

STUDIU COMPARATIV AL PROPRIETĂȚILOR BIOSTIMULATOARE ALE UNOR DIMETILGLIOXIMAȚI AI Co(III) CU ANIONI POLIFLUORURAȚI

Eduard COROPCEANU, Alexandra DESEATNIC, Andrei RIJA, Olga BOLOGA,
Janna TIURIN*, Svetlana LABLIUC*, Steliana CLAPCO*, Viorica CONDRUC*,
Maria STRATAN*, Ion BULHAC*

Institutul de Chimie al AȘM

**Institutul de Microbiologie și Biotehnologie al AȘM*

The oriented synthesis of dimethylglyoximates with general formula $[\text{Co}(\text{DH})_2(\text{Thio})_2]\text{X}\cdot n\text{H}_2\text{O}$, where DH_2 – dimethylglyoxime; Thio – thiocarbamide, X - $[\text{BF}_4]^-$, $[\text{PF}_6]^-$, $1/2[\text{SiF}_6]^{2-}$, $1/2[\text{ZrF}_6]^{2-}$ was carried out. The structure and properties of named complexes were studied by modern methods (IR, UV-Vis, NMR ^1H and ^{19}F , X-ray diffraction study). The biological tests made on fungal strains of genre *Aspergillus* – producers of amylases showed the biostimulator effect of the same studied complexes on the enzymogenesis process relative to origin of strains. The enzymatic activity increased up to 41.6%. The biostimulating properties of dioximats with similar composition of complex cation depend on the nature of the anion.

Introducere

Interesul față de complexii elementelor 3d cu α -dioxime este condiționat de varietatea structurii lor stereo-chimice și electronice [1], prezentând obiecte de perspectivă pentru elucidarea legăturilor generale între compoziție, structură și proprietăți. Structura variată a dioximaților Co(III) se datorează condițiilor de sinteză diferite, naturii liganzilor axiali și anionilor din sfera externă.

Introducerea moleculelor organice în calitate de liganzi în complexii metalelor poate modifica esențial activitatea lor, conferindu-le proprietăți biologice active [2]. S-a stabilit că compușii coordinativi care conțin cobalt pot servi în calitate de stimulatori ai biosintezei fermenților hidrolitici de către micromicete [3]. Dioximații Co(III) ce conțin fluor, fiind introduși în mediul de cultivare a speciei *Spirulina platensis*, s-au manifestat ca stimulatori ai biosintezei vitaminei B_{12} de către algă [4]. Aceste studii au creat premise pentru inițierea sintezelor cu scopul creării analogilor sintetici ai sistemelor naturale, modelarea funcțiilor biologice și reproducerea proceselor care decurg în ele.

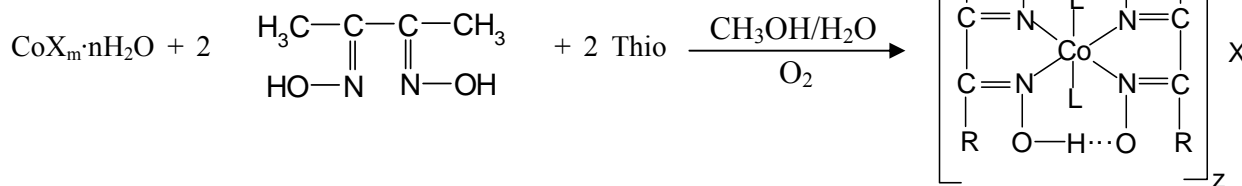
Investigațiile realizate în ultimii ani au arătat că dioximații cobaltului(III) ce conțin anionul de fluor se deosebesc esențial de complexii tradiționali ai acestei serii atât după caracterul compușilor obținuți, cât și după particularitățile proprietăților chimice și structurale. Pentru acești complecși este caracteristic faptul că anionul de fluor, spre deosebire de alte resturi acide, se localizează numai în sfera exterioară a complexului și creează condiții netradiționale de împachetare a compușilor în rețeaua cristalină [5-11].

