

УДК 54.057:547.583.5:661.8...9

ВИЗНАЧЕННЯ КОНСТАНТ СТІЙКОСТІ МІДНИХ КОМПЛЕКСІВ 3,5-ДИНІТРО-N-ФЕНІЛАНТРАНИЛОВИХ КИСЛОТ ТА ЇХ ЗВ'ЯЗОК З БІОЛОГІЧНОЮ ДІЄЮ

О.А.Бризицький, С.Г.Ісаєв, Т.А.Костіна

Національний фармацевтичний університет
61022, м. Харків, вул. Пушкінська, 53. E-mail: mail@ukrfa.kharkov.ua

Ключові слова: мідні комплекси; константа стійкості комплексів; заміщені 3,5-динітро-N-фенілантранілових кислот; протизапальна активність

З метою вивчення умов та хімізму взаємодії купруму(II) катіону з заміщеними 3,5-динітро-N-фенілантранілової кислоти проведено потенціометричне дослідження реакції їх комплексоутворення. Визначені константи стійкості комплексів за методом Б'єрума. Проаналізовано вплив основних властивостей вихідних кислот, природи та положення замісників у неантраніловому фрагменті молекули на значення констант стійкості.

DETERMINATION OF STABILITY CONSTANTS OF COPPER COMPLEXES OF 3,5-DINITRO-N-PHENYLANTHRANILIC ACIDS AND THEIR RELATION WITH THE BIOLOGICAL ACTION

O.A.Brizitsky, S.G.Isaev, T.A.Kostina

With the purpose of studying the conditions and chemistry of copper (II) cation interaction with substituents of 3,5-dinitro-N-phenylanthranilic acid the potentiometrical research of the reaction of their complex formation has been carried out. The stability constants of complexes by Bjorom method have been determined. The influence of the basic properties of initial acids, the nature and arrangement of the substituents in the non-anthranilic fragment of the molecule on the values of the stability constants have been analysed.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ КОНСТАНТ СТОЙКОСТИ МЕДНЫХ КОМПЛЕКСОВ 3,5-ДИНИТРО-N-ФЕНИЛАНТРАНИЛОВЫХ КИСЛОТ И ИХ СВЯЗЬ С БИОЛОГИЧЕСКИМ ДЕЙСТВИЕМ

А.А.Бризицкий, С.Г.Исаев, Т.А.Костина

С целью изучения условий и химизма взаимодействия меди (II) катиона с замещенными 3,5-динитро-N-фенілантранілової кислоти проведено потенціометричне дослідження реакції їх комплексоутворення. Определены константы стойкости комплексов по методу Бьерума. Проанализировано влияние основных свойств исходных кислот, природы и расположение заместителей в неантраніловом фрагменте молекулы на значения констант стойкости.

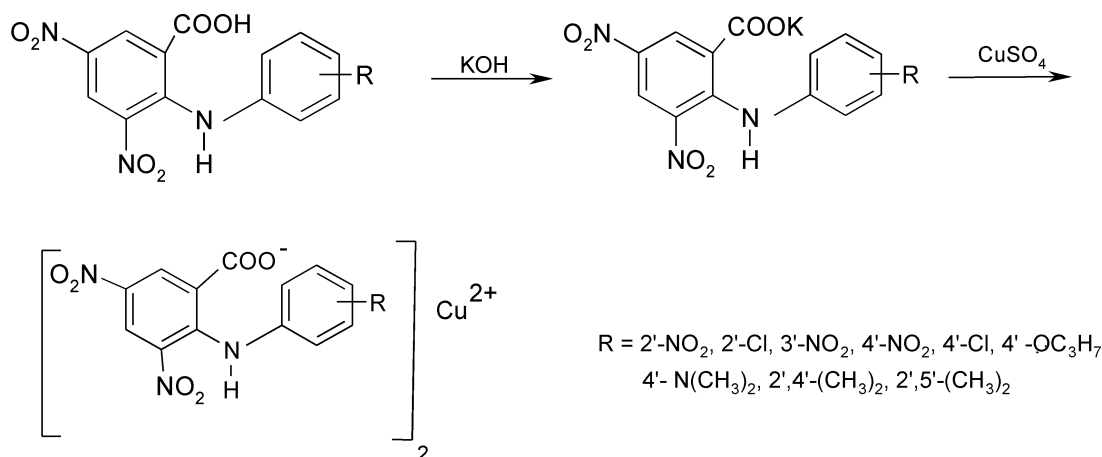
Проведені раніше дослідження [5] свідчать про різноманітну біологічну активність заміщених 3,5-динітро-N-фенілантранілових кислот. У комплексі з металами покращуються притаманні N-фенілантраніловим кислотам властивості: підвищується біологічна активність, зменшується токсичність, пролонгованим стає ефект проти набряків.

