

УДК 547.466: 546.654:535.71

ЭКОЛОГИЧЕСКИ БЕЗОПАСНЫЕ СТЕРЕОИЗОМЕРЫ КОМПЛЕКСОНОВ

Е.С. Биберина¹, В.М. Никольский², А.А. Варламова²

¹ Центр гигиены и эпидемиологии в Тверской области

²Тверской государственной университет

Синтезирован L-изомер N-(карбоксиметил)аспарагиновой кислоты (L-КМАК) и методом рН-метрического титрования определены его кислотнo-основнoе характеристики. Кроме того, было осуществлено ИК-спектроскопическое исследование L- и D-изомеров исходных аспарагиновой и глутаминовой кислот. В L-КМАК установлено образование цикла между ионизированной α-карбоксильной группой и протонированной аминогруппой с включением в этот цикл молекулы воды за счет водородных связей.

Ключевые слова: L-N-(карбоксиметил)аспарагиновая кислота, кислотнo-основнoе характеристики, ИК-спектроскопическое исследование.

DOI 10.26456/vtchem2019.4.12

С целью исключения негативного влияния на окружающую среду широко применяемых комплексонов, типа этилендиаминтетрауксусной кислоты (ЭДТУК) [1-3], и их замены, синтезирован ряд биологически активных экологически безопасных комплексонов, производных дикарбоновых кислот (КПДК), на основе рацемической аспарагиновой кислоты: (N-(карбоксиметил)аспарагиновая кислота (КМАК) [4], N,N'-бис(карбоксиметил)аспарагиновая кислота (БКАК) [5], иминодиянтарная кислота (ИДЯК) [6-9]). Дополнительно синтезирован на основе рацемической глутаминовой кислоты комплексон - гомолог БКАК, а именно, (N,N'-бис(карбоксиметил)глутаминовая кислота (БКГК) [10-12].

Важнейшей особенностью комплексонов синтезированных на базе аспарагиновой и глутаминовой аминокислот является их экологическая безопасность за счет того, что под действием солнечного света они способны к разложению [13].

Однако в живой природе часто бывает востребована определенная конфигурация молекул. Так для обеспечения специфических связей в белках природой используются только L-аминокислоты, а в составе нуклеиновых кислот присутствует

исключительно D-дезоксирибоза [14]. На современном этапе природа сталкивается с мощным потоком хиральных соединений антропогенного происхождения. Изменение устоявшегося соотношения L- и D-изомеров в биологических объектах может вызвать некоторые заболевания организма и быть причиной его старения [15]. Авторы цитируемой статьи свидетельствуют, что проблема «хиральной чистоты» биосферы является одной из фундаментальных проблем биохимической физики. Эта, по сути, экологическая тема имеет под собой биогефизическую и биогехимическую основу. Отсюда понятен интерес исследователей к установлению различий в физико-химических свойствах оптических изомеров биологически активных соединений.

Изучение различия свойств оптических изомеров КПДК актуально не только из-за широких возможностей практического применения этих комплексонов [16-23], но и в теоретическом плане. Причина этого состоит в разнообразии стерических эффектов, связанных с пространственным расположением атомов лигандов, например, позволяет изучать влияние на образование цвиттер-ионов таких факторов, как взаимное расположение функциональных групп.

Физико-химические свойства новых экологически безопасных КПДК, производных аспарагиновой (Asp) и глутаминовой (Glu) кислот, в большой степени определяются свойствами исходных дикарбоновых аминокислот. В работе [24] отмечается, что из 20 природных аминокислот изученными можно считать лишь несколько, а именно, глицин, цистеин, аланин и аргинин.

В связи с этим, нами в ряду комплексонов, производных аспарагиновой кислоты, в дополнение к упомянутым КПДК на основе рацемических аминокислот, синтезирован L-изомер N-(карбоксиметил)аспарагиновой кислоты (L-КМАК) и методом рН-метрического титрования определены его кислотно-основные характеристики. Кроме того, было осуществлено ИК-спектроскопическое исследование L- и D-изомеров исходных аспарагиновой и глутаминовой кислот с учетом выводов работы [2], в которой отмечается, что твердые аминокислоты обычно существуют в виде цвиттер-ионов.