Multiplele implicări practice ale enzimelor hidrolitice (pectinazelor, amilazelor, celulezelor, proteazelor, lipazelor) în diferite sfere economice și sociale determină necesitatea elaborării unor procedee efective de sporire a capacității biosintetice a microorganismelor-producătoare. Dintre toți factorii mediului exterior care conduc la modificarea proceselor biologice în celula microorganismului remarcabil este mediul nutritiv. Compoziția mediului nutritiv reglează considerabil dezvoltarea și activitatea de biosinteză a fungilor. Sub acest aspect prezintă interes utilizarea compușilor coordinativi în calitate de biostimulatori ai procesului de sinteză a enzimelor.

Rezultate și discuții

A fost realizată sinteza orientată a noilor compuși coordinativi ai cobaltului(III) cu dimetilglioixima, în care atomul de metal coordonează în plan ecuatorial doi monoanioni de dimetilglioiximă, în pozițiile axiale – molecule de tiocarbamidă, iar în sfera externă sunt prezenți polifluoroanionii $[\text{BF}_4]^-$, $[\text{SiF}_6]^{2-}$, $[\text{ZrF}_6]^{2-}$, $[\text{PF}_6]^-$: $[\text{Co}(\text{DH})_2(\text{Thio})_2][\text{BF}_4]\cdot 3\text{H}_2\text{O}$ (I), $[\text{Co}(\text{DH})_2(\text{Thio})_2]_2[\text{SiF}_6]\cdot 3\text{H}_2\text{O}$ (II), $[\text{Co}(\text{DH})_2(\text{Thio})_2]_2[\text{ZrF}_6]\cdot \text{H}_2\text{O}$ (III), $[\text{Co}(\text{DH})_2(\text{Thio})_2]_2\text{F}[\text{PF}_6]\cdot \text{H}_2\text{O}$ (IV).

Sinteza compușilor I-III a fost realizată conform schemei:



Complexul IV a fost obținut la interacțiunea soluțiilor compusului $[\text{Co}(\text{DH})_2(\text{Thio})_2]\text{F} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ cu hexafluorofosfatul de potasiu. Compușii sintetizați au configurație *trans*-. În spectrele UV-Vis ale soluțiilor proaspete ale complexelor se observă două benzi de absorbție în regiunile ~ 235 și ~ 335 nm, prima corespunzând grupării $\text{Co}(\text{DH})_2$, care formează planul ecuatorial al cationului, iar a doua – celor două molecule de tiocarbamidă, amplasate în poziția 1,6 [12].

Prezența anionului $[\text{SiF}_6]^{2-}$ în sfera externă (Fig.1) este dovedită de semnalul în spectrul RMN ^{19}F la $-129,8$ ppm ($\delta[\text{SiF}_6]^{2-}$) [13].

La sinteza din mediu aqua-etanolic a fost obținut compusul $[\text{Co}(\text{DH})_2(\text{Thio})_2]_2[\text{SiF}_6] \cdot 2\text{H}_2\text{O} \cdot \text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$, a cărei structură cristalină a fost determinată cu metoda difracției razelor X [14]. Parametrii de bază ai cationilor $[\text{Co}(\text{DH})_2(\text{Thio})_2]^+$ sunt apropiați de cei determinați în alți compuși ce conțin tiocarbamidă pe coordonata axilă. În cationul A ambele molecule de tiocarbamidă sunt practic perpendiculare pe planul fragmentului ecuatorial, fiind fixate prin legături intramoleculare $\text{N}-\text{H} \cdots \text{O}$ (Fig.2).

