

POLARIMETRIC METHOD FOR L-METHIONINE DETERMINATION IN ENZYMATIC HYDROLYSIS PRODUCTS OF SODIUM SALT OF N-ACETYL-D,L-METHIONINE

A. S. IVANOV, A. A. PASHAYAN, G. V. GYULKHANDANIAN,
Kz. Sh. BABAYAN and B. S. STEPANIANIS

Time dependences of L-methionine concentration growth obtained by asymmetric hydrolysis of sodium salt of N-acetyl-D,L-methionine was checked by polarimetric method. Optical rotation angle of the reaction mixture was determined at pH=1. It has been shown that maximum of concentration (32–33 mg/ml) of L-methionine is achieved within 40–50 min from the start of the hydrolysis.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Smorodintzev J. A. — J. Physiol. Chem., 1922, v. 124, p. 123.
2. Mori T. — J. Biochem., 1939, v. 29, p. 225.
3. Nawa K. — J. Biochem., 1938, v. 28, p. 237.
4. Neuberg K., Linhard K. — J. Biochem., 1924, v. 147, p. 372.
5. Авт. свид. № 910603 (1981), СССР/Степанов В. М., Лобарева Л. С., Малинка М. К., Амирханян О. М., Амирханян М. М., Елания М. Ф., Матевосян Р. О. — Бюлл. изобр., 1982, № 9.
6. Гринштейн Д. Т., Виниц М. — Химия аминокислот и пептидов. М., Мир, 1965, с. 85.
7. Сатарова Д. Э., Ныс П. С., Скворцова Е. Е., Корчагин В. Б., Савицкая Е. М. — Антибиотики, 1982, № 1, с. 6.
8. Greenstein J. P., Winitz S. M., Otey M. C. — J. Biol. Chem., 1953, v. 204, p. 307.

Армянский химический журнал, т. 44, № 5, стр. 293–298 (1991 г.)

УДК 547.724.543.4

ИССЛЕДОВАНИЯ В ОБЛАСТИ НЕНАСЫЩЕННЫХ ЛАКТОНОВ. СИНТЕЗ И ИЗУЧЕНИЕ НЕКОТОРЫХ АНАЛИТИЧЕСКИХ СВОЙСТВ ВНУТРЕННЕЙ СОЛИ 3-ЦИАНО-4-(N-ПИРИДИ- НИЙ-)МЕТИЛ-5,5-ДИМЕТИЛ- Δ^3 -БУТЕНОЛИДА.

А. А. АВЕТИСЯН, А. А. АХНАЗАРЯН, Г. С. МЕЛИКЯН и Г. Н. ШАПОШНИКОВА

Ереванский государственный университет

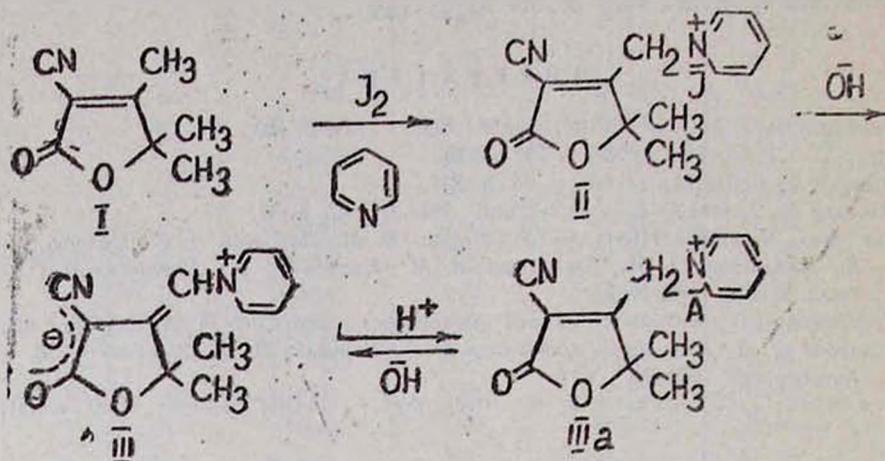
Поступило 27 XII 1990

Взаимодействием 3-циано-4,5,5-триметил- Δ^3 -бутенолида с пиридином и йодом по реакции Кинга синтезирован соответствующий йодид 4-(N-пиридиний)метил- Δ^3 -бутенолида, который в основной среде неожиданно трансформируется во внутреннюю соль, содержащую насыщенное γ -лактонное кольцо. Изучено поведение этого соединения в качестве индикатора кислотно-основного титрования.