Получение L-N-(карбоксиметил)аспарагиновой кислоты (L-КМАК).

В 150 мл воды растворяли 7,2 г LiOH, 133 г (1 моль) L-аспарагиновой и 166,8 г (1,2 моль – избыток на гидролиз) бромуксусной кислот. Полученный раствор нагревали 6 часов на кипящей водяной бане, после чего раствор охлаждали до комнатной температуры, подкисляли HBr до pH 2–2,5 и разбавляли равным объемом метанола. Выпавший осадок L-КМАК отсасывали на воронке Бюхнера, промывали несколько раз метанолом, сушили на воздухе при

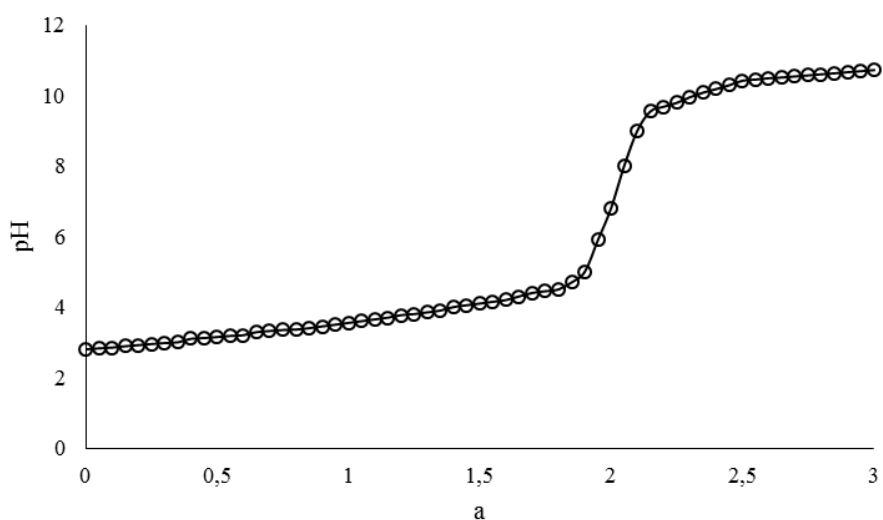
температуре 50-60°C и использовали без дополнительной очистки. Выход 55 % ($C_6NO_6H_9$). Молекулярная масса - 191 г/моль, белые кристаллы, $t_{пл.} = 260^\circ C$, растворимость в воде - 0,283 г/100 мл (20°C). Гидроксид лития для создания щелочной среды при синтезе комплексонов и бромистоводородную кислоту при подкислении раствора использовали в случае применения метанола для выделения целевого продукта. Этот приём обеспечивал отделение образующегося бромида лития от синтезированного комплексона благодаря высокой растворимости LiBr в метаноле.

Результаты элементного анализа:

Найдено (%): C, 37,70; H, 4,71; N, 7,33. Вычислено (%): C, 37,55; H, 4,82; N, 7,28.

Изучение кислотно-основных характеристик L-КМАК.

Протолитические равновесия в растворе L-КМАК (рис.1) изучали в атмосфере азота при ионной силе 0,1 (KNO_3) и температуре $25 \pm 0,1$. Смесь для титрования, объемом 50 мл, состояла из 2 мл раствора L-КМАК ($5 \cdot 10^{-2}$ моль·л⁻¹), 5 мл раствора (KNO_3) (1 моль·л⁻¹) и бидистиллированной воды. Титрантом служил гидроксид натрия, который готовили растворением металлического натрия в бидистилляте ($5 \cdot 10^{-2}$ моль·л⁻¹). Константы ступенчатой ионизации L-КМАК рассчитывали аналогично [3]