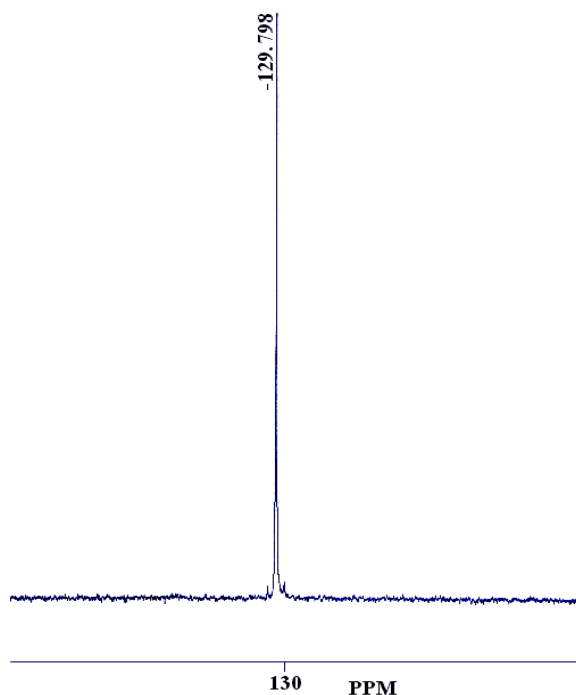


Fig.1. Spectrul RMN ^{19}F al $[\text{Co}(\text{DH})_2(\text{Thio})_2]_2[\text{SiF}_6] \cdot 3\text{H}_2\text{O}$.

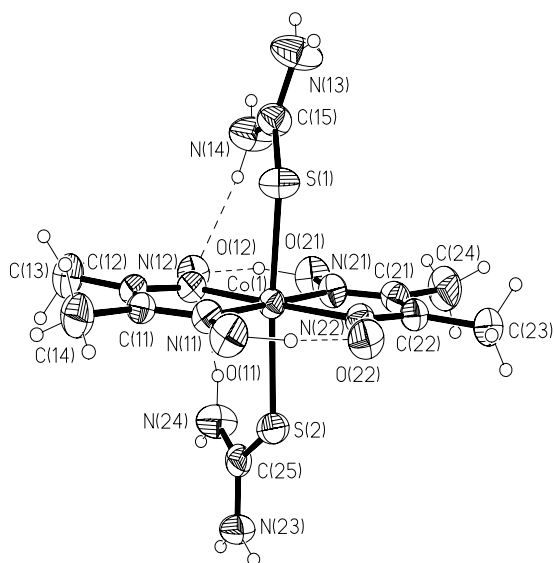


Fig.2. Structura cationului complex A în II

În cationul B o moleculă de tiocarbamidă este situată perpendicular planului ecuatorial, fiind unită cu el prin intermediul legăturii $\text{N}-\text{H} \cdots \text{O}$ (asemănător cu cationul A), iar a doua moleculă este practic paralelă planului metalociclurilor (deosebit de cationul A). Probabil, această orientare este condiționată de interacțiunea $\pi-\pi$ între fragmentul ecuatorial și ligandul axial π -delocalizat. Legăturile de hidrogen $\text{N}-\text{H} \cdots \text{F}$ au rol determinant în formarea structurii carcabei. Anionul $[\text{SiF}_6]^{2-}$ este unit cu cinci cationi complecși: trei de tipul A și doi de tipul B, în sistemul de legături de hidrogen fiind antrenați în calitate de acceptori toți atomii de fluor. În afară de legăturile de acest tip, în structură au fost depistate legături $\text{N}-\text{H} \cdots \text{O}$ între cationii independenți și $\text{N}-\text{H} \cdots \text{S}$ între cationii de același tip (B). Moleculele de apă și alcool etilic îndeplinesc funcția de punte în lanțul cation-apă-fluor și cation-etanol-fluor.

În III cristalul este constituit din cationi cristalografic independenți, anioni centrosimetrice $[\text{ZrF}_6]^{2-}$ și molecule de apă de cristalizare (Fig.3) [15]. Una dintre moleculele de tiocarbamidă este amplasată practic paralel față de planul ecuatorial, fapt cauzat de interacțiunea π - π , realizată între această moleculă și metalociclu.