Рис. 4, библиографические ссылки 7.

Ряд соединений, содержащих в структуре γ -лактонное и пиридиновое кольца, обладает болеутоляющим действием, сравнимым с амидопирином [1, 2]. С целью синтеза потенциально биологически ак-

тивных непредельных γ -лактонов, содержащих пиридиновое кольцо, нами осуществлена реакция Кинга [3] на примере 3-циано-4,5,5-триметил- Δ^3 -бутенолида (I) [4]. Реакцию осуществляли кипячением соединения I с безводным пиридином и йодом в растворе сухого хлороформа. Был выделен йодид 3-циано-4-(N-пиридилий)метил-5,5-диметил- Δ^3 -бутенолида (II) с выходом 86%. Как показали биологические исследования, соединение II обладает умеренной антимикробной и антибактериальной активностью. При введении синтезированного йодида II в реакцию с *l*-нитрозодиметиланилином в основной среде для осуществления реакции Кренке [5] соединение II неожиданно трансформировалось во внутреннюю соль III, содержащую насыщенное γ -лактоновое кольцо.



Строение соединений II и III доказано данными элементного анализа, ИК и ПМР спектров.

Изучены также некоторые свойства соединения III с целью применения его в аналитической химии.

Экспериментальная часть и обсуждение результатов

Раствор соединения III готовили растворением точной навески в этиловом спирте. Потенциометрические измерения проводили на рН-метре милливольтметре «рН-121». В качестве индикаторного электрода был применен стеклянный электрод, электрод сравнения—хлор-серебряный. Снятие вольтамперных кривых проводили на собранной амперометрической установке. Индикаторный электрод—проволочный платиновый микроэлектрод, электрод сравнения—ртутиодидный. Электронные спектры поглощения сняты на спектрофотометре «СФ-16».

Внутренняя соль 3-циано-4-(N-пиридилий)метил-5,5-диметил- Δ^3 -бутенолида. Смесь, состоящую из 1,51 г (0,01 моля) соединения I и 2,54 г (0,01 моля) металлического йода, растворяют в 6 мл абс. пиридина и 50 мл безводного хлороформа и кипятят с обратным холодильником 2 ч. Через 5 ч фильтруют осадок черного цвета, промывают эфиром и сушат на воздухе. Получают 3,05 г (85,7%) йодида 3-циано-4-(N-пи-

ридивий) метил-5,5-диметил- Δ^3 -бутенолида (II), т. пл. 240° . Найдено, %: С 43,59; Н 3,89; N 8,02; J 35,79. $C_{12}H_{13}O_2N_2J$. Вычислено, %: С 43,83; Н 3,69; N 7,87; J 35,63. ИК спектр, ν , cm^{-1} : 1585 (P_2); 1643 ($C=C$); 1770 ($C=O$ лакт.), 2240 ($C\equiv N$).

Подщелачиванием йодида 3-лиано-4-(N-пиридиний) метил-5,5-диметил- Δ^3 -бутенолида 5% водным раствором гидроксида натрия выделяют кристаллическое вещество III красного цвета с т. пл. 228° . Спектр ПМР, δ , м. д.: 8,767 д (2H, H-орто); 8,314 т (1H, H-пара); 7,999 т (2H, H-мета); 6,447 с (1H, $C=CH$); 3,304 с (1H, OH); 1,440 с (6H, $2CH_3$).