Р и с . 1 . Кривая нейтрализации L-КМАК раствором NaOH

$C_{NaOH} = 5 \cdot 10^{-2}$ моль/л; $I = 0,1$ (KNO_3); $t = 25^\circ C$; а - количество молей щелочи, добавленных при титровании, на 1 моль находящегося в растворе комплексона

Результаты эксперимента

В таблице представлены отрицательные логарифмы концентрационных ступенчатых констант кислотной диссоциации L-КМАК и D,L-КМАК. Для сравнения приведены литературные данные по кислотно-основным характеристикам исходных аспарагиновой (Asp) и глутаминовой (Glu) кислот, а также некоторых других комплексонов, являющихся структурными аналогами L-КМАК: КМГК, БКАК, БКГК.

Т а б л и ц а

Отрицательные логарифмы концентрационных ступенчатых констант кислотной диссоциации L-КМАК, D,L-КМАК, Asp, Glu, КМГК, БКАК, БКГК при $T=25^{\circ}\text{C}$; $I=0,1$ (KNO_3)

Лиганд	pK_1	pK_2	pK_3	pK_4
Asp [30]	3,63	9,47	-	-
Asp [25]	3,95	9,71	-	-
Glu [31]	4,28	9,67	-	-
L-КМАК	$3,32 \pm 0,02$	$4,40 \pm 0,04$	$10,42 \pm 0,01$	-
D,L-КМАК [26]	2,73	3,86	9,68	-
БКАК [28]	2,46	2,79	4,26	9,18
КМГК [27]	2,49	4,16	9,28	-
БКГК [11]	2,56	3,49	5,03	9,36
БКГК [28]	2,56	3,49	5,01	9,39

Из таблицы видно, что величины pK_n (n -основность комплексонов общей формулы H_nL) значительно больше предыдущих ступенчатых значений отрицательных логарифмов констант диссоциации. Это указывает на бетаиновую структуру комплексонов и аминокислот в растворе.

В ряду комплексонов, производных аспарагиновой кислоты, основность атомов азота последовательно понижается с присоединением к аспарагиновой кислоте как одной ацетатной группы (КМАК) обеспечивающей отрицательный индукционный эффект, так и двух ацетатных групп (БКАК): pK_2 (Asp) = 9,71 > pK_3 (КМАК) = 9,68 > pK_4 (БКАК) = 9,18.

У комплексонов на основе глутаминовой кислоты такая закономерность не прослеживается pK_2 (Glu) = 9,67 > pK_3 (КМГК) = 9,28 < pK_4 (БКГК) = 9,36. С учетом того, что достоверность констант диссоциации глутаминовой кислоты проверена временем, а практически одинаковые кислотно-основные характеристики БКГК опубликованы не только нами [10], но и в 2012 году японскими исследователями [29], можно выразить сомнение в корректности данных полученных в работе [27].

Особого внимания заслуживает высокая активность атома азота L-КМАК ($pK_4=10,42$). Это может быть объяснено тем, что прежде чем оторвать бетаиновый водород от аминогруппы у L-изомера при титровании, нужно предварительно разрушить цикл ионизированной α -карбоксильной группы и протонированной аминогруппы с молекулой воды, включенной в этот цикл за счет водородных связей. Это хорошо иллюстрируется на примере с конфигурацией L-глутаминовой и D-глутаминовой кислотами (рис. 2, рис 3).

