



УДК 547.953:577.115.4:543.25

СИНТЕЗ И ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ОСНОВАНИЙ ШИФФА АМИНОКИСЛОТ С САЛИЦИЛОВЫМ АЛЬДЕГИДОМ

© 1995 г. Е. Ю. Лурье, Е. М. Мосина, А. А. Ефремова, А. П. Каплун*, В. И. Швец

*Московская государственная академия тонкой химической технологии им. М.В. Ломоносова,
117571, Москва, просп. Вернадского, 86*

Поступила в редакцию 12.10.94 г.

Получен ряд оснований Шиффа α- и ω-аминокислот с салициловым альдегидом. Исследованы физико-химические свойства полученных соединений, в том числе и флуоресцентные, определены их константы гидролиза при pH 6,0, 7,0, 8,0.

Ключевые слова: аминокислоты, гидроксibenзальдегид, основания Шиффа, флуоресценция, константа гидролиза.

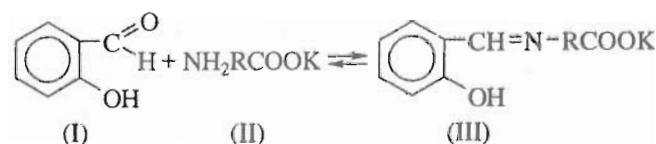
Основания Шиффа аминокислот и ароматических альдегидов проявляют широкий спектр биологической активности. Так, основания Шиффа коричневого альдегида и аминокислоты обладают противобактериальной [1] и противогрибковой активностью [2]. Получен ряд антираковых препаратов [3], содержащих азометиновые структуры. Соединения этого класса используются в химии пищевых добавок [4, 5] и парфюмерной промышленности [6, 7].

С другой стороны, основания Шиффа представляют большой интерес как удобные объекты для исследования ряда теоретических проблем органической химии [8]: *цис-транс*-изомерии, вопросов таутомерии, а также для изучения природы термо- и фотохромизма [9 - 11], межмолекулярных и внутримолекулярных водородных связей и т.д.

В работах Белокопя с сотр. [12 - 16] комплексные соединения оснований Шиффа, полученных из салицилового альдегида и аминокислот, были использованы для разделения энантиомеров аминокислот, а также для их асимметрического синтеза. Такие основания Шиффа, являясь аналогами комплексов, образующихся при реакции пиридоксальфосфата с аминокислотами в процессе ферментативного трансаминирования [17 - 20], могут использоваться при моделировании ката-

литического действия пиридоксальных ферментов [21].

Несмотря на такое широкое применение оснований Шиффа, их выделяют редко, так как они, как правило, являются промежуточными продуктами и не очень стабильны. Цель нашей работы заключалась в синтезе и изучении химико-физических свойств оснований Шиффа, получаемых при конденсации салицилового альдегида с ω-аминокислотами. Данные соединения – промежуточные продукты синтеза новой группы биологически активных веществ – N-гидроксibenзиламинокарбоновых кислот [22] и могут представлять интерес в качестве моделей гидролизуемых



Основание Шиффа (II)	R	Основание Шиффа (III)	R
ShC ₂	-CH ₂ -	ShAsp	-CH- CH ₂ COOK
ShC ₃	-(CH ₂) ₂ -	ShGlu	-CH- (CH ₂) ₂ COOK
ShC ₄	-(CH ₂) ₃ -		
ShC ₆	-(CH ₂) ₅ -		
ShC ₇	-(CH ₂) ₆ -		
ShC ₉	-(CH ₂) ₈ -		
ShC ₁₁	-(CH ₂) ₁₀ -		

Сокращения: ShC_n – N-(2-гидроксibenзилиден)-ω-аминокарбоновые кислоты (n – количество атомов углерода в цепи); ShAsp и ShGlu – N-(2-гидроксibenзилиден)-α-аминокарбоновые кислоты, полученные при конденсации салицилового альдегида с α-аминокислотами (Asp и Glu соответственно).

* Автор для переписки.

Схема.

предшественников лекарств, мембранных флуоресцентных зондов и т.д.