Вихідні 3,5-динітро-N-фенілантранілові кислоти синтезовано за модифікованою реакцією Ульмана, мідні комплекси отримано взаємодією калієвих солей відповідних кислот з купруму(II) сульфатом за схемою.

З літературних джерел відомо [4, 8], що запропонувати можливий механізм біологічної дії синтезованих мідних комплексів 3,5-динітро-N-фенілантранілових кислот можливо шляхом встановлення зв'язку між фармакологічними властивостями та параметрами комплексоутворення, найважливішим з яких є константа стійкості комплексу. Завдяки тому, що 3,5-динітро-N-фені-

антранілові кислоти здатні дисоціювати і цей процес характеризують значенням pK_a , константи стійкості їх мідних комплексів визначали рН-потенціометричним методом. В основу цього методу покладено розрахунок рівноважних концентрацій кислоти та її аніона в умовах конкуренції між протоном карбоксильної групи та іоном Cu^{2+} .

Методом ЕПР встановлено [2, 7], що у неводних та водно-органічних розчинах комплекси димерні та з ростом полярності органічного розчинника ступінь димеризації зменшується. У водно-органічних сумішах ступінь димеризації зменшується зі збільшенням вмісту води у суміші. При вмісті води більш ніж 15 об. % у розчині переважно знаходяться мономерні комплекси складу CuL^+ та CuL_2 , їх константи стійкості можливо визначити потенціометричним титруванням. Стійкість комплексів залежить від природи та положення замісників у неантраніловому фрагменті молекули, які змінюють електронну густину на атомі Нітро-



Схема

гену, і тим самим впливає на міцність координації Купруму з атомом Нітрогену. Для водно-органічної суміші стійкість комплексу зростає із збільшенням вмісту органічного компонента, тобто характер сольватації не змінюється з концентрацією розчинника та стійкість комплексів визначається взаємодією іону металу з аніоном ліганду [7].

Вивчення проводили шляхом взаємодії купруму(II) нітрату з заміщеними 3,5-динітро-N-фенілантранілової кислоти. Значення констант іонізації заміщених 3,5-динітро-N-фенілантранілової кислоти, необхідних для розрахунку констант стійкості відповідних мідних комплексів, визначали потенціометричним титруванням шляхом додавання 1 еквіваленту лугу до 10 еквівалентів водно-діоксанового розчину (80 об. % діоксану) ліганду та реєстрації рН після кожного додавання. Потім до нового розчину ліганду додавали розчин купруму(II) нітрату, після чого вводили 1 екв лугу до двадцяти еквівалентних порцій розчину (якого спеціально береться вдвічі більше для визначення двох констант) [1].