а) Исследование взаимодействия соединения III с гидроксидом калия методом потенциометрического титрования. Из литературных источников известно, что лактоны могут взаимодействовать с едкой щелочью с раскрытием лактонного цикла. Для выяснения возможности протекания вышеназванной реакции проведено исследование с использованием метода потенциометрического титрования. С этой целью к раствору с известной концентрацией соли III добавляли заведомо избыточное, точно отмеренное количество гидроксида калия. Затем щелочь оттитровывали рабочим раствором серной кислоты. Титрование проводили как при комнатной температуре, так и после кипячения в течение 5 мин.

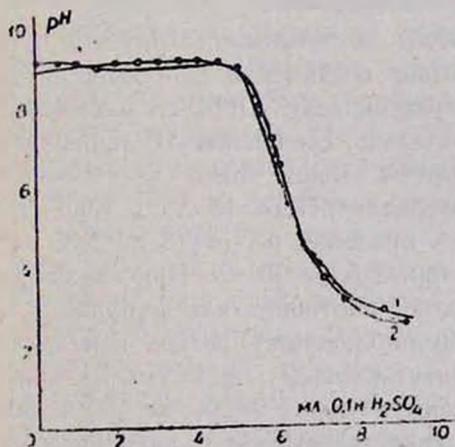


Рис. 1. Кривые потенциометрического титрования 5,0 мл 0,13 н КОН в присутствии 20,0 мл $4 \cdot 10^{-3}$ М соединения III без нагревания (кр. 1) и с нагреванием (кр. 2).

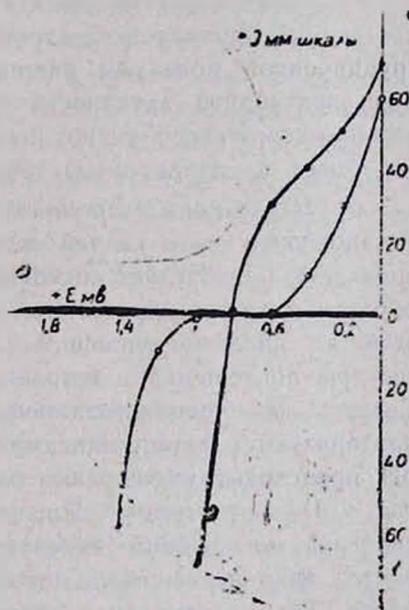


Рис. 2. Вольтамперные кривые: 1) фона — 0,5 н H_2SO_4 , 2) 5,0 мл $1 \cdot 10^{-2}$ М соединения III на фоне 0,5 н H_2SO_4 , $v = 25,0$ мл.

Как видно из данных рис. 1, затрата кислоты точно соответствует оттитровыванию добавленного раствора гидроксида калия. Затрата едкой щелочи на взаимодействие с солью III не отмечается, следо-

вательно, раскрытие лактонного цикла не наблюдается. В щелочном растворе структуру соединения можно представить в виде формулы III. Стабильность вышеуказанного соединения в основной среде может быть объяснена частично наличием двух алкильных заместителей при C₅.

б) *Изучение вольтамперных характеристик соединения III.* Исходя из высокой реакционной способности лактонов было интересно выяснить электрохимическое поведение соли III. С этой целью на различных фонах (0,1 н—9 н H₂SO₄) были сняты вольтамперные характеристики IIIа как в прямом, так и обратном направлениях. Этиловый спирт в описываемых условиях неэлектроактивен.

Как видно из приведенных кривых рис. 2, IIIа проявляет электродную активность в катодной и анодной областях со степенью обратимости, близкой к нулю. Для выяснения вопроса, за счет каких функциональных групп происходит процесс окисления и восстановления, в этих же условиях были сняты вольтамперные кривые I. Исчезновение катодного процесса говорит о том, что ответственной за процесс восстановления является пиридиновый метиловый группа в положении 4 лактонного цикла. Изучение зависимости диффузионного тока от концентрации реагента при различной кислотности показало, что наблюдается его снижение при кислотности выше 7 н.