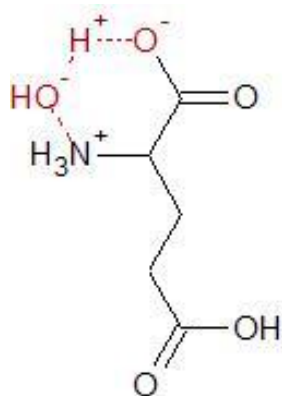


Рис. 2.
L-глутаминовая кислота

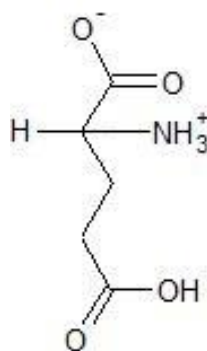


Рис. 3.
D-глутаминовая кислота

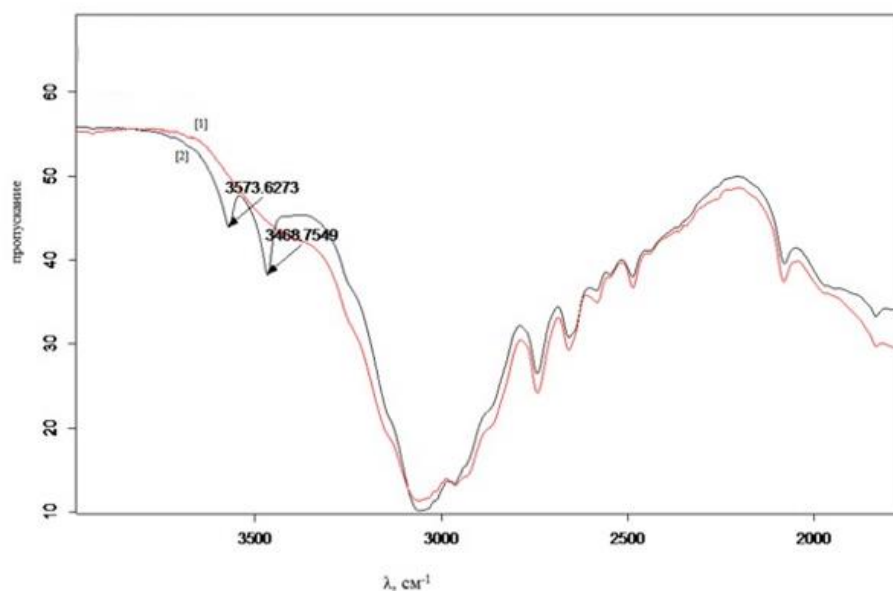
В составе КПДК наиболее кислыми свойствами обладают α -карбоксильные группы дикарбоновых кислот. Это объясняется наличием отрицательного индуктивного эффекта у уксусно-кислотных остатков, содержащих в качестве заместителя у α -углеродного атома группы $-(CH_2)_nCOOH$ (в нашем случае $n=1$ для янтарной и $n=2$ для глутаровой кислот).

Спектры снимали на ИК спектрофотометре Spectrum One (Perkin Elmer). Образцы для съемки ИК спектров готовили в виде таблеток, которые прессовали из смеси исследуемого вещества и KBr. Например, брали по очереди навеску около $1 \cdot 10^{-4}$ моль D,L-глутаминовой, L-глутаминовой, L-аспарагиновой кислот и смешивали с 0,72 г бромида калия. В фарфоровой ступке смесь тщательно растирали, так чтобы диспергированное исследуемое вещество достигло размера частиц 2-7 мкм. Полученную смесь прессовали в таблетку.

