

На правах рукописи

Щелочков Алексей Георгиевич

**ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ПРОЦЕССОВ
КОМПЛЕКСООБРАЗОВАНИЯ И ОКИСЛИТЕЛЬНОЙ ДЕСТРУКЦИИ
ИНДОЛИЛ-3-УКСУСНОЙ КИСЛОТЫ**

02.00.04 - физическая химия

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата химических наук

Саратов - 2004

Работа выполнена в Институте биохимии и физиологии растений и микроорганизмов Российской академии наук (ИБФРМ РАН).

- Научный руководитель:** доктор химических наук,
старший научный сотрудник
Камнев Александр Анатольевич
- Научный консультант:** доктор химических наук, профессор
Кривенько Аделя Павловна
- Официальные оппоненты:** доктор химических наук, профессор
Панкратов Алексей Николаевич
кандидат химических наук
Панина Юлия Владимировна
- Ведущая организация:** Московский государственный
университет им. М.В. Ломоносова

Защита состоится «___» _____ 2004 г. в ___ часов на заседании диссертационного совета Д 212.243.07 при Саратовском государственном университете имени Н.Г. Чернышевского по адресу: 410012, г. Саратов, ул. Астраханская, 83, химический факультет (корпус 1).

С диссертацией можно ознакомиться в Научной библиотеке Саратовского государственного университета им. Н.Г. Чернышевского.

Автореферат разослан октября 2004 г.

Ученый секретарь диссертационного совета
доктор химических наук, профессор



Федотова О.В.

2005-4
18989

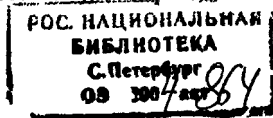
3 907098

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность **темы**. В связи с широкой распространенностью индолил-3-уксусной кислоты (**ИУК**) и других ауксинов индольной природы в растениях (Cooke *et al*, 2002), удивительно многообразной физиологической активностью ауксинов (Leyser, 2001; Becker & Hedrich, 2002; Vogler & Kuhlemeier, 2003), а также их биосинтезом многими почвенными микроорганизмами с выделением в окружающую среду (Frankenberger & Arshad, 1995; Costacurta & Vanderheyden, 1995; Patten & Glick, 1996) их значение в природе трудно переоценить. В частности, для ассоциированных с растениями почвенных бактерий, которые могут оказывать существенное стимулирующее влияние на рост и развитие растения-хозяина, способность продуцировать и выделять ИУК во внешнюю среду считается одним из важнейших составляющих эффективного растительно-бактериального симбиоза, в котором молекулам ИУК, помимо фиторегулирующего действия, отводится роль "взаимно сигнальной молекулы" ("reciprocal signalling molecule"; Lambrecht *et al.*, 2000). Очевидно, что химические процессы с участием данной "сигнальной молекулы", например, в ризосфере почв, могут косвенно оказывать влияние и на ассоциативные взаимодействия в системе растение — микроорганизмы, а также, непосредственно влияя на внеклеточный фитогормональный пул, — сказываться на интенсивности роста и развития растений.

Актуальность исследования процессов взаимодействия ИУК с ионами металлов и, в частности, железа, являющегося одним из наиболее распространенных и биологически важных микроэлементов, определяется как химическими особенностями данных процессов, так и исключительно важной ролью, которую они играют в разнообразных биологических системах. Так, химическое взаимодействие ИУК (наряду с некоторыми другими структурно родственными соединениями) в слабокислых водных средах с железом(III) может приводить к его восстановлению до более биологически доступного железа(II), что имеет определенное экологическое значение для кислых почв (Камнев, 1998; Kamnev *et al*, 1999), занимающих, как известно, до трети всех возделываемых территорий (Von Uexkull & Mutert, 1995). С другой стороны, в аэробных условиях в присутствии Fe^{III} была обнаружена возможность протекания процессов, способствующих химической окислительной деградации ауксина (Kamnev & Kuzmann, 1997) - в отличие от его ферментативной окислительной деструкции (Gazaryanef *al.*, 1996,1999; Savitsky *et al.*, 1999).

Для биологических систем следует, во-первых, отметить способность ИУК существенно увеличивать скорость переноса катионов металлов через модельные фосфолипидные мембраны (Jones *et al*, 1992) и модулировать ионный транспорт в растительных клетках (Becker & Hedrich, 2002). Во-вторых, комплексы ряда лантаноидов (Ln^{3+}) с ИУК состава $LnL_3 \cdot 3H_2O$ (где L - индолил-3-ацетат) в концентрациях порядка 10^{-5} М и ниже, по данным Wenmian *et al.* (1998), показывали значительно более высокую ауксиновую активность, чем свободная ИУК или хлориды Ln^{3+} , что указывает на синергизм их действия в комплексах. В-третьих, взаимодействие ауксина с ионом металла в ауксинсвязывающем центре белка ABP1 (auxin-binding protein 1), который, до современ-



ным представлениям, является одним из наиболее вероятных рецепторов ауксина в растениях (Timppe, 2001; Woo *et al*, 2002), представляет собой один из основных этапов в процессах молекулярного распознавания, рецепции ауксина и, возможно, передачи сигнала, механизмы которых во многом не ясны до сих пор (Scherer, 2002; Vogler & Kuhlemeier, 2003). Наконец, при ферментативной окислительной деструкции ИУК в качестве начальной стадии показано образование тройного комплекса пероксидаза-ИУК-кислород с последующим переходом $\{\text{Fe}^{3+}\}$ -формы фермента в $\{\text{Fe}^{2+}\}$ -форму (Gazaryan *et al*, 1996). Интересно, что у растительных пероксидаз имеются непосредственно прилегающие к гемовому комплексу определенные области аминокислотных последовательностей, структурно аналогичные соответствующим областям, имеющимся во всех известных ауксинсвязывающих белках (ABPs; см. выше), которые отсутствуют в пероксидазах нерастительного происхождения (Savitsky *et al*, 1999). Данные области как в случае ABPs, так и в случае растительных пероксидаз, очевидно, отвечают за структурно специфичное связывание ИУК.

Что касается окислительно-восстановительных процессов с участием ауксина, в первую очередь следует отметить их определяющую роль в регулировании концентрации этого фитогормона в растениях, осуществляемую с помощью ферментов - растительных пероксидаз (помимо чисто химических превращений, которые могут играть определенную роль в почве). Кроме этого, в последние годы активно исследуются анти- и прооксидантные свойства производных индола, включая ИУК (Chyan *et al*, 1999; Karbownik *et al.*, 2001), и возможность образования цитотоксичных продуктов при их ферментативном окислении (Folkes *et al.*, 1999, 2001, 2002) как новые направления, перспективные для противоопухолевой терапии и других областей медицины.

В связи с этим важность выяснения химизма комплексообразования ИУК и родственных соединений и их химического окисления в водных средах, а также недостаток литературных данных в этой области обусловили выбор целей и задач данного исследования.

Цели и задачи исследования

Основные цели данной работы:

- идентификация и определение структурных особенностей продуктов взаимодействия ИУК и ряда ее структурных аналогов и метаболически родственных соединений с ионами железа(III), включая комплексообразование;
- выделение и идентификация продуктов неферментативной (химической) окислительной деструкции ИУК в присутствии железа(III) с помощью ряда современных инструментальных физико-химических методов.

В связи с этим были поставлены следующие задачи:

1. Сравнительное исследование окислительно-восстановительных процессов, протекающих в водных растворах ИУК и ряда ее структурных аналогов (индол-3-алкановые кислоты) в аэробных условиях в присутствии железа(III), методом спектроскопии ЯГР.

2. Исследование комплексных соединений, образующихся в железо(Ш)-содержащих водных растворах ИУК и ее структурных аналогов; выделение и идентификация комплексов.
3. Исследование структуры и некоторых физико-химических свойств выделенных комплексов в твердом виде и в неводных растворах методами электронной (UV-Vis), колебательной (ИК, КР) и ядерно-резонансной спектроскопии (ЯГР, ЯМР'Н).
4. Выделение и идентификация продуктов окисления ИУК, образующихся в водных средах в присутствии железа(Ш), с помощью методов препаративной колоночной хроматографии и хромато-масс-спектрометрии, ИК и Н ЯМР-спектроскопии.

