

УДК 577.16 + 541.128

Пищугин Ф.В.

член-корреспондент НАН КР,

д.х.н, профессор

Пищугин Ф.В., х.д.н., профессор,
КР УИАнын мүчө-корреспонденти

Pishchugin F.V.,

doctor of chemical sciences, professor

Шапакова Ч.К.,

к.х.н., с.н.с.,

х.и.к., улук илимий кызматкер

Shapakova Ch.K.,

candidate of chemical sciences

Дерепаска С.С.,

научный сотрудник,

илимий кызматкер,

Derepaska S.S.,

Researcher

Лецкевич А.В.,

научный сотрудник,

илимий кызматкер

Letskevich A.V.,

researcher

*Институт Химии и фитотехнологии НАН КР
УИАнын Химия жана фитотехнология институту
Institute of chemistry and fitotechnology NAS KR*

**КИНЕТИКА И МЕХАНИЗМ КОНДЕНСАЦИИ ПИРИДОКСАЛЯ
С АМИНОКИСЛОТАМИ В РАЗЛИЧНЫХ СРЕДАХ**

**АР ТҮРДҮҮ ШАРТТА АМИНОКСАЛДАР МЕНЕН ПИРИДОКСАЛДЫК
КОНДЕНСАЦИЯНЫН КИНЕТИКАСЫ ЖАНА МЕХАНИЗМИ**

**KINETICS AND MECHANISM OF PYRIDOXAL CONDENSATION
WITH AMINO ACIDS IN DIFFERENT ENVIRONMENTS**

Аннотация. Проведено изучение кинетики и механизма взаимодействия пиридоксала с различными по структуре аминокислотами при различных условиях (рН – среды, растворитель, температура). Изучение влияния температуры на скорости конденсации аминокислот с пиридоксалем на стадии дегидратации аминокислот показало, что скорости возрастают с увеличением температуры. Рассчитаны энергии активации стадии дегидратации аминокислот. ($E_{\text{акт}} = 16,1$ КДж/моль).

Ключевые слова: аминокислоты, пиридоксаль, энергия активации, основание Шиффа.

Abstract. The kinetics and mechanism of interaction of pyridoxal with structurally different amino acids were studied under various conditions (pH media, solvent, temperature). The study of the effect of temperature on the rate of condensation of amino acids with pyridoxal at the stage of dehydration of amino alcohols showed that the rates increase with increasing temperature. The activation energies of the dehydration stage of amino alcohols are calculated. ($E_{\text{act}} = 16.1$ KJ/mol).

Key words: amino acids, pyridoxal, activation energy, Schiff base.

Аннотация. Ар кандай шарттарда (рН – чөйрө, эриткич, температура) пиридоксалдын аминокислоталар менен өз ара аракеттенүү механизмин жана кинетикасын изилдөө жүргүзүлдү. Аминспирттердин дегидратация стадиясында аминкислоталардын пиридоксал менен конденсациясында температуранын жогорулашы менен ылдамдыгы да жогорулай тургандыгын көрсөттү. Аминспирттердин дегидратациясындагы активдешүү энергиялары эсептелди. ($E_{\text{акт}} = 16,1$ КДж/моль).

Негизги сөздөр: аминокислоталары, пиридоксаль, активдешүү энергиясы, Шифф негиздери.

Витамины группы B_6 играют первостепенную роль в азотистом обмене всех живых организмов, участвуют в ферментативном катализе большого числа различных превращений аминокислот. С действием пиридоксальных ферментов связаны реакции переаминирования, декарбоксилирования, дезаминирования аминокислот, а также аминирование кетокислот.

Проведено комплексное изучение кинетики и механизма взаимодействия пиридоксала с различными по структуре аминокислотами при различных условиях (рН – среды, растворитель, температура).

Спектрофотометрически изучена кинетика и механизм взаимодействия пиридоксала с рядом аминокислот в различных условиях (рН – среды, растворитель, температура).

Экспериментально установлено, что при сливании бесцветных эквимольных растворов пиридоксала и аминокислот мгновенно раствор окрашивается в желтый цвет с появлением новых максимумов поглощения: при значениях рН близких к нейтральным λ_{max} 430 нм, при переходе в щелочную среду появляется новый максимум поглощения λ_{max} 450 нм.