Як видно за вибраною методикою, ліганд титрувався двічі: спочатку за відсутності, а потім у

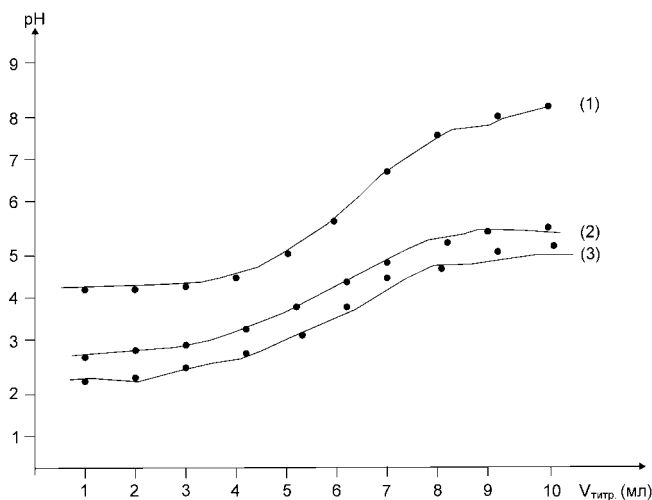


Рис. 1. Криві титрування ліганду (1), суміші кислоти з купруму(II) нітратом (2) та мідного комплексу 3,5-динітро-N-(2'-хлорфеніл)антранілової кислоти (3).

присутності іонів металу. На рис. 1 видно, що крива титрування ліганду розташована вище кривих титрування кислоти з купрум(II) нітратом та мідного комплексу, що є характерним доказом заміщення катіоном металу катіону Гідрогену внаслідок комплексоутворення.

Співпадіння кривих титрування комплексу з кривою титрування суміші відповідної кислоти з купруму(II) нітратом при співвідношенні (1:2) дозволяє зробити висновок про утворення комплексів типу MeL_2 (рис. 1).

Визначення констант стійкості досліджуваних комплексів проводили за методом Б'єрума [1] при умові повної дисоціації купруме(II) нітрату у водно-діоксановому розчині (80 об. % діоксану) з використанням балансових рівнянь для концентрації металу та ліганду. Слід зазначити, що у водно-діоксановому розчині (60 об. % діоксану) K_2 визначити не вдалося, що дозволяє зробити висновок про існування в таких розчинах тільки комплексів CuL^+ , що узгоджується з даними літератури [4].

Якщо припустити, що під час титрування комплекс складу 2:1 не утворюється до тих пір, доки повністю не відбудеться утворення 1:1 — комплексу, можна навести наступні рівняння для розрахунку констант стійкості комплексів $\text{Cu}(\text{II})$ з заміщеними 3,5-динітро-N-фенілантранілової кислоти:

$$K_1 = \frac{n}{(1-n)[L^-]}, \quad (1)$$

$$K_2 = \frac{n-1}{(2-n)[L^-]}, \quad (2)$$

де: n — середнє число молекул ліганду, зв'язаних з одним іоном металу; $[L^-]$ — концентрація вільних частинок молекул кислоти, здатних до хелатотворення.

Якщо K_1 не буде перевершувати за своїм значенням K_2 більш ніж у 270 разів, то одночасно з 1 : 1 комплексом буде утворюватися 2 : 1 комплекс, тому отримані значення констант будуть неточними. Щоб уникнути названих розбіжностей

Таблиця

Константи стійкості мідних комплексів заміщених 3,5-динітро-N-фенілантранілової кислоти

Сполука	R	lg K ₁	lg K ₂
1	2'-Cl	5,30	4,71
2	2'-NO ₂	5,15	4,55
3	4'-Cl	5,28	4,67
4	3'-NO ₂	5,17	4,53
5	4'-NO ₂	5,08	4,57
6	4'-OCH ₃ H ₇	5,44	4,85
7	4'-N(CH ₃) ₂	5,50	4,95
8	2',4'-(CH ₃) ₂	5,46	4,87
9	2',5'-(CH ₃) ₂	5,42	4,82

значення, K₁ та K₂ розраховано за рівнянням (3) методом найменших квадратів (таблиця):

$$\frac{n}{(n-1)[L^-]} = \frac{(2-n)[L^-]}{(n-1)} \beta_2 - K_1, \quad (3)$$

звідси $\lg K_2 = \lg \beta_2 - \lg K_1$.

Вивчення впливу замісників у неантранілово-му фрагменті молекули на стійкість комплексу дозволило встановити наступну залежність: електронодонорні замісники збільшують міцність комплексу на відміну від електроноакцепторних замісників, які навпаки зменшують стійкість комплексу.