Научная новизна. Впервые проведено сравнительное исследование редокс-превращений в водных средах с участием ряда индолил-3-алкановых кислот - индолил-3-уксусной (ИУК), индолил-3-пропионовой (ИПК) и индолил-3-масляной (ИМК) — в присутствии железа(Ш). Методом мессбауэровской (ЯГР) спектроскопии показано, что указанные индольные производные в аэробных условиях постепенно восстанавливают железо(Ш), при этом железо(II) накапливается в растворе в форме аквакомплексов.

Выделены новые соединения - комплексы железа(Ш) с ИУК и ИМК; охарактеризован их состав и структура. Впервые на основании совокупности данных независимых методов показано, что в координации атома железа в случае ИУК участвует, помимо монодентатно связанных депротонированных карбоксильных групп, также ароматическая система лигандов. В комплексе с ИМК, представляющем собой димер, напротив, карбоксильные группы координированы бидентатно, а атомы железа соединены мостиковыми связями посредством дополнительно координированных гидроксо-групп.

Впервые показано, что выделенные и охарактеризованные продукты химического окисления и окислительного декарбоксилирования ИУК в водном слабокислом растворе в аэробных условиях в присутствии железа(Ш) - 2-оксиндл-3-уксусная кислота и 3-метил-2-оксиндол — соответствуют описанным в литературе продуктам как ферментативного, так и электрохимического окисления ИУК в нейтральных средах. Выделено новое соединение - комплекс железа(Ш) с 2-оксиндол-3-уксусной кислотой; охарактеризован его состав и координационная структура, аналогичная таковой в комплексе с ИУК. Показано, что дальнейшее окисление в данных условиях протекает с раскрытием пирролин-2-онового фрагмента и приводит к образованию о-нитробензойной кислоты, идентифицированной после экстракции из реакционной смеси методом хромато-масс-спектрометрии.

Практическая значимость работы. Полученные данные о процессах, протекающих с участием индольных производных в водных средах в условиях, соответствующих физиологическим, расширяют существующие представления о возможных химических превращениях фитогормонов ряда ауксинов, выделяемых многими почвенными микроорганизмами и играющих существенную роль в их ассоциативных взаимодействиях с растениями, важных в практиче-

ском отношении. В частности, новые сведения о редокс-процессах, протекающих в водных средах с участием ауксинов индольного ряда в присутствии ионов железа(III), могут быть использованы для прогнозирования соответствующих превращений в достаточно распространенных слабокислых и кислых почвах, что представляет определенную экологическую важность.

Полученные сведения об особенностях поведения ИУК в ряду ее структурных аналогов и влиянии катиона металла на электронную структуру π -электронной системы ароматического фрагмента молекулы ИУК при координации представляют интерес для объяснения ее уникального физиологического поведения и химических свойств (реакционной способности), что может быть использовано для направленного регулирования процессов с участием ИУК (оптимизация условий функционирования растительно-микробных симбиозов; активизация процессов в корневой системе растений; фиторемедиация и др.).

Положения и результаты, выносимые на защиту

1. Результаты исследования окислительно-восстановительных процессов, протекающих в водных растворах ИУК и ряда ее структурных аналогов (индолил-3-алкановых кислот) в аэробных условиях методом спектроскопии ЯГР; расчетные параметры спектров и сравнительный анализ данных.
2. Результаты сравнительного исследования состава и структуры комплексов индолил-3-уксусной и индолил-3-масляной кислоты с железом(III) в твердой фазе и в растворах с привлечением ряда современных инструментальных методов.
3. Состав продуктов, образующихся в процессе химической (неферментативной) окислительной деструкции индолил-3-уксусной кислоты в водных растворах в аэробных условиях в присутствии ионов железа(III). Результаты исследования состава и структуры комплекса железа(III) с продуктом окисления ИУК.

Работа выполнена в Институте биохимии и физиологии растений и микроорганизмов РАН (г. Саратов) в лаборатории биохимии в рамках темы «Изучение молекулярно-генетических механизмов узнавания, контакта и обмена метаболитами азоспирилл и культурных злаков» (научный руководитель доктор биологических наук, Заслуженный деятель науки РФ, профессор Игнатов В.В., № гос. регистрации 01860024516) и в лаборатории биохимии растительно-бактериальных симбиозов в рамках темы «Особенности биохимии эндофитных и ассоциативных симбионтов рода *Azospirillum*» (научный руководитель доктор биологических наук Антонюк Л.П., № гос. регистрации 01200012855).

Конкурсная поддержка работы. Описанные в данной работе исследования составляли часть совместных международных проектов, поддержанных грантами в рамках научных программ INTAS (проект 96-1015; в части работы, выполнявшейся в 2000 г.) и NATO (проект LST.CLG.977664, 2001-2003 гг.); поддержаны краткосрочной стипендией ЮНЕСКО (UNESCO-ROSTE 875.677.2, Ref. No. 33; 2002 г.) в области биотехнологии, а также грантом № 205 Комиссии РАН по работе с молодежью (6-й Конкурс-экспертиза проектов, 2000-2003 гг.).

Апробация работы. Материалы исследований, изложенных в диссертации, были представлены и обсуждались на следующих научных совещаниях и съездах: XXV European Congress on Molecular Spectroscopy (Coimbra, Portugal, August 27 - September 1, 2000); IX Всероссийская научная конференция "Карбонильные соединения в синтезе гетероциклов" (Саратов, 26-29 сентября 2000 г.); III Всероссийская конференция молодых ученых "Современные проблемы теоретической и экспериментальной химии" (Саратов, 3-5 сентября 2001 г.); Юбилейная научная конференция молодых ученых "Молодые ученые Волго-Уральского региона на рубеже веков" (Уфа, 24-26 октября 2001 г.); Первая региональная конференция молодых ученых "Стратегия взаимодействия микроорганизмов с окружающей средой" (Саратов, 26-27 марта 2002 г.); 7th International Symposium on Metal Ions in Biology and Medicine (St.-Petersburg, Russia, 5-9 May 2002); XVIII International Conference on Raman Spectroscopy (Budapest, Hungary, 25-30 August 2002); 8th International Symposium on Metal Ions in Biology and Medicine (Budapest, Hungary, 18-23 May 2004), а также на отчетной научной конференции ИБФРМ РАН (22 апреля 2004 г.).

Публикации. По теме диссертации опубликовано 13 работ в международных и российских научных изданиях, включая 8 статей, из которых 3 - в международных рецензируемых журналах и 5 - в отечественных и международных сборниках научных трудов, а также 5 тезисов докладов в сборниках работ международных и российских научных конференций.

Структура и объем диссертации. Диссертация изложена на 151 странице и состоит из введения, литературного обзора (глава 1), описания материалов и методов исследования (глава 2), результатов исследований и их обсуждения (глава 3), заключения, выводов, списка публикаций автора по теме диссертации, благодарностей, списка цитированной литературы из 200 источников (в том числе 162 - в зарубежных изданиях) и приложения, содержащего 5 схем, относящихся к литературному обзору, а также 22 рисунка и 6 таблиц, иллюстрирующих полученные результаты.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Во введении приведены краткие исторические сведения об ауксинах, их распространенности в природе, роли ионов металлов в процессах с участием ИУК и родственных соединений, а также обоснована актуальность темы, сформулированы цель и задачи исследования, научная новизна и практическая значимость выполненной работы, положения и результаты, выносимые на защиту.

В главе 1 (литературный обзор) приведены литературные сведения по биосинтезу ИУК с описанием общих характеристик путей ее биосинтеза в целом и, в частности, роли и особенностей биосинтеза ИУК микроорганизмами. Дан анализ литературы, касающейся молекулярного распознавания и рецепции ауксинов в растительной клетке, непосредственному физиологическому действию ауксинов, механизм инактивации ИУК. Отдельный подраздел в литературном обзоре посвящен обсуждению имеющихся данных об окислительном распаде ИУК и родственных соединений в результате ферментативного окисления; проанализированы также ограниченные сведения о химическом и фото-

химическом окислении ИУК и родственных соединений. Обсуждены литературные данные, касающиеся различных аспектов взаимодействия ионов металлов с ауксинами в химических и биологических системах.

В главе 2 (экспериментальная часть) дан список использованных реактивов, описана подготовка образцов и методические подробности синтеза соединений. В отдельном подразделе приведена методика эксперимента по окислению ИУК в присутствии железа(III) и выделению продуктов окисления. Охарактеризованы использованные методы исследования (элементный, термогравиметрический и рентгенофазовый анализ, электронная и колебательная спектроскопия, ^1H -ЯМР, ЯГР, хромато-масс-спектрометрия).