În scopul elucidării mecanismului de acțiune a metalocomplecșilor asupra proceselor biologice, prezintă interes stabilirea rolului componentelor structurale ale sferei interne și externe ale compușilor coordinativi în studiu. Dioximații analizați conțin același cation complex – $[\text{Co}(\text{DH})_2(\text{Thio})_2]^+$, dar se deosebesc după natura anionului din sfera de coordonare externă. În cercetările biologice efectuate în cadrul prezentului studiu s-a urmărit influența anionului din sfera externă asupra activității enzimatice a unor tulpini de micromicete cu importanță biotehnologică [14,15].

Ca obiecte de studiu au servit tulpinile de fungi miceliali *Aspergillus niger* CNMN FD 06 și CNMN FD 02A – producători de amilaze ordinare și acid stabile. În calitate de inocul a servit suspensia apoasă de spori a culturii de 14 zile, crescută pe suprafețe oblice de malț agarizat, la temperatura de 28-30°C în cantitate de 10% cu concentrația de 10^6 spori/ml. Pentru intensificarea capacității biosintetice a tulpinii de fungi s-au utilizat dioximați noi ai cobaltului(III) care conțin în sfera de coordonare internă molecule organice (dimetil-glioximă și tiocarbamidă), iar în sfera externă – anionii fluorurați: $[\text{BF}_4]^-$, $[\text{SiF}_6]^{2-}$, $[\text{ZrF}_6]^{2-}$, F^- și $[\text{PF}_6]^-$. Metalocomplecșii studiați s-au testat în concentrații de 1, 5, 10, 15 și 20 mg/L.

Cultivarea s-a efectuat în condiții de agitare continuă (200 rot·min⁻¹), în baloane Erlenmayer cu capacitatea de 1,0 L cu 0,2 L mediu nutritiv, la temperatura de 28-30°C, timp de 5 zile, pe mediu nutritiv cu următorul raport cantitativ al ingredientelor (g·L⁻¹): amidon – 3,0; făină de fasole – 9,0; tărâțe de grâu – 18,0; KH_2PO_4 – 2,0, KCl – 0,5, MgSO_4 – 0,5, apă potabilă până la 1 L, pH-ul inițial al mediului – 5,0, în variantele experiment fiind suplimentat cu compușii testați în concentrațiile determinate.

Activitatea amilolitică în lichidele culturale obținute a fost determinată cu ajutorul metodei colorimetrice cu iod, utilizând ca substrat soluția de 1% de amidon solubil, în condiții standard de hidroliză la pH-4,7 pentru amilazele ordinare și la pH-2,5 pentru amilazele acid stabile. Ca unitate de activitate amilolitică (u) s-a considerat cantitatea de enzimă, care în condiții determinate de temperatură, pH și durată de acțiune scindează un gram de amidon până la dextrine cu diferită masă moleculară [16].

Rezultatele obținute sunt prezentate în Tabel. După cum urmează din Tabel, introducerea în mediul de cultivare al micromicetei *Aspergillus niger* CNMN FD 06 a dioximaților Co(III) cu tiocarbamidă și cu anionii $[\text{BF}_4]^-$, $[\text{SiF}_6]^{2-}$, F^- și $[\text{PF}_6]^-$, în funcție de concentrația aplicată, stimulează activitatea atât a amilazelor ordinare, cât și a celor acid stabile, creșterea constituind 113,7-141,6% pentru amilazele ordinare și 110,4-131,8% pentru cele acid stabile față de martor. Metalocomplexul, care conține anionul cu zirconiu – $[\text{ZrF}_6]^{2-}$, diminuează activitatea ambelor tipuri de amilaze ale tulpinii *Aspergillus niger* CNMN FD 06A – cu 44,8-8,6% și se manifestă ca inhibitor puternic al biosintezei ambelor tipuri de amilaze la tulpina *Aspergillus niger* 33-19 CNMN FD 02A, reducerea activității constituind 80,9-50,36% pentru cele ordinare și 46,7- 44,2% pentru cele acid stabile.

