

Пищугин Ф.В., Сарыбаева Б.Д.

**ВЛИЯНИЕ СРЕДЫ НА СКОРОСТИ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ L-АСКОРБИНОВОЙ
КИСЛОТЫ С АМИНОКИСЛОТАМИ**

F.V. Pishugin, B.D. Sarybaeva

**REMEDY INFLUENCE ON SCORE INTERACTION OF L-ASCORBIC
ACID WITH AMINO ACID**

УДК: 547.965+577.16

В работе представлены результаты исследований кинетики конденсации L-аскорбиновой кислоты с D, L-аланином при различных условиях (рН среды, растворитель, температура). Показано, что зависимость скорости взаимодействия имеет экстремальный характер, увеличение %-ного содержания воды приводит к снижению выхода конечных продуктов.

In job it has produced the results of searching the genetics condensation L-ascorbic acid with D, L-alanine at different conditions (pH remedy, dissolver, temperature). It has shown, that the dependence score of interaction has extremely character, increase %- maintenance of water conductor to decrease there is products.

L-аскорбиновая кислота (витамин С) является важным витамином для человека и некоторых животных. При недостатке витамина С возникает цинга, характеризующаяся заболеванием десен, выпадением зубов, структурными изменениями хрящей и костей. Аскорбиновая кислота необходима также для построения межклеточных веществ, регенерации и заживления тканей, поддержания целостности кровеносных сосудов, обеспечения гематологического и иммунологического статуса организма и его устойчивости к инфекции и стрессу. Основная биохимическая роль его в настоящее время сводится к окислительно-восстановительным биохимическим процессам [1]. Однако, биохимическая роль витамина С, по-видимому, более многообразна. Так, например, сравнительно недавно в ряде работ [2] было обнаружено, что витамин С вместе с $Fe^{*}(II)$ и O_2 служит мощным неферментативным гидроксилующим реагентом для ароматических соединений. Как и гидролазы, этот реагент участвует в процессе превращения фенилаланина в тирозин. Имеется ряд работ по взаимодействию L-аскорбиновой кислоты с ароматическими аминами, фенилгидразином [3], никотиномидом [4]. Эти работы преимущественно синтетического профиля.

Изучение реакционной способности L-аскорбиновой кислоты с нуклеофильными реагентами в различных условиях проведения эксперимента не проводилось.

Целью данной работы было изучение кинетическим методом реакционной способности витамина С с аминокислотами в зависимости от рН среды, растворителя и температуры.

Методика эксперимента

В качестве объектов исследования были взяты L-аскорбиновая кислота марки "хч" и аминокислоты венгерской фирмы "Reanal".

В качестве растворителя использовались водно-спиртовые буферные растворы, приготовленные по методике [5].

Эквимольные растворы (0,01 М) L-аскорбиновой кислоты и аминокислот растворялись в буферных растворах и выдерживались при заданной температуре в течение 30 минут в термостате U-15 с точностью.

1⁰С. За начало реакции принимался момент смешивания растворов витамина С и аминокислоты.

Как показали предварительные опыты при сливании термостатированных растворов в результате взаимодействия компонентов появляется в начале розовая, а затем красная окраска, интенсивность которой со временем возрастает с появлением новых (нехарактерных для исходных веществ) максимумов поглощения в области 350 нм и 510 нм, интенсивность которых со временем увеличивается (рис.1).

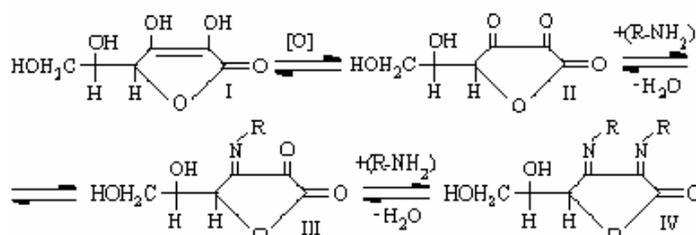
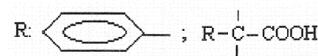
Кинетика реакций изучалась на спектрофотометре СФ-26 при $\lambda = 360$ нм и при $\lambda = 510$ нм с точностью измерения оптической плотности 0,025 ед.Д.