Синтез оснований Шиффа проводили по модифицированной методике [23] в метаноле в присутствии КОН и при охлаждении. Образовавшуюся в ходе реакции калиевую соль основания Шиффа осаждали эфиром.

Индивидуальность полученных N-(2-гидроксibenзилиден)аминокарбоновых кислот (III) подтверждали данными элементного анализа и узким

интервалом температур плавления. Все синтезированные основания Шиффа (III) имеют высокие температуры плавления в интервале 170 - 235°C (табл. 1). Определение индивидуальности оснований Шиффа по ТСХ затруднительно, так как во время хроматографирования происходит их частичный гидролиз.

Основания Шиффа имеют характерные электронные спектры с полосами поглощения 256, 278, 316 и 400 нм, в случае ShAsp и ShGlu полоса

Таблица 1. Свойства N-(2-гидроксibenзилиден)аминокарбоновых кислот (III)

Соединение	¹ H-ЯМР, м. д.* (мультиплетность, количество протонов, J, Гц)	УФ**, λ, нм (ε, М ⁻¹ см ⁻¹)	Т. пл., °С	R _f ***
ShC ₂	4.71 (д, 2H, CH ₂ , J 1), 6.81 (м, 2H, CH аром.), 7.29 (м, 2H, CH аром.), 8.40 (уш. с, 1H, CH=N)	402 (1400) 322 (2700) 256 (8900)	218 - 219	0.45
ShC ₃	2.57 (т, 2H, 2-CH ₂ , J _{2,3} 7), 3.87 (дт, 2H, 3-CH ₂ , J _{2,3} 7, J 1), 6.79 (м, 2H, CH аром.), 7.29 (м, 2H, CH аром.), 8.46 (уш. с, 1H, CH=N)	402 (1400) 316 (2500) 276 (3000) 256 (8500)	170 - 171	0.72
ShC ₄	2.02 (м, 2H, 3-CH ₂), 2.16 (т, 2H, 2-CH ₂ , J _{2,3} 7.5), 3.68 (т, 2H, 4-CH ₂ , J _{3,4} 7, J 1), 6.82 (м, 2H, CH аром.), 7.33 (м, 2H, CH аром.), 8.48 (уш. с, 1H, CH=N)	403 (1800) 316 (3200) 276 (3900) 256 (10500)	215 - 216	0.74
ShC ₆	1.40 (м, 2H, 4-CH ₂), 1.74 (м, 4H, 3-CH ₂ и 5-CH ₂), 2.22 (т, 2H, 2-CH ₂ , J _{2,3} 7), 3.65 (дт, 2H, 6-CH ₂ , J _{5,6} 7, J 1), 6.82 (м, 2H, CH аром.), 7.38 (м, 2H, CH аром.), 8.45 (уш. с, 1H, CH=N)	402 (1900) 316 (2800) 279 (4100) 253 (9600)	212 - 213	0.83
ShC ₇	1.38 (м, 4H, 4-CH ₂ и 5-CH ₂), 1.65 (м, 4H, 3-CH ₂ , 6-CH ₂), 2.16 (т, 2H, 2-CH ₂ , J _{2,3} 7.5), 3.40 (дт, 2H, 7-CH ₂ , J _{6,7} 7, J 1), 6.80 (м, 2H, CH аром.), 7.34 (м, 2H, CH аром.), 8.40 (уш. с, 1H, CH=N)	402 (2000) 316 (3300) 279 (4400) 253 (10700)	226 - 227	0.85
ShC ₉	1.40 (м, 8H, 4-, 5-, 6- и 7-CH ₂), 1.73 (м, 4H, 3-CH ₂ и 8-CH ₂), 2.16 (т, 2H, 2-CH ₂ , J _{2,3} 7.5), 3.62 (дт, 2H, 9-CH ₂ , J _{8,9} 7, J 1), 6.78 (м, 2H, CH аром.), 7.33 (м, 2H, CH аром.), 8.36 (уш. с, 1H, CH=N)	401 (2000) 316 (3300) 278 (4500) 254 (10900)	224 - 225	0.87
ShC ₁₁	1.19 (м, 12H, 4-, 5-, 6-, 7-, 8- и 9-CH ₂), 1.62 (м, 4H, 3-CH ₂ и 10-CH ₂), 2.16 (т, 2H, 2-CH ₂ , J _{2,3} 7.5), 3.62 (дт, 2H, 9-CH ₂ , J _{8,9} 7, J 1), 6.80 (м, 2H, CH аром.), 7.32 (м, 2H, CH аром.), 8.40 (уш. с, 1H, CH=N)	404 (980) 316 (2900) 278 (4000) 254 (9900)	234 - 235	0.89
ShAsp	2.80 (м, 2H, 2-CH ₂), 4.16 (дд, 1H, 3-CH ₂ , J _{2,3} 8, J _{2,3} 4), 6.72 (м, 2H, CH аром.), 7.30 (м, 2H, CH аром.), 8.40 (с, 1H, CH=N)	400 (980) 325 (2800) 256 (9500)	207 - 208	0.29
ShGlu	2.20 (м, 4H, 2- и 3-CH ₂), 4.00 (дд, 2H, 4-CH ₂ , J _{3,4} 7, J _{3,4} 5), 6.75 (м, 2H, CH аром.), 7.28 (м, 2H, CH аром.), 8.38 (уш. с, 1H, CH=N)	401 (1200) 326 (2600) 256 (8900)	232 - 233	0.44