Кількісну оцінку впливу замісників у неантранілово-му фрагменті молекули на стійкість комплексів проведено за рівнянням Гаммета:

для залежності $\lg K_1 - f(\sigma)$:

$$\lg K_1 = (5,37 \pm 0,04) - (0,33 \pm 0,03) \sigma \quad (4)$$

$n = 9 \quad s = 3,63 \cdot 10^{-2} \quad r = 0,974,$

для залежності $\lg K_2 - f(\sigma)$:

$$\lg K_2 = (4,78 \pm 0,05) - (0,32 \pm 0,03) \sigma \quad (5)$$

$n = 9 \quad s = 5,05 \cdot 10^{-2} \quad r = 0,952.$

Залежність констант стійкості від σ -констант Гаммета носить лінійний характер (рис. 2).

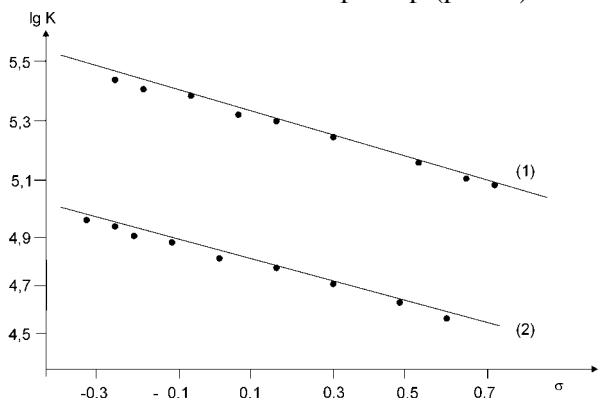


Рис. 2. Залежність $\lg K_1 - f(\sigma)$ (1) та $\lg K_2 - f(\sigma)$ (2) для мідних комплексів 3,5-динітро-N-фенілантранілових кислот.

Однак аналізуючи обидва рівняння, слід зазначити, що вони статистично невірогідні. Значення pK_1 та pK_2 для мідного комплексу 3,5-динітро-N-(4'-диметиламінофеніл) антранілової кислоти знаходяться вище розрахованих кореляційних прямих (рис. 2). Ймовірно, це пов'язано з утворенням координаційних зв'язків іону міді не тільки з NH-групою, як для інших заміщених 3,5-динітро-N-фенілантранілової кислоти, а з атомом Нітрогену третинної аміногрупи. Слід також відмітити, що відхилення від лінійної залежності для цієї сполуки спостерігається і на графіку залежності $pK_1 - f(pK_a)$ та $pK_2 - f(pK_a)$ (рис. 3).

Виключення значень K₁ та K₂ для мідного комплексу 3,5-динітро-N-(4'-диметил-амінофеніл) антранілової кислоти приводить до покращення статистичних характеристик обох кореляційних рівнянь:

для залежності $\lg K_1 - f(\sigma)$:

$$\lg K_1 = (5,36 \pm 0,02) - (0,31 \pm 0,02) \sigma \quad (6)$$

$n = 8 \quad s = 2,10 \cdot 10^{-2} \quad r = 0,991,$

для залежності $\lg K_2 - f(\sigma)$:

$$\lg K_2 = (4,76 \pm 0,02) - (0,29 \pm 0,02) \sigma \quad (7)$$

$n = 8 \quad s = 2,15 \cdot 10^{-2} \quad r = 0,991.$

Підсумовуючи проведені дослідження, слід зазначити, що головним чином на утворення комплексів купруму(II) катіонів з лігандом впливає іонна взаємодія між Оксигеном карбоксильної групи та катіоном металу. Це припущення можна зробити, враховуючи лінійну залежність констант стійкості комплексів від кислотно-основних властивостей лігандів та збільшення стійкості комплексу з ростом основних властивостей ліганду.

