

Дослідження кінетики процесу поліконденсації вуглеводів методом інфрачервоної спектроскопії

В. А. Кузьменко, Б. І. Сухоруков

Сектор біофізики Інституту фізіології ім. О. О. Богомольця
Академії наук УРСР, Київ

В літературі є дані про те, що процес утворення парамагнітних продуктів, виявлений при дослідженні протонізованих нуклеозидів пуринових основ та моносахаридів, зводиться до каталізованої іонами водню поліконденсації вуглеводів з утворенням полімерів з системою спряжених зв'язків [1, 3].

В цій статті ми приводимо результати досліджень інфрачервоних (ІЧ) спектрів у процесі утворення парамагнітних речовин.

Методика досліджень

Дослідження ІЧ спектрів проводились спектрофотометром ІЧС-14 на призмі з NaCl ($600\text{--}1900\text{ см}^{-1}$). Калібровка спектрофотометра здійснювалась по смугах поглинання полістеролу. ІЧ спектри продуктів у процесі поліконденсації ми досліджували в тонких таблетках, одержаних в результаті пресування порошків препаратів з KBr [6, 7]. Бромистий калій, використаний при пресуванні, кілька разів перекристалізовували і потім старанно розтирали в агатовій ступці і висушували при температурі $150\text{--}300^\circ\text{C}$ протягом кількох діб. Для одержання таблеток готували суміш з 400 мг KBr і $0,6\text{--}1,2\text{ мг}$ досліджуваної речовини. Цю суміш перемішували і перетирали в ступці і потім рівномірно засипали в пресформу. Матриця пресформ складена з системи пластин, виготовлених із загартованої сталі. Після пресування під високим тиском з одночасною відкачкою повітря одержували прозорі таблетки прямокутної форми $25 \times 0,8\text{ мм}$ і товщиною близько $0,5\text{ мм}$. Звичайні умови одержання таблеток були такі: тиск — близько 8 Т/см^2 , час пресування — $20\text{--}30\text{ хв}$, вакуум близько $10^{-1}\text{ мм. рт. ст.}$ Таблетки після виготовлення поміщали в спеціальні тримачі і встановлювали на спектрофотометр.

Дослідження кінетики процесу поліконденсації вуглеводів при різних температурах по зміні ІЧ спектрів були проведені з використанням підігрівальної пічки спеціальної конструкції. Ця піч складається з дюралюмінієвого циліндра довжиною 7 см , на який намотаний ніхромовий дріт. В середній частині циліндра прорізана щілина, в яку вставляють спеціальний тримач. Піч, в яку вставляли досліджувану таблетку, встановлювали на спектрофотометр. Контроль температури здійснювався з допомогою термометри мідь-константан.

Досліджуваний протонізований вуглевод відразу після виділення його з розчину з низкими показниками рН (менше 2) запресовувався в таблетку KBr і дальший процес поліконденсації здійснювався в таблетці.

Результати досліджень та їх обговорення

Особливу увагу при дослідженні ІЧ спектрів у процесі поліконденсації вуглеводів ми приділяли рибозі.

В ІЧ спектрі рибози в ділянці частот $1750\text{--}1500\text{ см}^{-1}$ виявляється смуга середньої інтенсивності з частотою 1635 см^{-1} (рис. 1, а). ІЧ спектр протонізованої рибози, зареєстрований відразу після виділення препарату в твердий стан (з розчину із значенням рН 0,6), мало відрізняється від спектра вихідної рибози (рис. 1, б). Проте в спектрі протонізованої рибози з'являється смуга слабкої інтенсивності з частотою 1738 см^{-1} і розширюються деякі смуги в ділянці скелетних коливань кільця. Смуга поглинання непротонізованої рибози з частотою 1635 см^{-1} при протонізації не змінюється за інтенсивністю і не зміщується за частотою. Якщо протонізований препарат рибози відразу після його виділення з розчину знову розчинюють, нейтралізують залишкову кислоту і потім виділяють рибозу вже з нейтрального середовища, то ІЧ спектр вихідного препарату рибози повністю відновлюється. Це

свідчить про те, що в першу ж мить після виділення препарату з кислого розчину в тверду фазу процес поліконденсації ще не розпочався і фуранозне кільце рибози ще не зруйноване, оскільки в ділянці скелетних коливань кільця ($1000\text{--}1200\text{ см}^{-1}$) ніяких змін не виникло. З порівняння ІЧ спектра вихідної і протонізованої рибози видно, що спостережувана в розчині циклічна форма зберігається.

