



БИООРГАНИЧЕСКАЯ ХИМИЯ

том 6 • № 6 • 1980

УДК 547.466:541.128

НЕКОТОРЫЕ ЗАКОНОМЕРНОСТИ КАТАЛИТИЧЕСКОЙ РАЦЕМИЗАЦИИ ЛИЗИНА В ПРИСУТСТВИИ КАРБОНИЛСОДЕРЖАЩИХ ПОЛИМЕРОВ

Ямков И. А., Тихонов В. Е., Даванков В. А.

Институт элементоорганических соединений Академии наук СССР, Москва

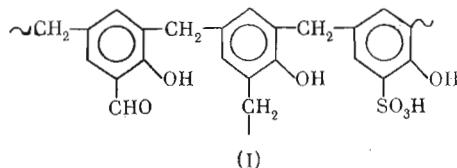
Исследован процесс рацемизации оптически активного лизина, а также аланина и глутаминовой кислоты в присутствии полимерного карбонилсодержащего катализатора с фрагментами типа салицилового альдегида. Показано, что процесс протекает в кинетически контролируемой области и описывается уравнением первого порядка по субстрату. Найдена зависимость скорости рацемизации от температуры, концентрации ионов Cu^{2+} , содержания ионогенных групп в полимерном катализаторе, величины рН, концентрации субстрата и катализатора.

В настоящее время увеличивающаяся потребность в оптически активных аминокислотах, применяемых в медицине, животноводстве, производстве пестицидов, биологических и биохимических исследованиях, приводит к интенсивной разработке и внедрению в производство различных химических методов их получения. При таком обычно неасимметрическом синтезе аминокислоты образуются в виде рацематов. После отделения нужного *L*-изомера остаются смеси, преимущественно содержащие *D*-изомер аминокислот. Последний находит лишь незначительное применение. Превращение *D*-аминокислот в рацемическую смесь с разделением последней вновь на оптические антиподы позволяет более рационально использовать синтетические аминокислоты.

Пиридоксаль, салициловый альдегид и их аналоги катализируют рацемизацию аминокислот [1, 2], причем ионы переходных металлов увеличивают скорость этого процесса [3, 4].

Известно, что ответственным за рацемизацию аминокислот является комплекс иона переходного металла с основанием Шиффа, образующегося из аминокислоты и соответствующего карбонильного соединения [2–4]. Изучение кинетической С—Н-кислотности показало высокую подвижность α -протонов аминокислотного фрагмента в таких комплексах [5]. Рацемизацию аминокислот можно проводить с помощью различных пылокомолекулярных карбонильных соединений [6–8], однако более удобным является использование гетерогенных катализаторов. Применение полимерного посителя с закрепленными на нем каталитически активными центрами позволяет значительно упростить отделение *D,L*-аминокислоты от катализатора после завершения процесса рацемизации и, таким образом, создать условия, необходимые для реализации непрерывного процесса. Ранее были описаны способы получения таких катализаторов [9, 10], однако их использование неэффективно из-за недостаточной устойчивости и низкого содержания каталитически активных центров.

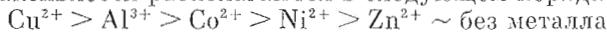
Нами синтезирован новый катализатор на основе спиральной формилированной фенолформальдегидной смолы, содержащей для увеличения набухаемости и сорбции ионов металлов сульфогруппы (I), и исследовано его поведение при рацемизации *L*-лизина и ряда других аминокислот, а также влияние различных факторов на этот процесс.



Поскольку скорость рацемизации зависит от содержания альдегидных и сульфогрупп в катализаторе, их содержание при изложении результатов исследования оговаривается в каждом отдельном случае.

