

УДК 542.943.7:541.128.34:541.49:547.854.4

DOI: 10.31040/2222-8349-2019-0-4-107-110

**АКТИВАЦИЯ МОЛЕКУЛЯРНОГО КИСЛОРОДА НА КОМПЛЕКСАХ МЕДИ(II)
С 2,3-ДИМЕТИЛ-5-ГИДРОКСИ-6-АМИНОПИРИМИДИН-4(3H)-ОНОМ**

© В.Ю. Мишинкин, С.А. Грабовский, Н.Н. Кабальнова, Ю.И. Муринов

Интерес к низкомолекулярным аналогам медьсодержащих ферментов вызван широкими возможностями их использования для моделирования ферментативных процессов, таких как каталитические реакции, транспорт кислорода и перенос электронов. Ион меди в таких металлоферментах обычно координирован донорными атомами азота и кислорода аминокислотных белковых фрагментов. Производные пиримидина имеют несколько донорных центров, способных образовывать координационные соединения с ионами Cu(II), которые можно рассматривать как модели ферментативных систем.

С использованием методов электронной, ^{13}C ЯМР-, ИК-спектроскопии и масс-спектрометрии изучено комплексообразование 2,3-диметил-5-гидрокси-6-аминопиримидин-4(3H)-она (**L**) с ионами Cu(II) в неводных растворах. Впервые наблюдали самопроизвольный переход четырехкоординационного комплекса Cu(II) в пятикоординационный с изменением дентантности лиганда. Спектрофотометрическим методом мольных отношений определен состав комплексов, равный 1:1. Установлены донорные центры лиганда, участвующие в комплексообразовании – атомы кислорода гидроксильной и карбонильной групп. Рассчитана константа образования четырехкоординационного комплекса K_1 ионов Cu(II) с **L** в ДМСО, равная $(2.2 \pm 0.5) \cdot 10^7$. Оценены значения константы равновесия K_p между четырех- и пятикоординационными комплексами и константы образования пятикоординационного комплекса K_2 в ДМСО, равные 2.6 ± 0.2 и $(5.7 \pm 1.4) \cdot 10^7$ соответственно. Растворитель оказывает значительное влияние на протекание этой реакции. В водных растворах в присутствии кислорода **L** быстро расходуется, а в осушенном диметилсульфоксиде расхождение не происходит. В водных растворах на комплексах ионов Cu(II) с **L** происходит фиксация и активация молекулярного кислорода с внутрисферным гидроксильрованием лиганда. Количественная конверсия исходного пиримидинона наблюдается при соотношении начальных концентраций **L** и хлорида меди(II) 10:1, т. е. наблюдается катализируемое ионами Cu(II) гидроксильрование лиганда. По данным ЯМР-спектроскопии идентифицирован продукт катализируемого ионами Cu(II) гидроксильрования **L** – 2,3-диметил-5,5,6-тригидрокси-6-аминопиримидин-4(3H)-он. Предложен механизм реакции: образование шестикоординационных комплексов Cu(II) с **L**, в которых молекулы воды входят во внутреннюю координационную сферу; перенос электрона с лиганда на Cu(II) с образованием иона Cu(I); фиксация и активация молекулярного кислорода и внутрисферное окисление лиганда.

Ключевые слова: комплексы ионов Cu(II), 2,3-диметил-5-гидрокси-6-аминопиримидин-4(3H)-он, активация молекулярного кислорода, гидроксильрование, катализ.

Медь является жизненно важным микроэлементом, который входит в состав многих витаминов, гормонов, ферментов, дыхательных пигментов. Она обладает выраженным противовоспалительным свойством, смягчает проявления аутоиммунных заболеваний (например, ревматоидного артрита), способствует усвое-

нию железа и присутствует в системе антиоксидантной защиты организма, являясь кофактором фермента супероксиддисмутазы, участвующего в нейтрализации свободных радикалов кислорода, а также ключевым кофактором в различных биологических окислительно-восстановительных реакциях [1].