* ¹H-ЯМР-спектры снимали в CD₃OD; д, т, м, дт, дд, уш. с. – дублет, триплет, мультиплет, дублет триплетов, дублет дублетов, уширенный синглет.

** УФ-спектры снимали в CH₃OH.

*** ТСХ в системе CH₃Cl-CH₃OH-H₂O, 65 : 25 : 4.

поглощения 278 нм наблюдалась в виде плеча (табл. 1). В спектрах ^1H -ЯМР сигнал протона $-\text{CH}=\text{N}-$ обнаруживался в виде уширенного синглета с δ 8.36 - 8.48 м. д., у сигналов протонов метиленовой группы, расположенной рядом с иминным азотом, наблюдалось дополнительное расщепление с константой 1 Гц на метиновом протоне, в остальном спектры (табл. 1) были аналогичны спектрам соответствующих N -(2-гидроксибензил)аминокарбоновых кислот [24].

Цвет полученных оснований Шиффа изменялся в зависимости от длины углеводородной цепи от ярко-желтого, в случае производного β -аланина (ShC_2), до бледно-желтого, для основания Шиффа ω -аминоундекановой кислоты (ShC_{11}).

Характерным свойством полученных оснований Шиффа (III) является их способность флуоресцировать (табл. 2). Интенсивность флуоресценции зависит от структуры соединений. Наибольшие значения интенсивности флуоресценции в метаноле наблюдались у соединений с короткой цепью (ShAsp , ShGlu , ShC_2 - ShC_4), максимум флуоресценции лежит в районе 440 нм. В водных растворах максимум флуоресценции смещается в длинноволновую область на 13 - 20 нм.

Возможность использования оснований Шиффа (например, в качестве гидролизующих предше-

ственников лекарственных препаратов) во многом определяется скоростью их гидролиза. Об устойчивости оснований Шиффа (III) в 0.02 М фосфатном буфере при рН, близких к физиологическим, судили по уменьшению интенсивности поглощения при 400 нм, пропорциональному скорости их гидролиза. Экспериментальные данные описываются кинетическим уравнением первого порядка ($C = C_0 e^{-kt}$, где C и C_0 - текущая и начальная концентрации, k - константа скорости, t - время) с коэффициентом линейной корреляции 0.92 - 0.99. Это подтвердило наши предположения о том, что гидролиз оснований Шиффа является реакцией первого порядка, и позволило вычислить константы гидролиза (табл. 3).

Скорость гидролиза в ряду соединений (III) уменьшается с увеличением длины цепи (табл. 3), что наиболее заметно в кислотной среде, где соединения более лабильны. Константы гидролиза оснований Шиффа аспарагиновой и глутаминовой кислот близки значениям констант гидролиза для ShC_n с короткой цепью.