Встановлення кількісного зв'язку біологічної активності хімічних сполук з їх фізико-хімічними характеристиками є важливою проблемою, вирішення якої дозволяє конструювати сполуки з заданою фармакологічною активністю, оцінювати меха-

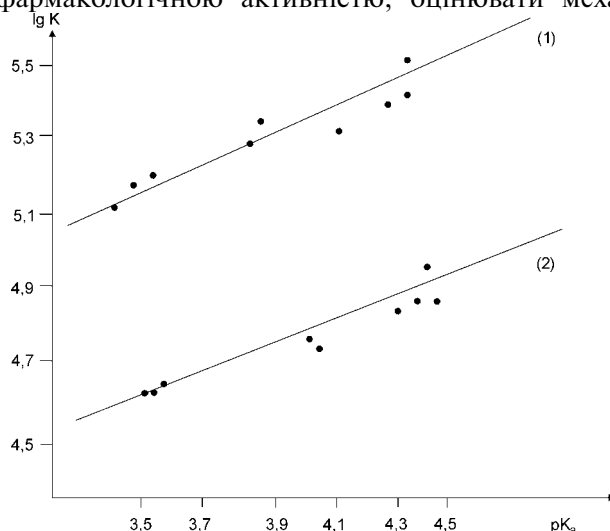


Рис. 3. Залежність $\lg K_1 - f(pK_a)$ (1) та $\lg K_2 - f(pK_a)$ (2) для мідних комплексів заміщених 3,5-динітро-N-фенілантранілової кислоти.

нізми взаємодії фармакофорів з біорецепторами. Найбільш розробленим та біофізично обґрунтованим є модельний метод Ханша [9, 10].

Розрахунок оптимальних кореляційних рівнянь, які найбільш адекватно описують зв'язок $\lg BA$ з відібраними фізико-хімічними параметрами, проводили методом багатомірного регресійного аналізу з включенням перемінних та з використанням алгоритмів [11].

При створенні математичної моделі залежності протизапальної активності мідних комплексів 3,5-динітро-*N*-фенілантранілових кислот у якості фізико-хімічних параметрів були використані логарифми констант стійкості цих комплексів ($\lg K_{ст} = \lg K_1 \cdot K_2$) та літературні значення логарифмів коефіцієнтів розподілу ($\lg P$) відповідних кислот [6]. Аналіз сукупності отриманих кореляційних рівнянь показав, що найкращі характеристики має рівняння типу:

$$\begin{aligned} \lg \Pi &= -4,34 - 0,07 \lg K_{ст} + \\ &+ 3,56 \lg P - 0,48 (\lg P)^2 \quad (8) \\ n &= 9 \quad S = 0,045 \quad R = 0,931. \end{aligned}$$

У відповідності з рівнянням (8) протизапальна активність лінійно залежить від стійкості комплексів та параболічно від $\lg P$. Негативне значення параметра $\lg K_{ст}$ означає, що збільшення стійкості комплексу зменшує його протизапальну дію. Це дає підставу для твердження, що саме ліганд зумовлює антифлогістичну дію сполуки. При цьому вклад параметрів, які залежать від транспортних властивостей сполук - $\lg P$ та $(\lg P)^2$, значно більший за вклад параметра, зв'язаного з $\lg K_{ст}$. Привертає увагу те, що оптимальне кореляційне рівняння для 3,5-динітро-*N*-фенілантранілових кислот та їх мідних комплексів має однакову функціональну залежність [6], що, ймовірно, вказує на схожий механізм їх біологічної дії.

Спроба молекулярного конструювання активних нейролептиків з використанням математичної моделі Ханша [11] для мідних комплексів 3,5-динітро-*N*-фенілантранілових кислот не увінчалася успіхом. Усі кореляційні рівняння майже не розрізняються між собою, невеликі значення коефіцієнтів множинної кореляції вказують на математичну недостовірність прогнозу. Це дає підставу передбачити більш складний механізм взаємодії синтезованих сполук з біорецепторами.

