237(5)	2.0762(14)	2.188(4)	2.370(5)
M-O111	2.136(3)	2.370(3)	2.105(3)	2.235(5)	2.0817(14)	2.145(5)	2.340(6)
M-O12	2.107(3)	2.341(2)	2.125(3)	2.208(5)	2.0900(13)	2.159(4)	2.324(5)
M-O13	2.102(3)	2.340(3)	2.134(3)	2.208(5)	2.0849(14)	2.166(5)	2.337(5)
Ъгъл							
O101-M-O1	88.84(12)	94.63(10)	86.50(15)	89.4(2)	84.00(6)	88.49(19)	89.1(2)
O101-M-O111	85.89(12)	82.54(10)	87.62(14)	86.1(2)	87.81(6)	86.4(2)	86.3(2)
O111-M-O11	99.81(12)	101.03(9)	99.91(12)	99.30(19)	101.00(6)	97.8(3)	99.02(19)
O1-M-O11	86.17(12)	82.44(9)	86.79(12)	85.9(2)	87.86(6)	87.69(19)	86.4(2)
O1-M-O111	171.29(13)	172.17(9)	170.17(12)	171.5(2)	169.37(6)	170.40(18)	171.36(19)
O101-M-O11	172.00(13)	173.94(9)	170.54(13)	172.0(2)	169.57(6)	171.6(2)	171.8(2)
O12-M-O13	160.41(12)	151.22(9)	159.39(12)	154.3(2)	164.21(6)	155.98(16)	149.55(18)

Въпреки наличието на кристални структури за комплексите [MMon₂(H₂O)₂], те са охарактеризирани и с набор от спектроскопски методи. Събраната информация е от изключителна полза при отсъствието на рентгеноструктурен анализ, както е случаят с останалите комплекси на монензин и салиномицин. Структурата на последните е изведена на база спектрални изследвания, съчетани с данни от елементния анализ.

3.1.2. Инфрачервена спектроскопия (IR)

IR спектроскопията е основен метод за проследяване на промените в спектрите на йонофорите, настъпващи вследствие на комплексообразуване. Важен индикатор е ивицата за валентно трептене на карбоксилната група (1700 cm⁻¹ при MonH и 1710 cm⁻¹ при SalH), която в спектрите на координационните съединения [ML₂(H₂O)₂] не се наблюдава за сметка на появата на две нови ивици при ~ 1550 cm⁻¹ и ~

1400 cm^{-1} , отнесени към асиметричното и симетричното валентни трептения на карбоксилатния анион (Табл. 3.1-2). Енергетичната разлика между тях е от порядъка на 140-150 cm^{-1} и е характерна за монодентатна координация на COO^- -групата. Втората област, която трябва да се вземе предвид, е тази в интервала 3500-3250 cm^{-1} , където също се наблюдават промени, свързани с различното поведение на OH -групите от лигандите и водните молекули. В областта на рактилоскопичния отпечатък (1100-500 cm^{-1}) не се регистрират съществени изменения. Спектрите на всички координационни съединения на монензин с изследваните двузарядни катиони са практически неразличими помежду си, което е в съгласие с данните от кристалографския анализ. Погребно е и спектралното поведение на медния(II) монензинат, където бе изолирана само аморфна фаза. Фактът, че комплексите на салиномицин с двузарядни метални катиони показват аналогично IR поведение, ни дава основание да предположим, че и тази серия от съединения е изоструктурна, като антибиотикът координира по същия начин като монензин – през карбоксилатната („глава“) и хидроксилната („опашка“) групи. Представителни спектри на двата антибиотика и техни комплекси са показани на Фиг. 3.1-2 (монензин) и Фиг. 3.1-3 (салиномицин).

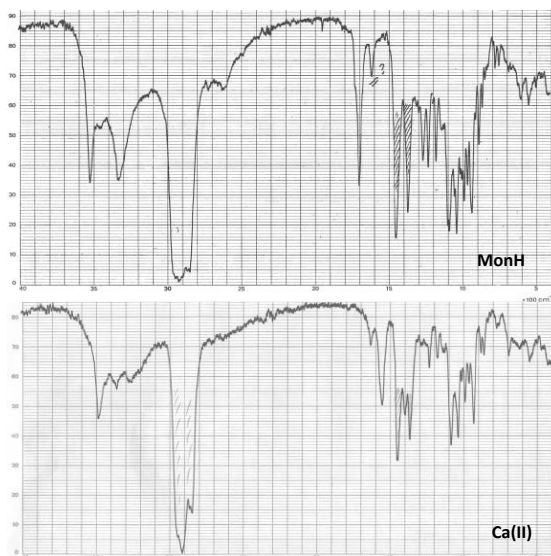
Табл. 3.1-2. Характеристични IR трептения в спектрите на $\text{MonH} / [\text{MMon}_2(\text{H}_2\text{O})_2]$ и $\text{SalH} / [\text{MSal}_2(\text{H}_2\text{O})_2]$

Трептение	Положение на ивиците, cm^{-1}			
	MonH	$[\text{MMon}_2(\text{H}_2\text{O})_2]^a$	SalH	$[\text{MSal}_2(\text{H}_2\text{O})_2]^b$
$\nu_{\text{OH}} (\text{H}_2\text{O})$	3520	3490-3360	3500	3450-3380
$\nu_{\text{OH}} (\text{лиганд})$	3320	3280		
$\nu_{\text{C=O}} (\text{COOH})$	1700	-	1710	-
$\nu_{\text{C=O}} (\text{C=O})$	-	-	1710	1710-1690 ^b
$\nu_{\text{C=O}}^{\text{asym}} (\text{COO}^-)$	-	1550	-	1560-1550
$\nu_{\text{C=O}}^{\text{sym}} (\text{COO}^-)$	-	1410-1400	-	1410-1400

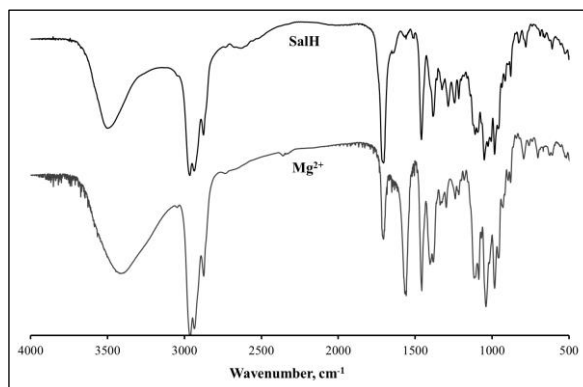
^a $\text{M}^{2+} = \text{Mg}, \text{Ca}, \text{Mn}, \text{Co}, \text{Ni}, \text{Cu}, \text{Zn}, \text{Cd};$

^b $\text{M}^{2+} = \text{Mg}, \text{Ca}, \text{Sr}, \text{Ba}, \text{Co}, \text{Ni}, \text{Cu}, \text{Zn}, \text{Cd};$

^c силно намален интензитет

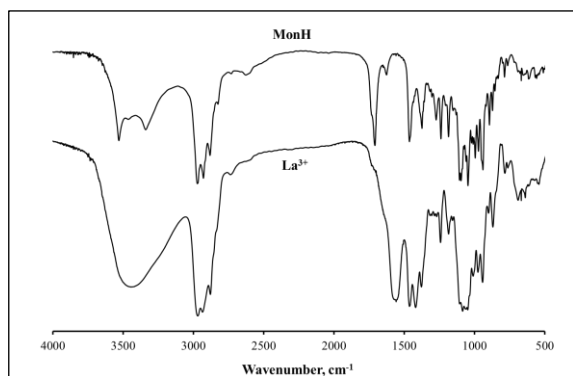


Фиг. 3.1-2. IR спектри на
MonH и $[\text{CaMon}_2(\text{H}_2\text{O})_2]$

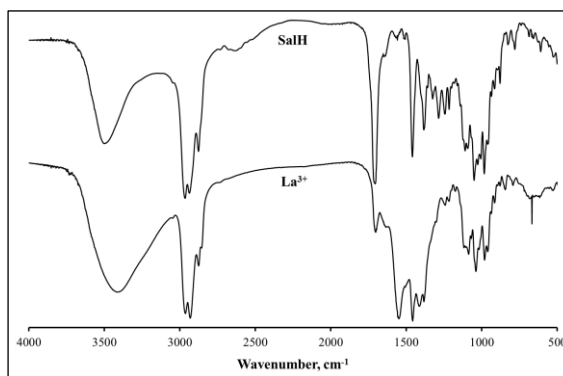


Фиг. 3.1-3. IR спектри на
SalH и $[\text{MgSal}_2(\text{H}_2\text{O})_2]$

Публикуваните досега данни за координационни съединения на полиетерните йонофори с лантанидни йони $[\text{ML}_3(\text{H}_2\text{O})_3]$ показват сходно IR спектрално поведение с това на $[\text{ML}_2(\text{H}_2\text{O})_2]$. Основният извод е, че карбоксилната група се депротонира и се появяват нови трептения за карбоксилатния анион (1560 cm^{-1} и 1420 cm^{-1} , съответстващи на $\nu^{\text{as}}_{\text{COO}^-}$ и $\nu^{\text{s}}_{\text{COO}^-}$), което предполага участието му в комплексите под формата на монодентатен лиганд. Същевременно се наблюдава уширяване на ивиците в областта на дактилоскопическия отпечатък, което е признак за координиране на тежък метален йон към съответния йонофор. На Фиг. 3.1-4 и Фиг. 3.1-5 са показани спектрите на MonH и SalH и комплексите им с йони на La^{3+} .

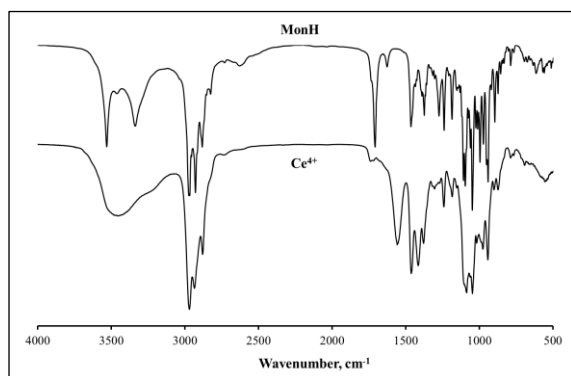


Фиг. 3.1-4. IR спектри на
MonH и $[\text{LaMon}_3(\text{H}_2\text{O})_3]$

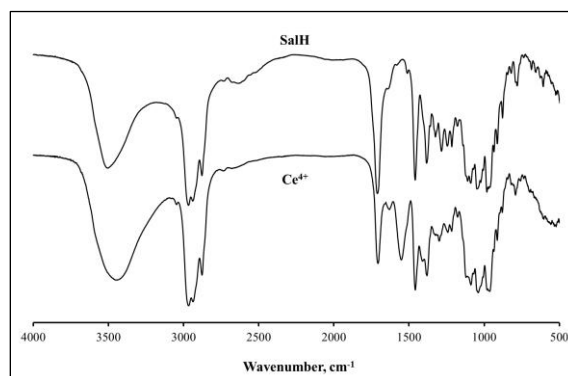


Фиг. 3.1-5. IR спектри на
SalH и $[\text{LaSal}_3(\text{H}_2\text{O})_3]$

Изключеніе от изоструктурните серии $[ML_2(H_2O)_2]$ и $[ML_3(H_2O)_3]$ правят комплексите на Ce^{4+} с монензин и салиномицин $[ML_2(OH)_2]$. В гопълнение на изследванията в KBr, са проведени такива и в разтвор ($CHCl_3$). IR данните потвърждават депротонирането на антибиотиците чрез появата на две нови ивици, характерни за карбоксилатен анион при $1552/1414\text{ cm}^{-1}$ (Mon^-) и $1550/1400\text{ cm}^{-1}$ (Sal^-), което е в съгласие с вече установения начин на координиране на йонофорите (Фиг. 3.1-6, 3.1-7). При $[CeMon_2(OH)_2]$ се наблюдава разлика в сравнение със спектрите на комплексите с двузрядни метални йони в интервала $4000-3000\text{ cm}^{-1}$, която се изразява в появата на единичен уширен сигнал и насочва към вероятно отсъствие на координирана вода. При комплекса със салиномицин няма съществени промени спрямо некоординирания антибиотик и еднозначен извог относно наличието на вода не може да се направи. IR спектрите на двата лиганда и $[CeL_2(OH)_2]$ в хлороформ се различават незначително от тези, регистрирани в твърдо състояние. Този факт показва, че съединенията запазват своята структура в двете фази, като минимално количество от антибиотиците в комплексите се протонира поради примес от HCl в разтворителя.



Фиг. 3.1-6. IR спектри на
MonH и $[CeMon_2(OH)_2]$



Фиг. 3.1-7. IR спектри на
SalH и $[CeSal_2(OH)_2]$

3.1.3. Масспектрометрия с ускорени частици (FAB-MS) или електроспрей йонизация (ESI-MS)

„Класическите“ комплекси на монензин и салиномицин са анализирани с масспектрометрия. През годините са използвани две разновидности на метода – FAB-MS или ESI-MS. В Табл. 3.1-3 и 3.1-4 са обобщени данните относно основните йони, доказващи образуването на координационни съединения на антибиотиците и/или

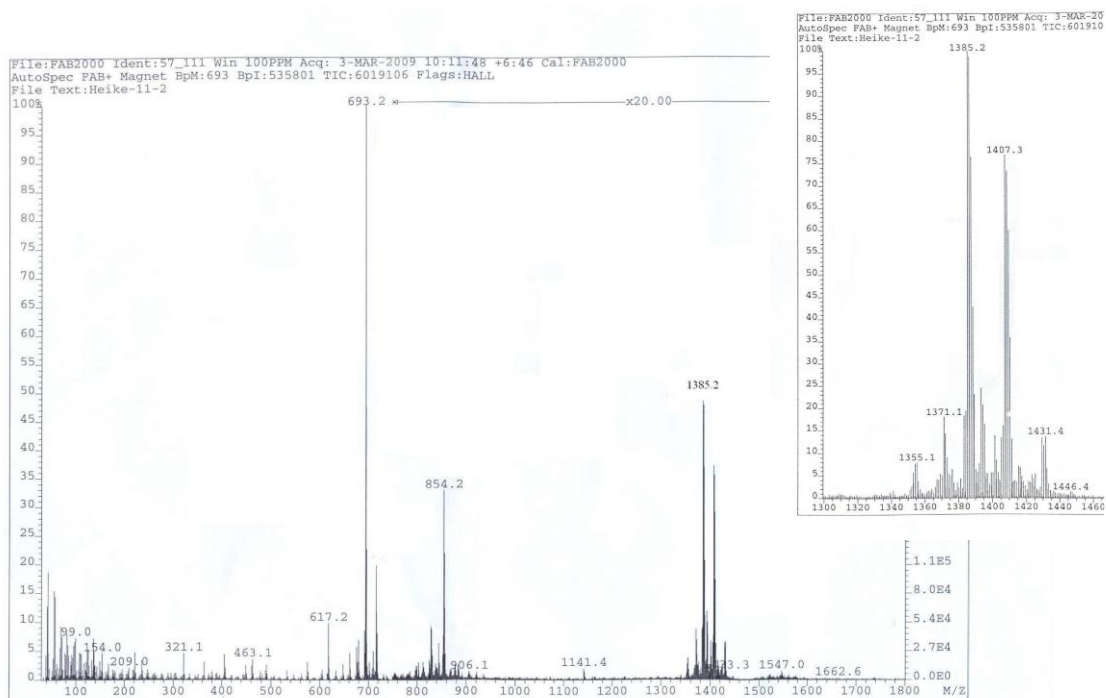
включването на метален катион в определени молекулни фрагменти.³ Прегледателни MS спектри и фрагментационните схеми на $[\text{CaMon}_2(\text{H}_2\text{O})_2]$ и $[\text{LaMon}_3(\text{H}_2\text{O})_3]$ са показани на **Фиг. 3.1-8 - 3.1-11**.

Табл. 3.1-3. Основни йони, наблюдавани в маспектрите на моноягрните комплекси на монензин и салиномицин с двузрядни метални катиони (FAB-MS)

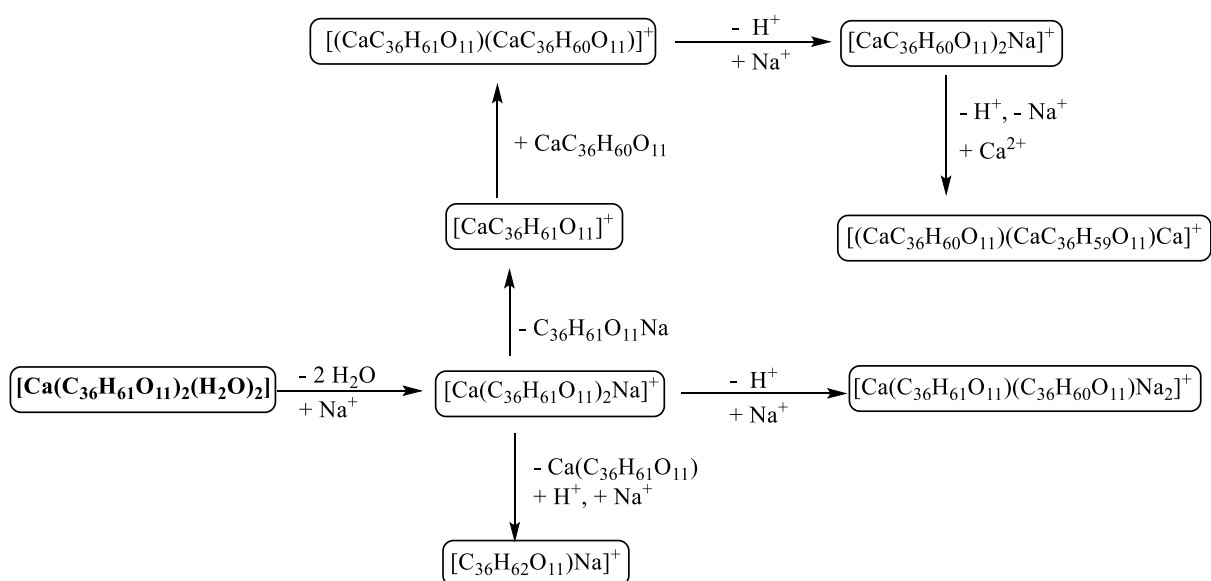
Монензин	m/z	Салиномицин	m/z
$[\text{MgMon}_2\text{Na}]^+$	1385.2	$[\text{MgSal}_2\text{Na}]^+$	1546.9
$[\text{CaMon}_2\text{Na}]^+$	1401.3	$[\text{MgSal}]^+$	773.5
$[\text{CaMon}]^+$	709.2	$[\text{CaSal}_2\text{Na}]^+$	1562.9
$[\text{Mn-Mon}]^+$	724.4	$[\text{CaSal}]^+$	789.5
$[\text{Co-Mon}]^+$	728.4	$[\text{SrSal}]^+$	837.4
$[\text{NiMon}_2(\text{H}_2\text{O})_2]\text{Na}^+$	1455.8	$[\text{BaSal}]^+$	887.4
$[\text{NiMon}_2]\text{Na}^+$	1419.8	$[\text{CoSal}]^+$	808.4
$[\text{Ni-Mon}]^+$	727.8	$[\text{NiSal}]^+$	808.7
$[\text{ZnMon}_2]\text{Na}^+$	1491.7	$[\text{CuSal}]^+$	813.5
$[\text{Zn-Mon}]^+$	733.4	$[\text{ZnSal}]^+$	814.9
$[\text{Cd-Mon}]^+$	783.3	$[\text{CdSal}]^+$	863.4

³ За комплексите на салиномицин $[\text{MSal}_2(\text{H}_2\text{O})_2]$ и тези на Ce(IV) с двата лиганда – $[\text{CeL}_2(\text{OH})_2]$, се наблюдава единствено и само наличие на молекулния йон $[\text{SalH}]\text{Na}^+$ или $[\text{MonH}]\text{Na}^+$. Вероятна причина е по-лесното разпадане на координационните съединения при стандартните условия на метода въпреки потвърждението от IR спектроскопията за тяхното образуване.

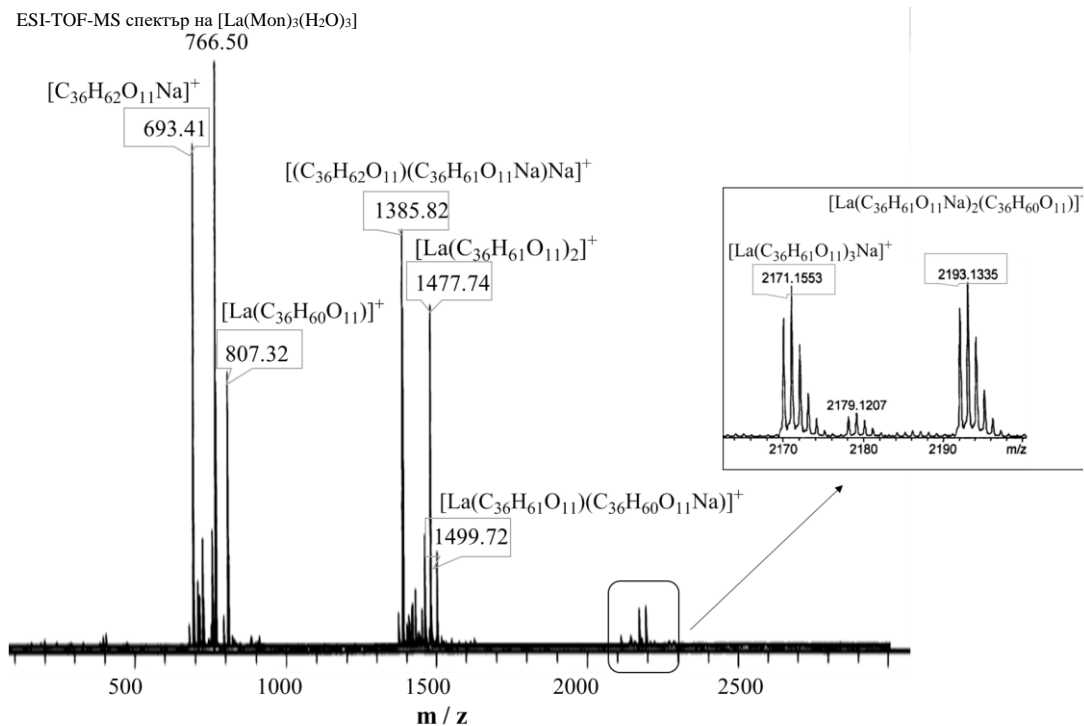
Метални комплекси на карбоксилните полиетери монензин и салиномицин:
структура, свойства & биологична активност



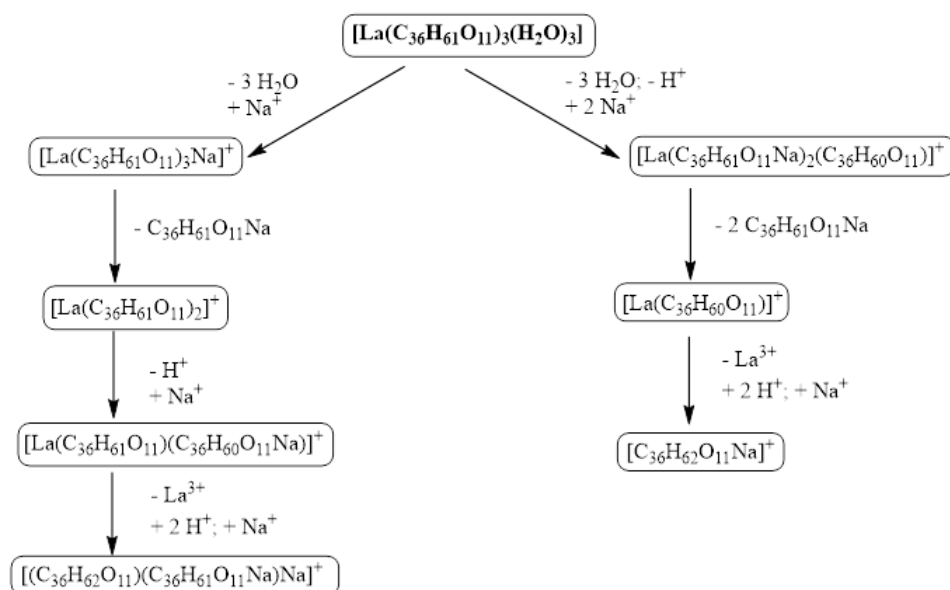
Фиг. 3.1-8. FAB-MS спектър на $[\text{CaMon}_2(\text{H}_2\text{O})_2]$



Фиг. 3.1-9. Фрагментационна схема на $[\text{CaMon}_2(\text{H}_2\text{O})_2]$



Фиг. 3.1-10. ESI-MS спектър на $[\text{LaMon}_3(\text{H}_2\text{O})_3]$



Фиг. 3.1-11. Фрагментационна схема на $[\text{LaMon}_3(\text{H}_2\text{O})_3]$

Табл. 3.1-4. Маспектрални данни за комплексите на монензин с Ln^{3+} (ESI-MS)

Комплекс	Молекулен йон, m/z		
	$[\text{M}(\text{C}_{36}\text{H}_{60}\text{O}_{11})]^+$	$[\text{M}(\text{C}_{36}\text{H}_{61}\text{O}_{11})_2]^+$	$[\text{M}(\text{C}_{36}\text{H}_{60}\text{O}_{11})_3\text{H}_2\text{Na}_2]^+$
$[\text{YMon}_3(\text{H}_2\text{O})_3]$	757.3	1427.8	2121.1
$[\text{LaMon}_3(\text{H}_2\text{O})_3]$	807.3	1477.7	2171.2
$[\text{PrMon}_3(\text{H}_2\text{O})_3]$	809.3	1479.7	2195.1
$[\text{NdMon}_3(\text{H}_2\text{O})_3]$	810.3	1482.7	2197.1
$[\text{SmMon}_3(\text{H}_2\text{O})_3]$	820.3	1490.8	2207.1
$[\text{EuMon}_3(\text{H}_2\text{O})_3]$	821.3	491.7	2206.1
$[\text{GdMon}_3(\text{H}_2\text{O})_3]$	826.3	1496.8	2211.2
$[\text{ErMon}_3(\text{H}_2\text{O})_3]$	836.3	1506.8	2221.2

3.1.4. Ядрен магнитен резонанс (NMR)

Диамангнитните монензинати и салиномицинати на гвужарядните метални катиони са охарактеризирани с метода на NMR чрез едно- и гвумерни техники. В твърда фаза са изследвани алкалоземните комплекси на салиномицин (поради силно ограничената им разтворимост), а в разтвор – всички останали. Тук е дискутирано химичното отместване на сигналите за ^{13}C в гвата лиганда, които търпят най-значителна промяна в резултат на комплексообразувателния процес (Табл. 3.1-5, 3.1-6 и 3.1-7).

Най-съществено изменение в спектрите на монензинатите се наблюдава за позицията на 1C, която е силно отместена в по-слабо поле в сравнение с MonH ($\Delta = 4,37\text{-}4,85$ ppm; $\Delta = \delta_{\text{комплекс}} - \delta_{\text{MonH}}$). Подобна промяна потвърждава наличието на депротонирана карбоксилна група в лиганда, която е координирана с металните(II) центрове. Въглеродните атоми в непосредствена близост до O1 и O11 (свързани директно с гвужарядния катион) също търпят отместване към слабо поле – 2C ($\Delta = 1.76\text{-}2.35$ ppm), 25C ($\Delta = 0.73\text{-}1.69$ ppm), 27C ($\Delta = 1.05\text{-}1.28$ ppm), 29C ($\Delta = 0.73\text{-}1.10$). Образването на H-връзки между водните молекули ($\text{H}_2\text{O}\text{-}12$ и $\text{H}_2\text{O}\text{-}13$) и етерните кислородни атоми O5-O8 води до значително отместване на някои от резонансите на ^{13}C в спектрите на комплексите. Експерименталните данни показват, че се наблюдават както положителни, така и отрицателни, промени в химичното отместване в зависимост от конформацията, която лигангът заема при

комплексообразуване. NMR данните са в съгласие с вече установения факт, че начинът на координиране на монензин е аналогичен в серията $[M\text{Mon}_2(\text{H}_2\text{O})_2]$, както и, че комплексите запазват своята структура в твърдо състояние и в разтвор.

Погобно на монензин, в спектрите на гуамагнитните салиномицинатами отново най-значително промяна търпи сигналът за $1\text{C} - \Delta_{\text{Cd}} \sim 7$ ppm (Табл. 3.1-5) и $\Delta_{\text{Ca}} \sim 5$ ppm (Табл. 3.1-6), което потвърждава депротонирането на карбоксилната група и участието ѝ във връзка с металния(II) център. Положението на повечето от останалите сигнали варира в рамките на ± 0.5 ppm, като се наблюдава и отместване на определени резонанси към по-силно или по-слабо поле (1-3 ppm). Всичко взето заедно показва, че структурата на салиномицин търпи известни конформационни промени при образуването на съответните комплексни съединения.