Обсуждение результатов

Общеизвестно, что для измерений кинетики химических реакций, необходимо, чтобы исходные, промежуточные и конечные продукты отличались друг от друга по химическим и физическим параметрам. L-аскорбиновая кислота в растворах, согласно литературным данным [5], существует в двух таутомерных формах – L-аскорбиновой кислоты и небольших количествах дегидроаскорбиновой кислоты. В присутствии небольших количеств окислителей L-аскорбиновая кислота переходит в дегидроаскорбиновую кислоту [6], в присутствии восстановителей происходит обратный переход. Кроме того, равновесие зависит не только от катализатора, но и от условий, в которых находится смесь диенола и дикетоформ (рН среды, растворитель, температура).

Анализ литературных и наших экспериментальных данных показал, что *L*-аскорбиновая кислота в зависимости от количества нуклеофильного реагента взаимодействует с дикетоформой: в преимущественно в положении 3 (1:1), в избытке нуклеофила (1:2) в положении 2,3.

В общем виде взаимодействие *L*-аскорбиновой кислоты с аминами и аминокислотами можно представить так:
где



Как было сказано, при взаимодействии *L*-аскорбиновой кислоты с аминокислотами бесцветная их смесь постепенно со временем окрашивается в красный цвет, при этом в УФ - спектре появляются новые максимумы поглощения в области 360 и 510 нм, интенсивность которых со временем увеличивается (рис.1).

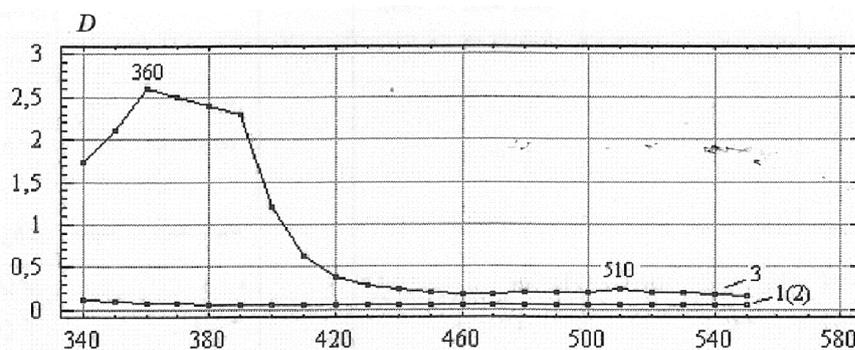


Рис. 1. УФ-спектры D,L-аланина (1), *L*-аскорбиновой кислоты (2) и их смеси в момент равновесия (3).

Можно предположить (схема), что при взаимодействии *L*-аскорбиновой кислоты в кето-форме (II) образуется конечный продукт - основание Шиффа (III), в котором имеется система сопряженных связей, обуславливающая появление новых максимумов поглощения в области 360 нм и 510 нм.

Анализ кинетических кривых показал, что, по-видимому, лимитирующей стадией образования основания Шиффа является стадия перехода *L*-аскорбиновой кислоты (I) в дегидроаскорбиновую кислоту [6].

Доказательством этого предположения служит изучение зависимости скорости конденсации *L*-аскорбиновой кислоты с аминокислотами при различных рН среды (рис.2).

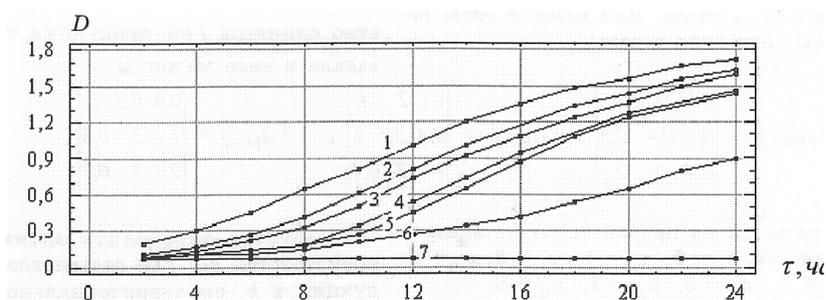


Рис. 2. Изменение оптической плотности смеси 0,01 М растворов *L*-аскорбиновой кислоты с D,L-аланином при различных значениях рН среды в водно-спиртовых буферных растворах при $\lambda = 360$ нм (рН: 1-7,0; 2-7,35; 3-7,6; 4-8,25; 5-6,95; 6-6,85; 7-4,7).

