



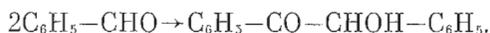
УДК 577.164.11.04

**БЕНЗОИНОВАЯ КОНДЕНСАЦИЯ, КАТАЛИЗИРУЕМАЯ ТИАМИНОМ
И ТИАМИНПИРОФОСФАТОМ.
ВЛИЯНИЕ МОЛЕКУЛЯРНОГО КИСЛОРОДА***Ясников А. А., Вовк А. И., Мурадов А. З.**Институт органической химии Академии наук УССР, Киев**Богатский А. В., Лукьяненко Н. Г.**Физико-химический институт Академии наук УССР, Одесса*

Показано, что O_2 ингибирует бензойную конденсацию, катализируемую тиаминном (витамином B_1). Максимальная каталитическая активность тиамина в анаэробных условиях наблюдается при проведении реакции в диметилсульфоксиде. Действие O_2 не зависит от наличия в молекуле катализатора пирофосфатной группы. Обсуждается механизм влияния O_2 на катализ бензойной конденсации тиаминном и тиаминпирофосфатом.

Тиаминпирофосфат является коферментом ряда ферментов [1], катализирующих, в частности, расщепление С—С-связи α -кетокислот с образованием ацилоинов. Последовательность превращений при тиаминпирофосфатном катализе была определена в результате исследований свойств промежуточных фермент-субстратных комплексов и модельных химических реакций, катализируемых аналогами тиаминпирофосфата — тиаминном и тиазолиевыми солями, не замещенными во втором положении тиазолиевого цикла [1, 2]. Ранее было показано [3, 4], что ацилоиновая конденсация ацетальдегида и бензальдегида, катализируемая тиазолиевыми солями, ингибируется O_2 .

Известно также, что O_2 может быть акцептором электронов при катализе окислительного декарбоксилирования пировиноградной кислоты пируватдегидрогеназой, содержащей тиаминпирофосфат [5]. В связи с этим представляло интерес выяснить в модельной системе влияние O_2 на каталитические активности тиаминпирофосфата и тиамина в реакциях образования ацилоинов. Настоящая работа посвящена изучению бензойной конденсации — неферментативной реакции, катализируемой тиаминном и его пирофосфорным эфиром:



В опытах без защиты от кислорода воздуха при катализе тиаминпирофосфатом и тиаминном в протонных растворителях (метанол — вода, этанол — вода, метанол) реакция протекает с выходом 3–10%. В присутствии хлоридов 3-бензил-4-метилтиазолия, 3-бензил-4,5-диметилтиазолия, 3-бензил-4-метил-5- β -оксипропилтиазолия выход бензоина составляет 8–13% (бензальдегид 1,75 М, катализатор 0,044 М, при оптимальных концентрациях щелочи). В анаэробных условиях каталитические активности тиамина и тиаминпирофосфата заметно отличаются от активности тиазолиевых солей. В присутствии тиазолиевых солей бензальдегид на 40–60% превращается в бензоин, выход бензоина в присутствии тиамина в этих условиях возрастает незначительно. Так, в смеси этанол — вода (9 : 1) выход бензоина в реакции, катализируемой тиаминном, увеличивается от 4% в опытах без защиты от O_2 до 8% в вакуумированной системе. В протонных растворителях O_2 не влияет на тиаминпирофосфатный катализ.