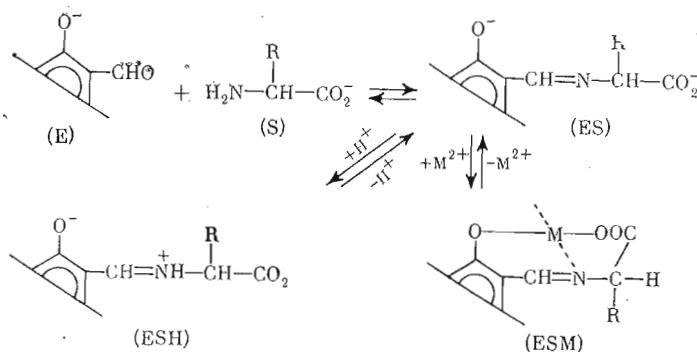
Скорость процесса рацемизации лизина в присутствии полимера (I) не зависит ни от степени перемешивания реакционной смеси, ни от размера частиц полимера. Кроме того, прямыми измерениями показано, что скорость диффузии лизина внутрь частиц полимера-катализатора более чем на порядок превышает скорость рацемизации лизина (соответственно $5,3 \cdot 10^{-5}$ моль/с·г при 20°C и $1,0 \cdot 10^{-6}$ при 97°C). Эти факты свидетельствуют о том, что процесс рацемизации протекает в кинетически контролируемой области, а точнее, во внутренней кинетической области, и подтверждают кинетический характер представленных ниже закономерностей.

Координация основания Шиффа аминокислоты и карбонильного соединения с ионом металла увеличивает скорость рацемизации аминокислоты. При рацемизации лизина в присутствии полимера (I) и эквимолярных по отношению к альдегидным группам количеств хлоридов металлов последние по своей активности располагаются в следующем порядке:



За исключением Al^{3+} , этот порядок оказался подобным ряду, представленному в работе [11].

Поскольку из всех структур, существующих в растворе в системе «аминокислота (S) — карбонильное соединение (E) — металл (M)», наибольшей склонностью к рацемизации обладают протонированное основание Шиффа (ESH) и комплекс основания Шиффа с металлом (ESM) [5], зависимость скорости рацемизации от концентрации ионов металла можно представить с учетом констант образования комплекса (k_{ESM}) и протонированного основания Шиффа (k_{ESH}) следующим образом:



$$v_{\text{рац}} = k_{\text{эфф}} [S^+] = (k'_{\text{ESH}} k_{\text{ESM}} [M] + k_{\text{ESH}} k'_{\text{ESH}} [H^+] [ESH] [OH^-]) \quad (1)$$

где $v_{\text{рац}}$ и $k_{\text{эфф}}$ — соответственно скорость и эффективная константа скорости рацемизации аминокислоты, $[S^+]$ — суммарная концентрация всех

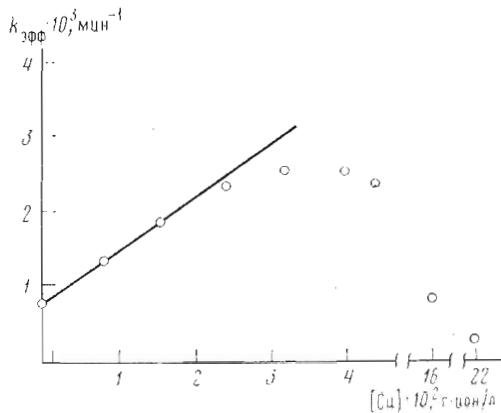


Рис. 1. Зависимость эффективной константы скорости рацемизации *L*-лизина от исходной концентрации ионов Cu^{2+} в растворе. Условия: 0,25 г катализатора (μсно 1,6 ммоль/г, μсои 0,54 ммоль/г), 5,0 мл 0,34 М лизина при 90° С, время 5 ч

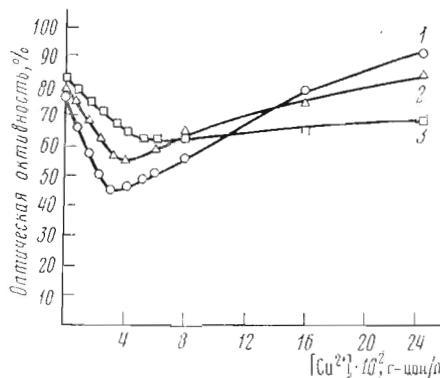


Рис. 2. Зависимость оптической активности раствора лизина (5,0 мл, 1 — 0,34 М, 2 — 0,68 М, 3 — 1,36 М) от исходной концентрации ионов Cu^{2+} в растворе при контактировании с 0,25 г катализатора (μсно 1,6 ммоль/г, μсои 0,54 ммоль/г) при 90° С в течение 5 ч

форм аминокислоты, k'_{ESM} и k'_{ESH} — соответственно константа скорости рацемизации комплекса и протонированного основания Шиффа.