Табл. 3.1-4. Химично отместване (δ , ppm) на сигналите за $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ -NMR (150 MHz, CDCl_3) в спектрите на MonH и $[M\text{Mon}_2(\text{H}_2\text{O})_2]$

C-атом	MonH	Mg ²⁺	Ca ²⁺	Zn ²⁺	Cd ²⁺
1COO(H)	177.09	181.94	181.81	181.66	181.46
*9C	107.79	107.65	107.55	107.68	107.48
*25C	96.99	98.38	98.63	97.72	98.68
*16C	86.18	87.91	87.12	87.23	87.17
12CH	85.14	85.11	85.29	85.06	84.97
17CH	85.11	85.44	84.35	85.06	84.66
13CH	83.42	85.06	83.91	83.66	84.33
3CH	81.56	82.28	82.49	81.82	82.05
20CH	77.01	77.58	77.46	77.44	77.31
21CH	73.83	72.94	73.56	73.31	73.32
7CH	70.74	70.61	70.71	70.56	70.51
26CH ₂	67.98	67.85	66.35	66.38	66.80
5CH	67.01	65.66	68.21	67.58	67.78
28CH ₃ -O	58.03	57.75	57.94	57.94	57.86
2CH	41.94	43.70	44.29	42.41	43.97
10CH ₂	38.36	38.51	38.75	38.42	38.50
4CH	36.70	37.08	37.40	36.82	37.20
23CH ₂	36.59	36.50	36.73	36.55	36.57
24CH	35.68	36.30	35.90	35.55	35.74
6CH	34.54	34.31	34.23	34.40	34.24
18CH	34.45	34.31	34.23	34.31	34.37
8CH ₂	34.03	34.36	34.33	34.21	34.20
11CH ₂	33.73	34.12	33.83	33.91	33.84
22CH	32.80	33.40	33.34	33.01	33.18
19CH ₂	32.58	32.75	31.25	32.61	32.62
15CH ₂	31.49	29.26	32.83	30.80	32.62
32CH ₂	31.19	30.66	30.79	30.80	30.79

Метални комплекси на карбоксилните полиетери монензин и салиномицин:
структура, свойства & биологична активност

14CH ₂	27.88	27.60	27.78	27.74	27.66
31CH ₃	27.69	27.93	27.43	27.81	27.44
35CH ₃	17.54	17.39	17.63	17.54	17.49
36CH ₃	16.32	16.88	16.97	16.71	16.80
34CH ₃	15.75	15.84	15.74	15.80	15.60
27CH ₃	15.66	16.94	16.81	16.71	16.80
30CH ₃	10.75	10.67	10.76	10.58	10.66
29CH ₃	10.37	11.23	11.36	11.38	11.10
33CH ₃	8.61	8.84	8.73	8.72	8.70

Табл. 3.1-5. ¹³C-NMR (150 MHz, acetonitrile-d₃) химични отмествания (δ, ppm) в спектрите на SalH и [CdSal₂(H₂O)₂]

C-атом	SalH	Cd ²⁺		C-атом	SalH	Cd ²⁺
11C=O	215.53	216.77		8CH	37.06	36.92
1COO(H)	177.86	184.98		14CH	33.66	33.89
19CH=	133.65	132.59		23CH ₂	31.53	32.37
18CH=	123.43	122.23		31CH ₂	31.92	32.09
*21C	107.72	107.44		27CH ₂	30.19	30.24
*17C	100.14	100.24		6CH	29.06	29.15
*24C	89.04	88.84		33CH ₃	26.03	26.07
29CH	77.83	78.14		5CH ₂	26.94	27.13
13CH	78.60	78.76		41CH ₂	23.47	23.56
3CH	75.51	76.84		26CH ₂	22.72	22.41
25CH	75.05	74.67		4CH ₂	20.77	21.16
7CH	72.73	72.13		35CH ₃	17.86	18.19
*28C	71.47	71.87		36CH ₂	18.68	19.39
9CH	69.89	69.63		34CH ₃	15.99	16.07
20CH	68.10	67.70		30CH ₃	15.31	15.24
12CH	56.80	57.28		38CH ₃	13.47	13.70
2CH	49.25	49.24		37CH ₃	14.15	14.09
10CH	49.09	48.69		42CH ₃	12.20	12.71
16CH	41.42	41.73		40CH ₃	11.65	12.09
15CH ₂	39.09	39.39		39CH ₃	7.83	7.97
22CH ₂	37.49	36.57		32CH ₃	6.79	6.94

Табл. 3.1-6. Характерни ¹³C CP/MAS химични отмествания (δ, ppm) в спектрите на SalH и алкалоземните салиномицинати [MSal₂(H₂O)₂]

C-атом	SalH	Mg ²⁺	Ca ²⁺	Sr ²⁺	Ba ²⁺
1COO(H)	177.59	183.04	182.90	182.55	182.80
19CH=	131.23	133.76	133.44	132.95	133.48
18CH=	121.84	121.75	121.38	121.93	122.13
*21C	107.19	107.00	106.95	107.19	107.25
*17C	99.89	99.69	99.66	99.54	99.62
*24C	87.55	88.45	88.43	88.83	88.87

3CH	75.49	76.13	76.03	76.04	76.20
*28C	71.60	71.22	70.98	71.19	71.12
2CH	50.15	50.14	49.91	50.26	50.40
8CH	37.33	37.26	37.12	37.08	37.00
14CH	32.58	33.13	33.03	33.04	32.86
6CH	28.66	28.76	28.87	28.80	28.86
41CH ₂	23.19	23.45	23.37	23.61	23.53
32CH ₃	7.23	7.25	7.24	7.19	7.23

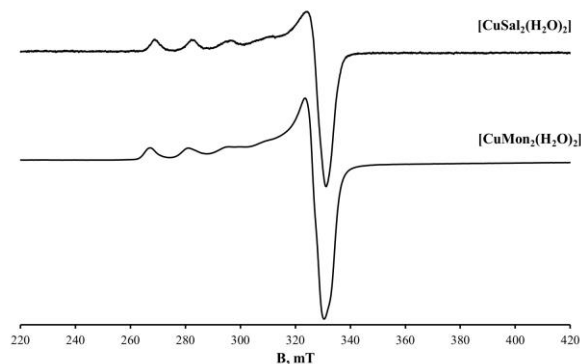
От сериите лантанидни комплекси на NMR анализ бяха погложени само [CeL₂(OH)₂], като участието на монензинатния и салиномицинатния аниони е потвърдено чрез ¹H-NMR в CDCl₃. Сигналите за координационните съединения са значително уширени в сравнение с тези на двете киселини поради присъствието на металния катион. По-значителна разлика се наблюдава при MonH и [CeMon₂(OH)₂], отколкото при SalH и [CeSal₂(OH)₂]. Тесният и интензивен пик при 6.25 ppm в спектъра на MonH (отнесен към OH-групите) се отмества към по-ниско поле в комплекса (6.76 ppm). Едновременно с това сигналът, приписан на 2CH (2.62 ppm, MonH), значително се уширява до сливане с базовата линия при [CeMon₂(OH)₂], потвърждавайки близостта на тежкия цериев йон до карбоксилатната група на антибиотика. От друга страна, протонният спектър на SalH е доста по-сложен, т.к. сигналите на някои характерни протони, разположени в двата противоположни края на органичната молекула, се припокриват значително. Поради тази причина не може да се извлече съществена структурна информация при сравняване на спектрите на SalH и неговия комплекс. Аналогичното спектрално поведение на двата антибиотика в техните комплексни съединения с гву- и тризарядни метални йони дава основание и тук да се предположи идентично (на монензин) свързване на салиномицин в [CeSal₂(OH)₂].

3.1.5. Електронен парамагнитен резонанс (EPR)

Следните парамагнитни координационни съединения на монензин и салиномицин бяха изследвани чрез EPR спектроскопия: [CuL₂(H₂O)₂], [GdMon₃(H₂O)₃] и [CeL₂(OH)₂].

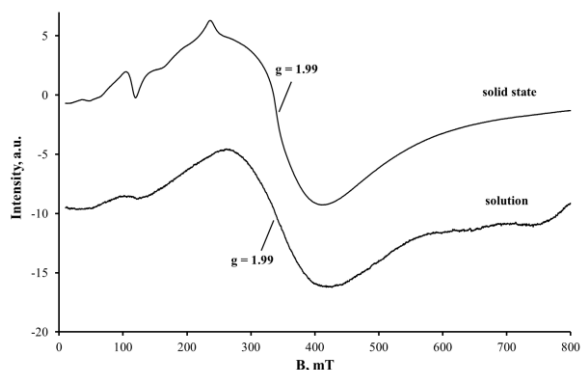
Медни(II) комплекси: спектрите в твърда фаза (**Фиг. 3.1-12**) се характеризират със свръхфина структура – резултат от взаимодействието на несдвоен електрон на Cu²⁺ (d⁹) с ядрения спин на ^{63,65}Cu (I = 3/2). EPR параметрите са типични за моноядрени Cu(II)-съдържащи частици: g_{||} = 2.34, A_{||} = 152×10⁻⁴ cm⁻¹, g_⊥ = 2.06 – монензин; g_{||} = 2.31, A_{||} = 149×10⁻⁴ cm⁻¹, g_⊥ = 2.05 – салиномицин. Отношението g_{||} > g_⊥ показва, че едичният

електрон преобладаващо заема орбиталата $d_{x^2-y^2}$. Високата стойност на $g_{||}$ -фактора и относително ниската такава за константата $A_{||}$ са в съответствие с данните за кислород-съдържащи медни(II) комплекси в деформирано тетрагонално поле. Липсва обменно взаимодействие между отделните парамагнитни центрове ($G = 5.56$) и връзките метален йон – кислород са предимно с йонен характер ($\alpha^2 = 0.76$).



Фиг. 3.1-12. EPR спектри на [CuMon₂(H₂O)₂] (77 K) и [CuSal₂(H₂O)₂] (295 K)

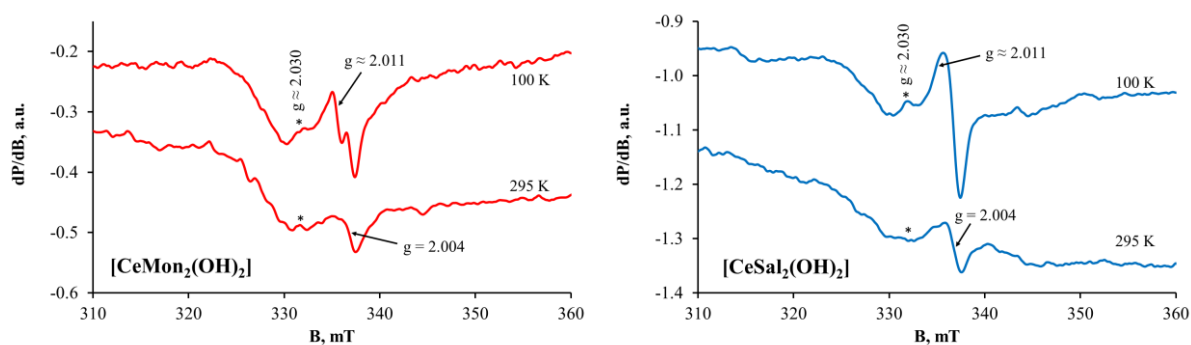
Гадолиниеви(III) монензинат: и в двете EPR спектъра на комплекса (твърдо и течно (THF) състояние, **Фиг. 3.1-13**) се наблюдава аналогичен симетричен сигнал с $g \sim 1.99$ и ширина на линията $\Delta H_{pp} \sim 155$ mT, който показва стабилността на комплекса в двете фази; в допълнение, EPR спектърът на гадолиниевия комплекс в твърда фаза съдържа слабо интензивни сигнали при $g = 5.97$ и $g = 2.77$, чийто произход не може да се определи еднозначно.



Фиг. 3.1-13. EPR спектри на [GdMon₃(H₂O)₃] в твърдо и течно състояние

Цериеви(IV) комплекси: и при двете проби (**Фиг. 3.1-14**) се регистрират тесни сигнали ($\Delta H_{pp} \sim 1.2$ mT) с нисък интензитет и g -стойности в диапазона 2.004-2.030. Сигналът с $g \sim 2.011$ се припокрива със сигнала при $g = 2.004$ и става „видим“ само при ниска температура. Измерванията при 100 K показват по-висок интензитет на

сигнала съгласно закона на Кюри-Вайс. EPR параметрите се приписват на дефектни центрове в изследваните комплекси. Сигналът с $g = 2.004$ може да се отнесе към наличието на кислород-съдържащи радикали, докато тези с $g \sim 2.011$ и $g \sim 2.030$ са най-вероятно компоненти на асиметричен такъв, характерен за радикали, съдържащи гвойката Ce^{4+} -кислород. Трябва да се подчертае, че концентрацията на дефектни центрове в гвата комплекса е много ниска, но измерванията индиректно потвърждават окислителното състояние +4 на цериевия катион.

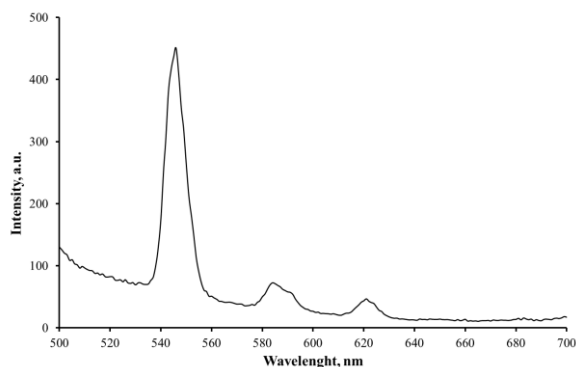


Фиг. 3.1-14. EPR спектри на [CeMon₂(OH)₂] и [CeSal₂(OH)₂]

3.1.6. Допълващи експерименти за индивидуални комплексни съединения

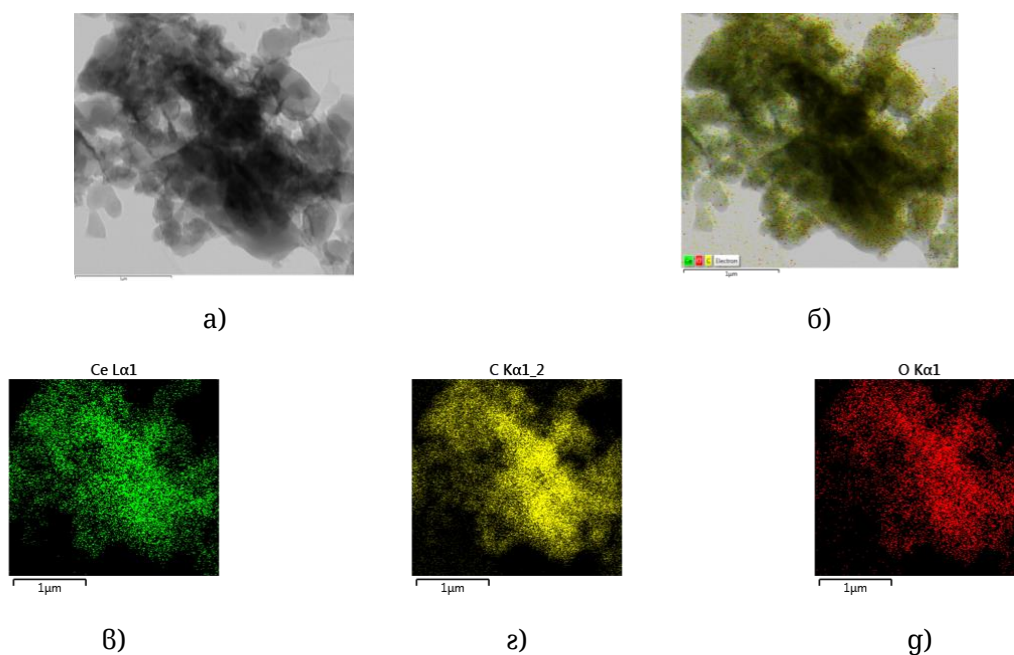
С част от изолираните „класически“ координационни съединения на монензин и салиномицин бяха проведени конкретни специфични изследвания, които обогатиха набора от данни за съответния комплексен вид.

Флуоресцентно изследване с [TbMon₃(H₂O)₃]: при възбуждане с $\lambda = 450-470$ nm в емисионния спектър (Фиг. 3.1-15) се наблюдават ивици, отговарящи на основните преходи за йони на Tb³⁺ – от ⁵D₄ до ⁴F₇, като очаквано най-интензивен е преходът ⁵D₄ - ⁷F₅ при 545 nm. Отсъства ивицата за прехода ⁵D₄ - ⁴F₆, която не е много интензивна, но често се наблюдава в спектри на Tb(III)-съдържащи съединения.



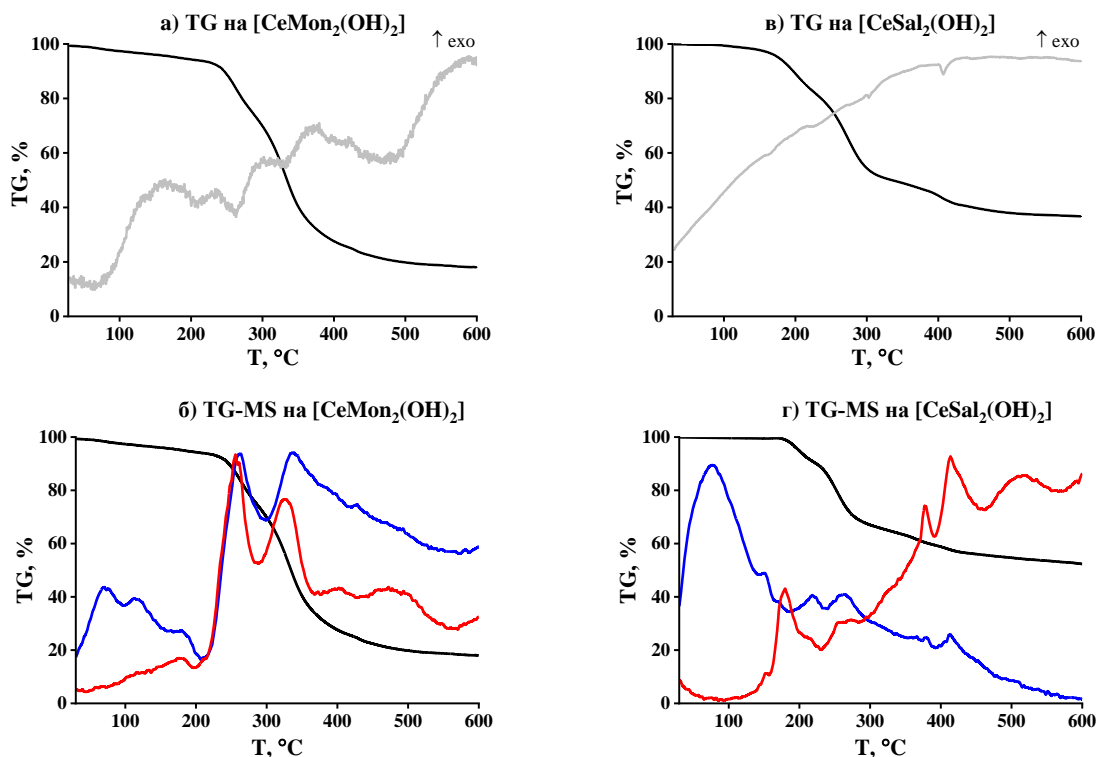
Фиг. 3.1-15. Емисионен спектър на [TbMon₃(H₂O)₃]

Трансмисионна електронна микроскопия (ТЕМ) на $[\text{CaSal}_2(\text{H}_2\text{O})_2]$, $[\text{LaMon}_3(\text{H}_2\text{O})_3]$ и $[\text{CeL}_2(\text{OH})_2]$: пробите са с аморфен характер и равномерно разпределение на елементите по тяхната повърхност. Размерът на частиците варира от 100-200 nm в комплексите на Ca^{2+} и La^{3+} до 200-300 nm в тези на Ce^{4+} (**Фиг. 3.1-16**).



Фиг. 3.1-16. ТЕМ изображения (а, б) и разпределение на Се, С и О (в-г) в $[\text{CeSal}_2(\text{OH})_2]$

Термичен анализ (TGV-DTA, TGV-MS) на $[\text{CeL}_2(\text{OH})_2]$: и при гвата комплекса не се наблюдават ендотермични пикове под 200 °C, което изключва наличието на водни молекули в състава им (**Фиг. 3.1-17**). Ендотермичният пик при ~ 200 °C за $[\text{CeMon}_2(\text{OH})_2]$ отговаря на точката му на топене (196 °C), последван от постепенното му разлагане. Слабият ендотермичен пик в интервала 128-150 °C съответства на точката на топене на $[\text{CeSal}_2(\text{OH})_2]$ (142-144 °C), но разлагането започва при по-ниска температура в сравнение с монензинатния аналог. Наблюдава се загуба на вода под 100 °C, въпреки че комплексите са сушени и съхранявани в ексикатор преди всички анализи. Тези водни молекули са слабо свързани и нямат отношение нито към структурните характеристики на антибиотиците, нито към координационното обкръжение на цериевите(IV) йони.



Фиг. 3.1-17. TG-DTA и TG-MS на [CeMon₂(OH)₂] (а, б) и [CeSal₂(OH)₂] (в, г)

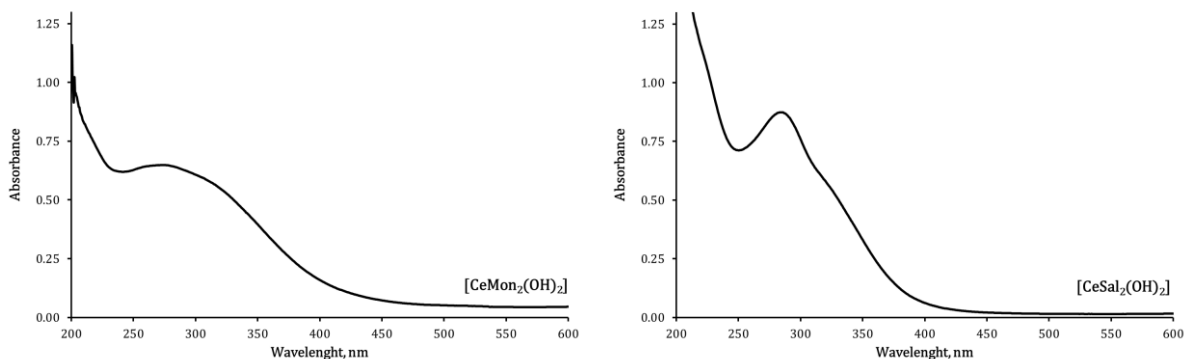
Електронна спектроскопия (UV-Vis) на [CeL₂(OH)₂]: спектрите на комплексите съдържат асиметрична ивица в интервала 200-500 nm (Фиг. 3.1-18). Електронната конфигурация на Ce⁴⁺ е аналогична на тази на Xe⁰ и наблюдаваната абсорбция може да се обясни само с наличието на преходи с пренос на заряд O → Ce:

$$[\text{CeMon}_2(\text{OH})_2] \quad a_{270} = 1.71 \text{ L}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$$

$$\epsilon_{270} = 2590 \text{ L}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1};$$

$$[\text{CeSal}_2(\text{OH})_2] \quad a_{282} = 2.65 \text{ L}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$$

$$\epsilon_{282} = 4434 \text{ L}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}.$$

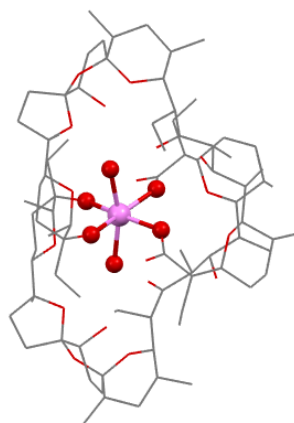


Фиг. 3.1-18. UV-Vis спектри на [CeL₂(OH)₂] (MeOH, концентрация 0.3125 mg/mL)

3.1.7. Структури на „класическите“ комплекси на монензин и салиномицин

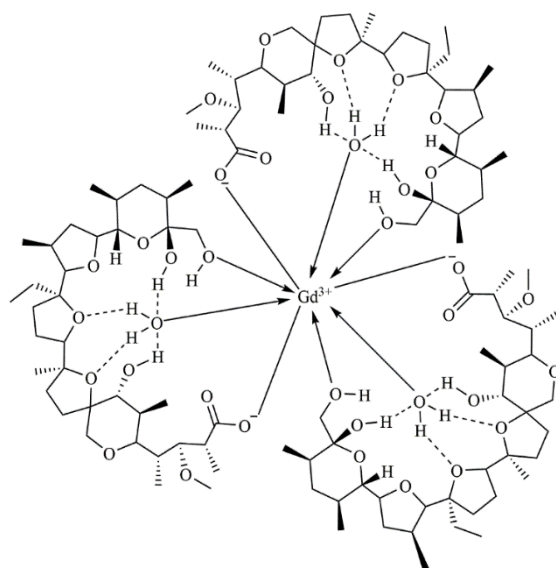
Моноягрени бис-комплекси на M^{2+} : аналогичното спектрално поведение на двата антибиотика предполага образуването на салиномицинати, подобни на координационните съединения на монензин, охарактеризирани с рентгенова дифракция на монокристални образци. Вероятно анионите на салиномицин също са разположени в *цис*-позиция спрямо гвузарядния метален йон и в хидрофилната им кухина е свързана молекула вода.

С цел да изследваме възможната координация на Sal^- , моделирахме структурата на $[CaSal_2(H_2O)_2]$ въз основа на известните кристалографски данни за монензинатните комплекси и двете натриеви форми на салиномицин. Геометрията на предложената структура е оптимизирана с AMBER99 force field. Включването на водните молекули като лиганди е възможно само при условие, че те участват допълнително и във вътрешномолекулни водородни връзки с групите $11C=O$ и $20C-OH$ на салиномицин. Произходът на образуваните водородни връзки влияе значително върху стабилността на модела, тъй като другите възможни структури водят до разгъване на лиганда и изключват свързването на вода към металния(II) център. Карбоксилатните групи на салиномицин се отклоняват от екваториалната равнина на моделирания калциев комплекс в сравнение с изоструктурните монензинати с гвузарядни метални йони. Подобно поведение може да се обясни с отсъствието на първична алкохолна група в салиномицин и по такъв начин третичният алкохолен заместител при $28C$ остава единствената възможност за образуване на комплекс заедно с карбоксилатната функция в противоположния край на лиганда (**Фиг. 3.1-19**).



Фиг. 3.1-19. Моделирана структура на $[CaSal_2(H_2O)_2]$

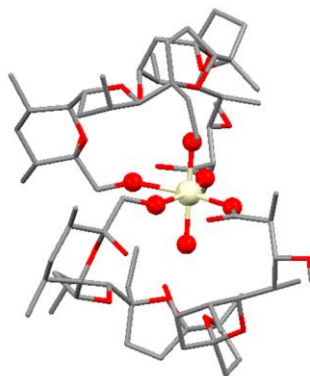
Моноягрени трис-комплекси на M^{3+} : наборът от спектрални данни, съчетани с елементарен анализ, сочи към образуването на неутрални координационни съединения, в които един метален йон е свързан с три органични лиганда и (вероятно) молекули вода. Предполаганото координационно число на лантанидните йони е 9 – шест места се заемат от бидентатните аниони на антибиотиците, а останалите три – от молекулите вода в тяхната кухня (Фиг. 3.1-20). Точната геометрия на комплексите не може да бъде дискутирана без използването на рентгеноструктурен анализ върху монокристали, каквито до момента не са получени въпреки различните техники за кристализация, които бяха приложени.



Фиг. 3.1-20. Предполагаема структура на лантанидните комплекси на полиетерните йонофори ($[GdMon_3(H_2O)_3]$ като пример)

Моноягрени бис-комплекси на Se^{4+} : Въз основа на елементния анализ и спектралните свойства на $[CeL_2(OH)_2]$ е предположено, че техните структури наподобяват тези на комплексите на монензин и салиномицин с двузрядни метални йони, т.е. два депротонирани антибиотика се свързват бидентатно към металния (IV) център. За постигане на електронеутралност, Se^{4+} е свързан и с два хидроксидни йони, произхождащи от слабия основен излишък, използван при синтетичните процедури. Структурата на $[CeMon_2(OH)_2]$ бе конструирана с помощта на кристалографските данни за $[NiMon_2(H_2O)_2]$, като Ni^{2+} бе заменен с Se^{4+} и един водород от всяка водна молекула бе отстранен (Фиг. 3.1-21). Геометрията на така получения комплекс бе оптимизирана и дължините на връзките M-O варират от 2.04 Å в Se-OH до 2.35 и 2.45 Å в COO^- -Se и Se-OH. Цис-ориентираните органични лиганди заемат

екваториалната равнина на комплекса и хидроксидните йони в аксиална позиция допълват вътрешната координационна сфера. Обкръжението на металния център може да се разглежда като деформиран октаедър със следните ъгли на връзки: 77.2° (COO⁻-Ce-OH), 87.4° (OH-Ce-OH), 118.2° (COO⁻-Ce-COO⁻) и 178.4° (OH⁻-Ce-OH⁻).



Фиг. 3.1-21. Оптимизирана структура на [CeMon₂(OH)₂]

3.2. „Некласически“ комплекси на монензин и салиномицин

В този подраздел са разгледани индивидуални системи, в които полимерните йонофори образуват специфични координационни съединения, изолирани и охарактеризирани в твърда фаза. Към тази група принадлежат:

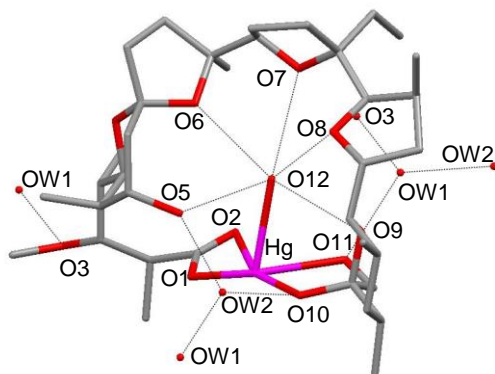
- моноядрените моно-комплекси на монензин с йони на Hg²⁺ и на салиномицин с йони на Pb²⁺;
- моноядрените моно-комплекси на йонофорите с Ce⁴⁺;
- смесено-металните комплекси на монензин натрий с Co²⁺, Mn²⁺ и Cu²⁺.

3.2.1. Комплекси [HgMon(H₂O)] и [PbSal(NO₃)]

С йоните на живак(II) и олово(II) бяха изолирани различни по състав комплекси от досега коментираните, като първият йон реагира с монензинатен анион, а вторият – със салиномицинатен. Взаимодействието протича в смесен разтворител с образуването на [HgMon(H₂O)] и [PbSal(NO₃)]. Структурата на живачния(II) комплекс е доказана чрез рентгеноструктурен анализ, докато тази на олово(II) е изведена косвено чрез данните от серия физикохимични методи. Изследването на системите Pb(II)-монензин и Hg(II)-салиномицин не доведе до изолирането на химически чисти индивидуални координационни съединения.

Комплексът $[\text{HgMon}(\text{H}_2\text{O})]$ съдържа монензинатен гуанион, който е координиран тетрагентатно с Hg^{2+} чрез бигентатна карбоксилатна (O1 и O2), депротонирана вторична хидроксилна (O10) и първична хидроксилна (O11) групи (Фиг. 3.2-1). Двете двойки кислородни атоми (O1 / O2 и O10 / O11) са в положение „глава – опашка“, което осигурява циклизация на антибиотика. Тези кислородни атоми заемат екваториалната равнина във вътрешната координационна сфера на живачния(II) катион, а в аксиална позиция се координира молекула вода (O12), водеща до деформирана квадратно-пирамидална геометрия на комплекса и стабилизация на макроцикъла чрез водородни връзки.

Дължините на връзките Hg-O варират в широк диапазон от 2.050 Å (Hg-O1) до 2.921 Å (Hg-O2) и отразяват силното взаимодействие на металния йон с 1O / 11O, и по-слабото му свързване с 2O / 10O / 12O. За разлика от двузарядните метални комплекси на монензинатния анион $[\text{MMon}_2(\text{H}_2\text{O})_2]$, Hg^{2+} взаимодейства предпочитано с вторичния хидроксилачен кислороден атом, а не с първичната хидроксилна група, и за първи път се наблюдава бигентатен начин на координиране на карбоксилатната функция, макар и със силно увеличена дължина на връзката Hg-O2.