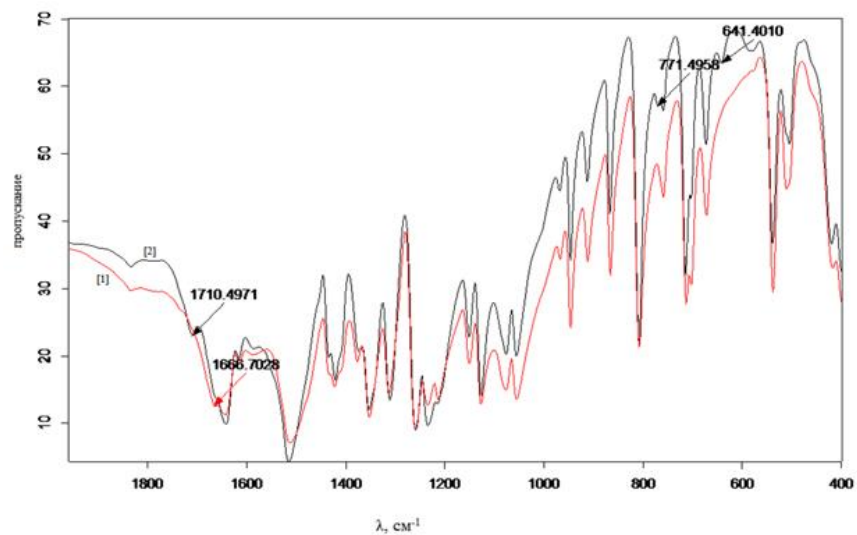
ИК спектры снимали в диапазоне $450 - 3800 \text{ см}^{-1}$, однако, прежде всего рассматривали область $1400 - 1800 \text{ см}^{-1}$, поскольку именно в этой области находятся полосы поглощения, принадлежащие группам $\text{C}=\text{O}$, $\text{C}-\text{O}$ и являющиеся основным источником информации об исследуемых комплексах. Для всех изучаемых объектов дополнительно снимали спектры именно в этой области $1400 - 1800 \text{ см}^{-1}$, что обеспечивало большую надежность измерений и точность определения положения полос.

Для проверки этого предположения нами были сняты ИК-спектры L-изомеров исходных аминокислот, т.е. L-аспарагиновой и L-глутаминовой кислот. Для сравнения был снят спектр D,L-глутаминовой кислоты.

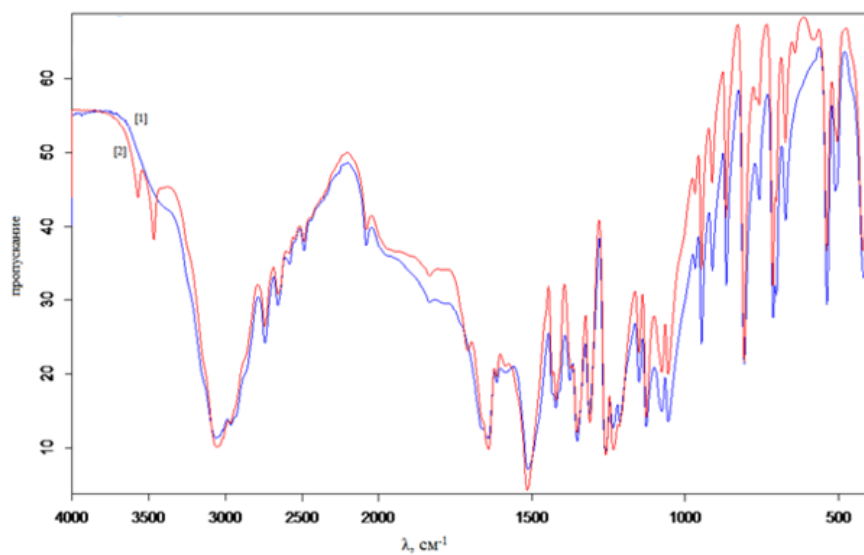
Результаты ИК спектроскопического изучения аминокислот, используемых для синтеза комплексов:



a)