Значні необоротні зміни в ІЧ спектрі протонізованої рибози виявляються після початку процесу поліконденсації.

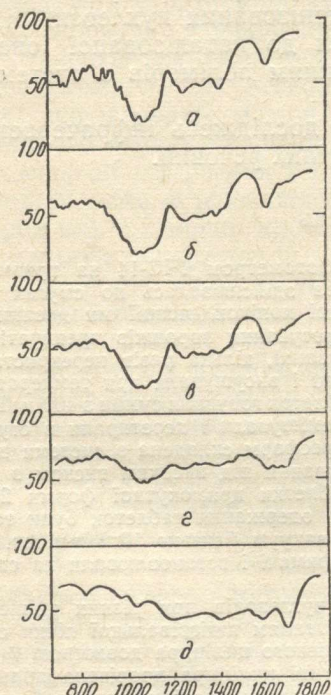


Рис. 1. Дослідження кінетики процесу поліконденсації рибози (при температурі 70°C , методом ІЧ спектроскопії).

а — рибоза вихідна, б — рибоза протонізована, в і г — рибоза в процесі поліконденсації, д — кінцевий продукт поліконденсації рибози.

По вертикалі — пропускання в процентах, по горизонталі — інтенсивність в см^{-1} .

інтенсивності смуг з частотою 1720 і 1580 см^{-1} . На рис. 2 зображена загальна якісна картина змін інтенсивностей цих смуг в процесі поліконденсації.

Цю картину змін ІЧ спектрів в процесі поліконденсації рибози можна пояснити так.

Смугу з частотою 1738 см^{-1} , яка виявляється відразу після виділення рибози з кислого розчину, можна, напевно, віднести до деформацийних коливань протонізованих груп ОН. Інтенсивність цієї слабкої смуги практично не змінюється в процесі перетворення протонізованої рибози, і тільки на більш пізніх етапах процесу поліконденсації вона поступово зникає.

Смуга з частотою 1665 см^{-1} , напевно, належить до коливань не-

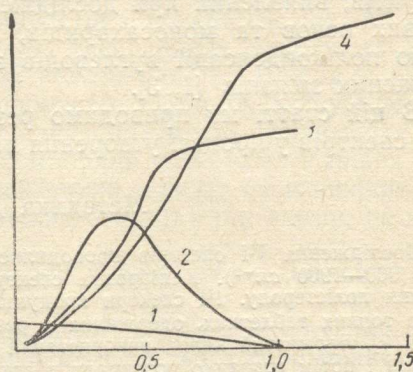


Рис. 2. Зміна інтенсивності смуг поглинання в процесі поліконденсації рибози.

1 — зміна інтенсивності смуги 1738 см^{-1} , 2 — 1665 см^{-1} , 3 — 1580 см^{-1} , 4 — 1720 см^{-1} . По вертикалі — інтенсивність, по горизонталі — час у годинах.

На рис. 1, в, г, д наведені ІЧ спектри рибози в процесі поліконденсації, проведені при температурі 70°C .

Як видно з рис. 1, в процесі поліконденсації рибози в ділянці частот $1750\text{--}1500\text{ см}^{-1}$, крім частоти 1738 см^{-1} , з'являються смуги поглинання з частотами 1720 , 1665 , 1580 і 1545 см^{-1} . Дуже істотно, що для цих смуг швидкість зміни інтенсивності різна. Інтенсивність смуги з частотою 1665 см^{-1} спочатку дуже різко посилюється, потім уповільнюється і нарешті починає знижуватись. Зменшення інтенсивності цієї смуги супроводжується значним підвищенням

спряжених $\text{C}=\text{C}$ зв'язків, слід віднести до процесу поліконденсації.