Література

1. Альберт А., Сержент Е. Константы ионизации кислот и оснований. — М.: Химия, 1964. — С. 214.
2. Крисс Е.Е., Волченкова И.Н., Григорьева А.С. и др. Координационные соединения в медицине. — К.: Наукова думка, 1986. — 216 с.
3. Львовский Е.Н. Статистические методы построения эмпирических формул. — М: Высш. шк., 1988. — С. 41-49.
4. Микитенко Е.Е. Синтез, реакционная способность и биологическая активность производных нитрогалоидбензойной и фенілантранілової кислот: Автореф. дис. ... канд. фарм. наук. — Х., 1990. — 23 с.
5. Ісаєв С.Г., Бризицький О.А., Свечнікова О.М. // Мед. хімія. — 2003. — Т. 5, №4. — С. 104-107.

Експериментальна частина

Потенціометричні вимірювання констант стійкості здійснювали на іонометрі EV-74 з застосуванням скляного (ЕСЛ-43-07) та хлорсрібного (ЕВЛ-1М3.1.) електродів при 25°C за методикою, описаною у [1]. 0,0005 М заміщеної 3,5-динітро-*N*-фенілантранілової кислоти розчиняють у 46 мл розчинника (діоксан:вода 80:20). До розчину додають 0,06280 М $Cu(NO_3)_2 \cdot 3H_2O$, після чого вводять 1 екв. 0,1 М розчину КОН у 20 еквівалентних порцій розчину. Оцінку точності одержаних результатів здійснювали методом математичної статистики (достовірна ймовірність — 0,95) [3].

Мідний комплекс 3,5-динітро-*N*-(2'-хлорфеніл)антранілової кислоти (1). До розчину 0,56 г (0,01 Моль) калію гідроксиду в 50 мл води додають 3,31 г (0,01 Моль) 3,5-динітро-*N*-(2'-хлорфеніл)антранілової кислоти та нагрівають до розчинення. Фільтрують, до фільтрату додають 1,25 г (0,005 Моль) купруму(II) сульфату в 20 мл води. Реакційну суміш витримують протягом години. Осад відфільтровують, промивають водою, сушать. Вихід — 6,33 г (89%).

Сполуки 2-9 одержані аналогічно.

Висновки

1. За методом Б'єрума досліджено процес комплексоутворення заміщених 3,5-динітро-*N*-фенілантранілових кислот.
2. Визначено їх константи стійкості у водно-діоксановому середовищі, встановлено їх підпорядкованість рівнянню Гаммета з невеликими значеннями ρ та симбатність між стійкістю комплексу і кислотно-основними властивостями ліганду.
3. Одержані рівняння використані для прогнозування комплексоутворення у цьому ізоструктурному ряду.
4. Встановлено залежність стійкості комплексів від природи замісників у неантраніловому фрагменті ліганду та основних властивостей вихідних кислот.
5. На основі визначених фізико-хімічних параметрів розраховано математичні моделі залежності протизапальної та нейролептичної активності мідних комплексів заміщених 3,5-динітро-*N*-фенілантранілової кислоти від їх структури.

6. Свечнікова О.М. Реакційна здатність, зв'язок структура-біологічна активність та використання похідних *N*-фенілантранілової кислоти та акридину: Дис. ... д-ра хім. наук. — Х., 1999. — 350 с.
7. Яцимирский К.Б., Крисс Е.Е., Гвяздовская В.Л. Константы устойчивости комплексов металлов с биолгандами. — К.: Наук. думка, 1979. — 24 с.
8. Яцимирский К.Б., Крисс Е.Е., Григорьева А.С. и др. // Хим.-фармац. журн. — 1976. — Т. 10, №1. — С. 53-57.
9. Leo A., Jow P.J., Silipo C., Hanch C. // J. Med. Chem. — 1975. — Vol. 18, №6. — P. 865-874.
10. Hanch C., Clayton J.M. // J. Pharm. Sci. — 1973. — Vol. 62, №1. — P. 1-21.
11. Hanch C., Fujita T. // J. Amer. Chem. Soc. — 1964. — Vol. 86, № 9. — P. 1616-1326.

Надійшла до редакції 30.08.2010 р.