В главе 3 (результаты и их обсуждение) описаны результаты изучения редокс-превращений, протекающих в водных растворах ИУК и ее производных в присутствии железа(III), с помощью спектроскопии ЯГР; обсуждается строение, состав и свойства продуктов взаимодействия ИУК, а также структурно родственных соединений (ИМК, ИПК) с Fe^{III} . Детально изучены состав и структура продуктов окисления ИУК в водных растворах в присутствии Fe^{III} .

Взаимодействие железа(III) с ИУК в водных растворах

Предварительными экспериментами методом спектроскопии ЯГР было подтверждено, что в водных растворах при значениях pH смеси ~ 5 и ниже на воздухе в нитратсодержащих растворах железа(III) постепенно восстанавливается при взаимодействии с ИУК, при этом количество железа(II) накапливается со временем, что соответствует выводам предшествующих работ (Камнев и Перфильев, 2000; Kamnev & Kuzmann, 1997).

На рис. 1а приведен спектр ЯГР водного раствора, полученного смешиванием нитрата [^{57}Fe]-железа(III) с частично нейтрализованной ИУК (0,01 М и 0,03 М соответственно; pH смеси $\sim 4,5$), который был подвергнут быстрому замораживанию в жидком азоте спустя 25 мин после смешивания реагентов.

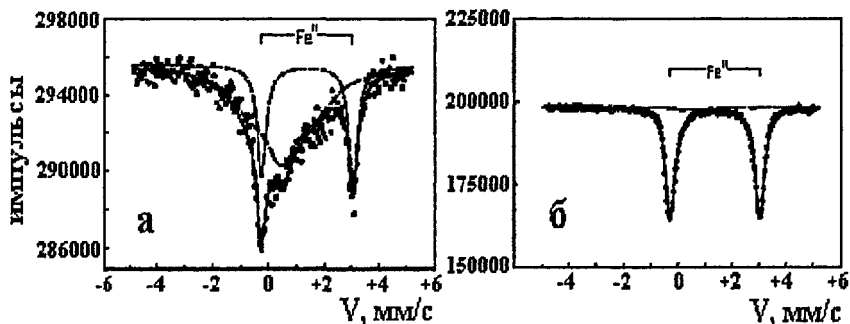
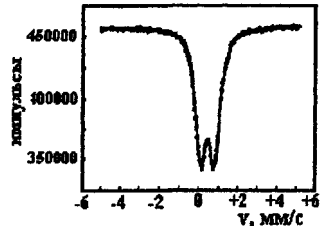


Рис. 1. Спектры ЯГР водных растворов, содержащих 0,01 М нитрата [^{57}Fe]-железа(III) и 0,03 М индолил-3-уксусной кислоты (ИУК), замороженных (а) через 25 мин и (б) через 2 сут после смешивания реагентов; $T = 80 \text{ K}$.

На спектре (см. рис. 1,а) виден дублет с параметрами (изомерный сдвиг $\delta = 1,39$ мм/с (отн. α -Fe), квадрупольное расщепление $\Delta = 3,30$ мм/с), характерными для Fe^{II} , накапливающегося в виде гексааквокомплекса. Накопление Fe^{II} со временем при комнатной температуре на воздухе приводит к тому, что через 2 сут после смешивания реагентов в спектре ЯГР замороженного раствора обнаруживается практически только дублет Fe^{II} (рис. 1,б) с аналогичными параметрами, доля которого в общей площади спектра составляет более 97%.

Интересно, что высушивание на воздухе раствора, хранившегося в течение 2 сут, в котором, по данным ЯГР (см. рис. 1,б), присутствует практически только железо(II), приводит к образованию продукта, в котором регистрируется один симметричный интенсивный дублет (рис. 2) с параметрами, типичными для высокоспинового Fe^{III} с искаженной октаэдрической координацией ($\delta = 0,48$ мм/с; $\Delta = 0,70$ мм/с).

Рис. 2. Спектр ЯГР твердого остатка, полученного высушиванием на воздухе раствора 0,01 М Fe^{3+} + 0,03 М индолил-3-уксусной кислоты (ИУК), выдержанного 2 сут (см. рис. 1,б); измерен при $T = 80$ К.



Таким образом, при высушивании в данных условиях на воздухе образовавшееся в процессе восстановления в растворе ИУК железо(II) претерпевает повторное полное окисление до железа(III).

Взаимодействие железа(III) с индолил-3-алкановыми кислотами в водных растворах

Для сравнения поведения железа(III) в водных растворах в присутствии структурных аналогов ИУК были проведены аналогичные исследования методом спектроскопии ЯГР в замороженных растворах, содержащих 0,01 М $^{57}\text{Fe}^{3+}$ и 0,03 М индолил-3-масляной (ИМК), а также индолил-3-пропионовой (ИПК) кислот. Было обнаружено, что в водных растворах вышеуказанных индолил-3-алкановых кислот в присутствии железа(III), аналогично водным растворам ИУК, происходит постепенное накопление железа(II) со временем. Однако, по данным спектроскопии ЯГР, комплексы железа(III) с ИМК и ИПК в растворе существуют в виде димеров (разрешенные дублеты), в отличие от комплекса Fe^{III} -ИУК в водном растворе (уширенная релаксационная полоса в центре спектра на рис. 1,а). Последнее может быть связано с различиями в структуре комплексов Fe^{III} с ИУК и с ее 3-замещенными структурными аналогами (ИПК, ИМК) с большей длиной боковой цепи. Ниже обсуждаются данные о составе и строении соответствующих комплексов, выделенных в твердом виде.

Идентификация состава твердых фаз комплексов железа(III)

Состав комплекса ИУК с железом(III)

Элементный микроанализ полученного комплекса железа(III)-ИУК показал следующие результаты.

Найдено, мас.%. С 62,71; Н 4,82; N 7,63; Fe 9,79. Вычислено для брутто-формулы $\text{C}_{30}\text{H}_{24}\text{N}_3\text{O}_6\text{Fe}$, мас.%. С 62,30; Н 4,18; N 7,27; Fe 9,66.

Данная брутто-формула, наиболее близко соответствующая найденному составу, отвечает формуле комплекса FeL_3 (где L - депротонированный индолил-3-ацетат). На основании данных, полученных с помощью элементного микроанализа, следует полагать, что полученное комплексное соединение ИУК с Fe^{III} содержит три индолил-3-ацетатные группы на один атом Fe , что соответствует молекулярной формуле $\text{Fe}[(\text{C}_8\text{H}_6\text{N})\text{CH}_2\text{COO}]_3$ с относительной молекулярной массой $M_r = 578,386$.

Состав комплекса ИМК с железом (III)

Элементный микроанализ полученного вещества показал нижеследующие результаты, которые наиболее близки к расчетным данным для μ -дигидроксомостикового димера, содержащего две координированные ОН-группы и два депротонированных остатка ИМК на каждый атом железа (для сравнения приведен также расчетный состав для наиболее близкого по брутто-составу мономерного аквогидроксокомплекса железа(III) и ИМК).

Формула ^(а)	С	Н	Н	Fe
(Найдено)	59.87	5.17	5.66	11.21
Вычислено для димера $[\text{L}_2\text{Fe}(\text{OH})_2]_2\text{FeL}_2$	60.38	5.29	5.87	11.70
Вычислено для мономера $[\text{FeL}_2(\text{H}_2\text{O})(\text{OH})]$	58.20	5.49	5.66	11.27

^(а) L - депротонированный остаток ИМК (индолил-3-бутират, $\text{C}_{12}\text{H}_{12}\text{NO}_2$).

Из приведенных данных следует, что комплекс железа(III) с ИМК существенно отличается по составу от комплекса с ИУК (в частности, содержит две координированные ОН-группы). Кроме того, на основании данных элементного микроанализа можно полагать, что он представляет собой димер состава $[\text{L}_2\text{Fe}(\text{OH})_2]_2\text{FeL}_2$, в котором атомы Fe соединены μ -дигидроксомостиковыми связями, что хорошо соответствует данным о составе комплекса в водном растворе, полученным с помощью спектроскопии ЯГР, а также данным ИК-спектроскопии (см. ниже). Таким образом, молекулярный состав комплекса Fe^{III} с ИМК соответствует брутто-формуле $\text{C}_{48}\text{H}_{50}\text{N}_4\text{O}_{10}\text{Fe}_2$ (димер) с относительной молекулярной массой $M_r = 954,644$.