Изучение вольтамперных кривых в щелочной среде показало, что реагент не проявляет электроактивности, что можно объяснить перегруппировкой молекулы реагента в щелочной среде. Факт проявления электродной активности реагента может быть использован для амперометрического титрования по току реагента. Особое значение это имеет в случае определения неактивного иона.

в) *Изучение электронных спектров поглощения соединения III.* Установлено, что в кислой среде раствор соединения III бесцветен, в щелочной приобретает лимонно-желтую окраску. Процесс изменения окраски является обратимым, следовательно, соединение III проявляет свойства кислотно-основного индикатора. Были сняты электронные спектры поглощения в широком интервале рН от 13 до 1 (рис. 3). Спектры поглощения соединения III в пределах рН от 13 до 3,75 характеризуются двумя максимумами: при 315 и 415 н.м. При снижении рН происходит уменьшение оптической плотности как в области I, так и II максимумов. При рН 3,56 наблюдается резкое изменение спектров поглощения: исчезают вышеназванные максимумы и появляется ярко-выраженный новый максимум при $\lambda = 290$ н.м в УФ области. Такие изменения спектров свидетельствуют о наличии двух таутомерных форм, что представлено в вышеприведенной схеме таутомерным переходом III \rightleftharpoons IIIа. Согласно ионно-хромофорной теории индикаторов, появление цветности в основной среде объясняется образованием системы сопряженных связей у таутомерной формы III. Как видно из вышенаписанных таутомерных форм, в щелочной среде отщепляется ион водорода.

Для определения рК-индикатора был использован графический метод [6], согласно которому рН = 5,80. рК-индикатор был опре-

делен также визуально, колориметрически, методом стандартных серий [7]. В этом случае $pK = 5,96$. Таким образом, среднее значение pK -индикатора, полученное двумя методами, равно 5,81.

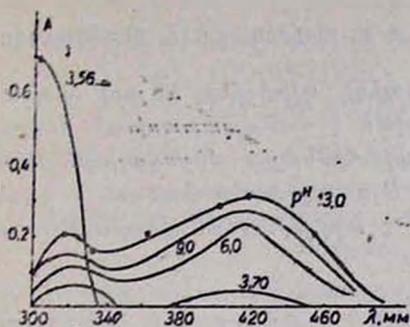


Рис. 3. Электронные спектры поглощения $4 \cdot 10^{-2}$ М соединения III при различных рН.

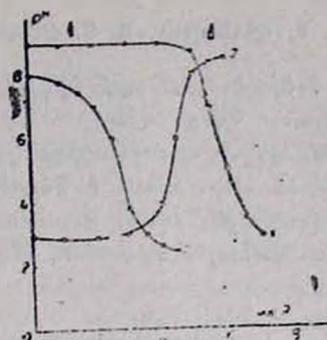


Рис. 4. Кривые потенциометрического титрования: кр. 1 — 5,0 М 0,1 н H_2SO_4 , кр. 2 — 5,0 мл 0,13 н KOH , кр. 3 — 5,0 мл 0,058 н NH_4OH , $v = 100$ мл.

г) *Применение соединения III в качестве кислотно-основного индикатора.* Для выяснения интервала перехода окраски индикатора было проведено потенциометрическое титрование серной кислоты раствором KOH в присутствии 5 капель 0,1% спиртового раствора индикатора. Как видно из рис. 4 (кр. 1), скачок потенциала на кривой титрования отмечается в интервале рН от 4,0 до 8,0. Одновременно было визуально отмечено, что изменение окраски от бесцветной до лимонно-желтой отмечается начиная от рН 4,1. Следовательно, изменение окраски индикатора находится в области скачка потенциала и индикатор может быть применен при титровании сильной кислоты сильным основанием. На рис. 4 (кр. 2 и 3) приведены результаты потенциометрического титрования сильной щелочи сильной кислотой, а также слабого основания сильной кислотой.