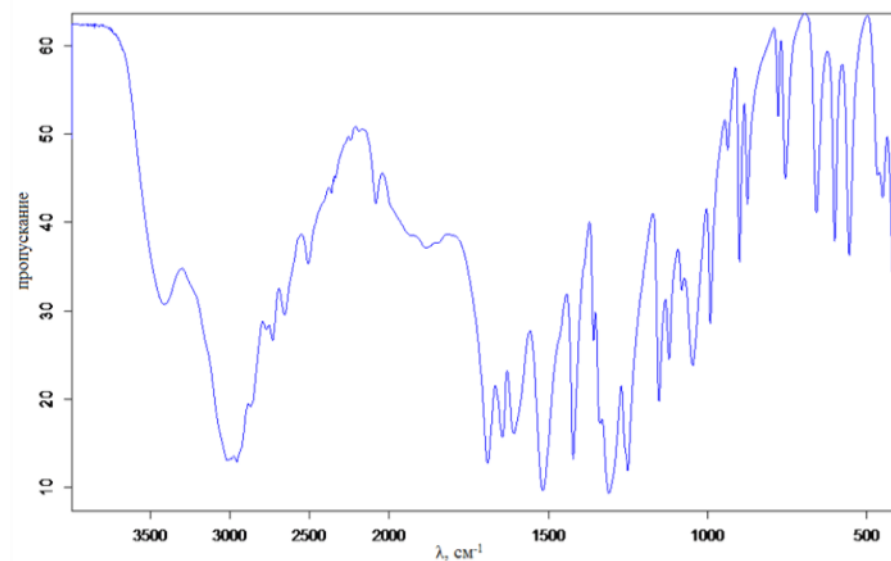


б)



в)

Рис. 4. ИК спектры L-глутаминовой кислоты (1) и D,L-глутаминовой кислоты (2) в различных диапазонах исследуемых частот (а, б, в).



Р и с . 5 . ИК спектр L-аспарагиновой кислоты

Обсуждение результатов

Присутствие функциональных групп в молекулах устанавливалось по характерному поглощению в определенной области спектра. С помощью ИК спектров нами предпринята попытка различить D - и D,L- образцы глутаминовой кислоты.

При сравнении ИК спектров порошкообразных L-глутаминовой кислоты и D,L – глутаминовой кислоты фирмы «Reanal» (Венгрия) (рис. 3, 4) было установлено, что в твердом состоянии они имеют бетаиновую структуру. Это подтверждается полосой поглощения, присутствующей в спектрах обоих образцов при 1615 см^{-1} . Более выраженная полоса поглощения при 1376 см^{-1} у L-изомера подчеркивает наличие цвиттер-иона $^+\text{NH}_3\text{-CH}_2\text{COO}^-$, способного образовывать водородные связи. Наличие полосы поглощения при 1710 см^{-1} [32] и двух полос поглощения при 3468 см^{-1} и 3572 см^{-1} у D,L-глутаминовой кислоты свидетельствуют о том, что в её составе присутствует первичная аминогруппа с присоединенным ионом водорода α -карбоксовой группы и α -карбоксовая группа в диссоциированной форме (влияние D-изомера), тогда как у L-изомера указанные полосы поглощения отсутствуют. Это может быть объяснено тем что у L-изомера, образуется замкнутый цикл ионизированной α -карбоксовой группы и протонированной аминогруппы за счет образования внутримолекулярных водородных связей с молекулой воды [33].

При исследовании ИК спектра порошкообразной L-аспарагиновой кислоты фирмы «Reanal» (рис. 5) установлено, что в твердом состоянии она имеет бетаиновую структуру. Это подтверждается полосой поглощения при 1610 см^{-1} . В ИК спектре L-аспарагиновой кислоты отсутствует полоса поглощения в районе $1740\text{--}1750\text{ см}^{-1}$. Это служит дополнительным доказательством наличия бетаиновой структуры, т.е., что протон локализован не при карбоксилат-ионе, а при аминной группе. Наличие полосы поглощения при 1418 см^{-1} свидетельствует об образовании водородных связей. Это может быть объяснено тем что, образуется замкнутый цикл ионизированной α -карбоксильной группы и протонированной аминогруппы за счет образования внутримолекулярных водородных связей с молекулой воды.

Заключение

В ряду комплексонов, производных аспарагиновой кислоты, основность атомов азота последовательно понижается в результате присоединения к аспарагиновой кислоте одной ацетатной группы (КМАК), обеспечивающей отрицательный индукционный эффект, и второй ацетатной группы, увеличивающей отрицательный индукционный эффект. По литературным данным для комплексонов на основе глутаминовой кислоты такая закономерность не прослеживается. Синтезирован L-изомер N-(карбоксиметил)аспарагиновой кислоты. Атом азота L-КМАК имеет высокую основность ($pK_4 = 10.42$). Это объясняется образованием цикла между ионизированной α -карбоксильной группой и протонированной аминогруппой с включением в этот цикл молекулы воды за счет водородных связей. Этот вывод подтверждается и при сравнении ИК-спектров L-изомеров исходных L-аспарагиновой и L-глутаминовой аминокислот.