Смуга з частотою 1692 см^{-1} , а також частотою 1632 см^{-1} ($1000\text{--}1200\text{ см}^{-1}$) м'яко виходить з області 1180, 1124, 1060 см^{-1} гуанозину, виділеного з розчину, ІЧ спектр якого відрізняється від ІЧ спектра вихідного гуанозину, так і в ділянці 1500 см^{-1} , так і в ділянці $1000\text{--}1200\text{ см}^{-1}$.

В процесі поліконденсації гуанозину в ділянці $1000\text{--}1200\text{ см}^{-1}$ спостережується збільшення інтенсивності смуги з частотою 1180 см^{-1} , а також частотою 1124 см^{-1} .

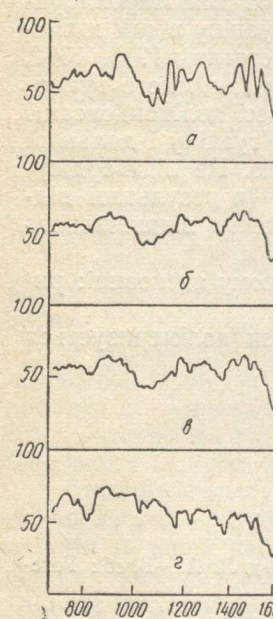


Рис. 3. Дослідження кінетики процесу поліконденсації гуанозину (при температурі 70°C , методом ІЧ спектроскопії). а — гуанозин вихідний, б — гуанозин протонізований, в і г — гуанозин у процесі поліконденсації, д — кінцевий продукт поліконденсації гуанозину.

По вертикалі — пропускання в процентах, по горизонталі — інтенсивність в см^{-1} .

У високочастотній області спектру вихідного гуанозину спостережується сильна поглинаюча смуга з частотою 1692 см^{-1} , а також частотою 1632 см^{-1} ($1000\text{--}1200\text{ см}^{-1}$) м'яко виходить з області 1180, 1124, 1060 см^{-1} гуанозину, виділеного з розчину, ІЧ спектр якого відрізняється від ІЧ спектра вихідного гуанозину, так і в ділянці 1500 см^{-1} , так і в ділянці $1000\text{--}1200\text{ см}^{-1}$. Проте, поряд з цим, в процесі поліконденсації гуанозину, виділеного з розчину, спостережується збільшення інтенсивності смуги з частотою 1180 см^{-1} , а також частотою 1124 см^{-1} . ІЧ спектр вихідного гуанозину відрізняється від ІЧ спектра вихідного гуанозину, так і в ділянці 1500 см^{-1} , так і в ділянці $1000\text{--}1200\text{ см}^{-1}$. Проте, поряд з цим, в процесі поліконденсації гуанозину, виділеного з розчину, спостережується збільшення інтенсивності смуги з частотою 1180 см^{-1} , а також частотою 1124 см^{-1} . ІЧ спектр вихідного гуанозину відрізняється від ІЧ спектра вихідного гуанозину, так і в ділянці 1500 см^{-1} , так і в ділянці $1000\text{--}1200\text{ см}^{-1}$. Проте, поряд з цим, в процесі поліконденсації гуанозину, виділеного з розчину, спостережується збільшення інтенсивності смуги з частотою 1180 см^{-1} , а також частотою 1124 см^{-1} .

спряжених $C=C$ зв'язків [4, 5], а частоти 1580 і 1545 cm^{-1} , на наш погляд, слід віднести до коливань з спряженими $C-S$ зв'язками [4].

Смуга з частотою 1720 cm^{-1} , інтенсивність якої підвищується в процесі поліконденсації, напевно, відповідає коливанню неспряженого карбонільного зв'язку.