Анализ зависимости скоростей взаимодействия *L*-аскорбиновой кислоты с *D,L*-аланином от pH представляет очень трудную задачу, поскольку скорость реакции в целом складывается из скорости окисления *L*-аскорбиновой кислоты и скорости конденсации. Кроме того, согласно литературным данным [5] в сильно щелочных средах дегидроаскорбиновая кислота может превращаться в 2,3-дикетогулоновую кислоту за счет раскрытия лактонового кольца. Однако, можно рассчитать относительные скорости по изменению оптической плотности, приняв за единицу минимальную оптическую плотность при строго определенном промежутке времени. Зависимость относительной скорости взаимодействия *L*-аскорбиновой кислоты с *D,L*-аланином имеет экстремальную кривую с максимумом при pH=7.

Определенный интерес представляет изучение зависимости скорости конденсации от растворителя (рис.3)

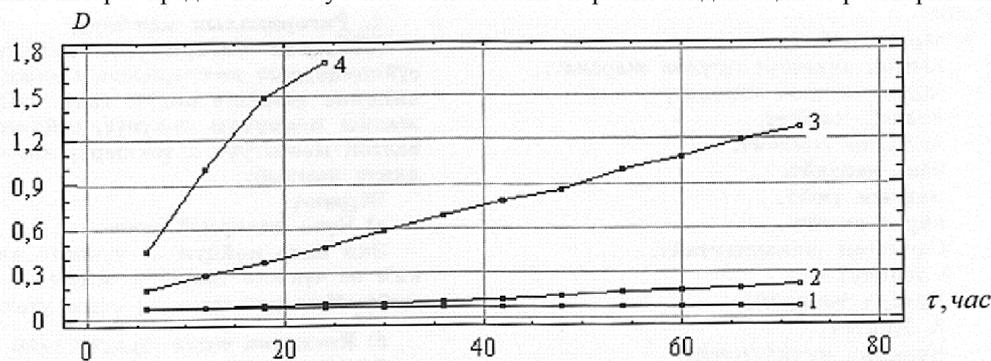


Рис. 3. Изменение оптической плотности раствора в 0,01 М смеси *L*-аскорбиновой кислоты и *D,L*-аланина в водно-спиртовых буферных растворах при $\lambda = 360$ нм, $T = 20^{\circ}\text{C}$ (% $\text{C}_2\text{H}_5\text{O}$: 1-10; 2-30; 3-50; 4-70).

Анализ кинетических кривых, приведенных на рис.3, показывает, что при уменьшении процентного содержания воды в водно-спиртовых буферных растворах скорость и выходы конечного продукта увеличиваются.

Для оценки термодинамических параметров реакции была изучена кинетика при различных температурах (рис.4).

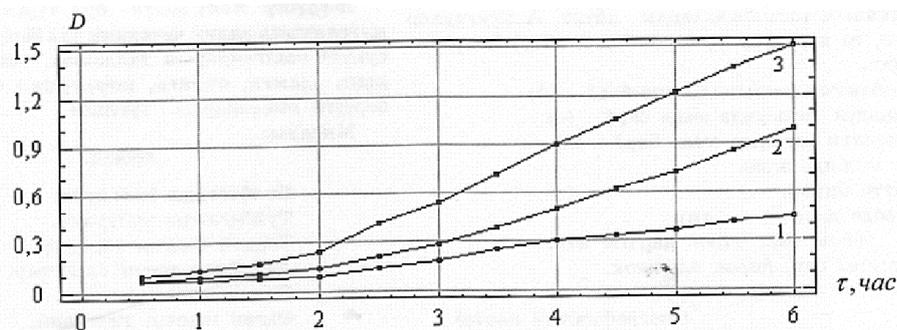


Рис. 4. Кинетика взаимодействия *L*-аскорбиновой кислоты с *D,L*-аланином при различных температурах ($\lambda = 360$ нм, 1- 20°C , 2- 30°C , 3- 40°C).

Таким образом, реакция взаимодействия *L*-аскорбиновой кислоты с *D,L*-аланином в целом эндотермический процесс.

Для подтверждения предложенной нами схемы механизма конденсации *L*-аскорбиновой кислоты с *D,L*-аланином был синтезирован конечный продукт (IV) - основание Шиффа. Эквимольные растворы *L*-аскорбиновой кислоты и *D,L*-аланина смешивались и выдерживались в течение 24 часов, при этом смесь

окрашивалась в интенсивно красный цвет. Раствор выпаривали при комнатной температуре. Выпавший красный осадок перекристаллизовывали из пропанола. Выход – 30%, $T_{пл} = 330-335^{\circ}\text{C}$. Продукт идентифицировали методом УФ – (рис1.), ИК – (рис.5) спектроскопией и элементным анализом. Вычислено %: С – 44,13; Н – 5,26; N – 5,67. Найдено%: С – 43,74; Н – 5,43; N – 5,52.