Выбор апротонного растворителя для модельной реакции обоснован тем, что активный центр пируватдекарбоксилазы в результате взаимодейст-

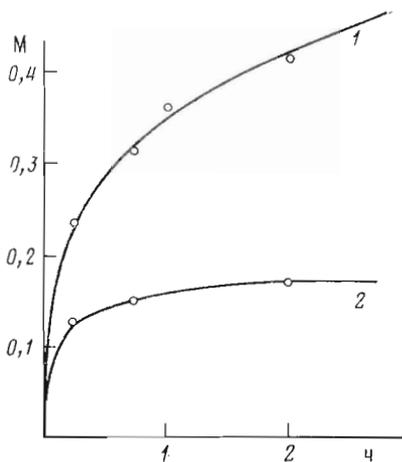


Рис. 1

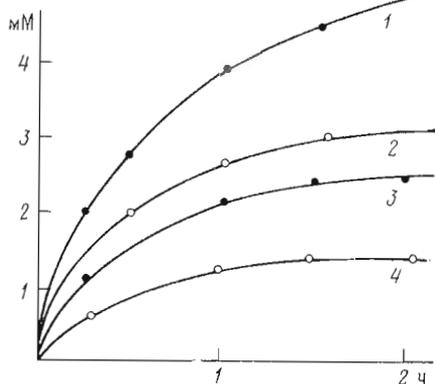


Рис. 2

Рис. 1. Изменение концентрации бензоина во времени в вакуумированной системе (1) и в присутствии O_2 воздуха (2). Диметилсульфоксид — этанол (8,8 об.%). Концентрация (M): бензальдегида 1,70, тиаминна 0,044, KOH 0,066

Рис. 2. Изменение концентрации бензоина во времени в вакуумированной системе (1, 3) и без защиты от O_2 воздуха (2, 4) в присутствии тиаминпирофосфата (3, 4) и тиаминна (1, 2). Диметилсульфоксид — вода (1,4 об.%). Концентрация (M): бензальдегида 0,10, катализатора 0,005, KOH 0,005 (1, 2) и 0,02 (3, 4)

вия апофермента с тиаминпирофосфатом имеет гидрофобную природу [6]. Оказалось, что более полно бензоиновая конденсация, катализируемая тиаминном и тиаминпирофосфатом, протекает в диметилсульфоксиде, причем на активность катализатора в гидрофобном окружении заметно влияет O_2 . При использовании очищенного и свежеперегнанного бензальдегида количество бензоина, рассчитанное на 1 моль тиаминна, возрастает от 4 моль в опытах без защиты от O_2 до 9 моль в анаэробных условиях (рис. 1).

Ингибирование молекулярным кислородом не зависит от наличия в молекуле катализатора пирофосфатной группы. В связи с плохой растворимостью тиаминпирофосфата реакцию проводили при более низких концентрациях катализатора и бензальдегида (рис. 2). В условиях модельных опытов введение пирофосфатного остатка в молекулу тиаминна вызывает уменьшение его активности. Выход бензоина в диметилсульфоксиде с добавлением макроциклического полиэфира дибензо-18-короны-6, позволяющего перевести тиаминпирофосфат в раствор, по-видимому, за счет образования связей между ионизированным кислородом пирофосфатного остатка и K^+ в макроцикле, также заметно ниже, чем в опытах с его нефосфорилированным аналогом.

Обычно в ферментативном процессе пирофосфатная группа кофермента в присутствии ионов металлов взаимодействует с апоферментом [7]. При неферментативном катализе тиаминпирофосфатом накопление бензоина сопровождается гидролизом пирофосфатной связи катализатора. Количество образовавшегося фосфата не зависит от присутствия в реакционной смеси O_2 и составляет около 40–60% от концентрации пирофосфорного эфира тиаминна.

Механизм каталитического действия тиаминна и тиаминпирофосфата в присутствии основания включает образование тиазольевого ильда (I), аддукта (II), α -карбаниона (III) [2].

Представленная схема не объясняет, однако, специфичность катализа тиаминном и его аналогами. Мало вероятным является механизм образования α -карбаниона (III) в результате прямой атаки иона гидроксила на 2-(α -оксибензил)тиазольевый ион, так как протон у атома кислорода оксибензильного остатка более кислый, чем у α -углерода. Примерные значения pK_a этих протонов в молекуле 2-(α -оксиэтил)тиаминпирофосфата равны

Экспериментальная часть

В работе использовали хлоридат тиаминхлорида (Merck, ФРГ), тиаминпирофосфатхлорид (Союзреактив).