Изучение интенсивности поглощения спектров смесей во времени показало, что в первые промежутки времени оптическая плотность растворов реакционных смесей мгновенно падает, а затем медленно со временем начинает возрастать. По истечении времени интенсивность поглощения снова падает, при этом появляются новые максимумы поглощения конечных продуктов.

Анализ кинетических кривых показал, что реакция конденсации пиридоксала с

аминокислотами протекает минимум ряд кинетически различимых стадий.

Изучение скорости конденсации пиридоксаль гидрохлорида с аминокислотами в зависимости от рН – среды показало, что константа скорости взаимодействия компонентов экстремально зависит от рН среды.

Зависимость константы скорости конденсации пиридоксала с от рН среды показывает, что реакция протекает через несколько последовательных стадий: первая очень быстрая – присоединение аминокислоты к пиридоксалу с образованием промежуточного продукта – аминок спирта (резкое уменьшение оптической плотности раствора смеси); вторая стадия (медленная) – дегидратация аминок спиртов с образованием основания Шиффа (λ_{\max} 430 нм). Устойчивость основания Шиффа существенно зависит от рН – среды и растворителя. В кислых средах основание Шиффа распадается на исходные продукты, в щелочных средах, по-видимому, за счет отщепления протона от α -углеродного атома аминокислоты происходит миграция $C=N$ – связи к α – углеродному атому аминокислотного фрагмента с образованием нового продукта с λ_{\max} 450 нм.

Распад продукта с λ_{\max} 450 нм также экстремально зависит от рН среды.

При увеличении рН среды за счет перестройки структуры основания Шиффа в конечном счете может перетекать гидролиз продукта с образованием кетокислот и пиридоксамина. (λ_{\max} 327 нм).

Например, при взаимодействии пиридоксаль гидрохлорида с DL – триптофаном вначале оптическая плотность при сливании эквимольных растворов резко уменьшается, затем наблюдается появление и увеличение интенсивности максимума при 430 нм. По истечении некоторого времени интенсивность полосы поглощения при 430 нм уменьшается и появляется новая полоса поглощения в области 450 нм, интенсивность которой сначала увеличивается, а за-

тем по истечении некоторого промежутка времени интенсивность медленно падает. Одновременно появляется продукт с λ_{\max} 327 нм, интенсивность которого со временем возрастает. При этом из реакционного раствора выпадает белый кристаллический осадок с выходом $\approx 20\%$.

Полученный осадок при температуре $> 350^\circ$ обугливается с разложением, не дает реакцию с нингидридом, образует желтый продукт с 2,4 – денитрофенилгидразином, однозначно показывает, что выпавший в результате реакции осадок – Na – соль [β – (3 – индолил) α – кето- пропионовой кислоты].

Изучение влияния растворителя на скорости и пути протекания реакций показало, что с увеличением процентного содержания воды в водноэтанольных буферных растворах скорость взаимодействия глицина с пиридоксаль гидрохлоридом на стадии присоединения и стадии дегидратации аминок спирта уменьшается.

Изучение кинетики и механизма взаимодействия пиридоксала с различными по структуре и pK_b – аминокислотами в сопоставимых условиях показало, что акцепторные заместители (β – фенилаланин, триптофан) несколько увеличивают скорости дегидратации аминок спиртов, донорные заместители практически не влияют на эти скорости. Изучение влияния температуры на скорости конденсации аминокислот с пиридоксалем на стадии дегидратации аминок спиртов показало, что скорости возрастают с увеличением температуры. Рассчитаны энергии активации стадии дегидратации аминок спиртов. ($E_{\text{акт}} = 16,1$ Кдж/моль).

Экспериментальная часть

В качестве объектов исследования использовались пиридоксаль гидрохлорид фирмы «Ferak Berlin» и аминокислоты фирмы «Reanal». Буферные растворы готовились по общепринятой методике. Кинетику конденсации измеряли на спектрофотометре «Спектро МОМ-204». Термостатиро

вание реакционных смесей приводили при помощи термостата УН-8 с точностью $\pm 0,1^{\circ}\text{C}$. Навески пиридоксаля и аминокислот в эквимольных количествах растворяли в водно-спиртовых буферных растворах и выдерживали при заданной температуре в течении 30 минут. За начало реакции принимался момент сливания термостатированных растворов пиридоксаля и аминокислот.