Обсуждение данных инструментальных методов

Для получения физико-химических характеристик и изучения структуры полученного комплекса железа(III) с ИУК, а также с ИМК (для сравнительного анализа различий их свойств, выявленных методом спектроскопии ЯГР в водных растворах, и состава по данным элементного микроанализа) было проведено их исследование с помощью ряда независимых инструментальных методов.

Спектроскопия ЯГР комплексов железа (III)

Комплекс железа(III) с ИУК

На рис. 3 приведены спектры ЯГР, полученные при $T = 80$ К, для комплекса Fe^{III} с индолил-3-уксусной кислотой (ИУК) в твердом виде (рис. 3,а), в растворе безводного ацетона (рис. 3,б), а также в том же ацетоновом растворе после добавления воды при мольном соотношении $\text{Fe} : \text{H}_2\text{O} = 1 : 6$ (рис. 3,в).

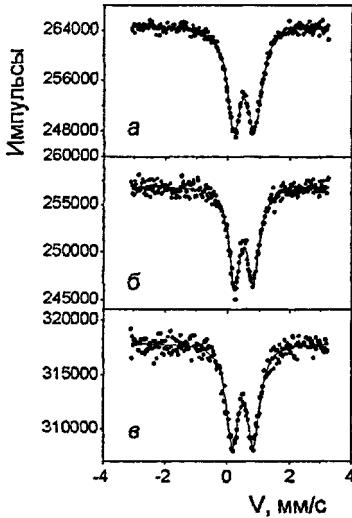


Рис. 3. Спектры ЯГР комплекса Fe^{3+} с индоллил-3-уксусной кислотой (ИУК): (а) в твердом виде; (б) в ацетоновом растворе (39 мас. %), замороженном в жидком азоте; (в) в том же ацетоновом растворе после добавления воды (при мольном соотношении $\text{Fe} : \text{H}_2\text{O} = 1 : 6$), замороженном в жидком азоте. Все спектры измерены при $T=80\text{K}$.

Данные измерения проведены с целью сравнения параметров спектров ЯГР твердого комплекса, его раствора в безводном ацетоне, а также влияние малой добавки H_2O на координацию Fe^{III} в комплексе в неводном растворе.

Спектры ЯГР полученного в твердом виде комплекса Fe^{III} с ИУК, измеренные как при комнатной температуре, так и при температуре жидкого азота ($T = 80 \text{ K}$), а также его ацетоновых растворов (см. рис. 3,а-в) содержали во всех случаях один симметричный квадрупольный дублет с параметрами, типичными для высокоспинового Fe^{III} в искаженной октаэдрической координации. Для твердого комплекса при переходе от $T = 298 \text{ K}$ к 80 K наблюдалось закономерное увеличение изомерного сдвига (от $\delta = 0,40 \text{ мм/с}$ до $\delta = 0,52 \text{ мм/с}$). Примечательно, однако, что при этом величина квадрупольного расщепления ($\Delta = 0,64 \text{ мм/с}$) не изменилась. В замороженном безводном ацетоновом растворе изомерный сдвиг для комплекса Fe^{III} с ИУК (рис. 3,б) совпадает со значением $\delta = 0,52 \text{ мм/с}$ для твердого комплекса (при $T = 80 \text{ K}$; рис. 3,а); значение Δ при переходе от твердой фазы к ацетоновому раствору несколько снижается (от $\Delta = 0,64 \text{ мм/с}$ до $\Delta = 0,59 \text{ мм/с}$). Таким образом, данные ЯГР твердого комплекса и его раствора в безводном ацетоне с наибольшей вероятностью соответствуют молекулярному растворению с сохранением координации (при минимальном изменении лишь ее симметрии).

Добавление воды в ацетоновый раствор в мольном соотношении $\text{Fe} : \text{H}_2\text{O} = 1 : 6$ (рис. 3,в) приводит к незначительному снижению δ (до $0,50 \text{ мм/с}$) и заметному увеличению Δ (до $0,67 \text{ мм/с}$). Этот эффект указывает на влияние воды на микроокружение атома Fe комплекса и его симметрию; в частности, на возможное частичное вхождение H_2O в первую координационную сферу.

Комплекс железа(III) с ИМК

Спектр ЯГР полученного в твердом виде комплекса Fe^{III} с ИМК, измеренный при $T = 80 \text{ K}$, а также спектры его ацетоновых растворов состояли из одного симметричного квадрупольного дублета, и были аналогичны вышеописанному для комплекса Fe^{III} с ИУК с параметрами, типичными для высокоспинового железа(III) в искаженной октаэдрической координации. В замороженном

безводном ацетоновом растворе изомерный сдвиг для комплекса Fe^{III} с ИМК также совпадает со значением ($\delta = 0,52$ мм/с) для твердого комплекса; значение Δ при переходе от твердой фазы к ацетоновому раствору снижается незначительно (от $\Delta = 0,63$ мм/с до $\Delta = 0,61$ мм/с). Исходя из вышесказанного, можно предположить, что при растворении в ацетоне состав комплекса (димер) сохраняется. Добавление воды в 1%-ный раствор комплекса Fe^{III} с ИМК в ацетоне при мольном соотношении $\text{Fe} : \text{H}_2\text{O} = 1 : 5$ также приводит к незначительному снижению δ (до $0,50$ мм/с), но заметному увеличению Δ (до $0,73$ мм/с). Это указывает на существенное влияние добавки воды на симметрию микроокружения атома Fe комплекса в растворе, чего можно было ожидать с учетом состава комплекса (наличие координированных OH-групп и кислородных лигандов, способствующих образованию H-связей с молекулами H_2O).

Колебательная спектроскопия

Колебательные спектры ИУК и ее комплекса с железом(III)

Полученный комплекс ИУК с Fe^{III} после высушивания в вакууме был исследован с помощью метода ИК фурье-спектроскопии, а также спектроскопии КР в сравнении с ИУК (в ацетоновых растворах (для ИУК и комплекса ИУК- Fe^{III}) и для твердой ИУК). В табл. 1 представлены основные полосы поглощения, наличие или отсутствие которых, а также перераспределение относительных интенсивностей использовано для интерпретации полученных спектров. Анализ полученной совокупности колебательных (ИК- и КР-) спектров ИУК и ее комплекса с железом(III) приводит к следующим выводам.

На очевидное непосредственное участие депротонированной карбоксильной группы ИУК в координации с Fe^{III} указывает ряд характерных изменений в ИК-спектре ИУК при переходе к комплексу, а именно: сглаживание широкой области валентных колебаний $\nu(\text{OH})$ карбоксильной группы ИУК ($2800\text{--}2500$ см^{-1}), а также небольшое снижение интенсивности и сдвиг карбоксильной полосы $\nu(\text{C}=\text{O})$ при 1703 см^{-1} (до 1710 см^{-1} в комплексе) и исчезновение интенсивной уширенной полосы $\gamma(\text{OH})$ около 905 см^{-1} (см. табл. 1; соответствующие полосы в спектрах КР проявляются значительно слабее).

Примечательно наличие в комплексе характерной достаточно интенсивной карбоксильной полосы $\nu(\text{C}=\text{O})$ с максимумом при 1710 см^{-1} . Данный факт доказывает, что в комплексе Fe^{III} -ИУК группа $\text{C}=\text{O}$ боковой цепи лигандов не координирована с Fe^{3+} (в противном случае ее частота была бы не выше 1650 см^{-1}). Это указывает также на значительную долю ковалентности связи $\text{Fe}-\text{O}$ в комплексе (при участии лишь одного донорного атома кислорода карбоксила боковой цепи ИУК).

Частота колебаний $\nu(\text{C}=\text{O})$ в комплексе Fe^{III} -ИУК (с максимумом 1710 см^{-1}) выше, чем в свободной кислоте (1703 см^{-1}), в связи с тем, что в комплексе отсутствует водородная связь группы $\text{C}=\text{O}$, понижающая ее частоту, тогда как в кристаллической ИУК она имеется (как в любых карбоновых кислотах, димеризованных в конденсированном состоянии). Таким образом, железо(III) связано с депротонированной карбоксильной группой в ИУК через один атом кисло-

рода (монодентатная координация): $R-CH_2-(C=O)-O-Fe^{III}$, где R – индольный фрагмент.