Из уравнения (1) видно, что при постоянных значениях pH и концентрации ES скорость рацемизации должна быть линейной функцией концентрации ионов металла. Экспериментальная зависимость $k_{\text{эфф}}$ от концентрации Cu^{2+} (рис. 1) соответствует этому предположению лишь при низких концентрациях меди. Дальнейшее увеличение концентрации Cu^{2+} приводит к уменьшению скорости рацемизации. При этом положение минимума на кривой зависимости оптической активности раствора лизина, контактирующего с полимерным катализатором, от концентрации ионов меди в системе (рис. 2) зависит от концентрации аминокислоты, сдвигаясь в сторону большей концентрации ионов меди при увеличении концентрации аминокислоты. Обращает на себя внимание более резкое падение оптической активности раствора лизина при низких концентрациях субстрата. Так, при увеличении концентрации ионов меди от $4,0 \cdot 10^{-2}$ до $2,4 \cdot 10^{-1}$ г-ион/л эффективная константа скорости рацемизации лизина (0,34 М) уменьшается более чем на порядок. При использовании растворов лизина с концентрацией 0,34 М и концентрацией ионов меди 0,24 г-ион/л их мольное соотношение составляет 1,42, т. е. основной частицей системы является

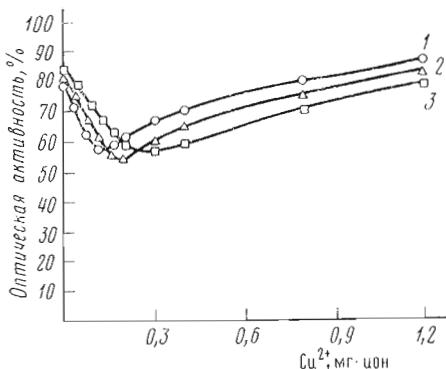


Рис. 3

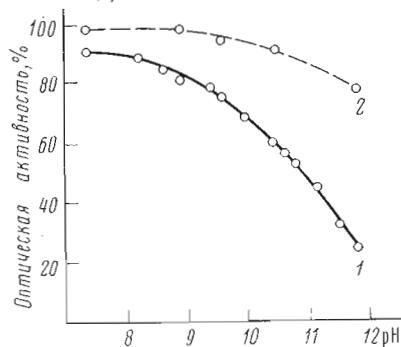


Рис. 4

Рис. 3. Зависимость оптической активности раствора лизина (5,0 мл, 0,068 М) от количества ионов Cu^{2+} в системе при контактировании с 0,25 г катализатора ($\mu\text{сно}$ 1,6 ммоль/г, $\mu\text{so}_3\text{n}$ 0,0 ммоль/г) (1), 0,54 (2), 1,5 ммоль/г (3)) при 90°С в течение 5 ч

Рис. 4. Зависимость оптической активности раствора лизина (20 мл, 0,06 М в буферной системе) от pH среды в присутствии (1) и в отсутствие (2) полимерного катализатора (0,25 г, $\mu\text{сно}$ 2,0 ммоль/г) при 60°С в течение 9 ч, $8,7 \cdot 10^{-2}$ мг·экв. Cu^{2+}

ся медный комплекс аминокислоты, незначительная скорость рацемизации которого и обуславливает низкую эффективность процесса в целом.

Оптимальное содержание Cu^{2+} в системе симбатно зависит от содержания сульфогрупп в полимере, что свидетельствует о балластном ионном связывании металла (рис. 3).

Значительное влияние на процесс рацемизации аминокислот в присутствии полимерного катализатора оказывает pH среды (рис. 4). Экспериментальная зависимость логарифма скорости рацемизации аминокислоты (например, аланина) от величины рОН линейная (рис. 5), однако порядок реакции по OH^- -ионам не является первым, как должно быть, исходя из уравнения (2):

$$v_{\text{рац}} = k_{\text{эфф}} [\text{S}^*] = (k'_{\text{ESM}} [\text{ESM}] + k'_{\text{ESH}} [\text{ESH}]) [\text{OH}^-]. \quad (2)$$

Это объясняется не только влиянием pH системы на образование частиц ESM и ESH, но и особенностями гетерогенной реакции, протекающей с участием полимера-ионита. Используемые нами полимеры не относятся к электронейтральным, и при увеличении концентрации OH^- -ионов происходит как ионизация фенольных групп полимера, так и увеличение доли депротонированной формы аминокислоты в растворе. Это приводит к уменьшению концентрации аминокислоты в фазе полимера за счет электростатического отталкивания между отрицательно заряженными полимерной матрицей и аминокислотой, что и обуславливает наблюдающееся снижение порядка скорости по OH^- -ионам.