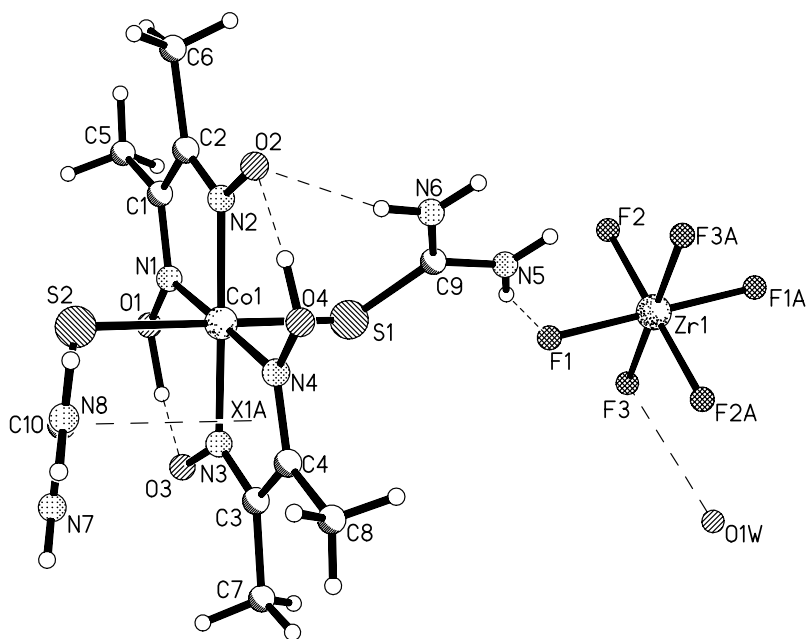


Fig.3. Structura moleculară a complexului III.

Tabel

Modificarea activității amilazelor ordinare (pH 4,7) și acid stabile (pH 2,5) ale micromicetei *Aspergillus niger* CNMN FD 06A sub influența complexilor cobaltului(III) cu anioni fluorurați

Nr. crt.	Compusul coordinativ	Concentrația, mg/L	Activitatea amilolitică*, u./ml			
			pH 4,7	% față de control	pH 2,5	% față de control
1	[Co(DH) ₂ (Thio) ₂][BF ₄] ₂ ·3H ₂ O	1	153,16	137,2	95,29	106,2
		5	158,09	141,6	72,29	81,0
		10	145,90	130,7	118,08	131,8
2	[Co(DH) ₂ (Thio) ₂][SiF ₆] ₂ ·3H ₂ O	1	131,70	118,3	97,71	108,9
		5	133,50	119,6	97,00	108,1
		10	143,20	128,3	103,72	115,6
	Control	-	111,61	100	89,73	100
	[Co(DH) ₂ (Thio) ₂] ₂ F[PF ₆] ₂ ·H ₂ O	5	127,82	98,9	106,16	116,2
		10	135,25	105,4	100,86	110,4
		20	145,86	113,7	97,00	106,2
	Control	-	128,29	100	91,36	100
3	[Co(DH) ₂ (Thio) ₂][ZrF ₆] ₂ ·H ₂ O	1	97,48	98,8	83,05	94,0
		5	70,61	71,6	80,95	91,6
		10	53,45	54,2	76,31	86,3
	Control	-	98,61	100	88,37	100
<i>Aspergillus niger</i> 33-19 CNMN FD 02A						
3	[Co(DH) ₂ (Thio) ₂][ZrF ₆] ₂ ·H ₂ O	5	45,83	27,0	116,24	55,8
		10	32,49	19,1	90,08	43,3
		15	49,64	29,2	93,48	44,9
	Control	-	169,82	100	208,15	100

* exactitate = ± 5% [19]

Rezultatele cercetărilor marchează influența sferei externe a dioximaților cobaltului(III) cu compoziție identică a cationului complex, dar cu diverși anioni în sfera externă asupra proceselor de sinteză enzimatică la fungii miceliale *Aspergillus niger* CNMN FD 06A și *Aspergillus niger* 33-19 CNMN FD 02A – producători de amilaze ordinare și acid stabile. Valoarea activității biologice a complexelor studiate în dependență de natura anionului din sfera externă poate fi redată cu ajutorul seriilor: [ZrF₆]²⁻<[PF₆]⁻<[SiF₆]²⁻<[BF₄]⁻ pentru amilazele ordinare și [ZrF₆]²⁻<[SiF₆]²⁻<[PF₆]⁻<[BF₄]⁻ pentru amilazele acid stabile.