Таблица 1. Максимумы основных полос (cm^{-1}) в колебательных спектрах ИУК и ее комплекса с железом(III)¹

ИУК			Комплекс Fe ^{III} -ИУК		Отнесение колебаний
ИК (тв.)	КР (тв.)	КР (р-р)	ИК (тв.)	КР (р-р)	
3390 о.с.	3390 ср.	–	3403 о.с., уш.	–	$\nu(NH)$, П
3126 сл.	3128 сл.	3121 о.сл.	~3125 (о.сл.)	–	$\nu(C2-H)$, П
3092, 3045 сл.	3061 с.	3063 с.	3056 сл.	3061 с.	$\nu(CH)$, Б
2943 сл.	2938 сл.	А	2925 ср.	А	$\nu_{as}(CH_2)$, Ц
2912 о.сл.	2914 ср.	А	–	А	$2\delta(CC)$, Б (обертон)
2848 сл.	–	–	2856 сл.	–	$\nu_s(CH_2)$, Ц
1703 о.с.	(о.сл.)	(о.сл., пл., А)	1710 с.	А	$\nu(C=O)$, Ц (карбонил)
1622 о.сл.	1619 ср.	1621 сл.	1619 ср.	~1620 сл.	$\nu(CC)$, Б (ароматическое ядро)
1591 о.сл.	~1580 сл.	1531 сл.	~1580 пл.	(о.сл.)	$\nu(CC)$, Б (ароматическое ядро)
1558 сл.	1559 с.	1555 с.	~1560 пл.	1551 с.	$\nu(C2C3)$, П
1457 с.	1458 ср.	1459 сл.	1460 с.	~1458 пл. (А)	$\delta(CC)$, Б
1409 с., 1424 с.	1428 с.	А	1426 ср.	А	$\delta(CH_2)$, Ц
1361 ср.	1363 с.	1357 с.	1385 ср.	1355 с.	Индольная плоскостная мода
1340 ср.	1337 ср.	–	1335 с.	–	Индольная плоскостная мода
1008 ср.	1010 с.	1011 с.	1014 ср.	1011 с.	Индольная плоскостная мода
905 с., уш.	906 сл.	–	–	–	$\gamma(OH)$ (карбоксил ИУК)
875 о.сл.	878 ср.	879 сл.	–	879 сл.	Индольная плоскостная мода
740 о.с.	761 о.с.	759 с.	746 о.с.	760 ср.	$\gamma(CH)$, Б

¹ Спектры измерены в твердом виде (ИК – в КВг, КР – чистое вещество) и в растворах безводного ацетона (29 мас.% ИУК; 39 мас.% комплекса). Прочерк означает отсутствие полосы или невозможность ее детектирования на уровне фона. Сокращения: А – перекрывается полосами ацетона (2923 о.с.; 1710 ср.уш.; 1428 ср.уш.; 1220 сл.; 1067 сл.; 787 с.; 530 сл.); Б – бензольное кольцо; П – пиррольное кольцо; Ц – боковая цепь (в положении 3 индольного ядра); о.с. – очень сильная; с. – сильная; ср. – средней силы; сл. – слабая; о.сл. – очень слабая; пл. – плечо; уш. – уширена. Виды колебаний: ν – валентные; ν_{as} – валентные антисимметричные; ν_s – валентные симметричные; δ – плоскостные деформационные; γ – внеплоскостные деформационные.

Исходя из состава комплекса (FeL₃; см. выше) и мессбауэровских параметров спектров ЯГР (см. рис. 3), которые для данного комплекса соответствуют

высокоспиновому железу(III) с искаженной октаэдрической координацией (с координационным числом 6, типичным для Fe^{3+}), следует предполагать наличие у центрального атома Fe дополнительных лигандов, помимо трех донорных атомов кислорода. Наблюдаемый сдвиг (хотя и незначительный) полосы $\nu(\text{N-H})$ при координации ИУК с железом(III), а также данные электронной (UV-Vis) спектроскопии этанольных растворов ИУК и комплекса (также полученные в данной работе) указывают на непосредственное воздействие центрального атома (Fe^{3+}) на π -электронную систему ароматического фрагмента ИУК и позволяют предположить образование π -комплекса. В этом случае в координации с Fe^{3+} , помимо атома кислорода карбоксильной группы, в качестве второго координирующего фрагмента каждого из трех лигандов участвует также я-электронная система ароматической структуры.

Сопоставление данных табл. 1 показывает, что как для ИУК, так и для ее комплекса с железом(III) при переходе от твердой фазы к раствору (ацетон) не происходит заметных изменений частот (за исключением колебаний $\nu(\text{N-H})$, которые не проявляются в спектрах КР растворов, очевидно, из-за образования водородных связей с молекулами растворителя). Это не противоречит предположению об образовании комплекса хелатоподобной структуры с внешнесферной оболочкой из трех плоских индольных фрагментов, координированных с Fe^{3+} посредством я-ароматической системы, а также боковыми цепями ацетатных групп.

ИК-спектры ИМК и ее комплекса с железом(III)

С целью подтверждения возможности участия в координации Fe^{III} карбоксильной группы ИУК как монодугатного фрагмента лиганда было проведено сравнительное изучение ИК-спектроскопических характеристик соединений, гомологически родственных ИУК и продукту ее взаимодействия с железом(III), а именно - индолил-3-масляной кислоты (ИМК) и ее комплекса с Fe^{III} .

Можно заметить, что в ИК-спектре комплекса ИМК с Fe^{III} (рис. 4,а) имеются существенные отличия по сравнению со спектром комплекса Fe^{III} с ИУК (см. табл. 1).

В ИК-спектре чистой индолил-3-масляной кислоты (рис. 4,б) отмечается характерная полоса валентных колебаний группы C=O карбоксильного фрагмента с максимумом при 1699 см^{-1} (1703 см^{-1} в ИУК), которая исчезает в спектре ее комплекса с железом(III); вместо этого в спектре комплекса Fe^{III} -ИМК отмечается появление дополнительных интенсивных полос в области 1590 — 1400 см^{-1} , отсутствующих в спектре исходной ИМК. В данном случае в спектре комплекса Fe^{III} -ИМК наблюдается интенсивная полоса $\nu_{\text{ас}}(\text{COO}^-)$ координированной карбоксилатной группы с максимумом при 1586 см^{-1} . Однако на месте полосы $\nu_{\text{с}}(\text{COO}^-)$ можно наблюдать значительные по интенсивности полосы колебаний $\delta_{\text{н}}(\text{C-C})$ ароматического фрагмента ИМК, очевидно, перекрывающиеся с менее интенсивной полосой колебаний $\nu_{\text{с}}(\text{COO}^-)$ координированной карбоксилатной группы.

Характерной особенностью спектра комплекса Fe^{III} -ИМК (см. рис. 4,а) является наличие интенсивной и сильно уширенной полосы в области ~ 3000 - 3500

см^{-1} , объясняющееся присутствием в молекуле координированных ОН-групп, что также согласуется с данными элементного микроанализа и спектроскопии ЯГР (см. выше).

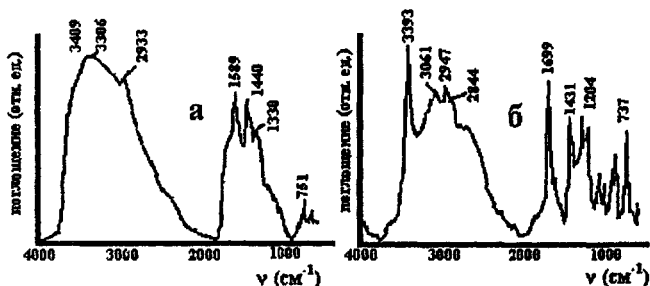


Рис. 4. ИК фурье-спектры (а) комплекса железа(III) с индолил-3-масляной кислотой и (б) индолил-3-масляной кислоты. Спектры получены в матрице КВг.

Отметим, что полоса валентных колебаний (N-H) пиррольного фрагмента, которые в свободной ИМК дают интенсивный пик при 3393 см^{-1} (см. рис. 4,6), в комплексе Fe^{III} -ИМК: практически отсутствует, очевидно, вследствие ее "размывания" при образовании водородных связей $>\text{N-H}\cdots\text{OH}$ с участием связанных ОН-групп.