300 мл бензальдегида (ч.) промывали двумя порциями по 150 мл насыщенного водного раствора Na_2CO_3 , 50 мл насыщенного раствора Na_2SO_3 , а затем водой. После этого бензальдегид сушили над безводным Na_2SO_4 и перегоняли.

Синтез дибензо-18-короны-6 выполнен по методу [11].

Растворы катализатора, альдегида и основания смешивали после удаления газов в вакууме ($1 \cdot 10^{-2}$ Па) в специальных сосудах. Термостатированные сосуды для проведения бензойной конденсации, катализируемой тиаминпирофосфатом, были снабжены магнитными мешалками. Опыты проводили при 34°C .

Концентрацию бензойна определяли по методу [12]. Тиаминпирофосфат и тиамин в концентрациях, сравнимых с концентрацией бензойна, не влияли на его определение. Макроциклический полиэфир перед определением бензойна экстрагировали эфиром.

Неорганический фосфат определяли, предварительно обрабатывая пробы активированным углем [13].

ЛИТЕРАТУРА

1. Кочеров Г. А. Тиаминные ферменты. М.: Наука, 1978, с. 8–37.
2. Breslow R. J. Amer. Chem. Soc., 1958, v. 80, № 14, p. 3719–3726.
3. Бабичева А. Ф., Вовк А. И., Ясников А. А. Укр. хим. ж., 1976, т. 42, № 3, с. 259–261.
4. Вовк А. И., Бабичева А. Ф., Ясников А. А. Докл. АН УССР. Сер. Б., 1977, № 12, с. 1090–1094.
5. Bresters T. W., De Abreu R. A., De Kok A., Visser J., Veeger C. Eur. J. Biochem., 1975, v. 59, № 2, p. 335–345.
6. Ullrich J., Donner I. Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem., 1970, B. 351, № 8, S. 1030–1034.
7. Wittorf J. H., Gubler C. J. Eur. J. Biochem., 1970, v. 14, № 1, p. 53–63.
8. Crosby J., Stone R., Lienhard G. E. J. Amer. Chem. Soc., 1970, v. 92, № 9, p. 2891–2900.
9. Pletcher J., Sax M., Blank G., Wood M. J. Amer. Chem. Soc., 1977, v. 99, № 5, p. 1397–1403.
10. Wenz A., Gottmann G., Koop H. Liebigs Ann. Chem., 1964, B. 680, S. 82–87.
11. Pedersen C. J. J. Amer. Chem. Soc., 1967, v. 89, № 26, p. 7017–7036.
12. Ясников А. А., Бабичева А. Ф. Укр. хим. ж., 1975, т. 41, № 1, с. 58–60.
13. Бланжевич Н. В., Спиричев В. В. Лабор. дело, 1968, № 5, с. 312–313.

Поступила в редакцию
2.XII.1982

BENZOIN CONDENSATION CATALYZED BY THIAMINE AND THIAMINE DIPHOSPHATE. THE EFFECT OF MOLECULAR OXYGEN

YASNIKOV A. A., VOVK A. I., MURADOV A. Z.,
BOGATSKY A. V., LUKYANENKO N. G.

*Institute of Organic Chemistry, Academy of Sciences of the
Ukrainian SSR, Kiev; Physico-Chemical Institute, Academy
of Sciences of the Ukrainian SSR, Odessa*

The molecular oxygen is shown to be an inhibitor of the benzoïn condensation catalyzed by thiamine (vitamin B_1). The maximum activity of the thiamine is observed in anaerobic conditions in dimethyl sulphoxide. The oxygen effect is independent of the presence of the pyrophosphate group in the catalyst. The mechanism of oxygen effect of the catalysis of thiamine and thiamine diphosphate catalyzed benzoïn condensation is discussed.