Кинетику снимали в термостатированных кюветах толщиной 1,008 мм. Поскольку УФ – спектры раствора пиридоксаля гидрохлорида изменяются в зависимости от растворителя и рН – среды, в качестве кювет сравнения брались растворители или растворы пиридоксаля в условиях аналогичных условиям конденсации. При таком подходе изменения оптической плотности смеси исходных компонентов в процессе конденсации зависит только от образования промежуточных и конечных продуктов

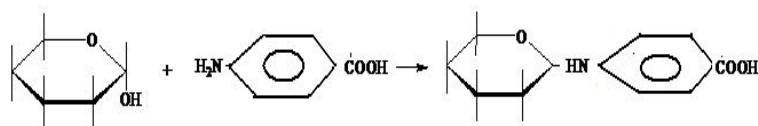
реакции и не зависит от изменения оптической плотности исходных компонентов.

Константы скорости конденсации пиридоксаля с аминокислотами рассчитывались по калибровочным прямым по уравнению первого и второго порядка для обратимых и необратимых реакций.

Исходные, промежуточные и конечные продукты идентифицировались методами элементного анализа, УФ- ИК- спектроскопией (таблетки КВг).

Синтез оснований Шиффа производился по общей методике путем нагревания эквимольных количеств пиридоксаля гидрохлорида с аминокислотами в этиловом спирте при T 60-70 $^{\circ}\text{C}$ в течении 15-30 минут.[1-9].

Синтезировано N-n –карбоксифенил- β -D- глюкозиламин и произведена идентификация продукта физико-химическими методами.



N-n –карбоксифенил- β -D- глюкозиламин

Таблица 1. Физико-химические характеристики полученных соединений

Соединение	Теорет/ практичес. (%)			
	С	Н	Н	$T_{пл} \cdot (^{\circ}\text{C})$
$\text{C}_{13}\text{H}_{16}\text{NO}_7$	52,34	5,36	4,69	126-127
	51,28	4,65	3,60	120-123

Далее поляриметрическим методом изучено взаимодействие N-п –карбоксите- нил-β-D- глюкозиламина с D - аланином. (табл.2).

Таблица 2. Данные поляриметрического анализа

№	τ (мин)	$[\alpha]_D^{18}$	№	τ (мин)	$[\alpha]_D^{18}$	№	τ (мин)	$[\alpha]_D^{18}$
1	1	-26,41	9	21	-207,42	17	61	-188,87
2	2	-52,83	10	26	-220,89	18	66	-184,9
3	4	-92,45	11	31	-239,59	19	71	-178,30
4	6	-140,0	12	36	-246,72	20	76	-161,79
5	8	-168,39	13	41	-258,61	21	81	-148,92
6	10	-178,0	14	46	-225,85	22	86	-138,68
7	13	-186,88	15	51	-212,38	23	91	1-38,67
8	16	-201,4.	16	56	-205,25			

Выводы

1. Изучена кинетика и механизм взаимодействия пиридоксаль гидрохлорида с аминокислотами, N-п –карбоксите- нил-β-D- глюкозиламин с D – аланином.

2. Установлено, что конденсация протекает через несколько кинетически различных стадий.

3. Выделены и идентифицированы ряд промежуточных и конечных продуктов.

Список литературы

1. Браунштейн А.Е., Шемякин М.М. //Биохимия. 1954.18. С.393-411.
2. Лейдлер К. Кинетика органических реакций. М: Мир, 1966, С.31.
3. Пицугин Ф.В., Тулебердиев И.Т.// ЖОХ.2005. Т. 75. Вып. 9.С. 1538. DOI: 10.1007/ s 11176-005-0447-z.
4. Пицугин Ф.В., Тулебердиев И.Т. // ЖОХ.2009. Т. 79. Вып. 1. С. 120. DOI: 10.1134/ s 1070363209010174
5. Пицугин Ф.В., Тулебердиев И.Т. // ЖОХ.2015. Т. 85. Вып. 7. С. 1156. DOI. org/ 10.1134/ s 107036321507018X
6. Пицугин Ф.В., Тулебердиев И.Т. // ЖФХ.2017. Т. 91 №10. С.1648. DOI. org/ 10.1134/ s0036024417100302