Список литературы

1. Hyvonen H., Aksela R. // J. Coord. Chem. 2012. V. 65. No 19. P. 3352–3362. DOI: 10.1080/00958972.2012.708741.
2. Gomez-Zavaglia A., Fausto R. // Phys. Chem. Chem. Phys. 2003. V. 5. P. 3154–3161. DOI: 10.1039/B304888H.
3. Loginova E.S., Nikol'skii V.M., Tolkacheva L.N., Luk'yanova N.I. // Russian Chemical Bulletin 2016. V. 65. No 9. P. 2206–2210. DOI: 10.1007/S11172-016-1569-7.
4. Lytkin A.I., Chernyavskaya N.V., Nikol'skii V.M., Orlova T.D. // Russian Journal of Physical Chemistry A 2009. V. 83. No 7. P. 1061–1065. DOI: 10.1134/S0036024409070012.

5. Lytkin A.I., Chernyavskaya N.V., Nikol'skii V.M. // Russian Journal of Coordination Chemistry 2007. V. 33. No 6. P. 400–402. DOI: 10.1134/S1070328407060036.
6. Никольский В.М. Иминодиянтарная кислота в качестве комплексона: А.с. №629208. СССР // Б.И. 1978, №39.
7. Tolkacheva L.N., Nikol'skii V.M. // Russian Journal of Physical Chemistry A 2012. V. 86. No 3. P. 396–398. DOI: 10.1134/S0036024412030314.
8. Tolkacheva L.N., Nikol'skii V.M. // Russian Journal of Physical Chemistry. A. 2013. V. 87. No 9. P. 1498–1501. DOI: 10.1134/S0036024413080256.
9. Яковлев А.А., Никольский В.М., Толкачева Л.Н., Симонова М.В. Способ синтеза 1,6-гексаметилендиамин-N,N'-диянтарной кислоты: Патент РФ №2527271 // Б.И. 2014. № 24.
10. Никольский В.М., Горелов И.П. // Журнал общей химии 1977. Т. 47. №7. С. 1606–1611. // Russian Journal of Physical Chemistry A. 2014. V. 88. No 10. P. 1813–1816. DOI: 10.1134/S0036024414100148.
11. Gridchin S.N., Nikol'skii V.M., Tolkacheva L.N. // Russian Journal of Inorganic Chemistry 2015. V. 60. No 3. P. 383–386. DOI: 10.1134/S0036023615030079.
12. Smirnova T.I., Khizhnyak S.D., Nikol'skii V.M. et al // Russian Journal of Applied Chemistry 2017. V. 90. No 4. P. 507–511. DOI:org/10.1134/S10.1134/S1070427217040024.
13. Гольданский В.Н., Кузьмин В.В. // Успехи физических наук 1989. Т. 157. №1. С. 3–50.
14. Твердислов В.А., Яковенко Л.В., Жаворонков А.А. // Российский химический журнал. 2007. Т. 51. №1. С. 13–22.
15. Логинова Е.С., Лукьянова Н.И., Никольский В.М. и др. Способ растворения накипно-коррозионных отложений: Патент РФ №2592952 // Б.И. 2016, № 21.
16. Волчкова Е.С., Никольский В.М., Логинова Е.С. и др. Способ получения комплексобразующего сорбента: Патент РФ №2585020 // Б.И., 2016, № 15.
17. Яковлев А.А., Никольский В.М., Толкачева Л.Н. Способ получения гуминовых стимуляторов роста: Патент РФ № 257789 // Б.И. 2016, №8.
18. Смирнова Т.И., Малахаев Е.Д., Никольский В.М. и др. Способ увеличения биомассы культивируемых зеленых растений: Патент РФ №2567190 // Б.И., 2015, №31.
19. Никольский В.М., Логинова Е.С., Яковлев А.А. Способ антикоррозионной обработки поверхности черных металлов: Патент РФ № 2565170 // Б.И., 2016, № 29.
20. Варламова А.А., Гюльханданьян Е.М., Никольский В.М. и др. Индикаторная бумага для анализа нитратов: Патент РФ №169694 // Б.И., 2017, №10.
21. Копич Н.И., Никольский В.М., Толкачева Л.Н. и др. Способ получения минерального комплекса с помощью этилендиаминдиянтарной кислоты: Патент РФ №2543352 // Б.И., 2015, №6.