Referințe:

1. Ботошанский М.М., Дворкин А.А., Симонов Ю.А. – В сб: Кристаллические структуры неорганических соединений. - Кишинев: Штиинца, 1974, с.26-61.
2. Азизов М.А. О комплексных соединениях микроэлементов с биоактивными веществами. – Ташкент, 1963. - 245 с.
3. Крисс Е.Е., Волченкова И.И., Григорьева А.С. и др. Координационные соединения в медицине. - Киев: Наукова думка, 1986. - 216 с.
4. Гуля А.П., Рудик В.Ф., Гэрбэлэу Н.В., Шаларь В.М., Кокунов Ю.В., Болога О.А., Грэдинару Д.И., Денчикова Л.А. // А.С. №1616111 (СССР), 1989.
5. Gerbeleu N., Coropchanu E., Deseatnic A., Simonov Yu., Bologa O., Tiurin J., Labliuc S., Kravtsov V. // Analele Științifice ale Universității „A.I. Cuza” Iași. - 1999. - Vol.7. - Nr.2. - P.281-284.
6. Coropceanu E., Deseatnic A., Gerbeleu N., Tiurin J., Labliuc S., Bologa O. // Analele Științifice ale USM. Seria „Științe chimico-biologice”. - Chișinău: USM, 2000, p.256-258.

7. Десятник А.А., Гэрбэлэу Н.В., Коропчану Э.Б., Тюрин Ж.П., Лаблюк С.В., Болога О.А., Клапко С.И. // Координационная химия. - 2002. - Т.28. - №2. - С.144-145.
8. Десятник А., Сырбу Т., Коропчану Э., Тюрин Ж., Гэрбэлэу Н., Болога О., Лаблюк С. // Buletinul AȘM. Seria „Științe biologice și chimice”. - 2003. - Nr.2. - P.112-117.
9. Gărbălău N., Simonov Yu., Deseatnic A., Bologa O., Kravțov V., Coropceanu E., Tiurin J., Labliuc S. Brevet de invenție MD 1203, 1999.
10. Deseatnic A., Tiurin J., Gărbălău N., Coropceanu E., Labliuc S., Bologa O. Brevet de invenție MD 1748, 2002.
11. Gărbălău N., Simonov Yu., Bouroș P., Deseatnic A., Coropceanu E., Bologa O., Condruș V., Clapco S. Brevet de invenție MD 2833, 2005.
12. Аблов А.В., Бовыкин Б.А. // Журнал неорганической химии. - 1965. - Т.10. - №1. - С.53-60.
13. Буслаев Ю.А., Петросянц С.П. // Координационная химия. - 1979. - Т.5. - №2. - С.163-170.
14. Боурош П.Н., Коропчану Э.Б., Симонов Ю.А., Гданец М., Болога О.А., Гэрбэлэу Н.В. // Координационная Химия. - 2002. - Т.28. - № 9. - С.689-697.
15. Малиновский С.Т., Коропчану Э.Б., Болога О.А., Рижан А.П., Гданец М. // Журнал структ. химии. - 2007. - Т.48. - №3. - С.532-538.
16. Манорик П.А. Разнолигандные био-координационные соединения металлов в химии, биологии, медицине. - Киев: Наукова думка, 1991. - 272 с.
17. Рубан Е.Л. Микробные липиды и липазы. - Москва: Наука, 1977. - 216 с.
18. Лабораторный практикум по технологии ферментных препаратов. - Москва: Легкая и пищевая промышленность, 1982, с.75-76.
19. Доспехов Б. Планирование полевого опыта и статистическая обработка данных. - Москва: Колос, 1985, с.192-196.

Prezentat la 29.01.2008