Таким образом, флуоресцентные свойства оснований Шиффа (III), а также их относительная устойчивость в водных растворах (время полураспада для гидрофобных членов гомологического ряда до 70 мин) обуславливают перспективность дальнейшего изучения как их физико-химических, так и биологических свойств с целью их практического использования.

Таблица 2. Флуоресценция оснований Шиффа (III) в метаноле (λ_{ex} 380 нм)

Соединение	λ_{max}	I , отн. ед.
ShAsp	439	4.67
ShGlu	437	5.04
ShC ₂	440	4.80
ShC ₃	435	1.92
ShC ₄	434	1.34
ShC ₆	460	0.83
ShC ₇	453	0.69
ShC ₉	453	1.07
ShC ₁₁	461	0.61

Таблица 3. Константы гидролиза (k , мин⁻¹) оснований Шиффа (III) при различных рН

Соединение	рН 6.0	рН 7.0	рН 8.0
ShC ₂	0.390	0.077	0.013
ShC ₃	0.071	0.029	0.012
ShC ₄	0.042	0.026	0.011
ShC ₆	0.037	0.023	0.011
ShC ₇	0.028	0.022	0.011
ShC ₉	0.024	0.020	0.010
ShC ₁₁	0.022	0.020	0.009
ShAsp	0.239	0.057	0.014
ShGlu	0.140	0.029	0.010

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Растворители очищали по стандартным методикам. Все остальные вещества квалификации х. ч. и ч. д. а. использовали без очистки.

Для ТСХ применяли пластинки Silufol UV-254 (Kavalier, Чехо-Словакия). ТСХ проводили в системе: хлороформ-метанол-вода, 65 : 25 : 4. Для обнаружения веществ на хроматограммах использовали флуоресценцию или поглощение при УФ-облучении и нингидрин.

УФ-спектры снимали на спектрофотометрах Shimadzu UV-240 (Япония) и Hitachi-320 (Япония) в метаноле (концентрация соединений 2×10^{-4} М), спектры флуоресценции - на спектрофотометрах Hitachi F-4000 и Hitachi 650-60 (Япония) в метаноле (концентрация соединений 2.2×10^{-5} М) (табл. 2). Спектры ^1H -ЯМР получали на спектрометре Bruker MSL-200 с резонансной частотой ядер ^1H 200.13 МГц (внешний стандарт - C_6D_6).

N-(2-Гидроксибензильден)аминокарбоновые кислоты. При перемешивании растворяли 4 ммоль соответствующей аминокислоты (II) в 1% растворе КОН в абсолютном метаноле, содержащем 4 ммоль КОН (в случае ShAsp и ShGlu 8 ммоль КОН). Раствор охлаждали до -4°C и быстро прибавляли к нему 4 ммоль салицилового альдегида (I)

в 10 мл метанола. Цвет раствора становился ярко-желтым, при этом значение рН изменялось от 10 до 7. Перемешивание продолжали в течение 5 мин. Затем реакционную смесь упаривали на 2/3 объема и прибавляли эфир до начала выпадения осадка. Осадок отфильтровывали, промывали эфиром и сушили над P_2O_5 в вакуум-эксикаторе. Выход 78 - 83%, в случае ShC_2 - 64%. Свойства соединений приведены в табл. 1.

Гидролиз оснований Шиффа (Ш). К 5 мл 0.02 М фосфатного буфера (рН 6.0, 7.0, 8.0) прибавляли 50 мкл 2.5×10^{-2} М раствора основания Шиффа в метаноле (конечная концентрация в буфере 2.5×10^{-4} М). Определяли поглощение растворов при 400 нм через 0.3, 5, 10, 15, 30, 45, 60 и 90 мин (табл. 3).

Работа выполнена при поддержке грантом в рамках Российской межвузовской научно-технической программы "Основы биотехнологии".