Фиг. 3.2-1. Структура на $[\text{HgMon}(\text{H}_2\text{O})]$ (водородните атоми са изпуснати за яснота)

IR спектърът на $[\text{HgMon}(\text{H}_2\text{O})]$ е в съгласие с кристалната му структура (Табл. 3.2-1). В спектъра на оловния(II) салиномицинат се наблюдава моногентатно свързване на COO-групата, като неутралността на комплекса се постига чрез включване на нитратни йони от изходната метална сол. Наличието на пикове за $[\text{Hg}(\text{C}_{36}\text{H}_{61}\text{O}_{11})]^+$ (m/z 871.4), $[\text{Hg}(\text{C}_{36}\text{H}_{60}\text{O}_{11})\text{Na}]^+$ (m/z 893.4) и $[\text{Pb}(\text{C}_{42}\text{H}_{69}\text{O}_{11})]^+$ (m/z = 957.5) в съответните FAB-MS спектри също е в подкрепа на образуваните координационни съединения.

Табл. 3.2-1. Характеристични IR трептения в спектрите на MonH / [HgMon(H₂O)] и SalH / [PbSal(NO₃)]

Трепмене	Положение на ивиците, cm ⁻¹			
	MonH	[HgMon(H ₂ O)]	SalH	[PbSal(NO ₃)]
ν_{OH} (H ₂ O)	3520	3500	3500	3380
ν_{OH} (лиганг)	3320	3400-3200		
$\nu_{C=O}$ (COOH)	1700	-	1710	-
$\nu_{C=O}$ (C=O)	-	-	1710	1710-1690 ^b
$\nu_{C=O}^{asym}$ (COO ⁻)	-	1650	-	1520
$\nu_{C=O}^{sym}$ (COO ⁻)	-	1410	-	1410
NO ₃ ⁻	-	-	-	1300

В ¹³C-NMR спектъра на [HgMon(H₂O)] (**Табл. 3.2-2**) въглеродните атоми в близост до металния(II) център търпят по-слабо отместване в сравнение с комплекса [CdMon₂(H₂O)₂] (**Табл. 3.1-4**). Наблюдаваните разлики за 1C, 25C и 27C вероятно се дължат на тетраедричната координация на монензин, като по-малките числени стойности предполагат и различна конформация на лиганда в изследваните съединения.

Табл. 3.2-2. Химично отместване (δ , ppm) на сигналите за ¹³C{¹H}-NMR (150 MHz, CDCl₃) в спектрите на MonH и [HgMon(H₂O)]

C-атом	MonH	Hg ²⁺	C-атом	MonH	Hg ²⁺
1COO(H)	177.09	178.15	24CH	35.68	32.83
*9C	107.79	107.62	6CH	34.54	34.40
*25C	96.99	97.91	18CH	34.45	34.41
*16C	86.18	86.34	8CH ₂	34.03	34.04
12CH	85.14	85.30	11CH ₂	33.73	33.67
17CH	85.11	84.26	22CH	32.80	32.83
13CH	83.42	82.93	19CH ₂	32.58	32.46
3CH	81.56	81.53	15CH ₂	31.49	31.34
20CH	77.01	77.34	32CH ₂	31.19	30.37
21CH	73.83	73.60	14CH ₂	27.88	27.32
7CH	70.74	70.74	31CH ₃	27.69	27.52
26CH ₂	67.98	67.64	35CH ₃	17.54	17.52
5CH	67.01	67.20	36CH ₃	16.32	16.61
28CH ₃ -O	58.03	57.91	34CH ₃	15.75	15.84
2CH	41.94	41.56	27CH ₃	15.66	15.76
10CH ₂	38.36	38.53	30CH ₃	10.75	10.35

Метални комплекси на карбоксилните полиетери монензин и салиномицин:
структура, свойства & биологична активност

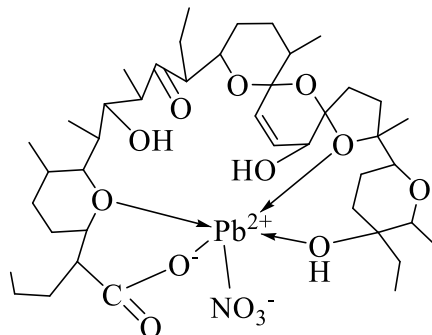
4CH	36.70	36.74		29CH ₃	10.37	10.91
23CH ₂	36.59	36.54		33CH ₃	8.61	8.36

NMR данните за оловния(II) комплекс на салиномицин (Табл. 3.2-3), а именно отместването на 1C, 2C, 23C, 28C, 33C към по-слабо поле, и на 12C, 13C, 26C – към по-силно, предполагат участие на карбоксилатния 1аО, хидроксилния 28О и етерните (3О, 4О) кислородни атоми във взаимодействие с металния йон. Слабата разтворимост на комплекса във вода сочи, че вероятно нитратните йони са преки участници във вътрешната координационна сфера на Pb²⁺ (а не играя ролята на противойони). Регистрираните NOESY спектри за [CdSal₂(H₂O)₂] и [PbSal(NO₃)] потвърждават различната стехиометрия на двете съединения, т.к. за първия комплекс се наблюдават отрицателни стойности за NOE's, отговарящи на молекулна маса, по-висока от 1500 D, докато за втория положителните NOE's за всички сигнали съответстват на молно отношение M(II)-лиганд = 1:1 и по-ниско молекулно тегло.

Табл. 3.2-3. ¹³C-NMR (150 MHz, acetonitrile-d₃) химични отмествания (δ, ppm) в спектрите на SalH и [PbSal(NO₃)]

C-атом	SalH	Pb ²⁺		C-атом	SalH	Pb ²⁺
11C=O	215.53	215.75		8CH	37.06	36.43
1COO(H)	177.86	184.60		14CH	33.66	33.55
19CH=	133.65	133.03		23CH ₂	31.53	33.91
18CH=	123.43	123.95		31CH ₂	31.92	31.92
*21C	107.72	108.96		27CH ₂	30.19	30.47
*17C	100.14	99.99		6CH	29.06	28.97
*24C	89.04	89.33		33CH ₃	26.03	28.97
29CH	77.83	78.11		5CH ₂	26.94	27.02
13CH	78.60	77.41		41CH ₂	23.47	24.85
3CH	75.51	75.24		26CH ₂	22.72	20.47
25CH	75.05	76.05		4CH ₂	20.77	21.50
7CH	72.73	72.30		35CH ₃	17.86	17.95
*28C	71.47	73.74		36CH ₂	18.68	17.02
9CH	69.89	70.60		34CH ₃	15.99	16.06
20CH	68.10	67.22		30CH ₃	15.31	14.8
12CH	56.80	54.58		38CH ₃	13.47	13.34
2CH	49.25	55.08		37CH ₃	14.15	13.81
10CH	49.09	49.59		42CH ₃	12.20	13.01
16CH	41.42	41.74		40CH ₃	11.65	11.59
15CH ₂	39.09	38.90		39CH ₃	7.83	7.48
22CH ₂	37.49	36.64		32CH ₃	6.79	6.83

На база наблюдаваните свойства на оловния(II) салиномицинат и неговия елементарен анализ, съставът е $[PbSal(NO_3)]$, с вероятна структура, представена на **Фиг. 3.2-2**.

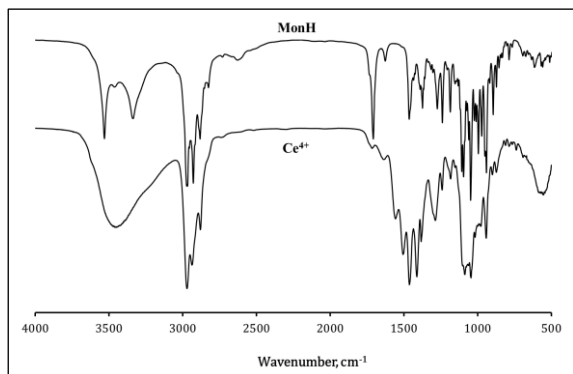


Фиг. 3.2-2. Предполагаема структура на $[PbSal(NO_3)]$

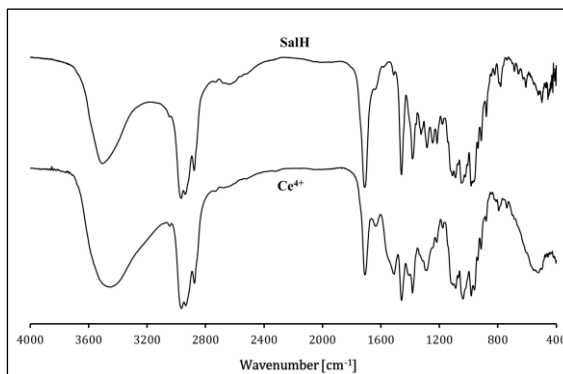
3.2.2. Комплекси на монензин и салиномицин $[CeL(NO_3)_2(OH)]$

С йоните на Ce^{4+} са изолирани и охарактеризирани моноядрени моно-комплекси на монензин и салиномицин. Спектралните свойства на комплексите $[CeL(NO_3)_2(OH)]$ са много близки до тези на $[CeL_2(OH)_2]$ поради аналогичното координационно поведение на антибиотиците. Основните разлики се гължат на различния състав на двата типа комплекси, т.к. в моно-комплексите се установява включването на два мола нитратни йони за мол комплекс.

IR спектрите на $[CeL(NO_3)_2(OH)]$ в KBr потвърждават депротонирането на MonH и SalH, но съдържат и две нови ивици в интервала $1520-1280\text{ cm}^{-1}$, приписани на валентните трептения на NO_3^- ($1505/1289\text{ cm}^{-1}$ за $[Ce(Mon(NO_3)_2(OH))$, **Фиг. 3.2-3**; $1512/1288\text{ cm}^{-1}$ за $[CeSal(NO_3)_2(OH)]$, **Фиг. 3.2-4**). Разликата между двата сигнала ($216-224\text{ cm}^{-1}$) показва, че нитратните йони са директно свързани с металния център. Ивицата при 378 cm^{-1} (монензин) и 380 cm^{-1} (салиномицин) (в CsI) се гължи на деформационното трептене на NO_3^- , участващи в образуването на четири-членни хелатни структури, което предполага техния бидентатен начин на координиране. Сравнението на спектрите в разтвор ($CHCl_3$) и твърдо състояние показва, че комплексите запазват структурата си в двете фази, като се наблюдава незначителна степен на протониране на антибиотиците.

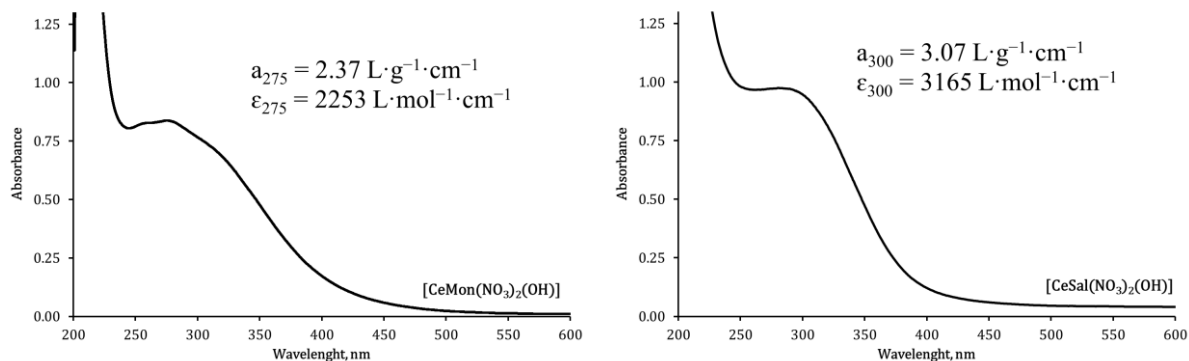


Фиг. 3.2-3. IR спектри на MonH и $[\text{Ce}(\text{Mon}(\text{NO}_3)_2(\text{OH}))]$



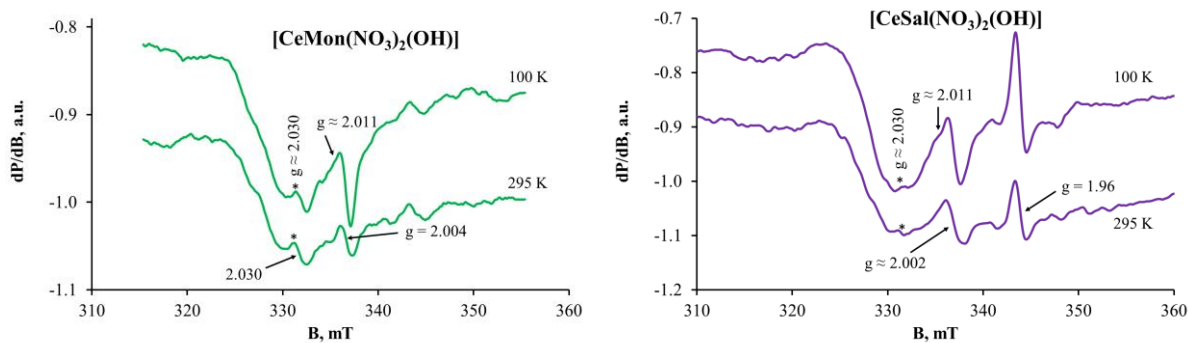
Фиг. 3.2-4. IR спектри на SalH и $[\text{Ce}(\text{Sal}(\text{NO}_3)_2(\text{OH}))]$

В UV-Vis спектрите на $[\text{CeL}(\text{NO}_3)_2(\text{OH})]$ се наблюдава отново асиметрична ивица (250-500 nm), отнесена към преходи с пренос на заряд $\text{O} \rightarrow \text{Ce}$ (Фиг. 3.2-5). $^1\text{H-NMR}$ сигналите за хидроксилната група, свързана с 25C, и за 2CH са уширени в спектъра на $[\text{CeMon}(\text{NO}_3)_2(\text{OH})]$, но запазват своята позиция спрямо некоординирания антибиотик. Припокриването на ивиците при SalH и $[\text{CeSal}(\text{NO}_3)_2(\text{OH})]$ не може да даде съществена информация относно координацията на салиномицин.



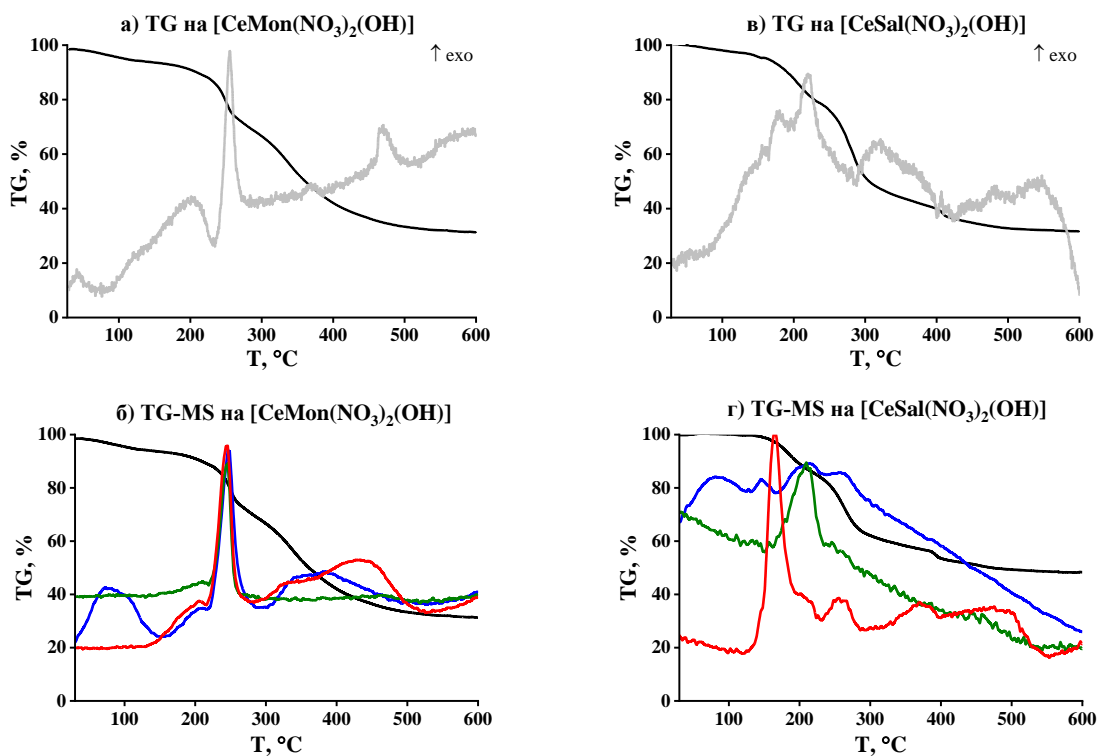
Фиг. 3.2-5. UV-Vis спектри на $[\text{CeL}(\text{NO}_3)_2(\text{OH})]$ (MeOH, концентрация 0.3125 mg/mL)

EPR спектърът на $[\text{CeMon}(\text{NO}_3)_2(\text{OH})]$ напълно съответства на този на $[\text{CeL}_2(\text{OH})_2]$ ($g = 2.004, 2.011, 2.030$). В спектъра на $[\text{CeSal}(\text{NO}_3)_2(\text{OH})]$ сигналът с $g = 2.004$ не се наблюдава, но се регистрират два групи с ефективни g -фактори 2.002 и 1.96, респ. Първият сигнал е отнесен към въглерод-съдържащ радикал, докато вторият е информативен за наличието на радикали, съдържащи двойката $\text{Ce}^{3+}-\text{O}$. Подобно на $[\text{CeL}_2(\text{OH})_2]$, всички сигнали са с много нисък интензитет (Фиг. 3.2-6).



Фиг. 3.2-6. EPR спектри на $[CeMon(NO_3)_2(OH)]$ и $[CeSal(NO_3)_2(OH)]$

Изследванията с TG-DTA и TG-MS (Фиг. 3.2-7) изключват наличието на водни молекули във вътрешната координационна сфера на $[CeL(NO_3)_2(OH)]$. За разлика от моноядрените бис-комплекси на Ce^{4+} , тук TG-DTA кривите съдържат екзотермичен пик при 258 °C (монензин) и 153 °C (салиномицин) поради окислителни процеси с участието на нитратните аниони. Данните показват, че разграждането на комплексите започва преди тяхното стапяне с интензивно отделяне на H_2O , CO_2 и NO (TG-MS).

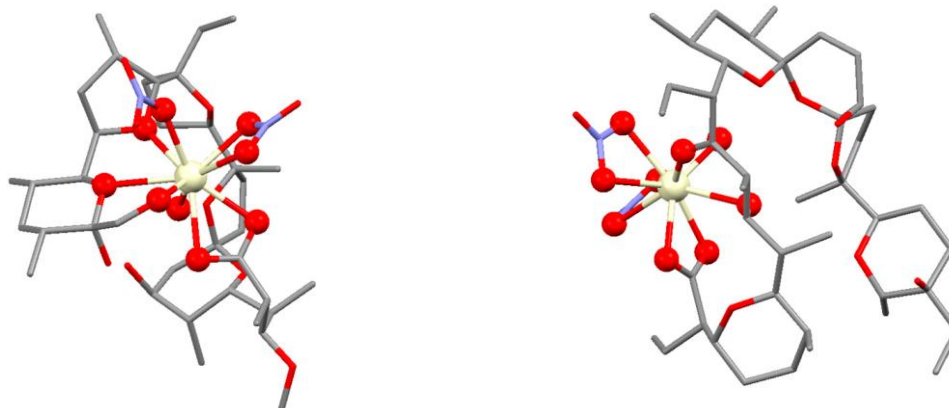


Фиг. 3.2-7. TG-DTA и TG-MS на $[CeL(NO_3)_2(OH)]$

Структурата на моноягрните моно-комплекси на Ce^{4+} бе изследвана с молекулна динамика и последващи квантово-химични изчисления. Резултатите показват, че металният катион е разположен близо до кухнята на йонофорите, които са свързани полигентатно. Електронеутралността на координационните съединения се постига с допълнителното свързване на два нитратни и един хидроксиден анион. Координационното число на Ce^{4+} е 9, но се реализира по различен начин в двата комплекса (Табл. 3.2-4, Фиг. 3.2-8).

Табл. 3.2-4. Начин на координиране на лигандите в $[CeL(NO_3)_2(OH)]$

Дентатност на лигандите	Крайна структура
пентагентатен монензин; циклизация един моногентатен / един бигентатен нитрати моногентатен хидроксиден анион	$[CeMon(\eta_2-NO_3)(NO_3)(OH)]$
тетрагентатен салиномицин; без циклизация два бигентатни нитрати моногентатен хидроксиден анион	$[CeSal(\eta_2-NO_3)_2(OH)]$



Фиг. 3.2-8. Оптимизирана структура на моноягрните моно-комплекси на Ce^{4+} с монензин (ляво) и салиномицин (дясно)

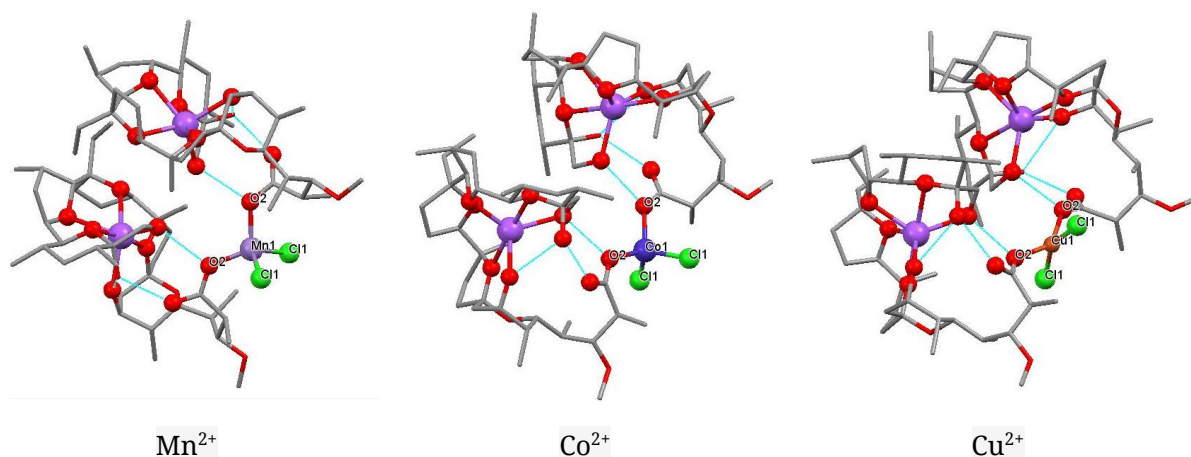
3.2.3. Смесено-метални комплекси на монензин натрий

Изследванията с монензин натрий са проведени в присъствие на йоните на Co^{2+} , Mn^{2+} и Cu^{2+} . Взаимодействието метален йон – лиганд протича в смесен неводен разтворител (MeCN/MeOH); изолираните комплекси са със състав $[M(MonNa)_2Cl_2]$.

Структурите на $[M(MonNa)_2Cl_2]$ са представени на Фиг. 3.2-9. Табл. 3.2-5 съдържа избрани ъгли и ъгли в комплексите. И в трите съединения две молекули натриев монензинат комплексобразуват с един преходен метален йон. Всяка

молекула MonNa действа като моногенен неутрален лиганд чрез координация на един карбоксилатен кислороден атом с преходния катион, образувайки връзки метал-кислород. Другите две места във вътрешната координационна сфера на комплексообразувателя са заети от хлоридните аниони от изходната метална сол. Неутралните комплекси на манган(II) и кобалт(II) кристализират като монохидрати, докато този на мед(II) съдържа молекула ацетонитрил. В кристалните структури се формират вътрешномолекулни водородни връзки от различен произход и не се наблюдават междумолекулни H-връзки.

В комплексите $[M(\text{MonNa})_2\text{Cl}_2]$ йоните на преходните метали са с координационно число 4. Дължините и ъглите на връзките M-O и M-Cl са типични за комплекси на тези йони, в които карбоксилатните аниони действат като моногенатни лиганди. Дължината на връзките M-O и M-Cl намалява в реда $\text{Mn}^{2+} > \text{Co}^{2+} > \text{Cu}^{2+}$ с намаление на съответния йонен радиус. Основната разлика между трите структури е в геометрията на вътрешната координационна сфера: докато йоните на манган(II) и кобалт(II) са разположени в слабо деформирано тетраедрично поле с ъгли на връзките, вариращи от 105.82° до 109.74° , медният(II) йон е в деформирано плоско-квадратно обкръжение с ъгли на връзките в интервала 94.12° - 95.66° .



Фиг. 3.2-9. Структури на смесено-металните комплекси на монензин (с пунктир са отбелязани вътрешномолекулните водородни връзки, като водородните атоми са изпуснати за яснота)

Табл. 3.2-5. Избрани гължини (Å) и ъгли (°) на връзки в смесено-металните комплекси на монензин

[Mn(MonNa) ₂ Cl ₂]×H ₂ O		[Co(MonNa) ₂ Cl ₂]×H ₂ O		[Cu(MonNa) ₂ Cl ₂]×MeCN	
Mn-O2	2.071(3)	Co-O2	1.975(6)	Cu-O2	1.960(4)
Mn-Cl1	2.3103(19)	Co-Cl1	2.231(3)	Cu-Cl1	2.181(2)
Na-O4	2.333(4)	Na-O4	2.332(8)	Na-O4	2.331(5)
Na-O6	2.342(3)	Na-O6	2.342(6)	Na-O6	2.339(4)
Na-O11	2.364(3)	Na-O11	2.351(8)	Na-O11	2.338(5)
Na-O8	2.406(3)	Na-O8	2.411(7)	Na-O8	2.403(5)
Na-O7	2.442(3)	Na-O7	2.467(7)	Na-O7	2.448(5)
Na-O9	2.480(3)	Na-O9	2.475(6)	Na-O9	2.474(4)
O2-Mn-O2	113.80(17)	O2-Co-O2	110.6(4)	O2-Cu-O2	137.9(3)
O2-Mn-Cl1	107.92(11)	O2-Co-Cl1	109.4(2)	Cl1-Cu-Cl1	152.6(3)

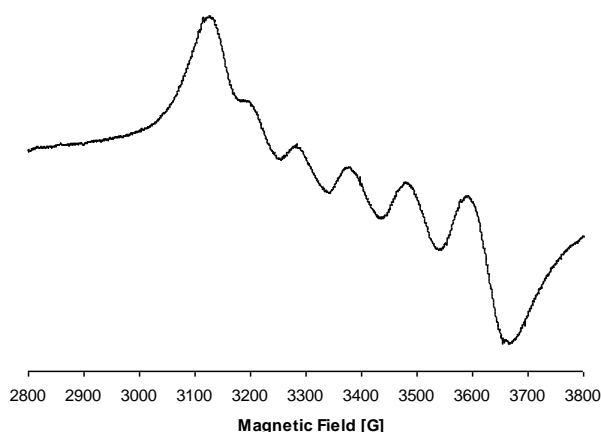
Натриевият йон остава в кухнята на монензин и не може да бъде изместен от съответния преходен метален йон. Алкалният център е координиран с шест кислородни атома и вътрешната координационна сфера е със силно деформирана октаедрична геометрия, като връзките Na-O варират между 2.33 и 2.48 Å и в трите комплекса (Табл. 3.2-5). Резултатите корелират с данните за кристалните структури на натриевия монензинат.

IR данните за смесено-металните монензинати са в съответствие със структурите, дешифрирани чрез рентгеноструктурен анализ (Табл. 3.2-6). Основно внимание трябва да се обърне на разликата между асиметричното и симетричното валентни трептения на карбоксилатния анион, която в комплексите е $\Delta\nu = 180-200 \text{ cm}^{-1}$, потвърждавайки монодентатния начин на координация на депротонираната карбоксилна група. Втората област е тази на валентните ОН-трептения ($3600-3200 \text{ cm}^{-1}$), където се наблюдават различен брой ивици в зависимост от наличието на кристална вода и образуваните координационни и/или водородни връзки.

Парамагнитните комплекси $[\text{Mn}(\text{MonNa})_2\text{Cl}_2]$ и $[\text{Cu}(\text{MonNa})_2\text{Cl}_2]$ са гопълнително охарактеризирани и с EPR. Спектърът на мангановия(II) комплекс в метанол (77 K, **Фиг. 3.2-10**) съдържа добре разрешен секстет ($g = 2.07$; $A_{\text{Mn}} = 93 \text{ G}$), като свръхфиното разцепване се дължи на електронно взаимодействие с ядрото на ^{55}Mn ($I = 5/2$). Наблюдаваният сигнал е характерен за моноядрени комплекси на Mn^{2+} в октаедрично обкръжение, реализирано най-вероятно чрез гопълнително координиране на молекули разтворител в тетраедричния комплекс. EPR спектрите на $[\text{Cu}(\text{MonNa})_2\text{Cl}_2]$ са регистрирани в разтвор и твърдо състояние (77 K). Те се характеризират със свръхфина структура, дължаща се на взаимодействието на несвободния електрон с ядрения спин на $^{63,65}\text{Cu}$. Стойностите на параметрите g и A са типични за моноядрени медни(II) комплекси, свързани с O- и Cl-донорни атоми, и разположени в поле с деформирана тетрагонална симетрия: $g_{||} = 2.38$, $A_{||} = 96 \times 10^{-4} \text{ cm}^{-1}$, $g_{\perp} = 2.09$ (твърда проба); $g_{||} = 2.42$, $A_{||} = 127 \times 10^{-4} \text{ cm}^{-1}$, $g_{\perp} = 2.08$ (MeOH).

Табл. 3.2-6. Характеристични IR трептения в спектрите на MonH, MonNa и $[\text{M}(\text{MonNa})_2\text{Cl}_2]$

Трепмене	Положение на ивиците, cm^{-1}				
	MonH	MonNa	$[\text{M}(\text{MonNa})_2\text{Cl}_2]$		
			Mn^{2+}	Co^{2+}	Cu^{2+}
$\nu_{\text{OH}} (\text{H}_2\text{O})$	3520	3500-3300	3560	3560	3550
$\nu_{\text{OH}} (\text{свободни})$	3320		3490	3490	3490
$\nu_{\text{OH}} (\text{H-вр./коорг.})$			3250	3250	3190
$\nu_{\text{C=O}} (\text{COOH})$	1700	-	-	-	-
$\nu_{\text{C=O}}^{\text{asym}} (\text{COO}^-)$	-	1540	1600	1600	1590
$\nu_{\text{C=O}}^{\text{sym}} (\text{COO}^-)$	-	1390	1400	1400	1410



Фиг. 3.2-10. EPR спектър на $[Mn(MonNa)_2Cl_2]$ (77 K, MeOH)

3.3. Обобщение

Изолирани и охарактеризирани са общо 32 „класически“ и 7 „некласически“ комплекси на монензин и салиномицин с метални катиони във втора-четвърта степен на окисление.