Из сравнительного анализа ИК-спектров продуктов взаимодействия ИУК и ИМК с железом(III) можно сделать следующие выводы:

- в комплексе ИУК с Fe^{III} координация атома железа с депротонированной карбоксильной группой ИУК осуществляется через один атом кислорода: $\text{Fe}^{\text{III}}-\text{O}-\text{C}(=\text{O})-\text{CH}_2-\text{R}$, где R — индольный фрагмент, с образованием соединения со значительной степенью ковалентности связи $\text{Fe}^{\text{III}}-\text{O}$;
- в комплексе Fe^{III} с ИМК связь $\text{Fe}^{\text{III}}-\text{O}$ по характеру более близка к ионной, что соответствует образованию соединения по типу обычных карбоксилатов ($\text{R}-\text{COO}^-$); в ИК-спектре комплекса проявляются характерные спектральные признаки наличия координированных ОН-групп.

Для подтверждения строения комплекса Fe^{III} -ИУК, а также координации гетероциклического ядра ИУК с железом(III) был дополнительно использован метод спектроскопии ЯМР ^1H .

Спектроскопия ЯМР ^1H

Сравнение спектров ^1H -ЯМР ИУК и ее комплекса с железом(III) в растворах дейтерированного ацетона (рис. 5) подтверждает высказанное на основании приведенных выше данных предположение о структуре комплекса.

Для ИУК (спектр 1) наблюдается ряд резонансных пиков, отвечающих протонам гидроксигруппы (10,55 м.д., уширена) и N-H (10,07 м.д.), группа узких интенсивных пиков в области 7,0-7,7 м.д., соответствующих резонансным сигналам пяти протонов ароматического индольного фрагмента (C_2H , C_4H , C_5H , C_6H , C_7H), а также узкий синглет магнитно эквивалентных прото-

нов $-\text{CH}_2-$ боковой цепи при 3,74 м.д., что соответствует литературным данным (Pic era/., 1991).

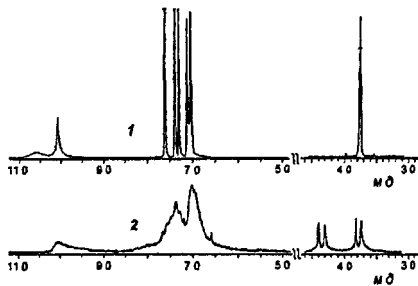


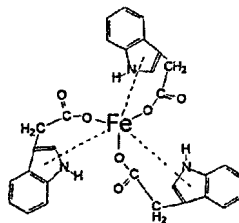
Рис. 5. Спектры ^1H -ЯМР (300 МГц) растворов индолил-3-уксусной кислоты (1) и ее комплекса с железом(III) (2) в ацетонг- D_6 .

В спектре ^1H -ЯМР комплекса (спектр 2) полоса протона ОН отсутствует, что подтверждает участие депротонированного карбоксила в координации. Из-за близости парамагнитного иона Fe^{3+} наблюдается также значительное уширение полос протонов индольного фрагмента: N-H (при 10,03 м.д.) и ароматического фрагмента (в области 6,5-7,7 м.д.).

Примечательно, что в области сильного поля в спектре комплекса вместо синглета при 3,74 м.д. (см. спектр 1) появляется двойной дублет при 3,7-4,4 м.д., соответствующий протонам метиленовой группы боковой цепи. Таким образом, в комплексе вследствие образования конформационно жесткого псевдошестичленного хелатоподобного цикла указанные протоны становятся магнитно неэквивалентными (по сравнению с ИУК, где для фрагмента $-\text{CH}_2\text{COOH}$ возможно свободное вращение вокруг связи С-С) и расщепляются с высокой константой спин-спинового взаимодействия, расчетное значение которой ($J_{s-s} \approx 44$ Гц) согласуется с данными литературы (Роберте, 1963; Жунке, 1974).

Сохранение общего вида спектра ЯМР ^1H при переходе от ИУК к комплексу (при общем уширении полос вследствие близости парамагнитного иона Fe^{3+} и расщеплении полос метиленовых протонов, а также с учетом исчезновения протона карбоксила) указывает также на эквивалентность всех трех лигандов, что соответствует пространственной симметрии комплекса. Таким образом, по данным спектроскопии ЯМР ^1H для комплекса ИУК- Fe^{III} , которые согласуются с данными других методов, наблюдающиеся изменения в спектре лиганда (ИУК) в результате координации могут быть интерпретированы в виде следующих основных положений.

- В результате координации ИУК с железом(III) образуется конформационно жесткий псевдошестичленный хелатоподобный цикл:



- Координация с переходным металлом смещает я-электронную плотность кольца к атому металла и тем самым уменьшает кольцевой ток, ответственный за магнитную анизотропию ароматического кольца, а также изменяет "геометрию" распределения π -электронной плотности в пространстве.

- Координация с металлом вызывает сдвиг сигналов ^1H -ЯМР ароматических протонов на 0,3-0,5 м.д. в сильное поле.

Полученные в настоящей работе данные об образовании π -комплекса ИУК свидетельствуют о существенном влиянии катиона железа(III) на структуру, а также на распределение плотности π -электронной системы ароматического фрагмента молекулы ИУК при координации.

Изучение неферментативной окислительной деструкции ИУК в присутствии железа(III) в водной среде

Как было отмечено выше, двойная связь в пиррольном цикле ИУК может подвергаться фотоокислению в присутствии O_2 , причем этот процесс, по данным некоторых авторов, катализируется ионами Fe^{3+} (Ulman, 1995). При этом могут образовываться, например, производные 2-оксиндола, а также другие соединения, возникающие при расщеплении индольного кольца. Для изучения последовательности превращений в результате химической деструкции, а также установления состава и структуры полученных соединений в рамках данной работы был проведен ряд экспериментов, направленных на решение поставленной задачи.

Структуру полученных и выделенных нами соединений подтверждали с помощью ИК-фурье-спектроскопии, 1H ЯМР-спектроскопии, а также масс-спектрометрии. В связи с тем, что среди выделенных продуктов окисления могли быть соединения, образующие комплексы с ионом железа(III), структуру осадка после добавления избытка железа(III) исследовали с привлечением метода спектроскопии ЯГР. Состав комплекса Fe^{III} с продуктом окисления ИУК был подтвержден элементным микроанализом.

Выделение и характеристика комплекса железа(III) с продуктом окисления ИУК

После проведения реакции окисления ИУК в присутствии железа(III) первым продуктом, выделенным нами из реакционной смеси (осаждающимся в присутствии избытка Fe^{III}), было вещество, обладающее сходством с ранее полученным и охарактеризованным нами соединением Fe^{III} , образующимся в выдержанном 2 сут растворе ИУК в присутствии Fe^{III} (что сопровождалось полным восстановлением железа до Fe^{II}) после высушивания полученного раствора на воздухе (см. выше; рис. 2). Элементный микроанализ выделенного комплекса дал следующие результаты: найдено, мае. %: C 58,42; H 4,45; N 7,18; вычислено для брутто-формулы $C_{30}H_{24}N_3O_9Fe$: C 57,52; H 3,86; N 6,70.

На основании данных, полученных с помощью элементного микроанализа, можно предположить, что выделенный комплекс Fe^{III} с продуктом окисления ИУК содержит три оксиндол-3-ацетатных группы на один атом железа, что соответствует молекулярной формуле FeL_3 , где $L = (C_8H_6NO)CH_2COO^-$. С целью подтверждения состава и установления структуры выделенного соединения был применен метод ИК-фурье-спектроскопии. Основные полосы полученного соединения и полосы колебаний комплекса Fe^{III} -ИУК совпадают как по положениям, так и по интенсивности. Однако появление в окисленном производном дополнительной интенсивной полосы при 1794 см^{-1} , при сохранении карбонильной полосы $\nu(C=O)$ при 1710 см^{-1} , указывает на наличие в полученном соединении дополнительной карбонильной группы (при атоме углерода C2), ко-

торая, наиболее вероятно, возникает в результате окисления двойной связи в пиррольном цикле ИУК.