Скорость рацемизации аминокислоты при прочих равных условиях прямо пропорциональна концентрации протонированной формы основания Шиффа и его медного комплекса, образование которых зависит от количества катализатора и концентрации аминокислоты. Поэтому скорость рацемизации должна возрастать с увеличением последних (при невысоких значениях концентрации аминокислоты и количества катализатора).

Экспериментально установлено, что скорость процесса рацемизации L-лизина линейно возрастает с увеличением его концентрации. Как видно из рис. 6, наблюдается линейная зависимость логарифма начальной скорости (v_0) реакции от логарифма исходной концентрации лизина (C_0), причем тангенс угла наклона прямой равен единице, что свидетельствует о первом порядке реакции по субстрату. Кроме того, скорость образования

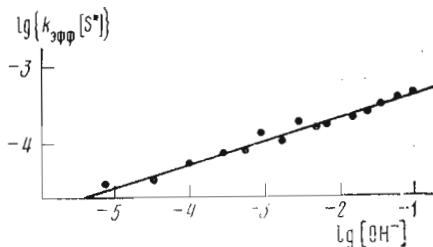


Рис. 5. Зависимость скорости рацемизации *L*-аланина от pH среды. Условия: 20 мл 0,06 М *L*-аланина, 0,25 г катализатора (μсно 2,0 ммоль/г), $8,7 \cdot 10^{-2}$ М Cu^{2+} , 1,5 ч, $60^\circ C$

рацемического лизина линейно зависит от количества катализатора ($m_{\text{кат}}$) (рис. 7).

Температурная зависимость эффективной константы скорости рацемизации аланина, глутаминовой кислоты и лизина позволяет рассчитывать энергию активации процесса рацемизации этих аминокислот, которая оказалась равной 15,2; 17,4 и 16,8 ккал/моль (рис. 8а). При этом линейная зависимость величины $\lg \frac{50}{50 - x}$ (x — процентное содержание *D*-лизина в растворе) от времени при температурах 50, 75 и $97^\circ C$ (рис. 8б) свидетельствует о первом порядке реакции рацемизации.

Экспериментальная часть

В работе использовались растворители и реагенты квалификации х.ч. или ч.д.а. Подвергаемые рацемизации аминокислоты имели оптическую чистоту 98 %. Поляриметрический контроль за степенью рацемизации аминокислот проводили с помощью прибора «Quick polarimeter Roussel Guan» (Франция) методом отбора проб раствора, контактирующего с полимерным катализатором, или непрерывным методом с помощью прибора «Perkin — Elmer» (Англия). Новолачная фенолформальдегидная смола (M 3000—5000) получена по методике [12].

Формилирование новолачной фенолформальдегидной смолы. К 70 г новолачной фенолформальдегидной смолы приливали раствор 300 г NaOH в 300 мл воды, нагревали до $95^\circ C$ и в течение 25 ч добавляли 150 мл хло-

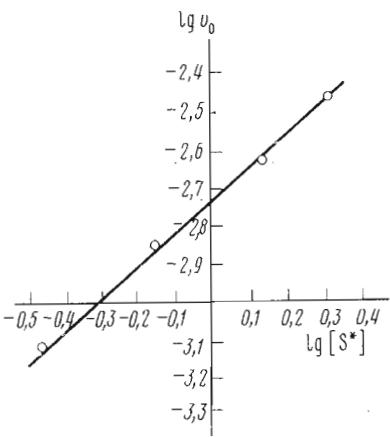


Рис. 6

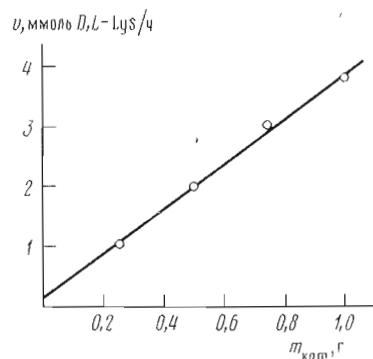


Рис. 7

Рис. 6. Зависимость начальной скорости рацемизации лизина от исходной концентрации субстрата в присутствии полимерного катализатора (I). Условия: 1 г катализатора (μсно 2,0 ммоль/г, $\mu_{SO_4} 0,54$ ммоль/г), 20 мл раствора лизина с 0,8 ммоль $CuSO_4$, $97^\circ C$, время 1 ч