Експерименталните данни, съчетани с рентгенова дифракция и теоретични изчисления, показват изоструктурност на координационните съединения в отделните серии, където антибиотиците винаги действат бидентатно, образувайки циклични структури „глава-опашка“:

$[ML_2(H_2O)_2]$:	монензин	$M^{2+} = Mg, Ca, Co, Mn, Ni, Cu, Zn, Cd;$
	салиномицин	$M^{2+} = Mg, Ca, Sr, Ba, Co, Ni, Cu, Zn, Cd;$
$[ML_3(H_2O)_3]$:	монензин	$M^{3+} = Y, La, Ce, Pr, Nd, Sm, Eu, Gd, Tb, Er;$
	салиномицин	$M^{3+} = La, Pr, Nd;$
$[ML_2(OH)_2]$:	монензин	$M^{4+} = Ce;$
	салиномицин	$M^{4+} = Ce.$

В комплексите, където се наблюдава различен начин на координация, монензин и салиномицин реагират като полиидентатни лиганди. Координационните съединения $[HgMon(H_2O)]$ и $[M(MonNa)_2Cl_2]$ ($M^{2+} = Co, Mn, Cu$) са анализирани чрез рентгенова дифракция на монокристали, структурите на $[CeL(NO_3)_2(OH)]$ са моделирани с молекулярна динамика и квантово-химични изчисления.

4. Резултати и дискусия:

Комплексообразуване на монензин и салиномицин в разтвор – експериментални и теоретични изследвания

Получаването на серии от комплекси на монензин и салиномицин с метални йони в различна степен на окисление постави въпроса относно координативната способност на лигандите в разтвор при различни реакционни условия. Изследванията показваха, че кръговият дихроизъм (CD) може успешно да се приложи за изучаване на свойствата на монензин като хирална молекула, които съчетани с теоретични изчисления, допълват познанието ни за неговото поведение в разтвор. Кръгово-дихроичният спектър на салиномицин не се повлиява под действие на металните катиони и неговата способност за комплексообразуване е изследвана чрез теоретичен модел.

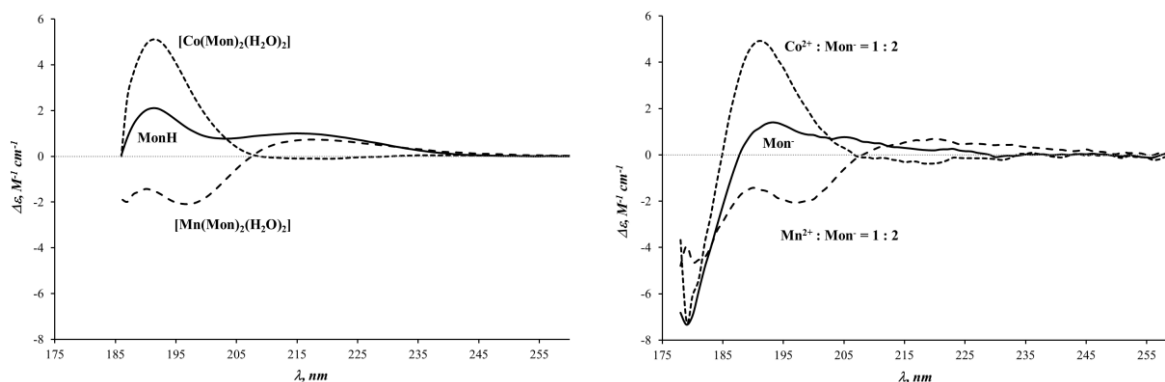
4.1. Експериментално CD изследване на взаимодействието на монензин с дву- и тризарядни метални йони

В експериментите с кръгов дихроизъм установихме, че спектърът на монензин в ултравиолетовата област (UV-CD) е чувствителен към конформационните промени на лиганда при комплексообразуването му с двузарядни метални катиони. По-късно това изследване бе допълнено и с кръгово-дихроични данни във видимата (Vis-CD) и близката инфрачервена (NIR-CD) област. За по-голяма част от тризарядните метални йони е проведен UV-CD анализ. Изследванията за извършени с конвенционална апаратура и/или такава със синхротронно лъчение (SRCD).

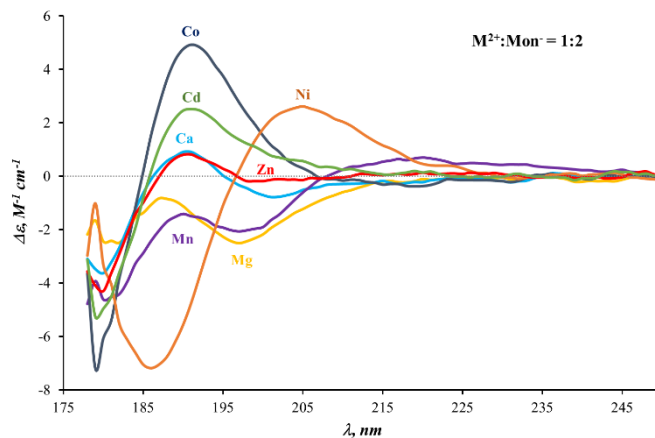
4.1.1. CD спектроскопия в ултравиолетовата област (UV-CD)

Първоначално регистрирахме SRCD спектри на Mn^{II} , $[\text{CoMn}_2(\text{H}_2\text{O})_2]$ и $[\text{MnMn}_2(\text{H}_2\text{O})_2]$, изолирани в твърда фаза и разтворени в метанол (гължина на оптичния път $b = 0.1045 \text{ mm}$). Наблюдавахме различни спектри и за трите системи. Впоследствие анализирахме метанолови разтвори, съдържащи депротониран антибиотик Mn^- (с Et_4NOH), и системите $\text{Co}^{2+}/\text{Mn}^{2+} - \text{Mn}^-$ в молно съотношение 1:2 ($b = 0.014 \text{ mm}$). Доброто съответствие между двата експеримента (Фиг. 4.1-1) показва, че разпределението на молекулните видове е идентично за двете системи (разтворена

твърра фаза и комплекс, получен *in situ*). Различното CD поведение на монензин и на монензинантния анион в присъствие на $\text{Co}^{2+}/\text{Mn}^{2+}$ (въпреки много близките рентгеноструктурни данни) ни даде основание да включим в тези изследвания и останалите двузрядни метални катиони, за които са налични кристални структури (Фиг. 4.1-2).



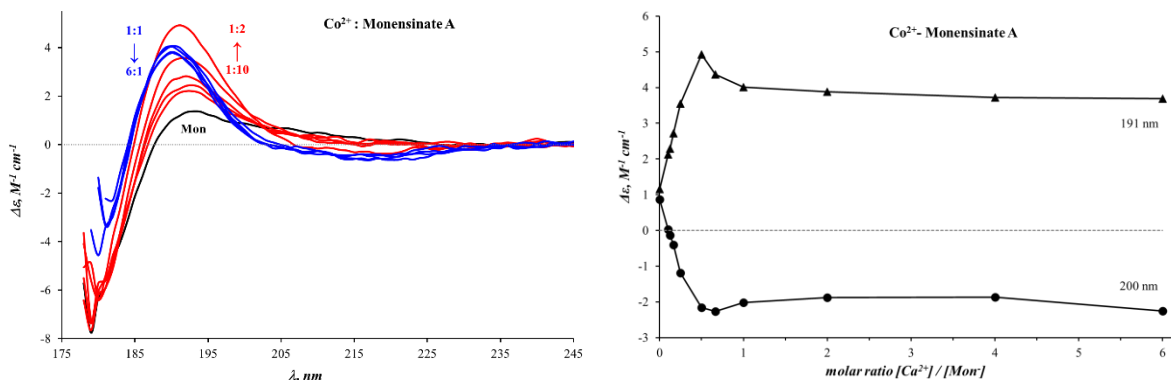
Фиг. 4.1-1. SRCD спектри на MonH, $[\text{CoMon}_2(\text{H}_2\text{O})_2]$ и $[\text{MnMon}_2(\text{H}_2\text{O})_2]$ (ляво); монензинатен анион (Mon^-) и разтвори, съдържащи $\text{Co}^{2+}:\text{Mon}^- = 1:2$ и $\text{Mn}^{2+}:\text{Mon}^- = 1:2$ (дясно); 20 mM аналитична концентрация на лиганда



Фиг. 4.1-2. SRCD спектри на реакционни смеси, съдържащи монензин и двузрядни метални катиони в съотношение M:L = 1-2 ($b = 0.014 \text{ nm}$, 20 mM аналитична концентрация на лиганда)

Резултатите показаха значителна чувствителност и селективност на кръговия дихроизъм спрямо свързването на монензин с двузрядни катиони, поради което направихме серия от експерименти при различни молни съотношения $\text{M}^{2+}:\text{Mon}^-$

от 1:10 до 6:1. Титрувалните криви за системата Co^{2+} - Mon^- са представени на **Фиг. 4.1-3**.

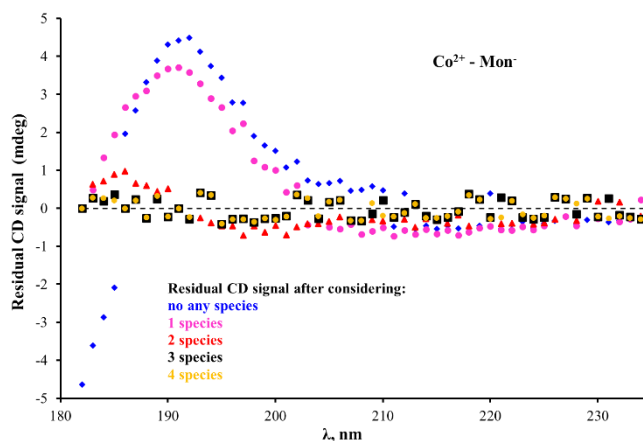


Фиг. 4.1-3. Спектри на Et_4NMon (черно) при негостиг (червено) и излишък (синьо) на Co^{2+} йони (ляво); спектрални промени при определена дължина на вълната като функция от молното съотношение Co^{2+} - Mon^- (дясно); 20 mM аналитична концентрация на лиганда, $b = 0.014$ nm

Положителната ивица на Et_4NMon (Mon^-) при 193 nm постепенно нараства по интензитет с нарастване на количеството на Co^{2+} и достига максимум при 191 nm при молно съотношение метал-лиганд 1:2. В същото време положителният сигнал за Et_4NMon в интервала 200-220 nm намалява до появата на отрицателна ивица с нисък интензитет. По-нататъшното увеличение в концентрацията на кобалтовите(II) йони води до образуването на втори тип частици с положителна абсорбция при 190 nm и слаб отрицателен сигнал в интервала 200-220 nm. Спектралните промени, наблюдавани при негостиг на металния йон, се дължат главно на образуването на комплекса $[\text{CoMon}_2(\text{H}_2\text{O})_2]$, чиято структура вече е известна. Образуването на втория вид частици е наблюдаван експериментално за първи път при съизмеримо молно отношение Co^{2+} - $\text{Mon}^- = 1:1$, и по-нататъшното добавяне на Co^{2+} не променя неговите спектрални характеристики. Поради близкия „рисунок“ на двата типа спектри (въпреки, че се различават по форма и интензитет), предполагаваме, че в новите частици монензинатният йон има сходно координационно поведение като това в $[\text{CoMon}_2(\text{H}_2\text{O})_2]$.

SRCD спектрите на разтворите, съдържащи Mon^- и останалите гвузарядни метални йони, изследвани при същите реакционни условия, също предполагат образуването на два вида комплексни частици в зависимост от молното

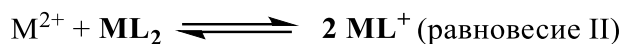
съотношение на металния йон и лиганда. MRA обработката (matrix rank analysis) на набора от данни за изследваните системи и оценката на остатъчните CD сигнали показаха, че използването само на две частици (свободен лиганд и ML_2) все още води до достатъчно висока остатъчна елиптичност, различна от базовата линия. Ето защо са необходими минимум три броя частици, които да опишат задоволително протичащите спектрални промени (Фиг. 4.1-4 за Co^{2+}).



Фиг. 4.1-4. Остатъчни CD сигнали за системата Co^{2+} - Mon^- в зависимост от броя на предполагаемите частици в разтвор

Експериментално наблюдаваната зависимост на интензитета на CD сигналите от молното съотношение M^{2+} - Mon^- (Фиг. 4.1-3, гясно) не може да се припише само на съществуването на един вид комплексна частица. Имайки предвид промяната в наклона на зависимостта (в някои случаи – и знака) и молните отношения, при които се случва това, третата частица в системата би могла да се отнесе към образуването на моно-комплекси от типа ML^+ . Така чрез кръгово-дихроична спектроскопия за първи път успяхме да наблюдаваме нов вид частици на монензин с двузрядни метални катиони и да докажем, че при излишък на метален йон лигандът може да свързва повече от половин еквивалент M^{2+} . Заслужава да се отбележи, че дискутираните промени са по-слабо изразени за системите монензин - Zn^{2+} / Ca^{2+} , а при Cd^{2+} не се наблюдава втора частица. Причина за това може да се търси в близостта на CD спектрите за ML_2 и ML^+ с тези йони, но можем да изключим и образуването на CdL^+ в метанолови разтвори.

Приемайки, че монензинатният йон образува два типа комплексни частици, равновесните процеси в метанол за $[M\text{Mon}_2(\text{H}_2\text{O})_2]$ (ML_2) и $[M\text{Mon}(\text{H}_2\text{O})]^+$ (ML^+) протичат по следните уравнения ($L^- = \text{Mon}^-$, водните молекули са изключени за яснота):



С помощта на програмата PSEQUAD бяха изчислени индивидиалните спектри на частиците ML_2 и ML^+ (Фиг. 4.1-5), условните стабилитетни константи β'_2 / β'_1 и константата K' , характерна за относителната стабилност на моно- и бис-комплексите (Табл. 4.1-1). K' е дефинирана чрез уравнение (1).

$$K' = \frac{[\text{ML}]^2}{[\text{M}][\text{ML}_2]} = \frac{K_1'}{K_2'} \quad (1)$$

където $[X]$ е равновесната концентрация на частиците X в разтвор (свободен лиганд L , метален йон M , комплекси ML_2 и ML^+). Степенните стабилитетни константи K_1' и K_2' са изчислени съгласно уравнение (2):

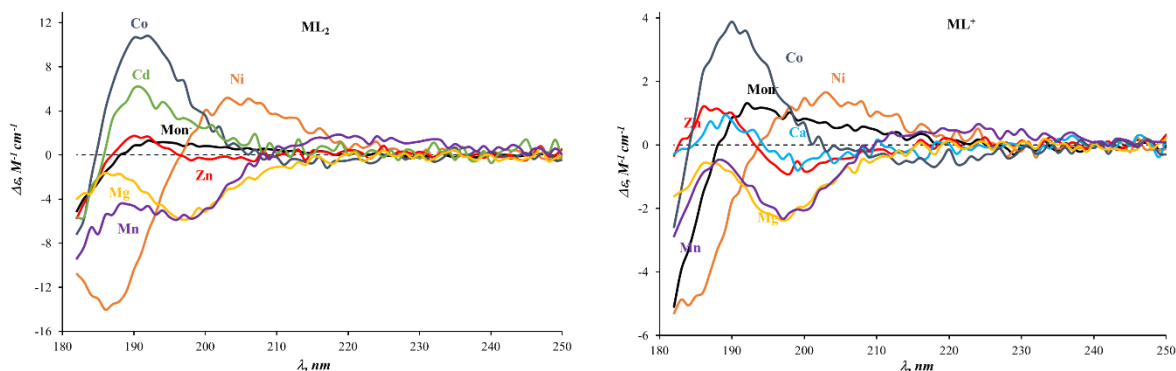
$$K_1' = \sqrt{K' \cdot \beta'_2}; K_2' = \sqrt{\frac{\beta'_2}{K'}} \quad (2)$$

Табл. 4.1-1. Стабилност на комплексите на монензин с гвузарядни йони при постоянен CD спектър на монензинатния анион (в скоби е дадено стандартното отклонение)

	Mn^{2+}	Co^{2+}	Ni^{2+}	Zn^{2+}	Cd^{2+} ^a	Mg^{2+}	Ca^{2+} ^b
$\lg\beta_1'(\text{ML})$	4.8 (0.2)	5.9 (0.5)	16.0 (0.3)	6.7 (0.6)	0.9 (*)	4.9 (0.4)	3.3 (0.2)
$\lg\beta_2'(\text{ML}_2)$	7.8 (0.3)	10.2 (0.8)	24.5 (0.5)	12.1 (1.0)	4.8 (0.2)	7.4 (0.4)	4.7 (*)
$\lg K_2'$	3.0	4.3	8.5	5.32	3.9	2.5	1.4*
K'	63	40	3.2×10^7	27.54	1.0×10^{-3}	1251	79

^a при постоянни спектри на Mon^- и ML^+ : $\lg\beta_1' = 3.4$ (0.3); $\lg\beta_2' = 5.8$ (0.3)

^b при един вид частици: $\lg\beta_1' = 4.0$ (0.4) или $\lg\beta_2' = 4.3$ (0.4)



Фиг. 4.1-5. Индивидиални SRCD спектри на ML_2 и ML^+ (PSEQUAD)

За повечето изследвани системи PSEQUAD показва добро съответствие между изчисленияте и експериментално наблюдаваните спектри при условие, че съществуват две комплексни частици. Трябва да се отбележи, че комплексообразователният процес протича практически докрай (и не може да се доверим напълно на изчислителната точност), но намалението в стабилността на частиците ML_2 следва реда $Ni^{2+} > Zn^{2+} > Co^{2+} \sim Mg^{2+} \sim Mn^{2+} (> Cd^{2+} > Ca^{2+})$. Стабилността на комплексите ML^+ е почти аналогична на ML_2 ($Ni^{2+} > Zn^{2+} > Co^{2+} \sim Mg^{2+} \sim Mn^{2+} (> Ca^{2+} > Cd^{2+})$). Необходимо е да се отчете и фактът, че равновесието в разтвор е изместено в полза на ML^+ спрямо ML_2 , въпреки, че единствените изолирани комплекси в твърда фаза са електронеутралните ML_2 . Наличието на два типа монензинатни частици провокира интереса ни в още една посока, а именно – да оценим поведението на ML_2 и ML^+ в присъствието на конкурентен двузаряден метален катион.

В първата серия експерименти към реакционна смес, съдържаща даден метален йон (M^1) и MoH^- в молно съотношение 1:2, добавихме нарастващи количества втори метален йон (M^2). Спектралните промени показаха, че при този процес равновесието се измества от M^1L_2 към M^2L^+ , и обратно – излишъкът от M^1 превръща M^2L_2 в M^1L^+ . По точен начин от комплекса M^1L_2 на който и да е метален йон може да се достигне до равновесно състояние, в което конкурентният катион е доминиращ по формата на M^2L^+ . Тези резултати очертаха една обща тенденция, че в условията на конкуренция монензин, свързан в комплекса ML_2 , може да взаимодейства с тези двузарядни метални йони, които са в излишък в близкото му обкръжение.

Във втората серия изследвахме конкурентните процеси само с участието на частиците ML^+ . За целта бяха приготвени двойки разтвори в молно съотношение $M^1-MoH^- = 4:1$ и $M^2-MoH^- = 4:1$, осигуряващо доминиращото образуване на съответните частици M^1L^+ и M^2L^+ , в резултат на което бяха регистрирани SRCD спектрите за всяка самостоятелна система. След това анализирахме спектрите на разтвори, съдържащи M^1 , M^2 и MoH^- в молно отношение 4:4:1, имайки предвид, че наблюдаваният сигнал е резултат от различния принос на индивидуалните M^1L^+ и M^2L^+ частици. По този начин оценихме коефициентите на разпределение, които отчитат конкуренцията между двузарядните метални йони, т.е. склонността на монензин към селективно координиране на M^{2+} по формата на ML^+ (Табл. 4.1-2). Относителният афинитет на монензинатния анион в тези системи намалява в реда $Ni^{2+} > Co^{2+} \sim Ca^{2+} > Mn^{2+} \sim Mg^{2+} \sim Zn^{2+} \sim Cd^{2+}$.

Сравнението между стабилността на комплексите ML_2 / ML^+ и поведението на монензин в последните експерименти показва значителна промяна в позицията на цинковите(II) йони в съответните серии. На този етап не можем да обясним наблюдаваната разлика, но вероятно трябва да се отчетат и други допълнителни фактори (произход на противойона на металната сол, солволиза, и др.), които могат да повлияят изследваните процеси.

Табл. 4.1-2. Конкурентни реакции между M^{2+} при образуването на ML^+

Конкурентен йон M^2	Принос (%) на M^1 -Мон към SRCД спектъра на системата $M^1:M^2:Mon^- = 4:4:1$						
	Ni	Co	Ca	Mn	Mg	Zn	Cd
Co	75						
Ca	75	55					
Mn	90	75	65				
Mg	90	75	70	55			
Zn	90	75	90	85	55		
Cd	95	80	70	75	60	60	

От изчисленията с PSEQUAD индивидуални спектри на двата вида монензинатни частици (Фиг. 4.1-5) е очевидно, че чрез кръгово-дихроична спектроскопия може да се направи разлика между отделните комплекси с двузарядни метални катиони, тъй като тяхното спектрално поведение определено е различно. Подобно разграничаване може да се обясни с промени в конформацията на лиганда, гължащи се на геометричните изисквания на металния йон. От приликите между SRCД спектрите на съответните двойки ML^+ и ML_2 предполагаме, че излишъкът от метални(II) йони води до образуването на положително заредени комплексни частици със състав $[MMon(H_2O)]^+$, където монензинатният анион координира по същия начин както в $[MMon_2(H_2O)_2]$. Металният йон най-вероятно не заема кухнята на лиганда, което се подкрепя и от сходството в реда на стабилност за комплексите ML^+ и ML_2 . Разликата между CD спектрите на двата вида частици се дължи на чувствителността на кръговия дихроизъм към фини конформационни промени в структурата на монензин под влияние на металния йон. Логично, за еднозначно

показване на структурата на $[\text{MMon}(\text{H}_2\text{O})]^+$, е необходимо първо да се намерят подходящи условия за тяхното изолване, кристализация и охарактеризиране.

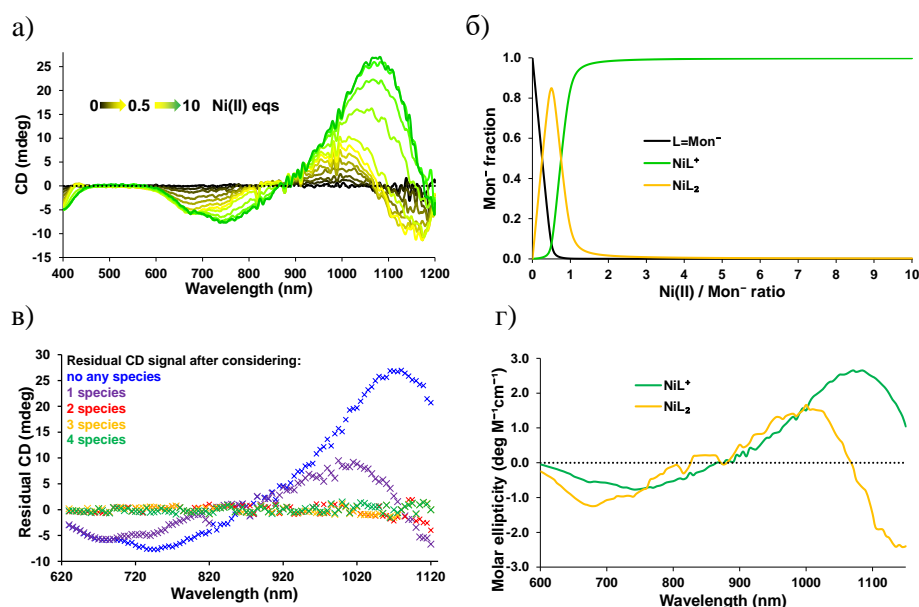
4.1.2. CD анализ във видимата (Vis-CD) и близката инфрачервена (NIR-CD) области

Въпреки добрата чувствителност на UV-CD спектроскопията, количествените резултати, получени с нея, подлежат на преоценка (Табл. 4.1-1). Причина за това е близостта на спектрите на неутралните и заредените частици, което води до възможна неточност при определяне на тяхната стабилност. В тази връзка разработихме допълващ подход с прилагане на кръговия дихроизъм във видимата (Vis-CD) и близката инфрачервена област (NIR-CD), чрез който изследвахме серия от процеси с участието на преходните метални йони на Co^{2+} и Ni^{2+} . Наличието на Vis- и NIR-CD сигнали показва взаимодействието между металния йон и монензинатния анион, тъй като нито един от изходните компоненти не притежава хирална активност сам по себе в изследваната област на електромагнитното лъчение. Този факт опростява оценката на спектралните серии, получени при титруване на монензинатния анион с нарастващи количества йони на Co^{2+} или Ni^{2+} .

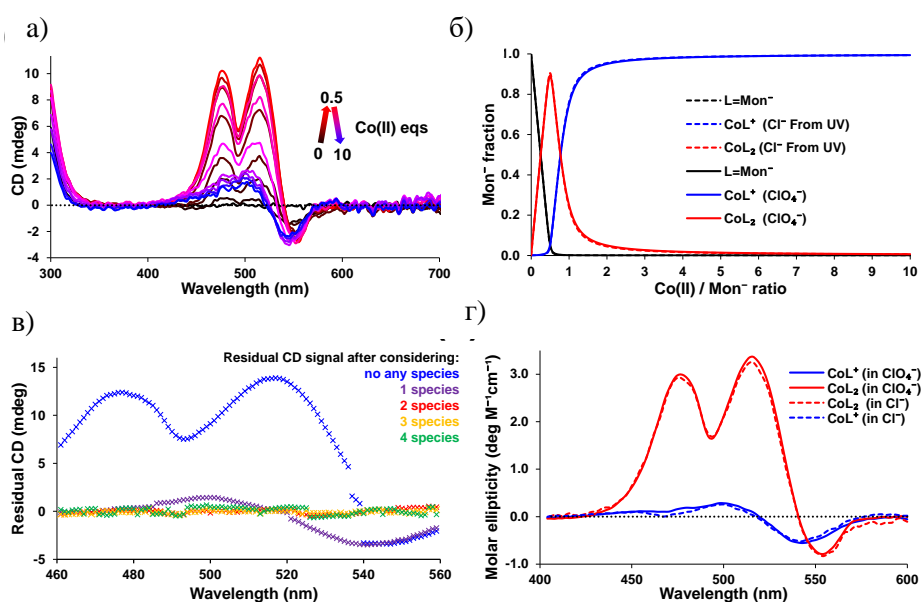
Първо изследвахме системата $\text{Ni}^{2+}\text{-Mon}^-$, т.к. резултатите с UV-CD показваха една значителна стабилност на никеловите комплекси, с порядъци по-висока от тази на останалите дьвузарядни метални катиони. Спектрите на наблюдаваните частици се различават съществено в зависимост от молното съотношение на металния йон и лиганда: при излишък на монензин се наблюдават положителни максимуми при ~ 680 и ~ 1200 nm и отрицателен минимум при ~ 990 nm, докато излишъкът на Ni^{2+} предизвиква минимум при ~ 750 nm и максимум при ~ 1080 nm (Фиг. 4.1-6). MRA-анализът потвърди съществуването на моноягрението моно- и бис-комплексни частици $[\text{NiMon}(\text{H}_2\text{O})]^+$ и $[\text{NiMon}_2(\text{H}_2\text{O})]$, за които изчисленията с PSEQUAD даваха съответните $\lg\beta_1' = 5.94 \pm 0.07$ и $\lg\beta_2' = 9.81 \pm 0.11$. Тези данни се различават значително от предишните UV-CD стойности, но са по-надеждни поради същественния контраст в спектрите на двете цветни комплексни частици, съществуващи в в разтвор.

Наблюдаваната разлика в стабилитетните константи на Ni^{2+} -монензинати, получена между UV-CD и Vis/NIR-CD измерванията, провокира нашата преоценка и на системата Co^{2+} -монензин. Недостигът на метални катиони води до появата на два максимума (~ 476 nm, ~ 515 nm) и един минимум (~ 554 nm) в спектрите на изследваните разтвори, отговарящи на образуването на моноягрението бис-комплекси (Фиг. 4.1-7). Излишъкът на Co^{2+} , при който се наблюдава моноягреният моно-комплекс,

предизвиква локални максимум (~ 498 nm) и минимум (~ 543 nm). Анализът на данни показва, че процесите могат да се опишат отново с две комплексни частици, като изчислените стабилитетни константи са много близки до тези, получени с UV-CD спектроскопия: $\lg\beta_1' = 5.74 \pm 0.02$ и $\lg\beta_2' = 9.93 \pm 0.04$.