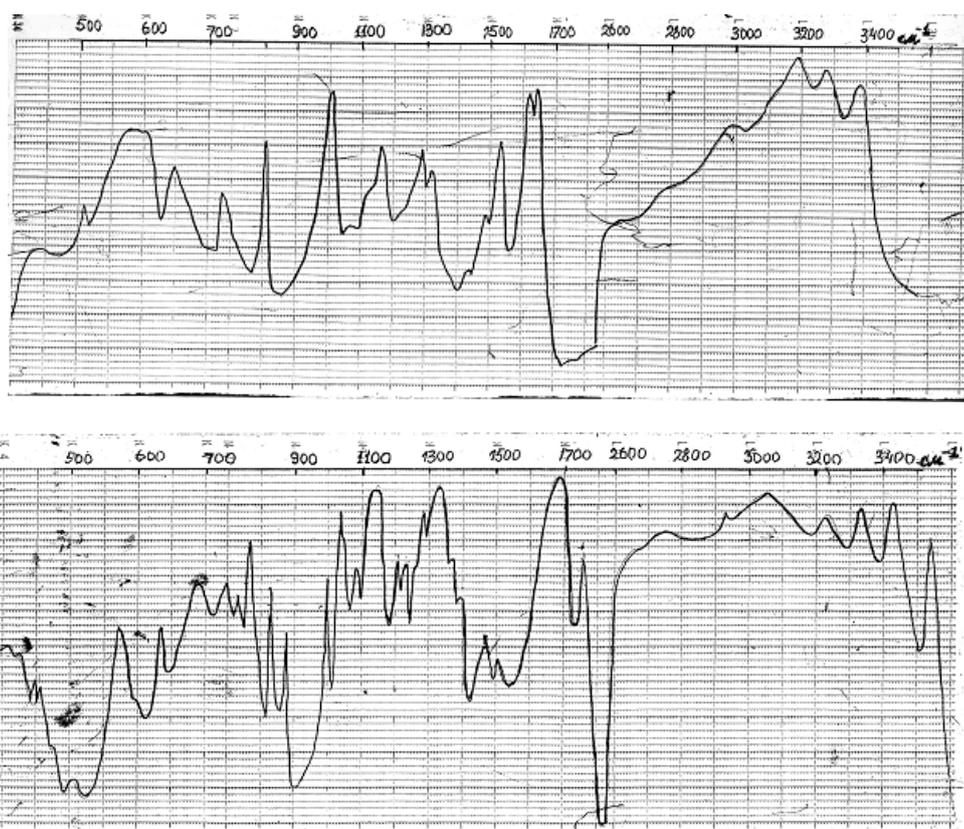


Рис. 5. ИК-спектры L-аскорбиновой кислоты (1) и D,L-аланинааскорбината (2).

Наличие полосы поглощения в области 1630 см^{-1} указывает на наличие $C=N$ -связи, группа полос поглощения в области $1650\text{--}1720\text{ см}^{-1}$ указывает на наличие COO^- - и COOH - групп, полосы поглощения $3000\text{--}3400\text{ см}^{-1}$ характеризуют наличие OH - групп L-аскорбинового фрагмента.

Таким образом, впервые изучена кинетика взаимодействия L-аскорбиновой кислоты с D,L-аланином в зависимости от pH среды, температуры, растворителя. Синтезирован и идентифицирован конечный продукт их взаимодействия - основание Шиффа.

Литература:

1. Мецлер Д. Биохимия, М., "Мир", 1980, т.1, С.442-443.
2. Hamilton O.A., Workman R.J., Wool. Oxidation by Molecular Oxygen. I. Reaction of a Possible Model System for Mixed-Function Oxidases. J.Am.Chem.Soc., 1964., V.86, P.3391-3392.
3. Antener J. Darstellung und Eigenschaften des Osazones der Dehydroascorbinsäure. Helv. Chim.Acta, 1937, V.20, P.742-746.
4. Wenner W. The reaction of L-ascorbic and D-isoascorbic acid with nicotinic acid and its amide. J.Org.Chem. 1949, V.14, P.22-25.
5. Березовский В.М. Химия витаминов, М., 1973, С.19-57.
6. Сарыбаева Б.Д., Пицугин Ф.В., Кудайбергенев Т.Т. Металлокомплексный катализ реакций взаимодействия L-аскорбиновой кислоты с аминокислотами. Вестник Кыргызского аграрного универ-та, 2004, №3, С.266-267.