МИШИНКИН Вадим Юрьевич, Уфимский Институт химии УФИЦ РАН,

e-mail: mishinkin-vadim@yandex.ru

ГРАБОВСКИЙ Станислав Анатольевич – к.х.н., Уфимский Институт химии УФИЦ РАН,

e-mail: stas_g@anrb.ru

КАБАЛЬНОВА Наталья Нурулловна – д.х.н., Уфимский Институт химии УФИЦ РАН,

e-mail: oxboss@anrb.ru

МУРИНОВ Юрий Ильич – д.х.н., Уфимский Институт химии УФИЦ РАН,

e-mail: murinov@anrb.ru

В настоящее время известно более 25 различных медьсодержащих ферментов. Биологическая роль медьсодержащих ферментов связана с такими процессами, как перенос электронов, связывание, хранение и транспорт кислорода, окислительный катализ. Такое функциональное разнообразие обусловлено рядом особенностей меди: по сравнению с ионами других биогенных металлов ионы меди активнее реагируют с аминокислотами и белками, образуя более устойчивые комплексы; ионы меди являются эффективными катализаторами биохимических процессов, особенно в комплексах с белками; медь легко переходит из одной степени окисления в другую, что способствует проявлению окислительно-восстановительных свойств ее соединениями. Относительная устойчивость комплексов ионов Cu(I) и Cu(II) зависит от природы лиганда и равновесие $2 \text{Cu(I)} \leftrightarrow \text{Cu(II)} + \text{Cu(0)}$ может легко смещаться в любом направлении в зависимости от условий. Различные медьсодержащие оксидазы выполняют свои функции путем переноса электрона между этими состояниями меди с использованием молекулярного кислорода. Типы медьсодержащих ферментов в зависимости от строения активного центра и спектральных характеристик представлены в работе [2].

Среди многих физиологических функций, выполняемых медьсодержащими ферментами, активация молекулярного кислорода является одной из наиболее важных. Ион меди в таких металлоферментах обычно координирован донорными атомами азота и кислорода аминокислотных белковых фрагментов. Производные пиримидина имеют несколько донорных центров, способных образовывать координационные соединения с ионами Cu(II) , поэтому можно рассматривать их участие в качестве лигандов в модельных ферментативных системах. В данной работе показано, что ионы Cu(II) с 2,3-диметил-5-гидрокси-6-аминопиримидин-4(3H)-оном образуют комплексы, на которых происходит фиксация и активация молекулярного кислорода.

При добавлении **L** к раствору хлорида меди(II) в осушенном ДМСО в видимой области спектра в начальный момент времени появляется полоса поглощения с максимумом при 420 нм, характерная для четырехкоординационных комплексов Cu(II) . Со временем интенсивность этой полосы поглощения уменьшается и появляется полоса поглощения при 665 нм, характерная для пятикоординационных комплексов Cu(II) , интенсивность которой увеличивается. Из зависимостей оптической плотности растворов на максимумах полос поглощения от соотношения концентраций **L** и ионов Cu(II) определен состав комплексов, равный 1:1. Нами предположено, что при переходе от четырех- к пятикоординационным комплексам происходит перестройка внутренней координационной сферы иона Cu(II) с увеличением дентантности лиганда до двух.

Для установления донорных центров лиганда в образующихся комплексах выделены оба комплекса – в начальный момент времени реакции первый комплекс, второй через 60 мин. В ИК-спектре четырехкоординационного комплекса наблюдается смещение полосы поглощения валентных колебаний C-OH связи на 19 см^{-1} и незначительное смещение полосы поглощения валентных колебаний карбонильной группы. В спектре пятикоординационного комплекса, кроме смещения полосы поглощения валентных колебаний C-OH связи на 19 см^{-1} , наблюдается и значительное смещение полосы поглощения валентных колебаний карбонильной группы на 100 см^{-1} в низкочастотную область. В спектрах обоих комплексов появляется полоса поглощения валентных колебаний Cu-O связи при 497 см^{-1} .

Ионы Cu(II) в растворе ДМСО преимущественно образуют четырехкоординационные комплексы состава 1:4 с молекулами растворителя [3], поэтому было предположено, что образование четырехкоординационных комплексов ионов Cu(II) с **L** и последующий переход в пятикоординационные комплексы происходит по следующим реакциям (рис. 1).

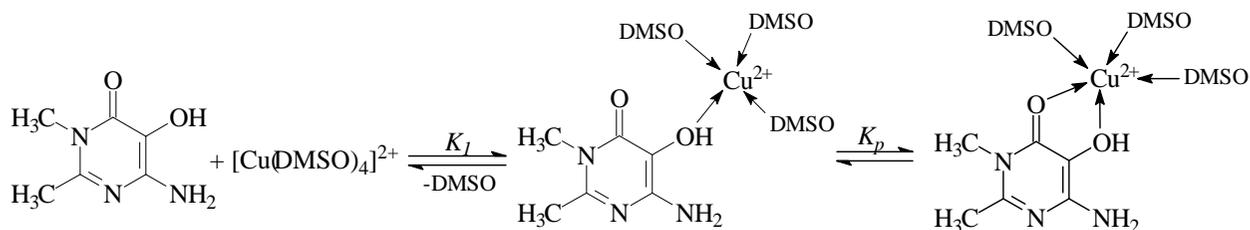


Рис. 1. Образование четырехкоординационных комплексов ионов Cu(II) с **L** и последующий их переход в пятикоординационные