Фиг. 4.1-6. а) Типрувални криви в системата Ni^{2+} -монензинат; б) Диаграма на разпределение на комплексните частици; в) MRA; г) Изчислени спектри на частиците $[\text{NiMon}(\text{H}_2\text{O})]^+$ и $[\text{NiMon}_2(\text{H}_2\text{O})]$



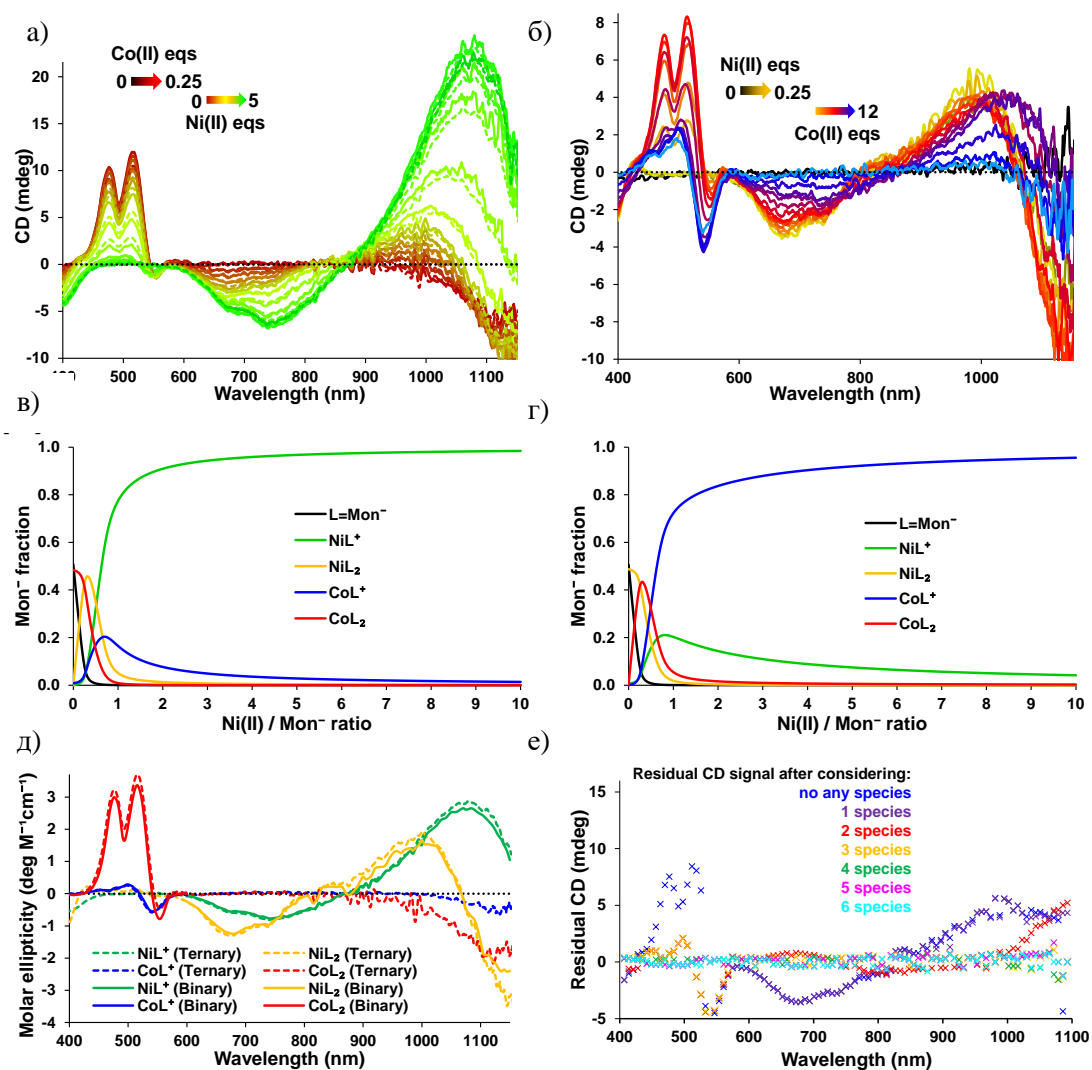
Фиг. 4.1-7. а) Типрувални криви в системата Co^{2+} -монензинат; б) Диаграма на разпределение на комплексните частици; в) MRA; г) Изчислени спектри на частиците $[\text{NiMon}(\text{H}_2\text{O})]^+$ и $[\text{NiMon}_2(\text{H}_2\text{O})]$

С така преизчислените стойности на условните стабилитетни константи за моно- и бис-монензинатите на Co^{2+} и Ni^{2+} оценихме процесите на конкуренция между двата метални йона за свързване с лиганда. В серия от титрувални експерименти към $[\text{NiMon}_2(\text{H}_2\text{O})_2]$ бяха добавени нарастващи количества Co^{2+} , и обратно – към бис-комплекса на Co^{2+} – йони на Ni^{2+} . Отчитаейки молното съотношение на всички участници в системата, минималния брой комплексни частици в разтвора и изчислената им по-рано стабилност, потвърдихме отсъствието на смесено-метални комплекси, както и факта, че всички моно- и бис-частици трябва да се вземат предвид при протичане на конкурентните процеси (Фиг. 4.1-8). Разработената методика приложихме и към изследване на процесите в системи, съдържащи „цветен“ и „безцветен“ метални йони. Последните се явяват определено предизвикателство, т.к. броят на „безцветните“ комплексни частици не може да бъде оценен чрез МРА. За целта проследихме абсорбцията на $[\text{CoMon}_2(\text{H}_2\text{O})_2]$ при 518 nm и сравнихме данните с теоретичното ѝ намаление при наличието само на моно-частици и при образуването на моно- и бис-комплекси с Mg^{2+} , Ca^{2+} , Zn^{2+} . Данните показаха (Фиг. 4.1-9), че по-добре на системите Co^{2+} - Ni^{2+} , и тук трябва да се отчете съществуването на моно- и бис-частиците на двата конкурентни метални йона (Фиг. 4.1-9), което от своя страна позволи и изчисляването на условните стабилитетни константи на „безцветните“ комплекси $[\text{MMon}(\text{H}_2\text{O})]^+$ и $[\text{MMon}_2(\text{H}_2\text{O})_2]$ (Табл. 4.1-3).

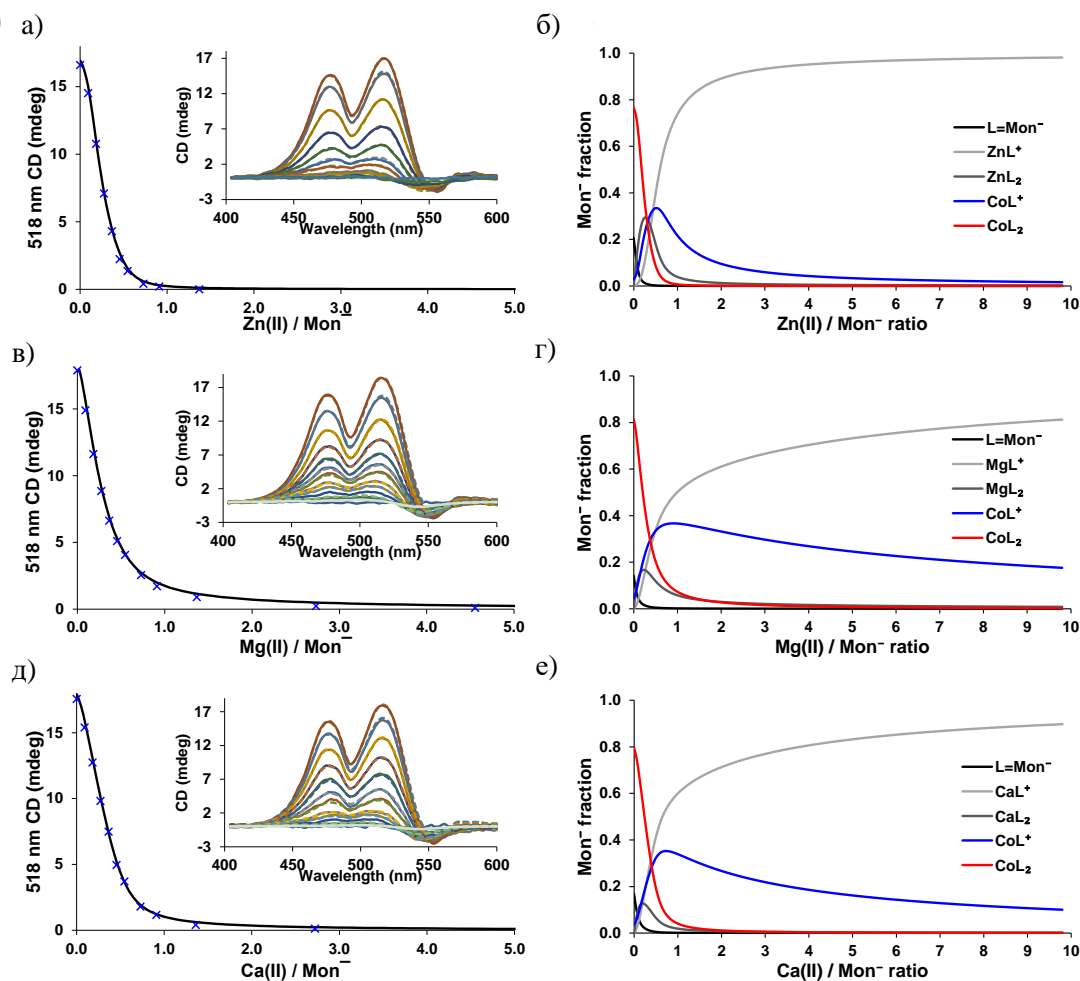
Табл. 4.1-3. Общи условни стабилитетни константи ($\lg\beta$) на „безцветните“ монензинати (в скоби е дадено стандартното отклонение)

Частича	Zn^{2+}	Mg^{2+}	Ca^{2+}
$[\text{MMon}(\text{H}_2\text{O})]^+$	6.09 ± 0.02	4.81 ± 0.01	5.18 ± 0.01
$[\text{MMon}_2(\text{H}_2\text{O})_2]$	10.12 ± 0.02	8.36 ± 0.01	8.40 ± 0.01

Стойностите за моно- и бис-частиците, съдържащи Zn^{2+} и Mg^{2+} , са относително съизмерими с тези, получени чрез UV-CD спектроскопия. Изследването на системата Ca^{2+} -монензин е доста по-успешно, като във всички случаи не се наблюдава образуването на смесено-метални координационни съединения.



Фиг. 4.1-8. Конкуренция на Ni^{2+} и Co^{2+} за свързване с монензин. Горне – промяна в CD сигналите при нарастващи количества на Ni^{2+} (а) или Co^{2+} (б). В средата – разпределение на частиците в конкурентните системи $\text{Co}^{2+}/\text{Ni}^{2+}$ (в) и $\text{Ni}^{2+}/\text{Co}^{2+}$ (г). Долу – молни спектри на моно- и бис-комплексите, изчислени в двойните (плътна линия) и тройните (пунктир) системи (г); остатъчни CD сигнали при различен брой частици в разтвор (е)

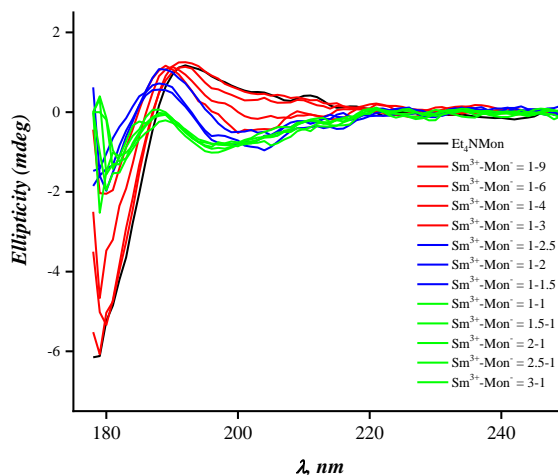


Фиг. 4.1-9. Конкурентни процеси между „безцветни“ метални йони и Co^{2+} . Намаление в абсорбцията на $[\text{CoMon}_2(\text{H}_2\text{O})_2]$ при 518 nm при добавяне на нарастващи количества Zn^{2+} (a), Mg^{2+} (b), Ca^{2+} (c). Измерените стойности са обозначени със сини символи \times , изчислените при наличие на поне 4 частици – с плътна черна линия. Вътрешните графики представят експерименталните (плътна линия) и изчислените (пунктир) спектри. Разпределителни диаграми на системите в присъствие на Zn^{2+} (d), Mg^{2+} (e), Ca^{2+} (f)

4.1.3. UV-CD спектроскопия в системите „лантаниден йон – монензин“

Приложимостта на кръговия дихроизъм ни позволи да изследваме и поведението на монензин в присъствие на някои тризарядни лантанидни йони (Gd, La, Nd, Pr, Sm, Eu). За целта бяха проследени спектралните промени в тетраетиламониевия монензинат в серия от разтвори, съдържащи молни съотношения метален йон - лиганд от 1-9 до 3-1 при оптичен път от 0.014 mm.

Спектралните промени в системата Sm^{3+} -монензинат са представени на Фиг. 4.1-10. Положението и знакът на ивиците при определени молни отношения Ln^{3+} -монензинат са обобщени в Табл. 4.1-4.



Фиг. 4.1-10. SRCD спектри на тетраетиламониевия монензинат при титруване със $\text{Sm}(\text{III})$ при постоянна концентрация на лиганда 20 mM

Табл. 4.1-4. Положение и знак (+/-) на SRCD сигналите на тетраетиламониевия монензинат при титруване с тризарядни метални йони

Метален йон	$\text{Ln}^{3+}\text{-Mon}^- = 1\text{-}3$	$\text{Ln}^{3+}\text{-Mon}^- = 1\text{-}2$	$\text{L}^{3+}\text{-Mon}^- = 1\text{-}1$
La^{3+}	189 nm (+)	189 nm (+) 200 nm (-)	189 nm (+) 199 nm (-)
Pr^{3+}	190 nm (+) 202 nm (-)	189 nm (+) 200 nm (-)	197 nm (-)
Nd^{3+}	190 nm (+)	189 nm (+) 195-210 nm (-)	189 nm (+) 195-210 nm (-)
Sm^{3+}	189 nm (+) 195-210 nm (-)	188 nm (+) 195-210 nm (-)	190 nm (+) 195-220 nm (-)
Eu^{3+}	190 nm (+)	188 nm (+) 199 nm (-)	189 nm (+) 195-210 nm (-)
Gd^{3+}	190 nm (+)	187 nm (+) 200 nm (-)	190 nm (+) 199 nm (-)

Резултатите показват, че в зависимост от молното съотношение на металния йон и монензин, в разтвор съществуват няколко вида комплексни частици, част от които бяха отнесени към следните състави:

- неутрален комплекс $[M\text{Mon}_3(\text{H}_2\text{O})_3]$ при излишък на монензин (молно съотношение $M^{3+}\text{-Mon}^-$ от 1-9 до 1-3);

- положително зареден комплекс $[M\text{Mon}_2(\text{H}_2\text{O})_2]^+$ при $M^{3+}\text{-Mon}^- = 1\text{-}2$;

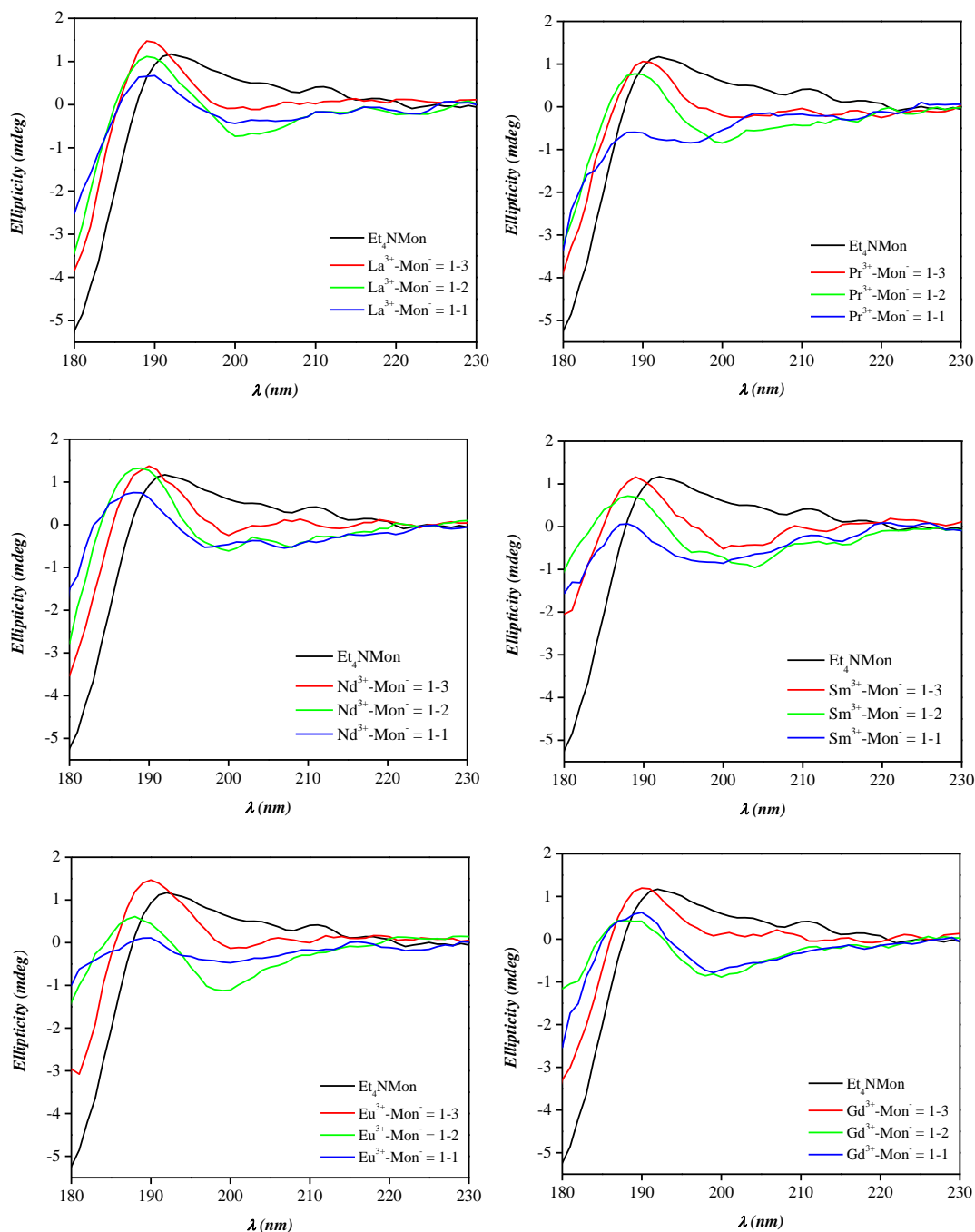
- положително зареден комплекс $[M\text{Mon}(\text{H}_2\text{O})]^{2+}$ при съизмерими количества метален йон-лиганд (1-1). Включването на водни молекули в състава на комплексните частици е предположено на база предишни изследвания върху структурата на монензин и координационните му съединения.

Изследванията с кръгов дихроизъм дават основание за следните заключения:

- при един и същи лантаниден йон спектрите на (поне) трите вида комплексни частици, макар и близки, се различават помежду си, и тази разлика е видима много по-добре в графичен (**Фиг. 4.1-11**) отколкото в табличен вид;

- предвид способността на лантанидните йони да образуват разнообразни структури, не е изключено и формирането на групи по състав координационни частици;

- при аналогични молни съотношения $M^{3+}\text{-Mon}^-$ отделните лантанидни йони практически не могат да бъдат различени в сравнение с наблюдаваното при комплексите на монензин с двузрядни метални йони. Така CD (SRCD) спектроскопията се явява удачен метод за изследване на конкретната реакционна система $Ln^{3+}\text{-Mon}^-$ в разтвор при различни молни отношения на реагентите, но е неприложима за различаване на съответния редкоземен метален йон. Причина за това вероятно са близките свойства на лантанидните метални йони като представители на f-елементите.

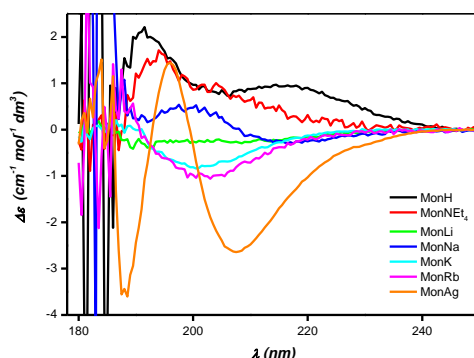


Фиг. 4.1-11. SRCD спектри на тетраетиламониевия монензинат (черно) и комплексните частици с лантанидни йони (концентрацията на лиганда е подгържана постоянна (20 mM))

4.2. Експериментално и теоретично CD изследване на комплекси на монензин с еднорядни метални катиони

Предимствата на UV-CD спектроскопията бяха използвани и при изследване на свойствата на монензин с еднорядни метални йони. Експерименталните CD и SRCD спектри на монензин киселина А (MonH) в присъствие на Li^+ , Na^+ , K^+ , Rb^+ , Ag^+ и Et_4N^+ са регистрирани в метанолови разтвори и са сравнени с изчислителни (теоретични) модели. Знакът и интензитетът на CD сигналите варират значително в изследваните съединения, въпреки близката им кристална структура. Теоретичното моделиране, основано на теорията на функционала на плътността (DFT) и модела на „непрекъснатия“ разтворител, както и на симулациите с теорията на време-зависимия функционал на плътността (TDDFT), потвърждават, че CD спектрите на комплексите на монензин са силно чувствителни към природата на монозарядните йони и могат да се използват за тяхното различаване.

CD спектрите на MonH и моновалентните му производни (регистрирани при 0.2 mM глъжина на оптичния път) са представени на **Фиг. 4.2-1**. Спектърът на MonH е с положителен знак в интервала 190-245 nm с два максимума при 218 и 192 nm, докато заместването на H^+ с Et_4N^+ намалява интензитета на ивицаата при 218 nm (въпреки, че остава все още положителен) и води до максимум при 195 nm. Наблюденият резултат може да се дължи на образуването на алтернативна мрежа от водородни връзки в депротонирания антибиотик. От друга страна, най-вероятно MonH остава в „затворена“ конформация, която е установено, че е най-благоприятна за анионната форма.



Фиг. 4.2-1. Експериментални CD спектри на MonH и неговите производни с шест еднорядни катиона (0.2 mM глъжина на оптичния път). Интензитетът в интервала 180-192 nm не е достоверен; той е представен за сравнение със SRCD спектрите

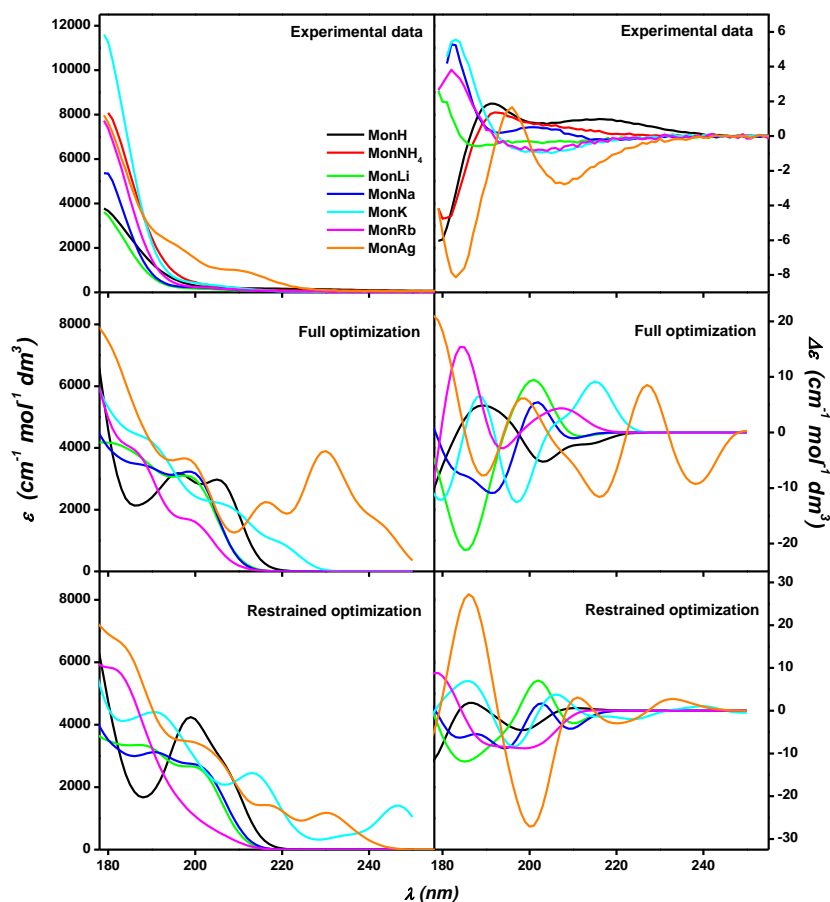
“Улавянето” на еднорядни катиони в кухнята на монензин води до значителни промени в CD спектъра на киселата форма на антибиотика. Комплексообразването с натриеви йони е придружено от появата на две ивици при 200 nm (положителна) и 216 nm (отрицателна). Координирането на литиеви йони предизвиква поява на отрицателен сигнал в интервала 190-230 nm, докато CD спектърът на сребърния комплекс съдържа положителна (196 nm) и отрицателна (208 nm) ивици. Калиевият и рубидиевият комплекси на монензин се характеризират предимно с отрицателни ивици с минимум при 201-203 nm.

Прилагайки SRCD спектроскопия при по-къс оптичен път (0.014 nm, **Фиг. 4.2-2**), успяхме да получим допълнителна информация в далечната UV-област. SRCD спектрите бяха регистрирани до 178 nm поради ограничението, гължащо се на високите стойности на абсорбцията ($NT > 5$ пог тази гължина на вълната). Експерименталните спектри на MoH и $MoNEt_4$ притежават отрицателен сигнал пог 190 nm, а сребърният комплекс показва интензивна отрицателна ивица при 185 nm. Координирането на Li^+ води до появата на отрицателен сигнал при 187 nm, придружен от отрицателно рамо при 200-220 nm. Формата на спектрите на MoK и $MoRb$ се различава в диапазона 180-185 nm въпреки приликите, наблюдавани в интервала 190-220 nm. Натриевият комплекс на монензин също притежава уникален спектър. Сравнението между CD и SRCD спектрите показва много добро съответствие в интервала от 192 до 300 nm. Чрез SRCD спектроскопия се постига по-високо съотношение сигнал/шум, а използването на по-късия оптичен път (0.014 nm) създава условия за получаването на характерни сигнали с висок интензитет в областта 178-192 nm.

Конформационните промени в молекулата на монензин при координиране на еднорядните йони биха могли да са причина за наблюдаваните разлики в CD спектрите на съответните молекулни видове. Тези промени, обаче, са доста малки както показва PyMol сравнението на структурите на монензин A и неговите метални(I) комплекси (**Табл. 4.2-1**).

От данните за средноквадратичното отклонение (RMSD) може да се заключи, че общата конформация на антибиотика е много близка във всеки един от комплексите. Въпреки това сходство, наблюдавано също в IR и NMR спектрите на металните(I) монензинати, CD спектрите им се различават значително по отношение позицията на ивиците и техните знак / интензитет. Все пак се

наблюдават някои тенденции: 1) фината структура на MonH се различава от тази на металните комплекси (RMSD ~ 0.7), което повлиява интензитета на CD спектъра; 2) структурата на двойките MonLi - MonNa и MonK - MonRb е доста близка (RMSD ~ 0.2) и е в съответствие с близките дължини на вълните на минимумите и максимумите в техните CD спектри. Приемайки, че при разтваряне в метанол структурата на изследваните молекулни видове се запазва, поне някои от наблюдаваните разлики в CD спектрите могат да се обяснят със слабите конформационни промени, които настъпват в молекулата на лиганда при комплексообразване. От друга страна, кристалната структура на MonAg, която също е различна от MonH но е доста подобна на структурите на MonM (напр. RMSD ~ 0.1 за сравнение с MonNa), притежава по своему уникален CD спектър.



Фиг. 4.2-2. Експериментални и изчислени абсорбционни (ляво) и SRCD (дясно) спектри на MonH и MonM (M = Li⁺, Na⁺, K⁺, Rb⁺, Ag⁺) при 0.014 mm оптичен път. За изчислителните цели е използван методът B3LYP/PCM/6-311++G**/6-31G**. Резултатите са представени както за пълно, така и за частично оптимизираната геометрия на съответните съединения

Табл. 4.2-1. Средно-квadraticно отклонение (RMSD, Å) като мярка за сходство между 47-те основни атома в „наложените“ структури на MonH и съответните монензинати, Известните кристални структури са сравнени както помежду си, така и със съответните оптимизирани структури (колона 2). Числата в скобите се отнасят до оптимизираните структури

Сравнение чре LigAlign	Оптимизирана структура	MonH	MonLi	MonNa	MonK	MonRb
MonH	0.188					
MonLi	0.116	0.715 (0.650)				
MonNa	0.152	0.685 (0.555)	0.187 (0.198)			
MonK	0.438	0.648 (0.472)	0.558 (0.611)	0.404 (0.521)		
MonRb	0.477	0.674 (0.551)	0.658 (0.798)	0.503 (0.646)	0.131 (0.660)	
MonAg	0.460	0.649 (0.283)	0.313 (0.597)	0.134 (0.490)	0.231 (0.567)	0.348 (0.597)

Изчислените абсорбционни и CD спектри (**Фиг. 4.2-2**) биха могли да обяснят наблюдаваните спектрални разлики, въпреки че не възпроизвеждат количествено експеримента. Наблюдава се частично съгласуване на теоретичните и експерименталните CD данни: например и двата спектъра на MonH са отрицателни около 180 nm; експериментално регистрираната ивица е с положителен знак при ~ 185 nm, но изчисленията предвиждат отрицателен сигнал при по-високи дължини на вълната, която не се наблюдава експериментално. Част от несъответствията могат да се дължат на позицията на водородните атоми, която не е ясно дефинирана от рентгеноструктурните данни. Грешката на TDDFT метода и сложните конформационни и/или хигратационни равновесия, които не са включени в проведените изчисления, също могат да са причина за наблюдаваното разминаване между експерименталните и теоретичните спектри.

От друга страна, пресмятанията потвърждават чувствителността на монензин към взаимодействието с метални(I) йони, което се отразява и на

наблюдаваните CD сигнали. Повечето преходи до 200 nm в моновалентните монензинати (с изключение на комплекса на Ag^+) са $\sigma \rightarrow \sigma^*$ (180 nm) или могат да се разглеждат като такива (190-200 nm), докато $n \rightarrow \sigma^*$ преходите преобладават в областта 200-206 nm („n“ означава несвързваща орбитала (електронна двойка) на кислород в хидроксилен или карбоксилен фрагмент). Повечето, но не всички преходи над 180 nm, се осъществяват с участието на карбоксилния фрагмент. Ивиците с гължина на вълната около 210-215 nm са отнесени към преходите $\sigma \rightarrow \pi^*$ и $n \rightarrow \pi^*$, където π -орбиталите принадлежат преди всичко на карбоксилната група (участието на несподелените електронни двойки на хидроксилния кислород също може да се отчете като π). При сребърния катион ситуацията е различна, тъй като всички интензивни ивици при 180, 215, 230 и 242 nm се гължат на преходи $4d \rightarrow 5s$; n , π и σ орбиталите на монензин също участват, но техният принос е значително по-слаб.

Въпреки, че проведените изчисления (на база известните кристални структури) не възпроизвеждат добре експерименталните CD данни, те потвърждават, че свързването на металните(I) йони е причина за наблюдаваната специфична CD абсорбция при минимална промяна в конформацията на монензин. Ограничената точност може да се обясни със сложността на системата и натрупването на изчислителна грешка, произтичаща от DFT и TDDFT приближенията, приблизителния модел на разтворителя и липсата на динамично моделиране. Във всеки случай, общото сходство на кристалните и напълно оптимизирани DFT структури на металните комплекси на монензин контрастира с техните различни CD сигнали. Можем да заключим, обаче, че CD спектроскопията (за разлика от UV-Vis, IR и NMR) се явява чувствителен метод за оценка на взаимодействието на монозарядни катиони с монензин А.

4.3. Теоретично изследване на процесите на конкуренция между металните катиони от IA и IB групи при комплексообразуване с монензин или салиномицин

Както вече бе споменато, монензин е известен като натриев йонофор, докато салиномицин се смята за селективен по отношение на калий(I), въпреки че в литературата съществуват много ограничени данни относно неговия афинитет към монозарядни катиони. От друга страна, в зависимост от експерименталния подход, данните за предпочитано свързване на метални(I) катиони варират, като по този начин позицията на алкалните катиони в дадените серии търпи разместване.

От трета гледна точка, структурната химия на едновалентните метални комплекси на монензин е добре известна в сравнение с единственото кристалографско изследване на натриевия салиномицинат. Всичко това взето заедно провокира интереса ни да изследваме възможните фактори, които могат да повлияят селективността на полиетерните йонофори спрямо метални йони от група IA, използвайки теоретичен подход (DFT/PCM). Освен това, за сравнение, разширихме модела с включването и на катионите от група IB. Първоначално бяха оценени свойствата на металните(I) монензинати. Получените резултати са в съответствие с експерименталните данни, което ни даде основание да приложим същия подход и към комплексите на салиномицин.