Объяснить достаточно высокое значение частоты колебаний полосы $\nu(\text{C}=\text{O})$ при 1794 см^{-1} можно тем, что в результате комплексообразования, при компоновке трех лигандов в комплексе, углы связей в пирролин-2-оновом фрагменте лиганда изменяют свои обычные значения (т.к. сказывается стерический фактор), и следствием этого является увеличение напряжения цикла. Последнее, как известно, проявляется в повышении обычной частоты колебаний соответствующей полосы карбонильной группы.

Отметим, что мессбауэровские параметры полученного комплекса Fe^{III} с продуктом окисления ИУК ($\delta = 0,48 \text{ мм/с}$, $\Delta = 0,71 \text{ мм/с}$ при $T = 80 \text{ К}$) совпадают с параметрами для твердого остатка, полученного высушиванием на воздухе Fe^{II} -содержащего раствора ИУК (см. рис. 2). Увеличение квадрупольного расщепления в спектре ЯГР комплекса Fe^{III} с продуктом окисления ИУК (по сравнению с $\Delta = 0,64 \text{ мм/с}$ для комплекса Fe^{III} с ИУК) указывает на пониженную пространственную симметрию образовавшегося соединения, которая может объясняться появлением в комплексе объемных заместителей. Таким, очевидно, является атом кислорода карбонильной группы (при атоме С2), образовавшейся в результате окисления двойной связи пиррольного фрагмента ИУК.

Выделение и характеристика других продуктов окисления ИУК в водной среде

После выделения комплекса железа(III) с продуктом окисления ИУК из реакционной смеси последняя подвергалась дальнейшему исследованию для анализа остальных продуктов окисления. Было выяснено, что основными в смеси являются два продукта, которые после выделения подвергались очистке и исследованию.

Первый продукт, вероятнее всего, является продуктом окислительного декарбоксилирования индоллил-3-уксусной кислоты. Данное предположение основано на данных проведенных исследований.

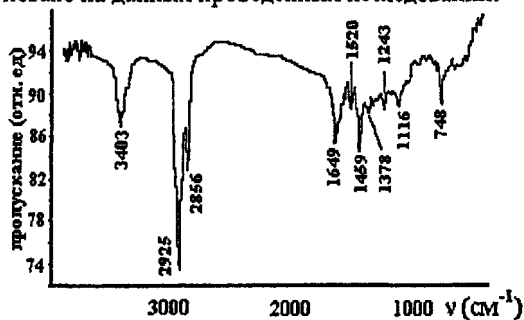


Рис. 6. ИК-фурье-спектр первого продукта окисления индоллил-3-уксусной кислоты, экстрагированного из водного раствора.

Выделенный продукт подвергался исследованию методом ИК- и H^1 ЯМР-спектроскопии.

В ИК-спектре выделенного соединения (рис. 6) присутствуют две характерные интенсивные полосы, отвечающие частотам валентных антисимметричных колебаний $\nu_{\text{ас}}(\text{C}-\text{H})$ при 2925 см^{-1} и валентных симметричных колебаний $\nu_{\text{с}}(\text{C}-\text{H})$ при 2856 см^{-1} , что свидетельствует о присутствии в соединении алифатического фрагмента.

Примечательно наличие в соединении характерной достаточно интенсивной карбонильной полосы $\nu(\text{C}=\text{O})$ при 1649 см^{-1} . Относительно невысокое значение ее частоты может объясняться участием π -электронов связи $\text{C}=\text{O}$ в сопряжении, а также отсутствием координации данного соединения с железом (отсутствие дополнительного напряжения цикла). Присутствие в спектре соединения полосы при 3403 см^{-1} может свидетельствовать о присутствии или наличии полос валентных колебаний $\text{O}-\text{H}$ и (или) $\text{N}-\text{H}$ связей. С целью более детального изучения структуры выделенного продукта окисления ИУК был применен метод ^1H ЯМР.

На спектре ^1H ЯМР, записанном в растворе дейтерированного ацетона (рис. 7), наблюдается группа хорошо разрешенных сигналов в области 7.2-8.4 м.д., соответствующих резонансным сигналам протонов оксиндольного фрагмента, а также узкий синглет протона $>\text{NH}$ цикла при 10,01 м.д.

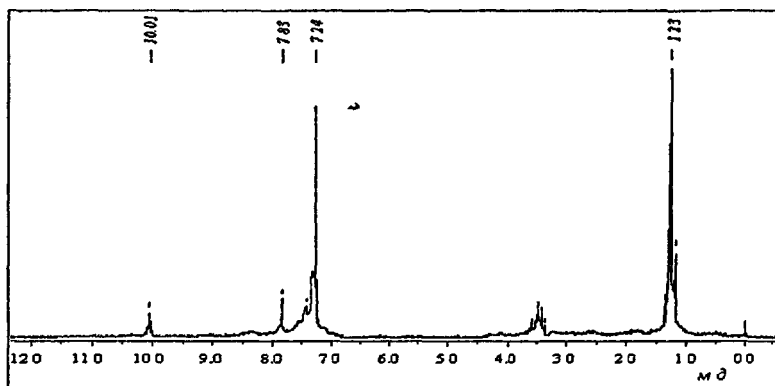


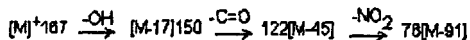
Рис. 7. Спектр ^1H -ЯМР (300 МГц) первого продукта окисления индоли-3-уксусной кислоты, экстрагированного из водного раствора (измерен в виде раствора в ацетоне- D_6).

Примечательно, что в области 3,7-3,2 м.д. в спектре полученного соединения наблюдается сигнал в виде квадруплета, принадлежащий протону, находящемуся в положении 3 оксиндольного цикла. Он возникает в результате расщепления сигнала данного протона на расположенных по соседству трех протонах метильной группы, которая образуется в результате декарбоксилирования группы $-\text{CH}_2-\text{COOH}$ оксиндол-3-ацетатного фрагмента. Протоны группы $-\text{CH}_3$, в свою очередь, в результате расщепления на протоне в положении 3 цикла дают дублет, проявление которого отмечается в области 1,2 м.д. на спектре. Таким образом, с привлечением методов ИК- и ^1H ЯМР-спектроскопии структура полученного соединения - продукта окисления ИУК - была определена как 3-метил-2-оксиндол.

При дальнейшей окислительной деструкции (при возможном раскрытии пирролин-2-онового фрагмента цикла) образуется соединение, исследование

структуры которого проводилось с привлечением метода хромато-масс-спектрометрии. Знание основных путей возможных направлений фрагментации выделенного продукта с использованием литературных данных позволило провести соотнесение сигналов в масс-спектре с конкретными осколочными ионами и сделать выводы о строении исходного вещества.

Процесс фрагментации полученного соединения можно отобразить следующей схемой:



В полученном масс-спектре выделенного соединения (рис. 8) максимальный по массе сигнал m/z 167 соответствует пику молекулярного иона соединения. Дальнейшая фрагментация молекулярного иона связана с потерей гидроксила, вследствие чего в спектре появляется характерный и интенсивный для этого процесса пик иона (M-17) с величиной m/z 150. Последующая фрагментация иона (M-17) завершает процесс декарбоксилирования, что отражается появлением в спектре сигнала осколка с величиной m/z 122. Следующий за декарбоксилированием этап отрыва от молекулы нитрогруппы приводит к образованию в спектре массового иона образовавшегося осколка с величиной m/z , равной 76 (M-NO₂), дальнейшая фрагментация которого происходит по привычной схеме.

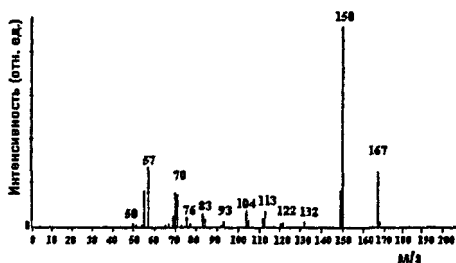


Рис. 8. Масс-спектр второго продукта окисления индолил-3-уксусной кислоты, экстрагированного из водного раствора.