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Lakshmi U.V., Sridhar P., Polasa H. // Indian J. Pharm. Sci. 1985. V. 47. P. 202 - 204.
2. Dwivedi B.K., Bhatgar K., Srivatsava A.K. // Indian J. Chem. 1987. V. 126. P. 618 - 620.
3. Taud A., Lieu E.J., Lai M.M.C. // J. Med. Chem. 1985. V. 28. P. 1103 - 1106.
4. Mookhejee B.D., Trenkle R.W., Calderone N., Fenn R.S. Пат. США № 4853369 (МКИ А61К 7/46).
5. Mookhejee B.D., Trenkle R.W. Пат. США № 4880640 (МКИ А23L 1/26).
6. Gunther K., Hinrich M., Edgar L. Заявка ФРГ DE 3545245 А. 1
7. Mookhejee B.D., Trenkle R.W., Calderone N. Пат. США № 4915866 (МКИ С11D 3/50).
8. Belokon Y.N., Sagyan A.S., Djatgaryan S.A., Bakhmutov V.I. // J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1990. P. 2301 - 2310.
9. Осипов О.А., Жданов Ю.А., Княжанский М.Н., Минкин В.И., Содеков И.Д. // Азометины. Ростов: Изд-во Ростовск. ун-та, 1967. С. 43 - 71.
10. Cohen M., Schmidt G. // J. Phys. Chem. 1962. V. 66. P. 2442.
11. Cohen M., Schmidt G. Hydrogen Bonding. L.: Pergamon Press, 1959. 293 P.
12. Белоконов Ю.Н., Беликов В.М., Каргинов Б.А., Петровский П.В. // Изв. АН СССР. Сер. хим. 1974. Т. 10. С. 2303 - 2307.
13. Белоконов Ю.Н., Савельева Т.Ф., Пасконова Е.А., Беликов В.М., Петровский П.В. // Изв. АН СССР. Сер. хим. 1974. Т. 11. С. 2504 - 2512.
14. Белоконов Ю.Н., Савельева Т.Ф., Пасконова Е.А., Беликов В.М. // Изв. АН СССР. Сер. хим. 1976. Т. 11. С. 2574 - 2581.
15. Белоконов Ю.Н., Беликов В.М., Каргинов А.А., Тараров В.И. // Изв. АН СССР. Сер. хим. 1976. Т. 11. С. 2567 - 2573.
16. Белоконов Ю.Н., Беликов В.М., Фалиев Н.Г., Понуров Г.Д. // Открытия, изобретения, промышленные образцы, товарные знаки. 1977. Т. 54. С. 75.
17. Морозов Ю.В., Амазов В.П., Чехов В.О. // Биохимия. 1989. Т. 54. С. 719 - 725.
18. Garcia del Vado M.A., Donoso G., Munoz F., Echevarria G., Garcia Blanco F. // J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2. 1987. V. 4. P. 445 - 448.
19. Vazques M.A., Donoso G., Munoz F. // J. Mol. Catal. 1990. V. 59. P. 137 - 145.
20. Ленинджер А. Основы биохимии. М.: Мир, 1985. С. 281 - 283.
21. Белоконов Ю.Н., Тараров В.И., Савельева Т.Ф., Беликов В.М. // Macromol. Chem. 1980. V. 181. P. 2183 - 2197.
22. Lurie E., Kaplun A., Kulakov V., Matveev V., Shvets V. // Biochem. Mol. Biol. Int. 1993. V. 30. P. 99 - 105.
23. Heintz D., Martell A.E. // J. Amer. Chem. Soc. 1962. V. 84. P. 3257 - 3261.
24. Лурье Е.Ю., Каплун А.П., Кулаков В.И., Швец В.И. // Биоорган. химия. 1995. Т. 21. № 4. С. 312 - 316.

Synthesis and Physicochemical Properties of Schiff Bases of Amino Acids with Salicylaldehyde

E. Yu. Lurie, E. M. Mosina, A. A. Efremova, A. P. Kaplun¹, and V. I. Shvets
Lomonosov Academy of Fine Chemical Technology, pr. Vernadskogo 86, Moscow 117571, Russia

Abstract - A series of the Schiff bases of α - and ω -amino acids with salicylaldehyde was synthesized. The physicochemical properties of the substances obtained, including the fluorescent characteristics, were examined, and the hydrolysis constants at pH 6.0, 7.0, and 8.0 were determined.

Key words: amino acids, hydroxybenzaldehyde, Schiff bases, fluorescence, hydrolysis constant.

¹ To whom correspondence should be addressed.