Таким образом, доказано, что вышеназванный индикатор может быть применен в методе кислотно-основного титрования для визуальной индикации конечной точки титрования. Описываемый индикатор является одноцветным. Это облегчает фиксирование к.т.т. и является преимуществом по сравнению с обычно применяемыми индикаторами (метил-оранж, метил-красный), «работающими» в области низких значений рН. Произведен расчет индикаторных ошибок титрования. В случае применения 0,1 н растворов серной кислоты и гидроксида калия водородная ошибка титрования равна +0,02%, а щелочная ошибка—0,05%, что находится в допустимых пределах.

ՀԵՏԱԶՈՏՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐ ԶՀԱԳԵՑԱԾ ԼԱԿՏՈՆՆԵՐԻ ՔՆԱԳԱՎԱՌՈՒՄ

Յ-ՑԻԱՆ-4-(N-ՊԻՐԻԴԻՆԻՈՒՄ)ՄԵՔԻԼ-5,5-ԴԻՄԵԹԻԼ-Δ³-ԲՈՒՏԵՆՈԼԻԴԻ ՆԵՐՔԻՆ ԱՂԻ ՍԻՆՏԵԶԸ ԵՎ ՆՐԱ ՈՐՈՇ ԱՆԱՎԵՏԻՎ ՀԱՏԿՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐԻ ՈՒՍՈՒՄՆԱՍԻՐՈՒՄԸ

Ա. Ա. ԱՎԵՏԻՍՅԱՆ, Ա. Ա. ՀԱՆՆԱԶԱՐՅԱՆ, Գ. Ս. ՄԵԼԻՔՅԱՆ Ե Գ. Ն. ՇԱՊՈՇԻՆԻՎԱ

3-Ցիան-4,5,5-տրիմեթիլ-Δ³-բուտենոլիդի պիրիդինի և յոդի փոխազդեցությամբ կինդի ռեակցիայով սինթեզված է համապատասխան 4-պիրիդինիումմեթիլ-Δ³-բուտենոլիդի յոդիդը, որը հիմնային միջավայրում անսպասելիորեն վերածվում է ներքին աղի Այդ աղը պարունակում է հագեցած γ-լակտոնային օղակ: Ուսումնասիրված է այդ միացման վարքագիծը որպես թթվա-հիմնային տիտրման ինդիկատոր:

INVESTIGATIONS IN THE FIELD OF UNSATURATED LACTONES

SYNTHESIS AND INVESTIGATIONS OF SOME ANALYTICAL PROPERTIES OF THE INTERNAL SALT OF 3-CYANO-4-(N-PYRIDINIUM)METHYL-Δ³-BUTENOLIDE

A. A. AVETISSIAN, A. A. HAKHNAZARIAN, G. S. MELIKIAN
and G. N. SCHAPOSHNIKOVA

By King's reaction between 3-cyano-4,5,5-trimethyl-Δ³-butenolide, pyridine and iodine the corresponding iodide of 4-pyridiniummethyl-Δ³-butenolide has been synthesized, the latter unexpectedly was converted in basic medium into internal salt, containing saturated γ-lactone ring. The usefulness of the product as an indicator for acid-base titration has been investigated.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Cougnelet J. — Trav. Soc. Planch. Montpellier, 1973, v. 33, № 3, p. 23; ԻՋԽիմ. 1971, 13Ջ32.
2. Пат. 86627 (1971), ГДР/Степсак Г., Шакнис В., Шмидт М.—РЖХим., 1973, 13, Н 87 П.
3. Вацуро К. В., Мищенко Г. Л. — Именные реакции в органической химии. М., Химия, 1976, с. 304.
4. Аветисян А. А., Мангасарян И. А., Дангян М. Т., Меликян Г. С., Мацоян С. Г.—ЖОрХ, 1971, № 7, с. 964.
5. Вацуро К. В., Мищенко Г. Л. — Именные реакции в органической химии. М., Химия, 1976, с. 238.
6. Юнг Г. В. — Инструментальные методы химического анализа. М., Госатоиздат, 1963, с. 19.
7. Алексеев В. Н. — Количественный анализ. Госхимиздат, М., 1958, с. 486.