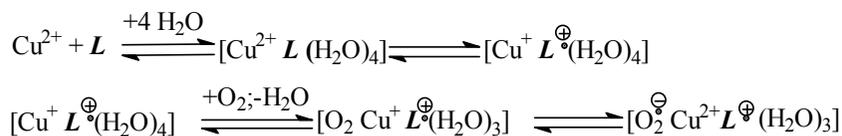


Рис. 2. Предполагаемый механизм активации молекулярного кислорода на комплексах ионов меди с 2,3-диметил-5-гидрокси-6-аминопиримидин-4(3H)-оном

С использованием спектрофотометрического метода определены константа комплексообразования K_1 и константа равновесия K_p , равные $(2.2 \pm 0.5) \cdot 10^7$ и 2.6 ± 0.2 , соответственно. Оценена константа комплексообразования пятикоординационных комплексов

$$K_2 = K_1 K_p = (5.7 \pm 1.4) \cdot 10^7.$$

В водных растворах в присутствии кислорода образование четырех и пятикоординационных комплексов Cu(II) с L не наблюдали, так как происходит быстрое расхождение лиганда. Продукт реакции был идентифицирован по данным ЯМР спектроскопии как 2,3-диметил-5,5,6-тригидрокси-6-аминопиримидин-4-(3H)-он. При соотношении начальных концентраций L и хлорида меди(II) 10:1 конверсия исходного пиримидинона количественная, т. е. наблюдается катализируемое ионами Cu(II) гидроксирование лиганда.

Ранее на примере 5-гидрокси- и 5-аминооротовой кислот нами было показано [4], что на шестикоординационных комплексах с ионами Cu(II) происходит фиксация и активация молекулярного кислорода с внутрисферным окислением лиганда. Принимая во внимание, что природа лиганда может приводить к увеличению окислительно-восстановительного потенциала Cu(II) [5] и фиксация молекулярного кислорода на ионе Cu(I) протекает с высокой константой скорости ($k = 6.6 \cdot 10^8$ моль \cdot л $^{-1} \cdot$ с $^{-1}$) [6] предложен механизм активации молекулярного кислорода, включающий стадии образования шестикоординационных комплексов Cu(II) с L , в которых молекулы воды входят во внутреннюю координационную сферу, переноса электрона с лиганда на Cu(II) с образованием иона Cu(I), фиксации кислорода и образования супероксид аниона (рис. 2).

Литература

1. Solomon E.I., Sundaram U.M., Machonkin T.E. Multicopper oxidases and oxygenases // *Chemical Reviews*. 1996. V. 96. P. 2563–2606.
2. Marshall N.M., Garner D.K., Wilson T.D., Gao Y.-G., Robinson H., Nilgesn M.J., Lu Y. Rationally tuning the reduction potential of a single cupredoxin beyond the natural range // *Nature*. 2009. V. 462. P. 113–116.

3. Elleb M., Meulemeestre J., Schwing-Weill M.-J., Vierling F. Spectrophotometric study of copper(II) chloride complexes in propylene carbonate and in dimethyl sulfoxide // *Inorg. Chem.* 1982. V. 21. P. 1477.

4. Мишинкин В.Ю., Грабовский С.А., Кабальнова Н.Н., Муринов Ю.И. Активация молекулярного кислорода на комплексах меди(II) с 5-гидрокси- и 5-аминооротовой кислотами // *ЖОХ*. 2017. Т. 87, Вып. 7. С. 1149.

5. Ambundo E.A., Deydler M.-V., Grall A.J., Aguera-Vega N., Dressel L.T. Cooper. T.H., Heeg M.J., Ochrymowycz L.A., Rorabacher D.B. Influence of coordination geometry upon copper(II/I) redox potentials. Physical parameters for twelve copper tripodal ligand complexes. *Inorg. Chem.*, 1999, vol. 38, pp. 4233–4242.

6. Hricovíni M., Mazúr M., Sírbu A., Palamarciuc O., Arion V. B., Brezová V. Thiosemicarbazone complexes and their proligands upon UVA irradiation: An EPR and spectrophotometric steady-state study. *Molecules*, 2018, vol. 23, pp. 721.