В процесі поліконденсації значні зміни виявляються також і в ділянці 1000—1200 cm^{-1} (рис. 1), тобто в ділянці скелетних коливань кільця. Це свідчить про те, що з початку процесу відбувається руйнування фуранозного кільця рибози.

Нами були також, проведені дослідження ІЧ спектрів у процесі поліконденсації нуклеозидів пуринових основ, зокрема гуанозину. Як і в дослідях з рибозою, процес провадився при температурі 70° С. На рис. 3 наведені ІЧ спектри вихідного гуанозину (а), протонізованого гуанозину (б), а також спектри, зняті на різних стадіях процесу поліконденсації (в, г).

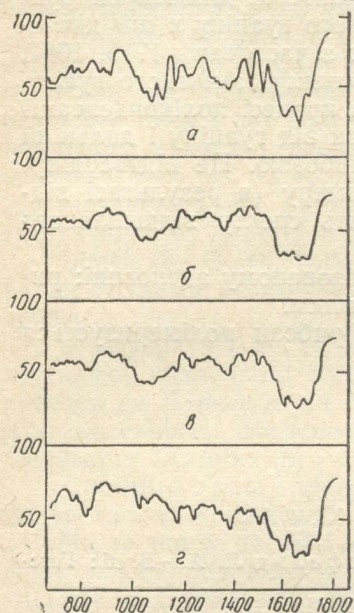


Рис. 3. Дослідження кінетики процесу поліконденсації гуанозину (при 70° С, методом ІЧ спектроскопії). а — гуанозин вихідний, б — гуанозин протонізований, в і г — гуанозин у процесі поліконденсації.

По вертикалі — пропускання в процентах, по горизонталі — інтенсивність в cm^{-1} .

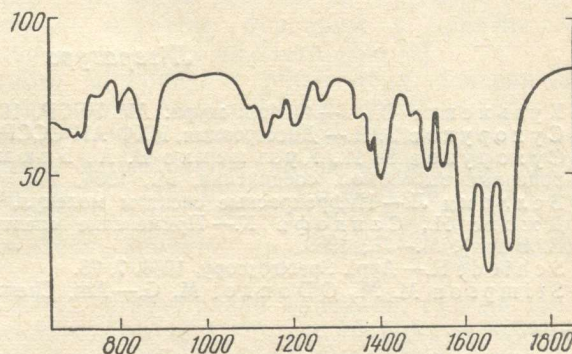


Рис. 4. ІЧ спектр протонізованого гуаніну.

По вертикалі — пропускання в процентах, по горизонталі — інтенсивність в cm^{-1} .

У високочастотній ділянці кратних зв'язків 1750—1500 cm^{-1} у спектрі вихідного гуанозину спостерігається інтенсивна смуга з частотою 1692 cm^{-1} , а також смуга з частотою 1730 cm^{-1} і широка смуга з частотою 1632 cm^{-1} . В ділянці скелетних коливань рибозного кільця (1000—1200 cm^{-1}) молекулярна форма гуанозину характеризується частотами 1180, 1124, 1084, і 1050 cm^{-1} . На рис. 3, б представлено спектр гуанозину, виділеного з розчину з низьким значенням рН. Як видно з рисунка, ІЧ спектр протонізованого гуанозину значно відрізняється від ІЧ спектра вихідного препарату. Добре видно зміна як в ділянці 1750—1500 cm^{-1} , так і в ділянці скелетних коливань рибозного кільця. Ці зміни, проте, поряд з самим фактом протонізації могли бути викликані самим процесом виділення гуанозину з розчину. В літературі [2] показано, що ІЧ спектр гуанозину в твердому стані залежить від умов його виділення з розчину. Так, ІЧ спектр кристалів гуанозину, одержаних повільним випаровуванням розчинника і методом ліофільної сушки, відрізняються один від одного. З дебаєграм цих структур [2] видно, що методом ліофільної сушки одержуються більш дефектні кристали. Від