Рис. 7. Зависимость скорости рацемизации лизина от количества катализатора. Условия: катализатор (I) (μсно 2,0 ммоль/г, $\mu_{SO_4} 0,54$ ммоль/г), 20 мл 0,68 М лизина, $4,0 \cdot 10^{-2}$ М $CuSO_4$, $97^\circ C$

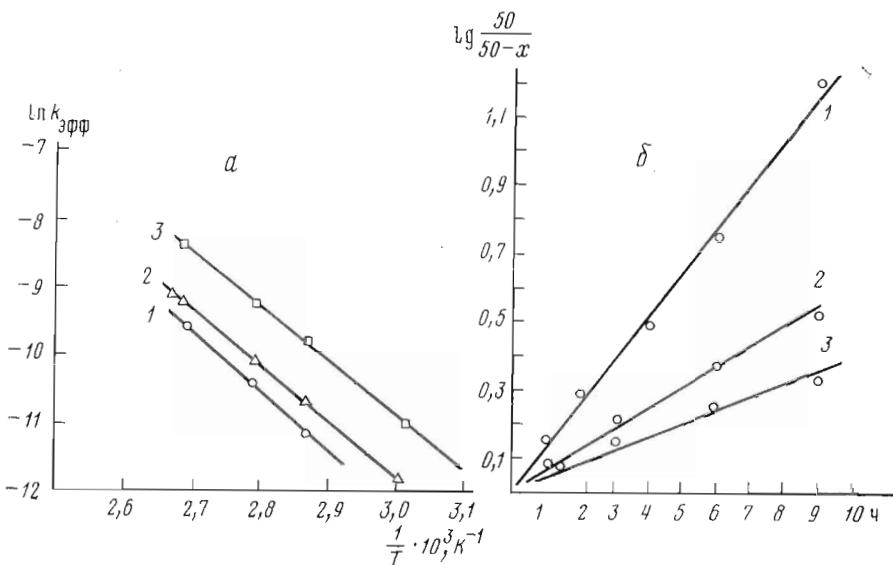


Рис. 8. Температурная зависимость процесса рацемизации аминокислот: а) 1 — лизин, 2 — глутаминовая кислота, 3 — аланин. б) лизина (1 — при 97° С, 2 — при 75° С, 3 — при 50° С). Условия: 1 г катализатора ($\mu_{\text{сно}}$ 1,5 ммоль/г, μ_{SO_4} 1,0 ммоль/г), 20 мл 0,68 М соответствующей аминокислоты, 0,04 М CuSO_4 .

роформа при перемешивании, разбавляли 2 л воды, охлаждали до 20° С и подкисляли конц. HCl до рН 5–6. Осадок промывали водой, сушили в вакууме при 10–20 мм рт. ст. и 60° С. Выход составил 60 г.

Сшивка формилированной фенолформальдегидной смолы. 60 г полученного полимера растворяли в 400 мл ацетона и приливали раствор 30 г ZnCl_2 в 30 мл конц. HCl , а затем 10 млmonoхлордиметиолового эфира. Реакционную смесь нагревали 6 ч при 50° С, отделяли образовавшийся гель и промывали его 100 мл ацетона, 200 мл 0,5 н. NaOH , 100 мл 1 н. HCl , 0,5 л воды, сушили при 10–20 мм рт. ст. и 60° С. Выход 46 г.

Сульфирование сшитой формилированной фенолформальдегидной смолы. К 5 г сшитой формилированной фенолформальдегидной смолы приливали 8 мл метанола, а затем 20 мл конц. H_2SO_4 . Реакционную смесь нагревали при 50° С и перемешивали в течение 6 ч, отделяли полимер, промывали его водой, сушили в вакууме при 10–20 мм рт. ст. и 60° С. Содержание сульфогрупп определяли по методу [13].