22. Новикова Л.А., Гридчин С.Н., Волчкова Е.С. и др. Шунгитовая композиция с активными добавками комплексонов: Патент РФ №2683574 // Б.И., 2019, №10.
23. Андреева О.А., Буркова Л.А., Подешво И.В. // Химическая физика. 2015. Т. 34. №12. С. 32–38.
24. Борисова А.П., Савич И.А. // Журнал физической химии 1977. Т. 51. №3. С. 641–645.
25. Knyazeva N.E., Nikol'skii V.M., Gorelov I.P. // Russian Journal of Coordination Chemistry 2002. V. 28. No 2. P. 127–130. DOI: 10.1023/A:1014236202268.
26. Snyder R., Angelici R. // J. Inorg. Nucl. Chem. 1973. V.35. P. 523–535.
27. Никольский В.М., Горелов И.П. // Журнал неорганической химии 1975. Т. 20. №12. С. 3191–3193.
28. Begum Z.A., Rahman I.M.M., Tate Y., Egawa Y., Maki T., Hasegawa H. // Journal of Solution Chemistry 2012. V. 41. No 10. P. 1713–1728. DOI: 10.1007/s10953-012-9901-9.
29. Schmidt C.L.A., Appelman W.R.A. and Kirk P.L. // J. Biol. Chem. 1929. V. 85. P. 137–140.
30. Lumb R.F. and Martell A.E. // J. Phys. Chem. 1953. V. 57. No 7. P. 690–693.
31. Митрофанова Н. Д. Автореф. канд. хим. наук. М.: МГУ, 1966.
32. Schwarzenbach G. // Helv. Chim. acta. 1952. No 35. P. 2344–2359.

ECOLOGICALLY SAFE STEREOISOMERS OF COMPLEXONS

E.S. Biberina¹, V.M. Nikol'skiy², A.A. Varlamova²

¹*Center for Hygiene and Epidemiology in the Tver Region*

²*Tver State University*

A series of environmentally safe bioactive chelators based on racemic aspartic and glutamic acids have been obtained. In addition, an optically active L-isomer of N-(carboxymethyl) aspartic acid (L-CMA) was synthesized, and its acid-base characteristics were determined by pH-titration analysis. The detected high activity of the nitrogen atom of L-CMA ($pK_4 = 10.42$) is apparently due to the betainic structure of this compound in solution and formation of a cycle with an intramolecular hydrogen bond between the nitrogen atom of the protonated amino group and the oxygen atom of the water molecule included in this cycle. This hypothesis is confirmed by IR spectral analysis of the L-isomers of the parent acids.

Keywords: *L-N- (carboxymethyl) aspartic acid, acid-base characteristics, IR spectroscopic study.*

Об авторах:

БИБЕРИНА Евгения Сергеевна – кандидат химических наук, инженер Центра гигиены и эпидемиологии в Тверской области, e-mail: jeniatver@inbox.ru

НИКОЛЬСКИЙ Виктор Михайлович – доктор химических наук, профессор кафедры неорганической и аналитической химии Тверского государственного университета, e-mail: p000797@tversu.ru

ВАРЛАМОВА Анна Александровна – аспирантка 1 года обучения Тверского государственного университета, e-mail: varlamova-1995@mail.ru

Поступила в редакцию 11 ноября 2019 г.