4.3.1. Общи бележки

Алкалните метали образуват сферични едновалентни катиони, чийто йонен радиус постепенно се увеличава с увеличаване на атомния номер (Табл. 4.3-1). Плътността на йонния заряд (Табл. 4.3-2) намалява в същата посока, като по този начин отслабва афинитета на металния йон към комплексообразуване и превръща най-обемистия Cs^+ в най-слабата Люисова киселина (с най-нисък афинитет) в групата.

В сравнение с физикохимичните свойства на йоните на алкалните елементи, тези на катионите Cu^+ , Ag^+ и Au^+ са силно повлияни от наличието на d-орбитали във външния им електронен слой, които чрез хибридизация с валентните s-орбитали намаляват енергията си, оттам - намаляват йонния си радиус и повишават способността си да приемат заряд. Както показват данните в Табл. 4.3-1 (последните две колони), преносът на заряд от донорните групи на антибиотиците към металните катиони от група IB е по-голям (т.е. по-висок афинитет) от този към съответните йони на алкалните метали от същия период. Освен това, индексът на Wiberg, оценен чрез популационния NBO анализ, показва, че връзките между катионите от група IB и донорните кислородни атоми са по-здравни от тези за съответните представители на група IA: средната стойност на Wiberg-индекса за $\text{Cu}^+\text{-O}$, $\text{Ag}^+\text{-O}$ и $\text{Au}^+\text{-O}$ е съответно 0.0578, 0.0601 и 0.0917 а.у., докато тези за $\text{Li}^+\text{-O}$, $\text{Na}^+\text{-O}$, $\text{K}^+\text{-O}$, $\text{Rb}^+\text{-O}$ и $\text{Cs}^+\text{-O}$ е 0.0159, 0.0135, 0.0157, 0.0063 и 0.0104 а.у., съответно.

Табл. 4.3-1. Структурни и електронни характеристики на металните катиони от групи IA и IB с координационно число 6

Метален йон	Йонен радиус (Å)	Средна дължина на връзката М-О (Å)	Пренос на заряд към катиона (e) в $M^+-(CH_3OCH_3)^{a,b}$	пренос на заряд към катиона (e) в $M^+-(CH_3OH)^{a,b}$
Li ⁺	0.76 (VI)	2.26	0.286	0.260
Na ⁺	1.02 (VI)	2.42	0.215	0.198
K ⁺	1.38 (VI)	2.81	0.166	0.152
Rb ⁺	1.52 (VI)	2.89	0.142	0.132
Cs ⁺	1.67 (VI)	3.08	0.129	0.119
Cu ⁺	0.77 (VI)	2.44	0.360	0.338
Ag ⁺	1.15 (VI)	2.56	0.300	0.281
Au ⁺	1.37 (VI)	2.71	0.412	0.381

^a Изчислен чрез популационен Hirshfeld анализ при базис B3LYP/6-31+G(d,p).

^b CH₃OCH₃ е използван за моделиране на етерна група

^b CH₃OH е приложен като модел на хидроксилна група

Табл. 4.3-2. Плътност на заряда на катионите от групи IA и IB с вариращо координационно число и киселинност по Lewis

Йон	Йонен радиус (r, Å) ^a	Плътност на заряда ^b (e / Å ³)	Киселинност по Lewis (валентни единици)
Li ⁺	0.59 (IV)	1.16	0.215
Na ⁺	1.00/1.02 (V/VI)	0.24/0.22	0.159
K ⁺	1.38 (VI)	0.09	0.108
Rb ⁺	1.52/1.56 (VI/VII)	0.07/0.06	0.099
Cs ⁺	-/1.74 (VII/VIII)	-/0.04	0.084
Cu ⁺	0.60 (IV)	1.10	0.400
Ag ⁺	1.09/1.15 (V/VI)	0.18/0.16	0.191
Au ⁺	-/1.37 (II/VI)	-/0.09	-

^a Координационното число на металните йони е дадено в скоби;

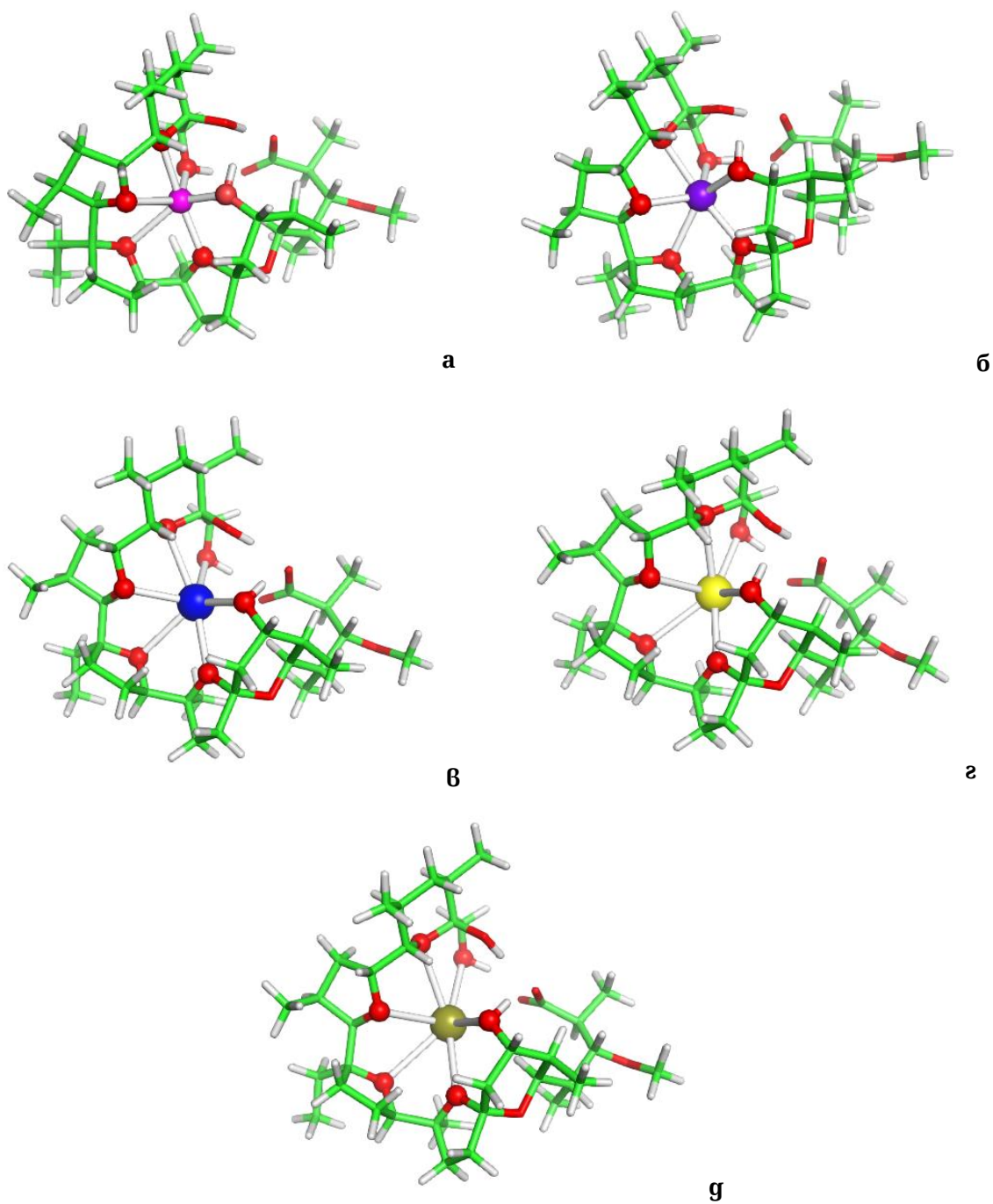
^b Плътност на заряда = йонен заряд / йонен обем = 1 / (4/3 πr³)

4.3.2. Монензин

Структурите на оптимизираните алкални монензинати са представени на **Фиг. 4.3-1**. Металните катиони са с координационно число 6 и са свързани с етерни и хидроксилни кислородни атоми. Средната дължина на връзката М-О се увеличава от 2,28 до 3,08 Å, което е в съгласие с увеличаващия се йонен радиус на металните йони (**Табл. 4.3-1**). Този резултат предполага, че монензинатният йон е относително гъвкав и неговата вътрешна кухня, за разлика от тази на групи „твърди“ макроцикли (напр. краун етери), може да варира по размер, адаптирайки се към пространствените изисквания на катиона-гост.

Препочитанието на монензин към свързване с еднорядни метални йони е оценено на база заместителната реакция на натриеви катиони (MonNa) с останалите катиони от групи IA и IB (уравнение (3), **Табл. 4.3-3**). Резултатът от конкуренцията на металните йони в разтвор е баланс между електронния ефект и ефекта на солватация. Ролята на първия може да се оцени чрез проследяване на промяната в свободната енергия на Гибс в газова фаза, ΔG^1 (**Табл. 4.3-3**). Параметърът ΔG^1 зависи от афинитета на металния катион към лигандите (измерен като количество заряд, пренесен от лиганда към метала; колкото по-голям е приетият заряд, толкова по-висок е металният афинитет). Афинитетът за свързване е най-висок за йоните на Li^+ и постепенно отслабва в група IA, и съответно – стойността на ΔG^1 нараства от Li^+ към Cs^+ . Отчитайки електронните ефекти, афинитетът на металните катиони към монензинатния анион намалява в реда $\text{Li}^+ > \text{Na}^+ > \text{K}^+ > \text{Rb}^+ > \text{Cs}^+$.

Ефектът на солватация, обаче, повлиява афинитетния ред: той остава същият в разтворители с ниска полярност (с диелектрична константа 2-4), но се променя в полярни разтворители (метанол и вода). Съответните стойности на ΔG^{32} и ΔG^{78} за обмен на Li^+ с Na^+ стават положителни; свободната енергия за останалите метални йони в тези полярни разтворители намалява, но остава положителна. Така афинитетът в метанол следва реда $\text{Na}^+ > \text{Li}^+ > \text{K}^+ > \text{Rb}^+ > \text{Cs}^+$, което е в добро съответствие с експерименталните резултати, показващи, че монензин А е натриев йонофор в полярни разтворители.



Фиг. 4.3-1. B3LYP/6-31+G(d,p) оптимизирани структури на монензинатния анион, свързан с а) Li⁺, б) Na⁺, в) K⁺, г) Rb⁺ и д) Cs⁺

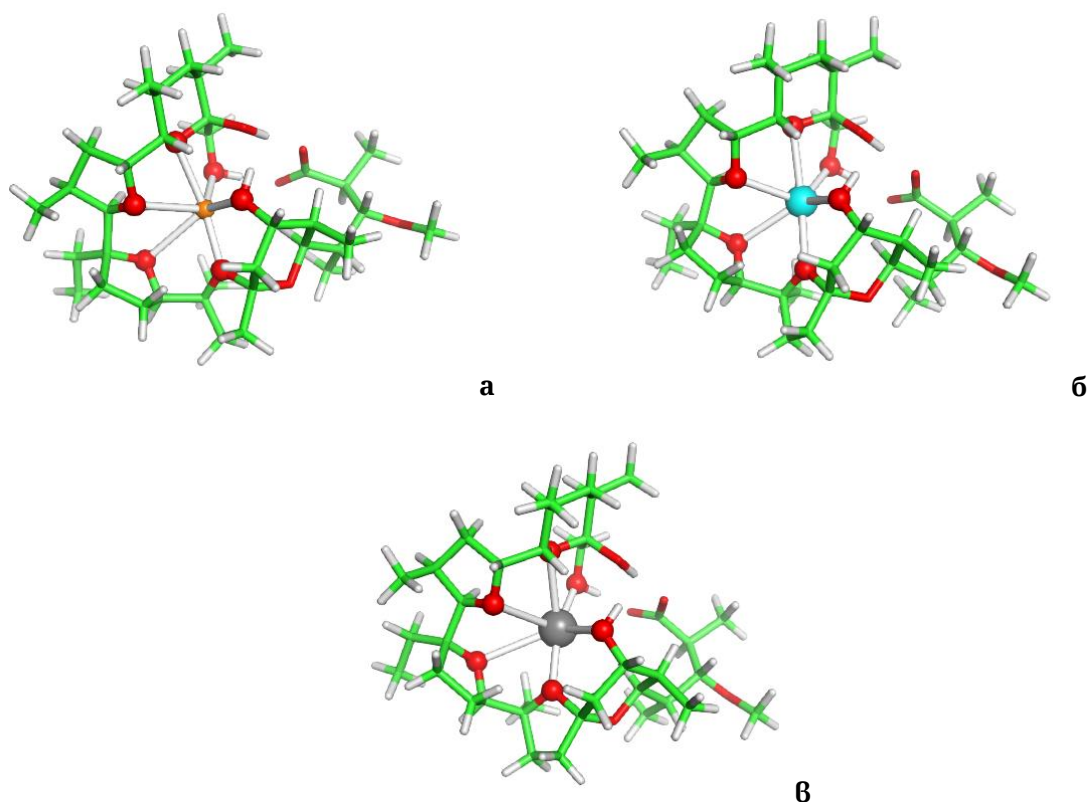
Табл. 4.3-3. Свободна енергия на Гибс за обмена $M^+ \rightarrow Na^+$ (уравн. 3), ΔG^\ominus , в среди с различна полярност ϵ^a

Реакция	ΔG^\ominus (kcal/mol)
$[Li^+\text{-разтвор}] + [Mon^-Na^+] \rightarrow [Mon^-Li^+] + [Na^+\text{-разтвор}]$	$\Delta G^1 = -20.5$ $\Delta G^2 = -5.4$ $\Delta G^4 = 0.0$ $\Delta G^{32} = 5.7$ $\Delta G^{78} = 5.9$
$[K^+\text{-разтвор}] + [Mon^-Na^+] \rightarrow [Mon^-K^+] + [Na^+\text{-разтвор}]$	$\Delta G^1 = 27.2$ $\Delta G^2 = 17.4$ $\Delta G^4 = 14.0$ $\Delta G^{32} = 9.2$ $\Delta G^{78} = 9.3$
$[Rb^+\text{-разтвор}] + [Mon^-Na^+] \rightarrow [Mon^-Rb^+] + [Na^+\text{-разтвор}]$	$\Delta G^1 = 61.7$ $\Delta G^2 = 49.4$ $\Delta G^4 = 44.7$ $\Delta G^{32} = 36.8$ $\Delta G^{78} = 35.4$
$[Cs^+\text{-разтвор}] + [Mon^-Na^+] \rightarrow [Mon^-Cs^+] + [Na^+\text{-разтвор}]$	$\Delta G^1 = 76.2$ $\Delta G^2 = 60.7$ $\Delta G^4 = 54.3$ $\Delta G^{32} = 45.3$ $\Delta G^{78} = 43.6$
$[Cu^+\text{-разтвор}] + [Mon^-Na^+] \rightarrow [Mon^-Cu^+] + [Na^+\text{-разтвор}]$	$\Delta G^1 = -31.6$ $\Delta G^2 = -2.0$ $\Delta G^4 = 8.7$ $\Delta G^{32} = 15.0$ $\Delta G^{78} = 14.9$
$[Ag^+\text{-разтвор}] + [Mon^-Na^+] \rightarrow [Mon^-Ag^+] + [Na^+\text{-разтвор}]$	$\Delta G^1 = 13.5$ $\Delta G^2 = 23.1$ $\Delta G^4 = 26.4$ $\Delta G^{32} = 28.7$ $\Delta G^{78} = 28.3$
$[Au^+\text{-разтвор}] + [Mon^-Na^+] \rightarrow [Mon^-Au^+] + [Na^+\text{-разтвор}]$	$\Delta G^1 = 2.4$ $\Delta G^2 = 18.4$ $\Delta G^4 = 24.1$ $\Delta G^{32} = 27.3$ $\Delta G^{78} = 26.6$

^a При оценка на относителния метален афинитет, този за референтния метален катион Na^+ е приет за 0, докато за останалите метални катиони се следват тенденциите в ΔG^\ominus

Оптимизираните структури на комплексите на монензин с катионите от група IB са представени на **Фиг. 4.3-2**. По-малкият йонен радиус на йоните от IB е в съответствие с по-късите гължини на връзките M-O в техните комплекси с монензин в сравнение с тези на алкалните катиони (**Табл. 4.3-1**). Енергията на

заместване на Na^+ с Cu^+ , Ag^+ и Au^+ в газова фаза е много по-благоприятна от тази за съответните метални йони от група IA от същия период (съответно K^+ , Rb^+ и Cs^+ ; Табл. 4.3-3). Редът на афинитета за всички еднорядни катиони в газова фаза намалява в реда $\text{Cu}^+ > \text{Li}^+ > \text{Na}^+ > \text{Au}^+ > \text{Ag}^+ > \text{K}^+ > \text{Rb}^+ > \text{Cs}^+$. В разтворители с ниска полярност (напр. $\epsilon \approx 2$) афинитетният ред се променя в полза на Li^+ : $\text{Li}^+ > \text{Cu}^+ > \text{Na}^+ > \text{K}^+ > \text{Au}^+ > \text{Ag}^+ > \text{Rb}^+ > \text{Cs}^+$. Последователността се променя отново в полярни разтворители (метанол), този път в полза на Na^+ : $\text{Na}^+ > \text{Li}^+ > \text{K}^+ > \text{Cu}^+ > \text{Au}^+ > \text{Ag}^+ > \text{Rb}^+ > \text{Cs}^+$.



Фиг. 4.3-2. V3LYP/6-31+G(d,p) оптимизирани структури на монензинатния анион, свързан с а) Cu^+ , б) Ag^+ и в) Au^+

4.3.3. Салиномицин

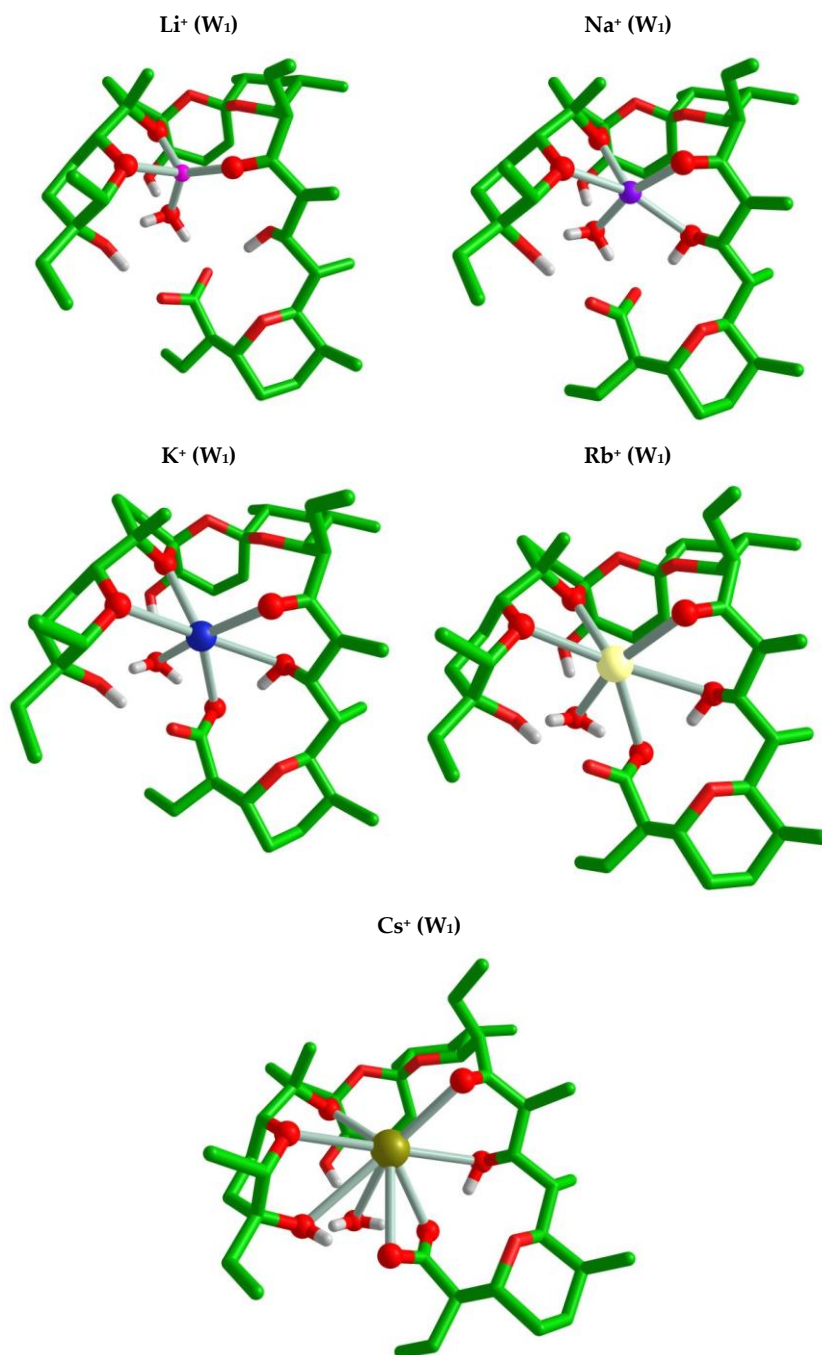
Металните(I) комплекси на салиномицин са моделирани на база единствено известните кристални структури на натриевия салиномицинат (SalNa). Експериментално са наблюдавани два типа комплексни частици, които се различават по броя на водните молекули, координирани с натриевите йони – комплекс с една кристална вода (SalNa-W_1) и такъв, съдържащ две водни молекули (SalNa-W_2). Атомните координати на съответните кристални структури са използвани за последваща оптимизация на геометрията на моновалентните салиномицинати. След

това в оптимизираните структури Na^+ (използван като еталон) бе заменен със съответните монозарядни метални йони (M^+) и получените комплекси $\text{SalM-W}_{1/2}$ бяха подложени на последващи квантово-химични изчисления.

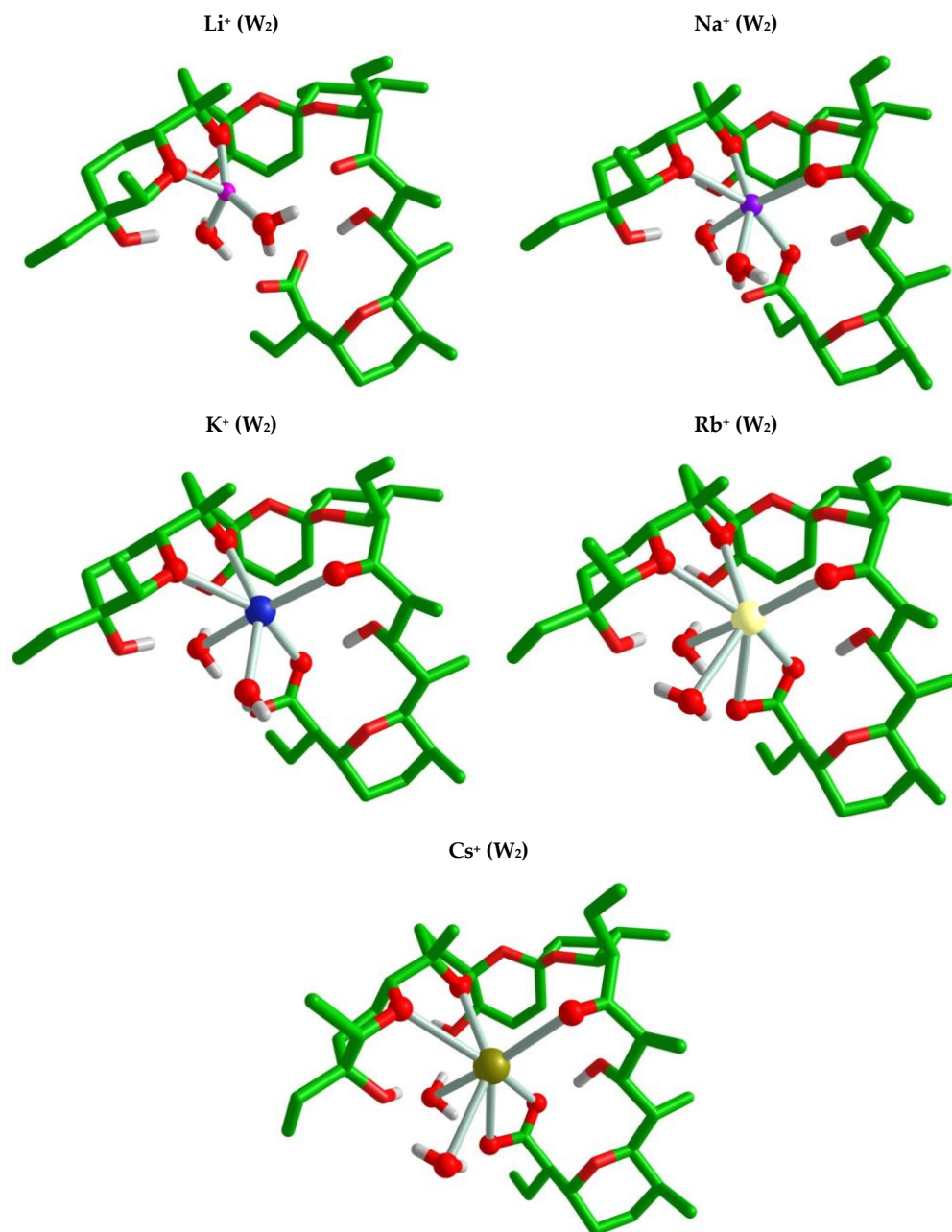
Салиномицин участва в образуването на комплекси с катиони на алкалните метали с кислородни атоми от етерните, хидроксилните, карбонилните и карбоксилатните групи. Анализът на получените структури показва, че подобно на монензин, и този антибиотик притежава гъвкава кухина, способна да се адаптира към специфичните физикохимични свойства на влизащите метални(I) йони. Най-малкият член на алкалната група, Li^+ , заема своята предпочитана тетраедрична координация както в структурата с една кристална вода (W_1 , **Фиг. 4.3-3**), така и в тази с две (W_2 , **Фиг. 4.3-4**) със средна дължина на връзката Li-O 1.984/1.962 Å, съотв. Комплексите с по-тежките алкални йони и една кристална вода съдържат пет- (SalNa-W_1), шест- (SalK-W_1 , SalRb-W_1) и осем-координирани (SalCs-W_1) катиони с нарастваща дължина на връзката метал-кислород: 2.407, 2.852, 2.985 и 3.211 Å, съотв. за Na^+ , K^+ , Rb^+ и Cs^+ . Основната тенденция, наблюдавана при увеличаване на координационното число и нарастване на дължината на връзката метал-кислород с увеличаване на атомния номер на металния йон – е аналогична и в серията SalM с две координирани водни молекули.

В сравнение с комплексите, съдържащи една молекула вода, координационното число на металния йон се различава в съответните структури с две молекули вода. Дължините на връзките метал-кислород в серия W_2 са 2.511 (SalNa-W_2), 2.814 (SalK-W_2), 3.055 (SalRb-W_2) и 3.264 (SalCs-W_2) Å. Както в серия W_1 , така и в W_2 , по-дългата връзка M-O е в съгласие с нарастващия радиус на металния катион: 0.59 Å за тетра-координиран литий, 1.00/1.02 Å за пента-/хекса-координиран натрий, 1.38 Å за хекса-координиран калий, 1.52/1.56 Å за хекса-/хепта-координиран рубидий и 1.74 Å за окта-координиран цезий (**Табл. 4.3-2**). Молекулите на водата остават координирани към металния катион във всички изследвани комплекси.

Свободната енергия на Гибс отново бе използвана за оценка на термодинамичния ефект от конкуренцията между Na^+ и другите метални катиони при комплексообразуване със салиномицин (**Табл. 4.3-4**). Тенденцията в промените на ΔG^\ominus е аналогична в двете серии, като числените стойности в повечето случаи са много близки.