Определение содержания альдегидных групп в полимере. К навеске сшитой формилированной фенолформальдегидной смолы (~0,4 г) приливали 10 мл дioxсана и 10 мл 1 н. раствора $\text{NH}_2\text{OH} \cdot \text{HCl}$ и нагревали 3 ч в запаянной ампуле при 100° С, ампулу вскрывали, полимер отделяли фильтрованием, промывали 20 мл воды, объединенные фильтраты титровали 0,1 н. гидроокисью натрия с бромфеноловым синим в качестве индикатора. Содержание альдегидных групп рассчитывали по формуле

$$\mu_{\text{сно}} = \frac{NV}{m} \text{ (ммоль/г)},$$

где N — нормальность NaOH (мг·экв/мл), V — объем щелочи, потребленный на титрование (мл), m — навеска полимера (г).

Определение максимальной скорости диффузии лизина в фазу полимера-катализатора. Максимальную скорость диффузии рассчитывали по начальным точкам кривой накопления L -лизина в полимере. За накоплением лизина в полимере следили методом проточной поляриметрии по изменению оптической активности 20 мл 0,68 М (рН 9,8) раствора L -лизина, контактирующего при 20° С с 0,25 г полимера, предварительно набухшего в

0,68 М боратном буферном растворе (рН 9,8) 20° С. При этом равновесие «*L*-лизин в полимере ⇌ *L*-лизин в растворе» достигается практически за 7–8 мин. При определении скорости диффузии не учитывали обратной диффузии воды, поскольку весовая набухаемость полимера в данных условиях составляет 0,7 г/г полимера.

ЛИТЕРАТУРА

1. Wood W. A., Gunsalus I. C. (1951) *J. Biol. Chem.*, **190**, 403–416.
2. Metzler D. E., Snell E. E. (1952) *J. Biol. Chem.*, **198**, 363–373.
3. Metzler D. E., Snell E. E. (1952) *J. Amer. Chem. Soc.*, **74**, 974–980.
4. Ikawa M., Snell E. E. (1954) *J. Amer. Chem. Soc.*, **76**, 653–655.
5. Белоконь Ю. Н., Беллков В. М., Каргинов В. А., Никитина С. Б., Петровский В. П. (1974) Изв. АН СССР. Сер. хим., 1976–1983.
6. Metzler D. E., Olivard J., Snell E. E. (1954) *J. Amer. Chem. Soc.*, **76**, 644–648.
7. Hebst E. (1934) *J. Biol. Chem.*, **107**, 505–510.
8. Hirota K., Miyamoto K., Izumi Y. (1967) *Bull. Chem. Soc. Japan*, **40**, 178–184.
9. Toi K., Izumi Y., Akabori S. (1962) *Bull. Chem. Soc. Japan*, **35**, 1422–1423.
10. Belokon' Yu. N., Dolgaya M. M., Saporovskaya M. B., Tararov V. I., Belikov V. M. (1978) *J. Molek. Cat.*, **4**, 289–298.
11. Toi K. (1963) *Bull. Chem. Soc. Japan*, **36**, 739–743.
12. Серенсен У., Кемпбел Т. (1963) Препартивные методы химии полимеров, с. 354, «Мир», М.
13. Васильев А. А. (1967) *Ж. прикл. химии*, **40**, 1101–1107.

Поступила в редакцию
16.XI.1979

SOME ASPECTS OF CATALYTIC RACEMIZATION OF LYSINE IN THE PRESENCE OF CARBONYL-CONTAINING POLYMERS

YAMSKOV I. A., TIKHONOV V. E., DAVANKOV V. A.

Institute of Organo-Element Compounds, Academy of Sciences of the USSR, Moscow

The racemization of optically active lysine, as well as of alanine and glutamic acid, in the presence of polymeric carbonyl-containing catalyst comprising the salicyaldehyde-like fragments has been studied. It is demonstrated that the racemization is kinetically controlled and can be described by the first-order equation with respect to substrate. The racemization rate depends on the temperature, Cu²⁺ ion concentration, the ionogenic group content in the polymeric catalyst, pH values, and on the substrate and catalyst concentrations.