Таким образом, в результате окислительной неферментативной (химической) деструкции ИУК в присутствии железа(III) на первом этапе происходит процесс окисления

по двойной связи C2=C3 пиррольного фрагмента индолил-3-уксусной кислоты с образованием оксиндол-3-уксусной кислоты, которая связывается в малорастворимый в воде комплекс с железом(III), обладающий рядом свойств, практически аналогичных свойствам комплекса ИУК-Fe^{III}. На следующем этапе из реакционной смеси был выделен 3-метил-2-оксиндол, образующийся в результате окислительного декарбоксилирования ацетатного фрагмента [-CH₂COO] ИУК. Его дальнейшее окисление, связанное с раскрытием пирролин-2-онового цикла, приводит, по данным хромато-масс-спектрометрии, к образованию *o*-нитробензойной кислоты. Последняя, вероятнее всего, образуется в результате окисления антраниловой кислоты (промежуточная стадия окислительной дегградации), которая в чистом виде из реакционной смеси нами выделена не была.

ВЫВОДЫ

1. Методом спектроскопии *ЯГР* показано, что в водных растворах при значениях $\text{pH} \sim 5$ и ниже в аэробных условиях в нитратсодержащих растворах железо(III) постепенно восстанавливается при взаимодействии с ИУК и ее структурными аналогами - индолил-3-алкановыми кислотами, при этом железо(II) накапливается со временем в виде аквакомплексов.
2. Впервые выделен и детально охарактеризован с привлечением ряда современных физико-химических методов анализа комплекс индолил-3-уксусной кислоты (ИУК) с железом(III). Показано, что координация с металлом осуществляется, помимо атома кислорода карбоксильной группы ИУК, также с участием я-электронной системы ароматического фрагмента лигандов. Высокая растворимость комплекса в неводных растворителях (ацетон, этанол) определяется структурой комплекса и соответствует молекулярному растворению с сохранением координации.
3. Впервые выделен и охарактеризован с привлечением современных физико-химических методов анализа комплекс индолил-3-масляной кислоты с железом(III). Установлено, что данный комплекс существенно отличается по составу от комплекса с ИУК - в частности, представляет собой димер, содержащий две координированные с атомами железа мостиковые ОН-группы, с бидентатной координацией карбоксилатных групп.
4. В результате систематического изучения химического окисления ИУК в слабощелочных водных растворах в присутствии железа(III) было установлено, что первым этапом данного процесса является окисление двойной связи пиррольного цикла ИУК с образованием 2-оксиндол-3-уксусной кислоты, образующей комплексное соединение с ионами железа(III), аналогичное по структуре комплексу ИУК.
5. Показано, что еще одним продуктом протекающего в данной системе окислительного декарбоксилирования ИУК является 3-метил-2-оксиндол. Таким образом, впервые показана идентичность данных продуктов химического окисления ИУК и описанных в литературе продуктов ферментативного и электрохимического окисления ИУК. Обнаружено также, что дальнейшее окисление с раскрытием пирролин-2-онового фрагмента приводит к образованию о-нитробензойной кислоты, идентифицированной после экстракции из реакционной смеси методом хромато-масс-спектрометрии.

СПИСОК ПУБЛИКАЦИЙ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Статьи

1. Щелочков А.Г., Камнев А.А. Спектроскопическое исследование координации индолил-3-уксусной кислоты с железом(Ш) // Новые достижения в химии карбонильных и гетероциклических соединений / Под ред. А.П. Кривенько. - Саратов: Изд-во Саратов. ун-та, 2000. - С. 258-260.
2. Kamnev A.A., Shchelochkov A.G., Perfiliev Yu.D., Tarantilis P.A., Polissiou M.G. Spectroscopic investigation of indole-3-acetic acid interaction with iron(III) // *J. Mol. Struct.* - 2001. - V. 563-564. - P. 565-572.
3. Kamnev A.A., Shchelochkov A.G., Tarantilis P.A., Polissiou M.G., Perfiliev Yu.D. Complexation of indole-3-acetic acid with iron(III): influence of coordination on the π -electronic system of the ligand // *Monatsh. Chem.* - 2001. - V. 132, No. 6. - P. 675-681.
4. Щелочков А.Г. Физико-химические подходы в исследовании особенностей комплексообразования индолил-3-уксусной кислоты (ауксина) и метаболически родственных соединений с ионами железа // Молодые ученые Волго-Уральского региона на рубеже веков. Материалы юбилейной науч. конф. молодых ученых, Уфа, 24-26 окт. 2001 г. - Т. 1. - Уфа: Изд-во Башкир. ун-та, 2001. - С. 161-163.
5. Shchelochkov A.G., Kamnev A.A., Tarantilis P.A., Polissiou M.G. Spectroscopic study of iron(III) complexes with some indole derivatives // *Metal Ions in Biology and Medicine / L. Khassanova, Ph. Collery, I. Maynard, Z. Khassanova, J.-C. Etienne (Eds.). - Vol. 7. - Paris: JohnLibbey Eurotext, 2002. - P. 37-40.*
6. Kamnev A.A., Shchelochkov A.G., Tarantilis P.A., Polissiou M.G. Fourier transform Raman spectroscopic study of indole-3-acetic acid and its Fe(III) complex in acetone solutions // *Proc. XVIII Int. Conf. on Raman Spectroscopy, 25-30 Aug. 2002, Budapest, Hungary / J. Mink, Gy. Jalsovszky, G. Keresztury (Eds.). - Chichester: J. Wiley & Sons, Ltd., 2002. - P. 873-874.*
7. Kamnev A.A., Kovacs K., Shchelochkov A.G., Kuzmann E., Vertes A. Interaction of natural and synthetic auxins with iron(III) in aqueous solutions: complexation and redox transformations // *Metal Ions in Biology and Medicine / M.A. Cser, I. Sziklai Laszlo, J.-C. Etienne, Y. Maynard, J. Centeno, L. Khassanova, Ph. Collery (Eds.). - Vol. 8. - Paris: John Libbey Eurotext, 2004. - P. 51-54.*
8. Kovacs K., Kamnev A.A., Shchelochkov A.G., Kuzmann E., Medzihradzsky-Schweiger H., Mink J., Vertes A. Mossbauer spectroscopic evidence for iron(III) complexation and reduction in acidic aqueous solutions of indole-3-butyric acid // *J. Radioanal Nucl. Chem.* - 2004. - V. 262, No. 1. - P. 151-156.

Тезисы докладов

1. Kamnev A.A., Shchelochkov A.G., Perfiliev Yu.D. Vibrational, ^1H NMR and Mossbauer spectroscopic characterization of indole-3-acetic acid complexation with iron // XXV Eur. Congress on Molecular Spectroscopy, Coimbra, Portugal, Aug. 27 - Sept. 1, 2000. *Book of Abstracts.* - P. 209.
2. Щелочков А.Г. Физико-химическая характеристика координации антралиловой кислоты с железом(Ш) // Современные проблемы теоретической и эксперименталь-

ной химии. Тез. докл. III Всеросс. конф. молодых ученых, Саратов, 3-5 сент. 2001 г. - С. 70.

3. Щелочков А.Г. Использование ядерно-резонансных методов для изучения структурных особенностей биоконплексов // Стратегия взаимодействия микроорганизмов с окружающей средой. Матер. Первой регион, конф. мол. ученых, Саратов, 26-27 марта 2002 г. - Саратов: Изд. Сарат. ун-та, 2002. - С. 60-61.
4. Shchelochkov A.G., Kamnev A.A. Vibrational and NMR spectroscopic studies of iron complexes with some indole derivatives // 7th Int. Symp. on Metal Ions in Biology and Medicine, St.-Petersburg, Russia, May 5-9, 2002. Abstracts / Микроэлементы в медицине. - 2002. - Т. 3, № 2. - С. 9-10.
5. Kamnev A.A., Kovacs K., Shchelochkov A.G., Kuzmann E., Vertes A. Interaction of natural and synthetic auxins with iron(III) in aqueous solutions: complexation and redox transformations // 8th Int. Symp. on Metal Ions in Biology and Medicine, Budapest, Hungary, May 18-22, 2004. Abstract Book. - P. 34.



Подписано в печать 22 «0. 2004 Формат 60x84 1/16. Бумага офсетная.
Гарнитура Times. Печать RISO. Объем 1,0 печл. Тираж 100 экз. Заказ № 324.

Отпечатано с готового оригинал-макета
Центр полиграфических и копировальных услуг
Предприниматель Серман Ю.Б. Свидетельство № 304645506500043
410600, Саратов, ул. Московская, д. 152, офис 19

№ 2 1 5 9 6

РНБ Русский фонд

2005-4

18989