Фиг. 4.3-3. ВЗLYP/6-31+G(d,p) оптимизирани структури на салиномицинатните комплекси с Li⁺, Na⁺, K⁺, Rb⁺ и Cs⁺, съдържащи една (W₁) молекула вода (водородните атоми са изпуснати за яснота)



Фиг. 4.3-4. B3LYP/6-31+G(d,p) оптимизирани структури на салиномицинатните комплекси с Li⁺, Na⁺, K⁺, Rb⁺ и Cs⁺, съдържащи втора (W₂) молекула вода (водородните атоми са изпуснати за яснота)

Табл. 4.3-4. Свободна енергия на Гибс за заместителната реакция Na^+/M^+ при салиномицин (ΔG^\ominus , kcal/mol) в среди с различна полярност

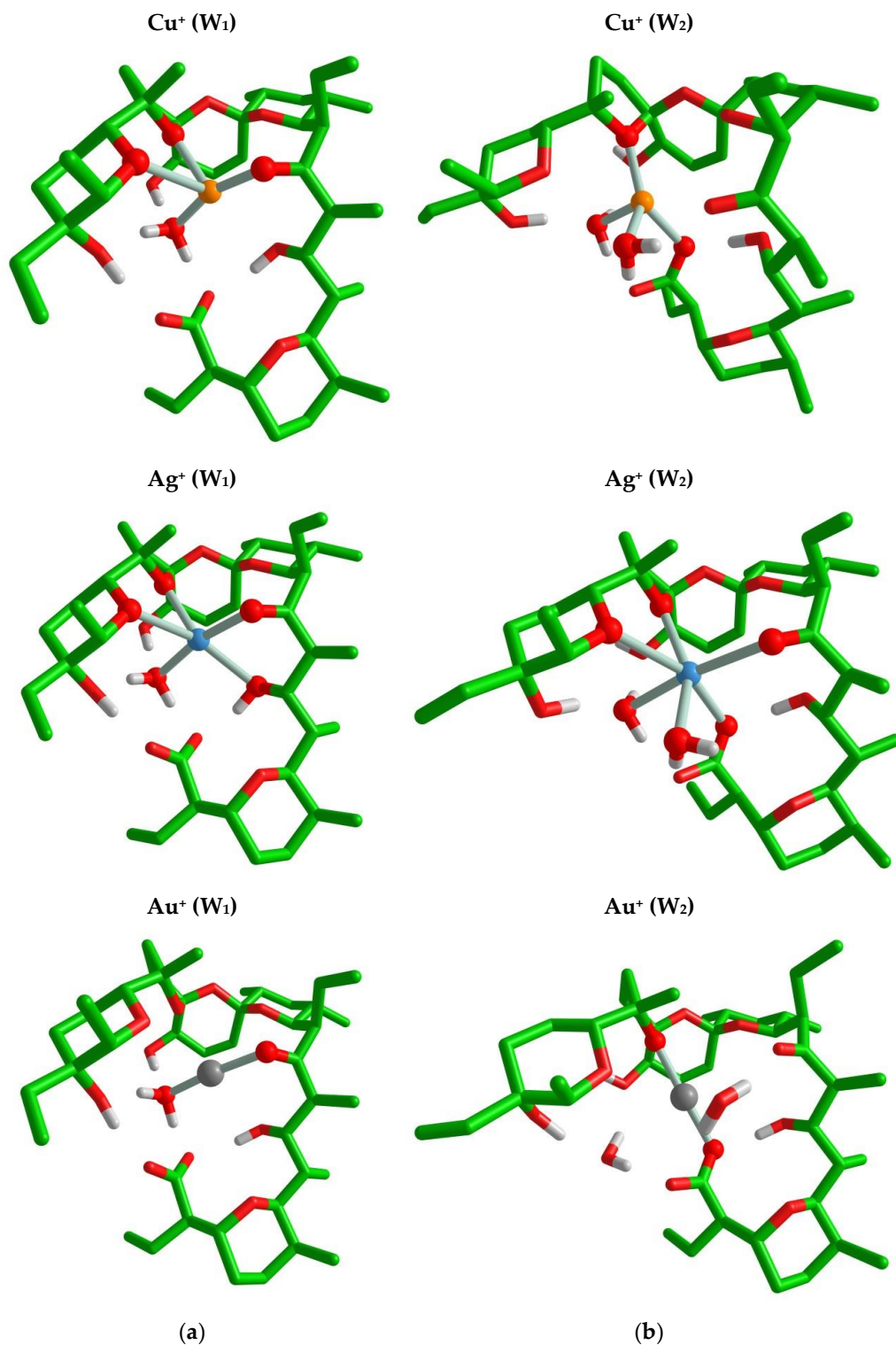
Реакция	ΔG^\ominus	Реакция	ΔG^\ominus
$[\text{Li}^+\text{-разтвор}] + [\text{SalNa-W}_1] \rightarrow [\text{SalLi-W}_1] + [\text{Na}^+\text{-разтвор}]$	$\Delta G^1 = -21.6$ $\Delta G^2 = -7.8$ $\Delta G^4 = -3.2$ $\Delta G^{32} = 1.5$ $\Delta G^{78} = 1.4$	$[\text{Li}^+\text{-разтвор}] + [\text{SalNa-W}_2] \rightarrow [\text{SalLi-W}_2] + [\text{Na}^+\text{-разтвор}]$	$\Delta G^1 = -24.0$ $\Delta G^2 = -10.6$ $\Delta G^4 = -6.5$ $\Delta G^{32} = -1.9$ $\Delta G^{78} = -1.7$
$[\text{K}^+\text{-разтвор}] + [\text{SalNa-W}_1] \rightarrow [\text{SalK-W}_1] + [\text{Na}^+\text{-разтвор}]$	$\Delta G^1 = 19.8$ $\Delta G^2 = 9.9$ $\Delta G^4 = 6.8$ $\Delta G^{32} = 2.8$ $\Delta G^{78} = 2.8$	$[\text{K}^+\text{-разтвор}] + [\text{SalNa-W}_2] \rightarrow [\text{SalK-W}_2] + [\text{Na}^+\text{-разтвор}]$	$\Delta G^1 = 20.6$ $\Delta G^2 = 10.0$ $\Delta G^4 = 6.3$ $\Delta G^{32} = 2.7$ $\Delta G^{78} = 2.7$
$[\text{Rb}^+\text{-разтвор}] + [\text{SalNa-W}_1] \rightarrow [\text{SalRb-W}_1] + [\text{Na}^+\text{-разтвор}]$	$\Delta G^1 = 58.2$ $\Delta G^2 = 46.2$ $\Delta G^4 = 41.6$ $\Delta G^{32} = 34.3$ $\Delta G^{78} = 33.2$	$[\text{Rb}^+\text{-разтвор}] + [\text{SalNa-W}_2] \rightarrow [\text{SalRb-W}_2] + [\text{Na}^+\text{-разтвор}]$	$\Delta G^1 = 56.1$ $\Delta G^2 = 43.5$ $\Delta G^4 = 38.2$ $\Delta G^{32} = 32.8$ $\Delta G^{78} = 31.2$
$[\text{Cs}^+\text{-разтвор}] + [\text{SalNa-W}_1] \rightarrow [\text{SalCs-W}_1] + [\text{Na}^+\text{-разтвор}]$	$\Delta G^1 = 71.2$ $\Delta G^2 = 55.7$ $\Delta G^4 = 49.7$ $\Delta G^{32} = 41.4$ $\Delta G^{78} = 40.4$	$[\text{Cs}^+\text{-разтвор}] + [\text{SalNa-W}_2] \rightarrow [\text{SalCs-W}_2] + [\text{Na}^+\text{-разтвор}]$	$\Delta G^1 = 67.3$ $\Delta G^2 = 51.1$ $\Delta G^4 = 44.7$ $\Delta G^{32} = 38.4$ $\Delta G^{78} = 36.7$
$[\text{Cu}^+\text{-разтвор}] + [\text{SalNa-W}_1] \rightarrow [\text{SalCu-W}_1] + [\text{Na}^+\text{-разтвор}]$	$\Delta G^1 = -34.2$ $\Delta G^2 = -5.8$ $\Delta G^4 = 4.3$ $\Delta G^{32} = 9.2$ $\Delta G^{78} = 18.0$	$[\text{Cu}^+\text{-разтвор}] + [\text{SalNa-W}_2] \rightarrow [\text{SalCu-W}_2] + [\text{Na}^+\text{-разтвор}]$	$\Delta G^1 = -31.6$ $\Delta G^2 = -2.9$ $\Delta G^4 = 7.2$ $\Delta G^{32} = 12.0$ $\Delta G^{78} = 11.4$
$[\text{Ag}^+\text{-разтвор}] + [\text{SalNa-W}_1] \rightarrow [\text{SalAg-W}_1] + [\text{Na}^+\text{-разтвор}]$	$\Delta G^1 = 15.8$ $\Delta G^2 = 25.0$ $\Delta G^4 = 28.2$ $\Delta G^{32} = 29.9$ $\Delta G^{78} = 29.6$	$[\text{Ag}^+\text{-разтвор}] + [\text{SalNa-W}_2] \rightarrow [\text{SalAg-W}_2] + [\text{Na}^+\text{-разтвор}]$	$\Delta G^1 = 16.0$ $\Delta G^2 = 25.3$ $\Delta G^4 = 28.4$ $\Delta G^{32} = 30.1$ $\Delta G^{78} = 29.5$
$[\text{Au}^+\text{-разтвор}] + [\text{SalNa-W}_1] \rightarrow [\text{SalAu-W}_1] + [\text{Na}^+\text{-разтвор}]$	$\Delta G^1 = 5.2$ $\Delta G^2 = 20.0$ $\Delta G^4 = 24.8$ $\Delta G^{32} = 27.5$ $\Delta G^{78} = 26.8$	$[\text{Au}^+\text{-разтвор}] + [\text{SalNa-W}_2] \rightarrow [\text{SalAu-W}_2] + [\text{Na}^+\text{-разтвор}]$	$\Delta G^1 = 0.7$ $\Delta G^2 = 14.5$ $\Delta G^4 = 18.5$ $\Delta G^{32} = 20.1$ $\Delta G^{78} = 18.0$

Най-малкият алкален катион, Li^+ , е единственият, който е предпочитан от салиномицин спрямо Na^+ в среда с ниска диелектрична константа за серията W_1 и във всички разтворители за серията W_2 . По-тежките алкални йони (K^+ , Rb^+ и Cs^+) са по-слаби конкуренти на Na^+ и показват положителна промяна в свободната енергия при катионния обмен, която нараства с поредния номер на елементите. Така афинитетът на катионите от група IA към салиномицин може да бъде подреден в

следния ред: $\text{Li}^+ > \text{Na}^+ > \text{K}^+ > \text{Rb}^+ > \text{Cs}^+$ (неполярни разтворители) и $\text{Li}^+ \geq \text{Na}^+ > \text{K}^+ > \text{Rb}^+ > \text{Cs}^+$ (полярни разтворители). Тези резултати са в съответствие с термодинамичните характеристики на алкалните йони. „Победителят“ от група IA, Li^+ , се характеризира с най-висока плътност на заряда, висока киселинност по Lewis и най-добра способност за прием на заряд. Тези свойства постепенно отслабват за останалите катиони, следвайки същия ред на афинитет, даден по-горе.

В група IB медният катион образува тетраедрични комплекси в сериите W_1 и W_2 (Фиг. 4.3-5) със средна гължина на връзката Cu-O 2.220/2.211 Å, съотв. Поради високата плътност на заряда и силната киселинност по Lewis, както и значителната способност за прием на заряд, йоните на Cu^+ изпреварват Na^+ както в газова фаза, така и в неполярни разтворители като циклохексан ($\epsilon \approx 2$). В по-полярна среда, обаче, тенденцията се променя: поради ефекта на солватация натриевият комплекс става доминиращ (положителни стойности на ΔG^4 , ΔG^{32} и ΔG^{78} за Cu^+).

Очаквано, координационното число на металния йон в сребърните комплекси се увеличава (5 в $\text{SalAg-}W_1$ и 6 в $\text{SalAg-}W_2$), придружено от нарастването на ΔG , чиито стойности остават положителни в целия гилектричен гуапазон (Табл. 4.3-4). Обратно, координационното число на Au^+ рязко намалява до 2 (линейна конфигурация) поради силни релативистични ефекти. Данните показват, че йонът на Au^+ е по-конкурентноспособен от Ag^+ , но въпреки това не може да изпревари Na^+ . Обобщавайки резултатите за групи IA и IB, редът на афинитет към салиномицин в разтворители с ниска полярност придобива вида $\text{Li}^+ > \text{Cu}^+ > \text{Na}^+ > \text{K}^+ > \text{Au}^+ > \text{Ag}^+ > \text{Rb}^+ > \text{Cs}^+$, докато в среда с висока гилектрична константа се наблюдава известно разместване: $\text{Li}^+ \geq \text{Na}^+ > \text{K}^+ > \text{Cu}^+ > \text{Au}^+ > \text{Ag}^+ > \text{Rb}^+ > \text{Cs}^+$.



Фиг. 4.3-5. V3LYP/6-31+G(d,p) оптимизирани структури на салиномицин с Cu^+ , Ag^+ и Au^+ , съдържащи (а) една (W_1) и (б) втора (W_2) молекула вода (водородните атоми са изпуснати за яснота)

4.4. Обобщение

Чрез UV-CD спектроскопия е изследвана способността на монензинатния анион да взаимодейства с гву- и тризарядни метални йони. В допълнение на вече известните неутрални комплекси $[MMo_2(H_2O)_2]$ и $[MMo_3(H_2O)_3]$, за първи път с този метод е доказано образуването на положително заредени координационни частици в метанолови разтвори – една с M^{2+} и две с M^{3+} . Стабилността на видовете $[MMo(H_2O)]^+$ и $[MMo_2(H_2O)_2]$ и конкурентни реакции между гвузарядните метални йони за свързване с монензин са оценени както с UV-CD, така и с Vis/NIR-CD. Двамата метода са допълващи се и притежават следните характеристики:

- UV-CD:
- 😊 конформационни промени в хирални лиганди;
 - 😊 изследване на „безцветни“ и „цветни“ метални комплекси;
 - ☹️ при близка конформационна промяна между две или повече частици количествените резултати може да се окажат ненадеждни;
- Vis/NIR-CD:
- 😊 индуцирана хиралност в комплекси с „цветни“ метални йони;
 - 😊 по-малък брой експериментални данни и облекчени изчислителни процедури;
 - ☹️ невъзможност за изследване на системи, съдържащи само „безцветен“ метален йон.

Направените квантово-химични изчисления очертават следните фактори, отговорни за селективността на монензин и салиномицин спрямо еднотелните метални катиони от групи IA и IB:

- *радиус на металния йон:* катионите с по-малък размер и по-висока плътност на положителния заряд са по-конкурентноспособни от техните по-обемисти гвойници;

- *способност за прием на заряд от металния катион:* увеличената възможност за прием на заряд (особено за d-елементите), което се изразява в повишен афинитет към лигандите (донорните атоми), повишава селективността на металните йони;

- *дielekтрични свойства на средата:* разтворителите с ниска полярност благоприятстват по-малките йони, притежаващи висок лиганден афинитет (Li^+); в полярни разтворители, характеризиращи се с висока dielekтрична константа, конкурентноспособността на средните катиони, особено Na^+ , се увеличава;

- *размерът на вътрешната кухина,* или по-точно гъвкавостта на полимерната верига, при двата йонофора се различава и е вероятна причина за координационното число на металните йони: 6 във всички комплекси на монензин, и вариращо от 2 до 8 в координационните съединения на салиномицин.

5. Резултати и дискусия:

Биологична активност на полиетерните йонофори и техните метални комплекси

За оценка на ефекта на включване на металните йони в структурата на полиетерните йонофори е изследвана биологичната активност на повечето от структурно охарактеризирани комплекси спрямо бактериални щамове и/или туморни/нетуморни клетъчни линии от различен произход. За част от координационните съединения са проведени изследвания за остра токсичност в опити “*in vivo*” и са дефинирани причините за леталния изход на експерименталните животни. В допълнение е проведено и 72-часово натоварване на оцелелите индивиди с цел да се оценят определени биохимични показатели.

5.1. Антибактериална активност

Способността на изследваните съединения да потискат развитието на бактериални култури е охарактеризирана чрез тяхната минимална инхибираща концентрация (MIC, $\mu\text{g/mL}$, μM) – най-ниската концентрация, при която не се наблюдава видим растеж на щамовете. Изследванията са проведени с Грам-положителни и Грам-отрицателни микроорганизми. Първият тип бактерии е чувствителен на действието на антибиотиците и техните метални комплекси, докато вторият е резистентен поради особености в строежа на клетъчна стена, непозволяващи проникването на съединения с молекулна маса, по-голяма от 600 kDa.

Два основни типа Грам-положителни аеробни бактерии са използвани през годините – представители на род *Bacillus* и *Kocuria*, като в лабораторията са подгържани *B. subtilis* (ATCC 6633) и *B. cereus* / *S. lutea* (в различни модификации) (Табл. 5.1-1). С времето използваната методика е търпяла промени както по отношение на използвания стандарт (McFarland), така и на хранителната среда. Поради това местовете на дадените метални комплекси винаги са включвали, освен използвания разтворител, и съответните форми на антибиотиците като контроли при оценка на антибактериалната активност.

Данни за ефекта на немогифицираните антибиотици и техни комплекси върху растежа на тестваните щамове са обобщени в Табл. 5.1-2 – 5.1-4.⁴ Допълнително е проведено и конкретно изследване на моноядрените бис-комплекси на монензин срещу Грам-положителния анаеробен микроорганизъм *Cl. perfringens* spp. (Фиг. 5.1-1).

Резултатите показват, че сами по себе си металните соли са нетоксични, със стойности на МИС наг 1-5 mM. Включването на натриеви йони в състава на монензин (MonNa) не повлиява значително активността на монензин киселина; в повечето случаи киселата форма на салиномицин е два пъти по-нетоксична от тази на MonH.

Табл. 5.1-1. Разновидности на *B. cereus* и *S. lutea*, използвани в изследването

<i>B. cereus</i>	<i>B. cereus</i> ATCC 10876; <i>B. mycoides</i> spp.; <i>B. cereus</i> 1085 (FDA PCI 213, <i>B. mycoides</i>); <i>B. cereus</i> ATCC 11778
<i>S. lutea</i>	<i>S. lutea</i> ATCC 10054 (FDA PCI 1000); <i>M. luteus</i> 159 (FDA PCI 1001); <i>K. rhizophila</i> ATCC 9341

Табл. 5.1-2. Антибактериална активност на полиетерните йонофорни, техни метални комплекси и някои метални соли срещу *B. Subtilis*, щам ATCC 6633 (МИС, μM)

MonNa ^a	23.8		[YMon ₃ (H ₂ O) ₃] ^б	7.0
[Mn(MonNa) ₂ Cl ₂] ^a	10.8		[LaMon ₃ (H ₂ O) ₃] ^б	7.0
[Co(MonNa) ₂ Cl ₂] ^a	10.8		[PrMon ₃ (H ₂ O) ₃] ^б	7.0
[Cu(MonNa) ₂ Cl ₂] ^a	10.7		[NdMon ₃ (H ₂ O) ₃] ^б	14.0
MonH ^{a, б}	23.2 - 23.9		[SmMon ₃ (H ₂ O) ₃] ^б	7.0
[CoMon ₂ (H ₂ O) ₂] ^a	2.8		[EuMon ₃ (H ₂ O) ₃] ^б	14.0
[MnMon ₂ (H ₂ O) ₂] ^a	10.3		[GdMon ₃ (H ₂ O) ₃] ^б	7.0
[CaMon ₂ (H ₂ O) ₂] ^a	1.4		[ErMon ₃ (H ₂ O) ₃] ^б	7.0
[MgMon ₂ (H ₂ O) ₂] ^б	1.4		MonH ^б	22.7

⁴ Означенията в таблиците са както следва:

Агар 1 (NA1) съдържа 0.1% w/v месен екстракт, 1% w/v пептон, 0.5% w/v NaCl, 1.5% w/v агар. За единичен слой NA1 концентрацията е 31 g/L;

Агар2 (NA2) съдържа 5 g/L пептон, 1.5 g/L HM пептон В (мелешки екстракт), 1.5 g/L екстракт от мая, 5 g/L NaCl, 15 g/L агар, крайно pH 7.4; 28 g/L.

McFarland 3 – 9 × 10⁸ CFU/mL; McFarland 4 – 1,2 × 10⁹ CFU/mL;

Условия на експеримента: двоен слой агар, размер на ямките 6 mm, обем на пробата 20 μL;

^a McFarland 3; NA1; ^б McFarland 4; NA1; ^б McFarland 4; NA2.

Метални комплекси на карбоксилните полиетери монензин и салиномицин:
структура, свойства & биологична активност

$[\text{NiMon}_2(\text{H}_2\text{O})_2]^\text{б}$	1.4		$[\text{CeMon}_2(\text{OH})_2]^\text{б}$	10.2
$[\text{ZnMon}_2(\text{H}_2\text{O})_2]^\text{а}$	1.4		$[\text{CeMon}(\text{NO}_3)_2(\text{OH})]^\text{б}$	65.7
SalNa ^б	20		SalH ^б	41.6
SalH ^б	43		$[\text{CeSal}_2(\text{OH})_2]^\text{б}$	18.7
$[\text{CoSal}_2(\text{H}_2\text{O})_2]^\text{б}$	5		$[\text{CeSal}(\text{NO}_3)_2(\text{OH})]^\text{б}$	60.6
$[\text{NiSal}_2(\text{H}_2\text{O})_2]^\text{б}$	10		$\text{MgCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}^\text{а}$	5×10^3
$[\text{CuSal}_2(\text{H}_2\text{O})_2]^\text{б}$	10		$\text{CaCl}_2^\text{а}$	5×10^3
$[\text{ZnSal}_2(\text{H}_2\text{O})_2]^\text{б}$	10		$\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}^\text{а}$	2×10^3
$\text{Ni}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}^\text{а}$	3×10^3		$\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}^\text{а}$	5×10^3
$\text{Zn}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}^\text{а}$	3×10^3		$\text{CuCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}^\text{а}$	3×10^3
$(\text{NH}_4)_2[\text{Ce}(\text{NO}_3)_6]^\text{б}$	$> 1.8 \times 10^3$			

Табл. 5.1-3. Ефект (MIC, μM) на полимерните йонофори и техни комплекси срещу *B. cereus*

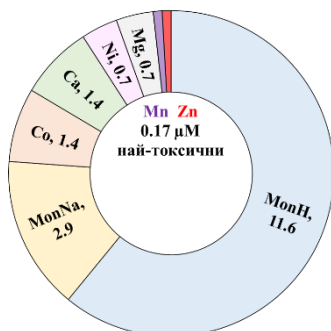
<i>B. cereus</i> ATCC 10876		<i>B. cereus</i> 1085 (FDA PCI 213, <i>B. myc.</i>)	
MonNa ^а	$> 1.4 \times 10^3$	MonH ^б	11.9
$[\text{Mn}(\text{MonNa})_2\text{Cl}_2]^\text{а}$	$> 6 \times 10^2$	$[\text{YMon}_3(\text{H}_2\text{O})_3]^\text{б}$	7
$[\text{Co}(\text{MonNa})_2\text{Cl}_2]^\text{а}$	$> 6 \times 10^2$	$[\text{LaMon}_3(\text{H}_2\text{O})_3]^\text{б}$	7
$\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}^\text{а}$	$> 5 \times 10^3$	$[\text{PrMon}_3(\text{H}_2\text{O})_3]^\text{б}$	7
$\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}^\text{а}$	$> 4 \times 10^3$	$[\text{NdMon}_3(\text{H}_2\text{O})_3]^\text{б}$	3.5
<i>B. mycooides</i> spp.		$[\text{SmMon}_3(\text{H}_2\text{O})_3]^\text{б}$	1.8
MonNa ^а	11.9	$[\text{EuMon}_3(\text{H}_2\text{O})_3]^\text{б}$	7
$[\text{Cu}(\text{MonNa})_2\text{Cl}_2]^\text{а}$	5.4	$[\text{GdMon}_3(\text{H}_2\text{O})_3]^\text{б}$	1.8
MonH ^а	11.6 - 11.9	$[\text{ErMon}_3(\text{H}_2\text{O})_3]^\text{б}$	3.5
$[\text{CoMon}_2(\text{H}_2\text{O})_2]^\text{а}$	1.4	SalNa ^б	10
$[\text{MnMon}_2(\text{H}_2\text{O})_2]^\text{а}$	5.1	SalH ^б	21
$[\text{CaMon}_2(\text{H}_2\text{O})_2]^\text{а}$	0.7	$[\text{CoSal}_2(\text{H}_2\text{O})_2]^\text{б}$	1
$[\text{MgMon}_2(\text{H}_2\text{O})_2]^\text{а}$	0.7	$[\text{NiSal}_2(\text{H}_2\text{O})_2]^\text{б}$	5
$[\text{NiMon}_2(\text{H}_2\text{O})_2]^\text{б}$	0.7	$[\text{CuSal}_2(\text{H}_2\text{O})_2]^\text{б}$	2
$[\text{ZnMon}_2(\text{H}_2\text{O})_2]^\text{б}$	0.7	$[\text{ZnSal}_2(\text{H}_2\text{O})_2]^\text{б}$	1
$\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}^\text{а}$	2×10^3	<i>B. cereus</i> ATCC 11778	
$\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}^\text{а}$	5×10^3	MonH ^б	5.7

Метални комплекси на карбоксилните полиетери монензин и салиномицин:
структура, свойства & биологична активност

CuCl ₂ .6H ₂ O ^a	3 × 10 ³		[CeMon ₂ (OH) ₂] ^б	5.1
MgCl ₂ .6H ₂ O ^a	1 × 10 ³		[CeMon(NO ₃) ₂ (OH)] ^б	16.4
CaCl ₂ ^a	1 × 10 ³		SalH ^б	10.4
Ni(NO ₃) ₂ .6H ₂ O ^a	3 × 10 ³		[CeSal ₂ (OH) ₂] ^б	4.7
Zn(NO ₃) ₂ .6H ₂ O ^a	3 × 10 ³		[CeSal(NO ₃) ₂ (OH)] ^б	7.6
			(NH ₄) ₂ [Ce(NO ₃) ₆] ^б	> 1.8 × 10 ³

Табл. 5.1-4. Стойности на МИС (µM) за монензин, салиномицин, металните им комплекси и соли при третиране на *S. lutea*

<i>S. lutea</i> FDA PCI 1000 (ATCC 10054)		<i>M. luteus</i> 159 (FDA PCI 1001)		
MonNa ^a	23.8		[YMon ₃ (H ₂ O) ₃] ^б	7
[Mn(MonNa) ₂ Cl ₂] ^a	10.8		[LaMon ₃ (H ₂ O) ₃] ^б	7
[Co(MonNa) ₂ Cl ₂] ^a	10.8		[PrMon ₃ (H ₂ O) ₃] ^б	7
[Cu(MonNa) ₂ Cl ₂] ^a	10.7		[NdMon ₃ (H ₂ O) ₃] ^б	14
MonH ^{a, б}	23.2 - 23.9		[SmMon ₃ (H ₂ O) ₃] ^б	113
[CoMon ₂ (H ₂ O) ₂] ^a	2.8		[EuMon ₃ (H ₂ O) ₃] ^б	14
[MnMon ₂ (H ₂ O) ₂] ^a	10.3		[GdMon ₃ (H ₂ O) ₃] ^б	28
[CaMon ₂ (H ₂ O) ₂] ^a	1.4		[ErMon ₃ (H ₂ O) ₃] ^б	56
[MgMon ₂ (H ₂ O) ₂] ^a	1.4		SalNa ^б	20
[NiMon ₂ (H ₂ O) ₂] ^б	> 700		SalH ^б	43
[ZnMon ₂ (H ₂ O) ₂] ^б	> 700		[CoSal ₂ (H ₂ O) ₂] ^б	5
			[NiSal ₂ (H ₂ O) ₂] ^б	10
MnCl ₂ .4H ₂ O ^a	5 × 10 ³		[CuSal ₂ (H ₂ O) ₂] ^б	10
CoCl ₂ .6H ₂ O ^a	2 × 10 ³		[ZnSal ₂ (H ₂ O) ₂] ^б	10
CuCl ₂ .6H ₂ O ^a	3 × 10 ³		<i>K. rhizophila</i> ATCC 9341	
MgCl ₂ .6H ₂ O ^a	5 × 10 ³		MonH ^б	181.4
CaCl ₂ ^a	5 × 10 ³		[CeMon ₂ (OH) ₂] ^б	326.4
Ni(NO ₃) ₂ .6H ₂ O ^a	3 × 10 ³		[CeMon(NO ₃) ₂ (OH)] ^б	525.8
Zn(NO ₃) ₂ .6H ₂ O ^a	3 × 10 ³		SalH ^б	83.2
			[CeSal ₂ (OH) ₂] ^б	37,3
			[CeSal(NO ₃) ₂ (OH)] ^б	30,3
			(NH ₄) ₂ [Ce(NO ₃) ₆] ^б	> 1.8 × 10 ³



Фиг. 5.1-1. Ефект на MonNa, MonH и бис-комплексите с гвузарядни метални йони върху *Cl. perfringens* (MIC, μM)

Металните йони в състава на координационните съединения на монензин и салиномицин повлияват ефекта на антибиотиците по разнороден начин:

- запазват активността на изходния лиганд (MIC е пропорционална на броя молеве йонофор в комплекса);
- потенцират способността за инхибиране на видимия бактериален растеж (стойностите на MIC са значително по-ниски от тези на антибиотиците);
- потискат действието на йонофорите (по-високи стойности на MIC в сравнение с некоординираните лиганди).

В някои случаи едн и същи тип комплекси проявяват противоположен ефект срещу конкретни бактериални щамове, напр. никеловият(II) и цинковият(II) монензинати, които са значително по-ефективни от MonH срещу *B. tyrocidetes spp.*, но са практически нетоксични срещу *S. lutea* FDA PCI 1000 (ATCC 10054).

5.2. Цитотоксичност

5.2.1. Обща характеристика

Изследванията на ефекта на металния йон върху цитотоксичността на монензин или салиномицин са проведени върху серия от туморни линии от човешки или животински произход. Експериментите са извършени в кратко- (24-72 h) и дългосрочни (16-26 дни) интервали от време, прилагайки различни тестове:

- МТТ, NR, CV за определяне на цитотоксични концентрации 50 (CC₅₀, μM) и 90 (CC₉₀, μM) – концентрациите, в които тестваните съединения намаляват жизнеността и пролиферацията на клетките с 50% или 90%;
- оцветяване с АО/PI за проследяване на цитопатологични изменения в третираните линии;

- колония-образуващ метод;
- кометно изследване.

Изследваните клетъчни линии и тестваните срещу тях съединения са обобщени в Табл. 5.2-1. Повечето от експериментите са проведени със солидни тумори; основен обект на изучаване са монензин и неговите комплекси с йони с биологично значение. Резултатите показват, че ефектът на съединенията е концентрационно- и времеви-зависим, като редица допълнителни фактори също влияят на отговора на клетките – техният произход, чувствителност и резистентност, използваният метод за оценка на цитотоксичността. Детайлният анализ на всички събрани до момента данни може да бъде обект на отделен самостоятелен труд. В настоящото изложение ще бъдат разгледани конкретни примери за потенциране на ефекта на полиетерните йонофори под действие на металните йони, свързани с тях в координационни съединения. Погребности по останалите изследвания са публикувани в съответните научни съобщения.