References

1. Solomon E.I., Sundaram U.M., Machonkin T.E. Multicopper oxidases and oxygenases. *Chemical Reviews*, 1996, vol. 96, pp. 2563–2606.
2. Marshall N.M., Garner D.K., Wilson T.D., Gao Y.-G., Robinson H., Nilgesn M.J., Lu Y. Rationally tuning the reduction potential of a single cupredoxin beyond the natural range. *Nature*, 2009, vol. 462, pp. 113–116.
3. Elleb M., Meulemeestre J., Schwing-Weill M.-J., Vierling F. Spectrophotometric study of copper(II) chloride complexes in propylene carbonate and in dimethyl sulfoxide. *Inorg. Chem.*, 1982, vol. 21, pp. 1477.
4. Mishinkin V.Yu., Grabovskii S.A., Kabalnova N.N., Murinov Yu.I. Activation of molecular oxygen on copper(II) complexes of 5-hydroxy and 5-aminoorotic acids. *Russ. J. Gen. Chem.*, 2017, vol. 87, no. 7, pp. 1542.
5. Ambundo E.A., Deydler M.-V., Grall A.J., Aguera-Vega N., Dressel L.T. Cooper. T.H., Heeg M.J., Ochrymowycz L.A., Rorabacher D.B. Influence of coordination geometry upon copper(II/I) redox potentials. Physical parameters for twelve copper tripodal ligand complexes. *Inorg. Chem.*, 1999, vol. 38, pp. 4233–4242.
6. Hricovíni M., Mazúr M., Sírbu A., Palamarciuc O., Arion V. B., Brezová V. Thiosemicarbazone complexes and their proligands upon UVA irradiation: An EPR and spectrophotometric steady-state study. *Molecules*, 2018, vol. 23, pp. 721.



**ACTIVATION OF MOLECULAR OXYGEN ON COPPER(II) COMPLEXES
WITH 2,3-DIMETHYL-5-HYDROXY-6-AMINOPYRIMIDINE-4 (3*H*)-ONE**

© V.Yu. Mishinkin, S.A. Grabovskii, N.N. Kabalnova, Yu.I. Murinov

Ufa Institute of Chemistry – Subdivision of the Ufa Federal Research Centre
of the Russian Academy of Sciences,
69, prospect Oktyabrya, 450054, Ufa, Russian Federation

The interest in low-molecular analogs of copper-containing enzymes is due to the wide possibilities of their use for modeling enzymatic processes, such as catalytic reactions, oxygen transport and electron transfer. Copper ion in such metal enzymes is usually coordinated by the donor nitrogen and oxygen atoms of amino acid protein fragments. Pyrimidine derivatives have several donor centers capable of forming coordination compounds with copper (II) ions, which can be considered as models of enzymatic systems.

Using the methods of electron, ^{13}C NMR, IR spectroscopy and mass spectrometry, the complex formation of 2,3-dimethyl-5-hydroxy-6-aminopyrimidine-4 (3*H*) -one (*L*) with Cu(II) ions in non-aqueous solutions was studied. For the first time, a spontaneous transition of a four-coordination Cu(II) complex to a five-coordination complex with a change in the ligand dentance was observed. Spectrophotometrically, the composition of the complexes equal to 1: 1 was determined by the method of molar ratios. The donor centers of the ligand that are involved in the complex formation were established – the oxygen atoms of the hydroxyl and carbonyl groups. The formation constant of the four-coordination complex K_1 of Cu(II) ions with *L* in DMSO was calculated to be $(2.2 \pm 0.5) \cdot 10^7$. The values of the equilibrium constant K_p between the four- and five-coordination complexes and the formation constant of the five-coordination complex K_2 in DMSO were estimated to be 2.6 ± 0.2 and $(5.7 \pm 1.4) \cdot 10^7$, respectively. The solvent has a significant effect on the course of this reaction. In aqueous solutions in the presence of oxygen *L* is quickly consumed, and in dried dimethyl sulfoxide there is no consumption. In aqueous solutions on complexes of Cu(II) ions with *L*, the fixation and activation of molecular oxygen occurs with the intraspheric hydroxylation of the ligand. The quantitative conversion of the starting pyrimidinone is observed when the ratio of initial concentrations of *L* and copper(II) chloride is 10: 1, i.e., hydroxylation of the ligand catalyzed by Cu(II) ions is observed. According to NMR spectroscopy, a product catalyzed by Cu(II) ions, hydroxylation of *L* – 2,3-dimethyl-5,5,6-trihydroxy-6-aminopyrimidine-4-(3*H*)-one, was identified. A reaction mechanism has been proposed: the formation of six-coordination complexes of Cu(II) with *L*, in which water molecules enter the internal coordination sphere; electron transfer from ligand to Cu(II) with the formation of Cu(I) ion; fixation and activation of molecular oxygen and intraspheric oxidation of the ligand.

Key words: copper(II) complexes, 2,3-dimethyl-5-hydroxy-6-aminopyrimidine-4 (3*H*) -one, activation of molecular oxygen, hydroxylation, catalysis.