Табл. 5.2-1. Клетъчни линии и изследвани съединения

Линия		Произход	Съединения
8MGVA	мултиформен глиобластом (мозъчен тумор)	човек	MonH, [MMon ₂ (H ₂ O) ₂] M ²⁺ = Mg, Ca, Co, Mn, Ni, Zn
A549	рак на белия гроб	човек	MonH, [MMon ₂ (H ₂ O) ₂] M ²⁺ = Mg, Ca, Co, Mn, Ni, Zn
MCF-7	рак на гърдата	човек	MonH, [MMon ₂ (H ₂ O) ₂] M ²⁺ = Mg, Ca, Co, Mn, Ni, Zn
MDA-MB-231	тройнонегативен рак на гърдата	човек	MonH, [MMon ₃ (H ₂ O) ₃] M ³⁺ = La, Nd, Gd, Tb
HerG2	рак на черния гроб	човек	MonH, [MMon ₂ (H ₂ O) ₂] M ²⁺ = Mg, Ca, Co, Mn, Ni, Zn
HeLa	рак на шийката на матката	човек	MonH, SalH, [MMon ₂ (H ₂ O) ₂] M ²⁺ = Mg, Ca, Co, Mn, Ni, Zn [CeL(NO ₃) ₂ (OH)]

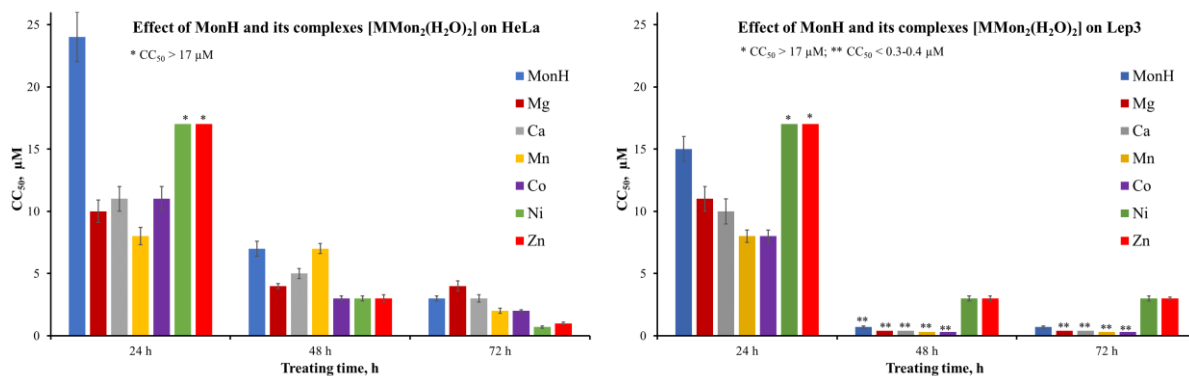
Метални комплекси на карбоксилните полиетери монензин и салиномицин:
структура, свойства & биологична активност

A431 и нейни клонове	сквамозно-клетъчен карцином	човек	MonH, [MMon ₂ (H ₂ O) ₂] M ²⁺ = Mg, Ca, Co, Mn
Lep3	нетуморна ембрионална линия	човек	MonH, SalH, [MMon ₂ (H ₂ O) ₂] M ²⁺ = Mg, Ca, Co, Mn, Ni, Zn [CeL(NO ₃) ₂ (OH)]
BV-173	хронична миелоидна левкемия (в пребластна криза)	човек	SalH, [MSal ₂ (H ₂ O) ₂] M ²⁺ = Co, Cu, Ni, Zn
K-562	хронична миелоидна левкемия	човек	SalH, [MSal ₂ (H ₂ O) ₂] M ²⁺ = Co, Cu, Ni, Zn
SKW-3	T-клетъчна левкемия	човек	SalH, [MSal ₂ (H ₂ O) ₂] M ²⁺ = Co, Cu, Ni, Zn
LSCC-SF-Mc29	хепатом, индуциран от миелоцитоматозен вирус	пиле	MonH, [MMon ₂ (H ₂ O) ₂] M ²⁺ = Mg, Ca, Co, Mn
LSR-SF-SR	сарком, индуциран от саркомен вирус на Раус, щам Шмигт-Рупин	плъх	MonH, [MMon ₂ (H ₂ O) ₂] M ²⁺ = Mg, Ca, Co, Mn [MMon ₃ (H ₂ O) ₃] M ³⁺ = La, Nd, Gd, Tb
Zajdela	химически индуциран рак на черния гроб	плъх	MonH, [MMon ₂ (H ₂ O) ₂] M ²⁺ = Mg, Ca, Co, Mn, Ni, Zn

5.2.2. Карцином на шийката на матката (HeLa)

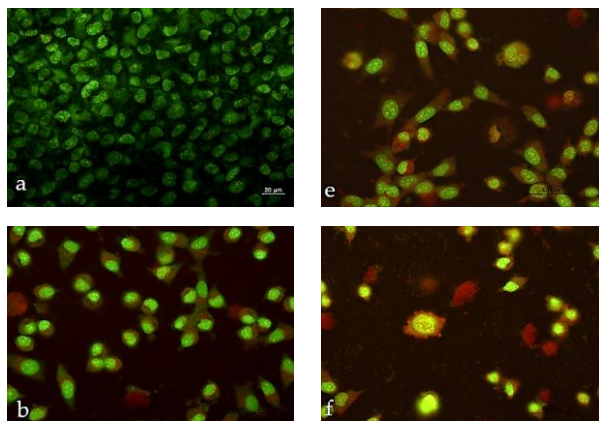
Пролиферацията и жизнеспособността на клетъчната линия HeLa бе изследвана в серия експерименти с MonH и моноядрените бис-монензинати на Mg²⁺, Ca²⁺, Mn²⁺, Co²⁺, Ni²⁺ и Zn²⁺ (Фиг. 5.2-1). Въпреки своята изоструктурност, почти всички комплекси проявяват по-висока, но различна, токсичност спрямо монензин киселина с изключение на [MgMon₂(H₂O)₂] (72-часово третиране). За сравнение, ефектът на същите съединения (при аналогични условия) бе оценен и срещу нетуморната линия Lep3 от човешки произход. Резултатите показаха, че никеловият(II) и цинковият(II) бис-монензинати притежават значително по-добър селективен индекс SI = CC₅₀ (Lep3) / CC₅₀ (HeLa) = 4.3 ([NiMon₂(H₂O)₂] и 3.0 ([ZnMon₂(H₂O)₂]), който ги отличава от всички останали съединения (SI = 0.1-1.1).

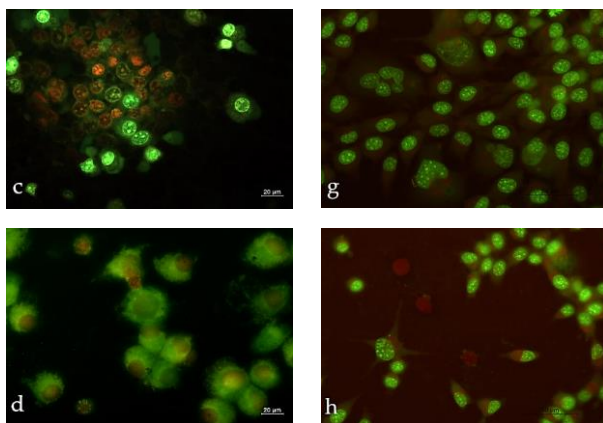
Метални комплекси на карбоксилните полиетери монензин и салиномицин:
структура, свойства & биологична активност



Фиг. 5.2-1. CC_{50} (μM) на монензин киселина и нейните моноягрени бис-комплекси с йони на Mg^{2+} , Ca^{2+} , Mn^{2+} , Co^{2+} , Ni^{2+} и Zn^{2+} (МТТ тест, 24-72 часово третиране)

Комбинацията от линии HeLa и Lep3 бе тествана и спрямо цериевите(IV) моно-комплекси $[\text{CeL}(\text{NO}_3)_2(\text{OH})]$ (Табл. 5.2-2). Освен, че са силно токсични срещу клетки, изолирани от рак на шийката на матката, координационните съединения са и значително по-селективни от утвърдени в практиката химиотерапевтици. Двойното оцветяване на HeLa с AO/PI (Фиг 5.2-2) е в съответствие с проведените МТТ експерименти, потвърждавайки цитотоксичността на съединенията и способността им да стимулират апоптоза. Нетретираната линия HeLa (контрола) се визуализира като плътен монослой и клетките притежават ярко зелено ядро и слаба цитоплазмена флуоресценция. Третирането с целевите съединения води до силно намален монослой в сравнение с контролата, ярко зелена ягрена флуоресценция, погуми клетки, вакуолизация и кондензация на хроматина. Допълнителното увеличение на концентрацията на йонофорите предизвиква появата и на апоптотични клетки.





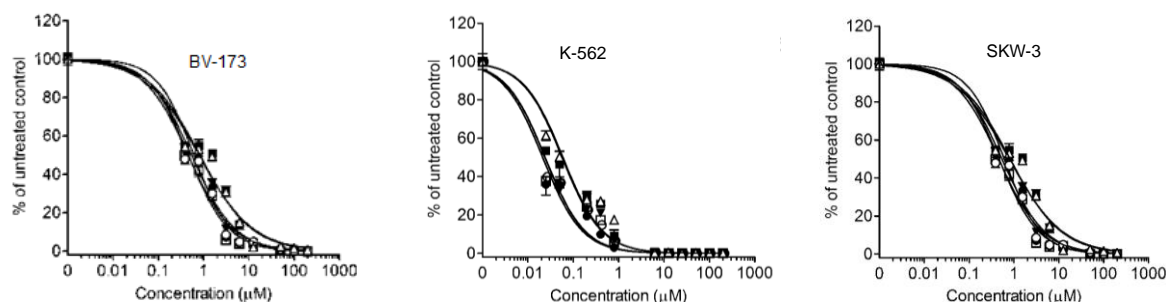
Фиг. 5.2-2. Цитопатологични промени в HeLa клетки след двойно оцветяване с AO/PI (72 h): (a) нетретиранни клетки (контрола); (b) MonH, 0.5 mg/mL; (c) MonH, 1 mg/mL; (d) MonH, 5 mg/mL; (e) SalH, 0.5 mg/mL; (f) SalH, 1 mg/mL; (g) [CeMon(NO₃)₂(OH)₂], 0.5 mg/mL; (h) [CeSal(NO₃)₂(OH)₂], 0.5 mg/mL (bar = 20 μm)

Табл. 5.2-2. Цитотоксичност (CC₅₀, μM) на цериевите(IV) комплекси [CeL(NO₃)₂(OH)] срещу туморната HeLa и нетуморната Lep3 клетъчни линии (MTT тест, 72 h)

Съединение	HeLa	Lep3	SI (Lep3/HeLa)
[CeMon(NO ₃) ₂ (OH)]	< 0.53	6.31	> 12.62
[CeSal(NO ₃) ₂ (OH)]	2.73	> 9.71	> 3.56
цисплатина	28	1.63	0.058
оксалиплатина	15	2.39	0.159
епирубицин	32	1.36	0.043

5.2.3. Левкемични клетки (BV-173, K-562, SKW-3)

Цитотоксичността на салиномицин и моноягрните бис-комплекси [MSal₂(H₂O)₂] (M²⁺ = Co, Cu, Ni, Zn) е оценена срещу три левкемични клетъчни линии (**Фиг. 5.2-3, Табл. 5.2-3**). Кобалтовият(II) и медният(II) комплекси проявяват по-добра активност в сравнение със салиномицинатите на никел(II) и цинк(II) и са значително по-токсични от SalH и SalNa. Металните соли са най-нетоксични, причинявайки 50% намаление на клетъчната жизнеспособност в значително по-високи концентрации в сравнение със съответните координационни съединения. Миелоидните клетъчни линии BV-173 и K-562 показват по-висока хемочувствителност към тестваните вещества с наномолни стойности на CC₅₀ в сравнение с линия SKW-3, изолирана от лимфоидна Т-клетъчна левкемия.



Фиг. 5.2-3. Ефект на SalH (Δ), SalNa (\blacksquare) и комплексите $[\text{MSal}_2(\text{H}_2\text{O})_2]$ с йони на Co^{2+} (\circ), Cu^{2+} (\blacktriangle), Ni^{2+} (\square), Zn^{2+} (\bullet) срещу туморни клетки от човешки произход (MTT, 72 h)

Табл.5.2-3. Цитотоксичност на салиномицин и неговите бис-комплекси

Съединение	CC ₅₀ (μM)			
	Линия	BV-173	K-562	SKW-3
SalH		0.052	0.059	0.830
SalNa		0.033	0.056	0.791
$[\text{CoSal}_2(\text{H}_2\text{O})_2]$		0.012	0.021	0.461
$[\text{CuSal}_2(\text{H}_2\text{O})_2]$		0.034	0.024	0.544
$[\text{NiSal}_2(\text{H}_2\text{O})_2]$		0.012	0.022	0.468
$[\text{ZnSal}_2(\text{H}_2\text{O})_2]$		0.061	0.024	0.612
$\text{Co}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$		31.27	21.71	14.74
$\text{Ni}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$		125.60	19.70	107.00
$\text{Cu}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$		67.56	10.83	51.89
$\text{Zn}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$		64.71	52.81	73.34

5.3. Токсикологични изследвания

Потенцираните антибактериални и цитотоксични свойства на полиетерните йонофори, показани от техните метални комплекси, поставиха въпроса относно ефекта на тези съединения в *in vivo* условия. В настоящия труд са представени резултатите от първоначалната оценка на токсичността на комплекси на монензин и салиномицин с йони на биометали върху лабораторни животни (бели мъжки мишки, порода ICR) и влиянието им върху клинично-лабораторните показатели на оцелелите индивиди.

5.3.1. Остра токсичност (LD_{50})

Средната смъртна доза LD_{50} (индикатор за остра токсичност, Табл. 5.3-1) бе определена по метода на Прозоровски за следните групи съединения:

- MonNa и $[M(\text{MonNa})_2\text{Cl}_2]$ ($M^{2+} = \text{Mn}, \text{Co}$);
- MonH и $[M\text{Mon}_2(\text{H}_2\text{O})_2]$ ($M^{2+} = \text{Co}, \text{Zn}$);
- SalNa и $[\text{MSal}_2(\text{H}_2\text{O})_2]$ ($M^{2+} = \text{Mg}, \text{Ca}, \text{Co}, \text{Zn}$).

Табл. 5.3-1. Стойности на LD_{50} за MonH, MonNa, SalNa и техни метални комплекси

Съединение	LD_{50} (говерителен интервал)	
	mg / kg b.w.	μmol / kg b.w.
MonNa *	> 100	> 144
$[\text{Mn}(\text{MonNa})_2\text{Cl}_2]$ *	> 79.4	> 52
$[\text{Co}(\text{MonNa})_2\text{Cl}_2]$ *	> 31.6	> 21
MonH	87.0 (63-120)	130 (94-179)
$[\text{CoMon}_2(\text{H}_2\text{O})_2]$ *	> 31.6	> 22
$[\text{ZnMon}_2(\text{H}_2\text{O})_2]$	34.2 (23-51)	24 (16-35)
SalNa	21.6 (15-32)	28 (19-41)
$[\text{MgSal}_2(\text{H}_2\text{O})_2]$	25.8 (21-32)	17 (13-21)
$[\text{CaSal}_2(\text{H}_2\text{O})_2]$	20.5 (17-25)	13 (11-16)
$[\text{CoSal}_2(\text{H}_2\text{O})_2]$	44.7 (38-60)	27 (23-37)
$[\text{ZnSal}_2(\text{H}_2\text{O})_2]$	108.0 (73-160)	67 (46-100)

* Не бе възможно определяне на LD_{50} в изследвания концентрационен интервал

Най-токсични са комплексите $[\text{CaSal}_2(\text{H}_2\text{O})_2]$ и $[\text{MgSal}_2(\text{H}_2\text{O})_2]$, като монензин киселина е най-нетоксична сред съединенията, за които стойността на LD_{50} е определена еднозначно. Цинковите(II) комплекси на монензин и салиномицин се различават значително по своята токсичност както помежду си, така и в сравнение с изходните антибиотици: MonH е пет пъти по-малко токсична от $[\text{ZnMon}_2(\text{H}_2\text{O})_2]$, докато SalH показва двойно повишена остра токсичност в сравнение с $[\text{ZnSal}_2(\text{H}_2\text{O})_2]$.

В зависимост от вида и дозата на внесеното вещество се наблюдава различна клинична картина при третираните опитни животни. В хода на експеримента бе установено, че настъпването на смърт при остро отравяне с MonH и MonNa не се характеризира с промяна в поведението на животните. Не такъв е случаят, обаче, при комплекса $[\text{ZnMon}_2(\text{H}_2\text{O})_2]$, а именно - забелязват се агония и загуба на

обръщателен рефлекс при третираните индивиди, като при някои от тях се наблюдават подскачане, клонични гърчове и затруднено дишане.

Третираните с ниски дози салиномицин натрий животни се характеризират с повишена гъвигателна активност, учестено дишане (тахипнея); при високи дози бе регистрирана намалена гъвигателна активност. На втория час се установяват атаксия, загуба на рефлекс за обръщане (странично положение), силно изразена агресия сред индивидите и настръхване на козината. Кобалтовият(II) и цинковият(II) салиномицинати не предизвикват съществени промени в първите часове на отравянето - животните са живи и с повишена активност. До няколко часа започват да се наблюдават значителни промени в поведението им – стават потиснати, сънливи, губят обръщателен рефлекс. При третиране с комплекси на калций(II) и магнезий(II) се наблюдават тремори, невротоксични симптоми и нарушена координация.

5.3.2. Клинико-лабораторни показатели

Комплексите на салиномицин с Mg^{2+} и Ca^{2+} показаха най-висока токсичност и поради тази причина изследвахме ефекта им върху оцелелите животни чрез допълнителни биохимични анализи. За тази цел бе проведено тригневно натоварване със същата доза от даденото съединение, използвана по време на експериментите за остра токсичност. Представителни данни за параметрите ALB, TP, AST, ALT, ALP, LDH, CR, URE при третиране с $[MgSal_2(H_2O)_2]$ и $[CaSal_2(H_2O)_2]$ са обобщени в **Табл. 5.3-2**.

Табл. 5.3-2. Стойности на клинични показатели на оцелелите животни при 72-часово натоварване *per os*

Съединение	Доза, mg/kg b.w.	ALB, g/L	TP, g/L	AST, U/L	ALT, U/L	ALP, U/L	LDH, U/L	CR, μmol/L	URE, mmol/L
$[MgSal_2(H_2O)_2]$	20.0	36.6	-	640	91	362	1435	43.4	-
	25.0	29.4	-	173	68	203	1888	-	-
	31.6	33.0	-	385	83	330	905	62.2	-
	50.1	28.1	-	510	93	391	1750	-	-
$[CaSal_2(H_2O)_2]$	10.0	35.8	-	178	58	228	796	-	-
	12.6	34.3	60.0	240	95	216	-	66.5	12.7

Метални комплекси на карбоксилните полиетери монензин и салиномицин:
структура, свойства & биологична активност

	15.8	34.8	64.5	173	73	316	-	60.5	11.5
	20.0	43.7	-	175	95	219	954	37.2	-
	25.0	40.3	55.6	280	108	317	1571	40.4	10.2
	31.6	37.9	51.1	705	305	412	-	44.1	-
	39.8	34.6	63.4	255	70	129	-	55.3	13.9
	50.1	50.3	-	385	170	324	1255	43.1	-
Контрола	голна	23	50	95	32	150	695	27	5
(граница)	горна	34	74	474	105	326	2634	59	17

“-“ – не е определена

От получените резултати може да се заключи, че 72-часово третиране (веднъж на ден) с комплекси на салиномицин не повлиява значително повечето от изследваните клинични параметри на третираните животни и разликите с контролната група не са значими. Нормалните стойности на серумен креатинин и урея са показателни, че няма остро увреждане на бъбреците, изразяващо се в бъбречна недостатъчност. Повишеният ALB в групата, натоварена с $[CaSal_2(H_2O)_2]$, би могъл да е следствие от дехидратация на животните. Повишените стойности на AST, измерени за някои индивиди, предполагат възможно увреждане на миокарда, тъй като механизмът на токсичност на тестваните съединения е свързан с нарушения в неговите йонни канали. Черногробната функция изглежда ненарушена за периода на тестване. От направения биохимичен анализ може да се заключи, че тридневното третиране с изследваните комплекси на салиномицин не повлиява функциите на черния дроб и бъбреците на опитните животни. Предполага се възможна дисфункция на миокарда, но за да се получи по-задълбочен поглед върху механизма на токсичност, трябва да се проведат продължителни изследвания за хронична и субхронична токсичност с по-големи групи индивиди.

5.4. Обобщение

Експерименталните данни показват, че свойствата на един кандидат за терапевтик не могат да бъдат недвусмислено и „автоматично пренесени“ от един биологичен обект към друг. За цялостно антибактериално охарактеризиране на дадено съединение е необходимо целенасочено изследване, което да обхваща широк набор от различни по произход микроорганизми, придружено (по възможност) и с

проучване на начина му на действие. Последното изисква по-загълбени експерименти, които не са обект на настоящия труд. Същественото при получените резултати е първоначалната оценка на активността на комплексните съединения, която разкрива потенциала им на ефективни антимикубни средства.

Изследванията върху антитуморния потенциал на полиетерните йонофори и техните метални производни потвърждават познанието, че структурната модификация на природни биологично активни съединения чрез комплексообразуване е успешен подход в медуцинската химия и може да се прилага за разработване на нови фармацевтични агенти. Въпреки, че не са намерили приложение в хуманната медицина (поради потенциалната си кардиотоксичност), данните сочат, че йонофорите и координационните им съединения представляват интерес в търсенето на ефективни, и по възможност – селективни, химиотерапевтици.

От проведеното първоначално изпитване за ефекта на йонофорните антибиотици и техни комплекси може да се направи заключение, че тестваните съединения не повлияват съществено повечето от изследваните клинични параметри при тридневна натоварване:

- наблюдаваните отклонения от референтните стойности за съответния показател са незначителни;
- чернодробната и бъбречната функции на третираните животни са запазени;
- регистрирани са единични случаи на дехидратация и увреждане на миокарда.

От клиничната картина на отравяне се предполага, че леталният изход е свързан с проява на невротоксично действие и дихателна недостатъчност. От статистическа гледна точка потвърждаването на тази хипотеза изисква допълнителни експерименти с голям брой лабораторни животни.

6. Изводи

1. Изолирани и структурно охарактеризирани са 32 нови неутрални „класически“ и 7 „некласически“ комплекса на природните полиетерни йонофори монензин и салиномицин:

- в „класическите“ комплекси антибиотиците действат бидентатно през карбоксилатна и хидроксилна функции, образувайки моноядрени бис- и трис комплекси с метални йони във втора и четвърта степен на окисление (бис-) и с тризарядни йони на рядкоземните елементи (трис-);
- в „некласическите“ комплекси йонофорите са полиидентатни лиганди, като свързването им е специфично за всеки отделен координационен вид в зависимост от природата на металния йон и формата на антибиотика.

2. Способността на монензин и салиномицин за комплексообразуване в разтвор е изследвана с метода на кръговия дихроизъм и теоретични модели. Установено е, че монензин може да съществува под формата на положително заредени комплексни видове в присъствие на дву- и тризарядни метални катиони. Теоретичното моделиране на процесите на конкуренция на еднозарядни метални йони за свързване с монензин е в подкрепа на експериментално наблюдаваните явления, което даде основание този подход да бъде приложен и към системите, съдържащи салиномицин.

3. Включването на метален йон в състава на координационните съединения на монензин и салиномицин се отразява по разнопосочен начин върху биологичната активност на некоординираните лиганди: загърба, потенцира или намалява ефективността на полиетерните йонофори. Тези резултати показват, че всеки кандидат за терапевтик трябва да бъде подложен на възможно пълно охарактеризиране на неговите свойства в условия *in vitro* и *in vivo* (лабораторни модели), преди да бъде достигната фазата на клинични изпитания върху доброволци.

7. Приноси

В хода на изработване на настоящия дисертационен труд за пръв път са постигнати следните резултати, които са преди всичко с фундаментален характер и с принос в разбирането на свойствата на материята и някои конкретни явления:

1. Доказано е, че моновалентните полиетерни йонофори монензин и салиномицин встъпват във взаимодействие с метални катиони в по-висша степен на окисление до образуването на неутрални координационни съединения. Този факт може да се използва при обяснение на влиянието на близкото обкръжение на антибиотиците върху тяхната антибактериална активност.

2. Кръгово-дихроичната спектроскопия се явява метод на пръв избор при изследване на поведението на хиралния лиганд монензин в разтвор. Благодарение на нея е доказано съществуването на серия от положително заредени комплексни видове, което не бе възможно чрез прилагането на групи спектрални техники. Нещо повече, методът в ултравиолетовата област позволява разграничаване на „безцветните“ метални йони като тези на алкални елементи, Mg^{2+} , Ca^{2+} , Zn^{2+} , Cd^{2+} , а приложението му във видимия спектър на светлината създава условия за изследване както на „цветни системи“ (Co^{2+} , Ni^{2+}), така и на процесите на конкуренция „цветен-безцветен“ метални катиони.

3. До момента биологичното охарактеризиране на дискутираните комплекси на монензин и салиномицин е резултат от усилията на единствено и само български изследователи. Получените данни са обещаващи и разкриват потенциала на карбоксилните йонофори (самостоятелно или под формата на координационни съединения) в терапията на заболявания от различен произход.

8. Публикации по темата на дисертацията

За участие в процедурата са представени 27 научни съобщения в пълен текст, от които 21 публикации в реферирани и индексирани издания и 4 глави от колективни монографии. Публикациите не са използвани за придобиване на ОНС „доктор“.

Публикация	Библиографски данни	Квартал	Точки
Dorkov <i>et al.</i> , 2008	Synthesis, structure and antimicrobial activity of manganese(II) and cobalt(II) complexes of the polyether ionophore antibiotic sodium monensin A. <i>J. Inorg. Biochem.</i> 102(1):26-32	Q1	25
Pantcheva <i>et al.</i> , 2008	First divalent metal complexes of the polyether ionophore monensin A: X-ray structures of [Co(Mon) ₂ (H ₂ O) ₂] and [Mn(Mon) ₂ (H ₂ O) ₂] and their properties. <i>Curr. Drug Discov. Technol.</i> 5(2):154-161	Q3	15
Pantcheva <i>et al.</i> , 2009a	Crystal structure and properties of the copper(II) complex of sodium monensin A. <i>J. Inorg. Biochem.</i> 103(10):1419-1424	Q1	25
Pantcheva <i>et al.</i> , 2009b	Divalent metal complexes of the monovalent polyether ionophorous antibiotic monensin. In: <i>Insights into Coordination, Bioinorganic and Applied Inorganic Chemistry</i> , M. Melník, P. Segla, M. Tatarko (Eds.), Press of Slovak University of Technology, Bratislava, pp. 257-268. ISBN 978-80-227-3085-4	глава от колективна монография	15
Ivanova <i>et al.</i> , 2010	Crystal structures and spectral properties of new Cd(II) and Hg(II) complexes of monensic acid with different coordination modes of the ligand. <i>Centr. Eur. J. Chem.</i> 8(4):852-860	Q3	15
Pantcheva <i>et al.</i> , 2010a	First solid state alkaline-earth complexes of monensic A acid: X-ray crystal structure of [M(Mon) ₂ (H ₂ O) ₂] (M = Mg, Ca), spectral properties and cytotoxicity against Gram-positive bacteria. <i>BioMetals</i> 23(1):59-70	Q1	25
Pantcheva <i>et al.</i> , 2010b	Nickel(II) and zinc(II) dimonensinates: crystal structure, spectral properties and bactericidal activity. <i>Inorg. Chim. Acta</i> 363:1879-1886	Q2	20
Alexandrova <i>et al.</i> , 2011	Cytotoxic and antiproliferative activities of monensic acid and its metal(II) complexes against drug sensitive and multidrug resistant human tumor cell lines. <i>Intern. J. Biol. Biomed. Eng.</i> 5(2):93-101	Q4	12*
Ivanova <i>et al.</i> , 2011	Cd(II) and Pb(II) complexes of the polyether ionophorous antibiotic salinomycin. <i>Chem. Centr. J.</i> 5:52	Q2	20
Mitewa <i>et al.</i> , 2011	Antitumor activity of the polyether ionophorous antibiotic monensin and its metal(II) complexes. In: <i>Recent Researches in Modern Medicine</i> . Braissant,	глава от колективна монография	15*

Метални комплекси на карбоксилните полиетери монензин и салиномицин:
структура, свойства & биологична активност

	O., Wakamatsu, H., Kuo-Kang, I., Allegaert, K., Lenbury, Y., Wachholtz, A. (Eds.), WSEAS Press, pp. 439-444. ISBN: 978-960-474-278-3		
Pantcheva & Mitewa, 2011	Polyether ionophores: coordination properties, antibacterial / antitumor activity and acute toxicity of their metal complexes. In: New Trends in Coordination, Bioinorganic and Applied Inorganic Chemistry. Melnik, M., Segla, P., Tatarko, M. (Eds.), STU Press, Bratislava, pp. 452-465. ISBN 978-80-227-3509-4	глава от колективна монография	15*
Alexandrova <i>et al.</i> , 2012	Cytostatic and cytotoxic properties of monensic acid and its biometal(II) complexes against human tumor / non-tumor cell lines. Cent. Eur. J. Chem. 10(5):1464-1474	Q2	20
Ivanova <i>et al.</i> , 2012	Synthesis, spectral properties, antibacterial and antitumor activity of salinomycin complexes with the transition metal ions Co(II), Ni(II), Cu(II) and Zn(II). J. Chem. Chem. Eng. David Publ. 6(6):551-562		
Pantcheva <i>et al.</i> , 2013	In vitro activity of biometal(II) complexes of monensin against virus-induced transplantable animal tumors. Biotechn. & Biotechn. Equipmn. 27(2):3703-3708	Q3	15
Zhorova <i>et al.</i> , 2013	Cytotoxicity of monensic acid and its biometal(II) complexes against anaerobic bacterial strain <i>Clostridium perfringens spp.</i> Biotechn. & Biotechn. Equipmn. 27(6):4308-4310	Q3	15
Atanasov <i>et al.</i> , 2014	Preliminary study on <i>in vivo</i> toxicity of monensin, salinomycin and their metal complexes. Bulg. Chem. Comm. 46(2):236-239	Q4	12
Nedzhib <i>et al.</i> , 2016	Circular dichroism is sensitive to monovalent cation binding in monensin complexes. Chirality 28(5):420-428	Q2	20
Pantcheva <i>et al.</i> , 2019a	Spectral properties and biological activity of La(III) and Nd(III) monensinates. Open Chemistry 17:1423-1434	Q3	15
Pantcheva <i>et al.</i> , 2019b	Coordination compounds of polyether ionophore monensin with gadolinium(III) ions. In: Nanoscience & Nanotechnology, vol. 19(1), pp. 40-46, Balabanova, E., Mileva, E. (Eds.). ISSN: 1313-8995		
Alexandrova <i>et al.</i> , 2020	Study on <i>in vitro</i> toxicity of biometal(II) monensinates against rat Zajdela liver tumour. Chem. Didact. Ecol. Metrol. 25(1):125-132	Q4	12*
Dudev <i>et al.</i> , 2020	Factors governing the competition between group IA and IB cations for monensin A: a DFT/PCM study. RSC Advances 10:5734-5741	Q1	25
Pantcheva <i>et al.</i> , 2020	New insights into coordination chemistry of monensin towards divalent metal ions. Inorg. Chim. Acta 505:119481	Q2	20

Метални комплекси на карбоксилните полиетери монензин и салиномицин:
структура, свойства & биологична активност

Dudev <i>et al.</i> , 2022	A DFT/PCM study on the affinity of salinomycin to bind monovalent metal cations. <i>Molecules</i> 57(2):532	Q1	25*
Pantcheva <i>et al.</i> , 2022a	Alkaline-earth metal(II) complexes of salinomycin – spectral properties and antibacterial activity. <i>Phys. Sci. Rev. / In: Chemical Sciences for the New Decade.</i> Ramasami, P. (Ed.) vol. 2. <i>Biochemical and Environmental Applications</i> , pp.65-78. Walter de Gruyter GmbH, Berlin / Boston. ISBN 978-3-11-078358-2	глава от колективна монография	15*
Pantcheva <i>et al.</i> , 2022b	Spectral properties of copper(II) bis-monensinate. <i>C. R. Acad. Bulg. Sci.</i> 75(4):519-526	Q3	15*
Kis <i>et al.</i> , 2023	Circular dichroism spectroscopic studies on solution chemistry of M(II)-monensinates in their competition reactions. <i>Inorganics</i> 11(8):334	Q2	20*
Petkov <i>et al.</i> , 2023	Novel cerium(IV) coordination compounds of monensin and salinomycin. <i>Molecules</i> 28(12):4676	Q1	25*

* Публикациите не са представяни за участие в конкурси за заемане на АД „доцент“ и „професор“