

УДК 541.64:547.83

СИНТЕЗ И СВОЙСТВА ПОЛИАМИНОКИСЛОТЫ, СОДЕРЖАЩЕЙ КРАСИТЕЛИ, ДЛЯ ПОЛУЧЕНИЯ ПЛЕНОК ЛЕНГМЮРА-БЛОРДЖЕ

© 1994 г. Махер Халид*, Е. Н. Елисеева*, Г. В. Попова*, С. Г. Юдин**

*Российский химико-технологический университет им. Д.И. Менделеева
125190 Москва, Миусская площадь, 9

**Институт кристаллографии Российской академии наук
117333 Москва, ул. Бутлерова, 17

Поступила в редакцию 25.06.93 г.

Рассмотрены пути синтеза полиглутаминовой кислоты, связанной с различными красителями – 7-амино- и 7-гидроксикумаринами, сафранином Т, карбоцианинами. Наибольшая степень введения красителей достигается при иммобилизации карбоцианинов. Все синтезированные соединения образуют окрашенные мономолекулярные пленки Ленгмюра–Блодже.

Различные модификации полiamинокислот, в том числе фотохромы, электрохромы, термохромы, люминофоры и другие подобные соединения, являются объектами интенсивного изучения исследователей, работающих в области молекулярной электроники [1].

Нами предпринят синтез некоторых производных полиглутаминовой кислоты (III), содержащих кумарины, сафранин, карбоцианины. Представлялось интересным получить полiamинокислоты с максимальным содержанием красителей в цепи, а также олигомеры аминокислот с фиксированным положением красителя на конце цепи (модель “голова–хвост”). В связи с этим для создания ковалентной связи между аминокислотой и фрагментом красителя были применены наиболее распространенные в химии пептидов методы: N-карбоксиангидридный (NKA) для получения олигомеров с фиксированным положением красителя на конце цепи и карбодиимидный (ДЦГК) для непосредственного введения красителя в цепь полiamинокислоты.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Чистоту описанных соединений проверяли хроматографически на пластинах “Silufol UV-254” в системе хлороформ : ацетон = 4 : 1, проявитель нингидрин; УФ-, ИК-спектры снимали на приборе UR-20 в области 4000 - 600 см⁻¹ в таблетках с КВг и в вазелиновом масле. Спектры ЯМР ¹H записывали на приборе “Bruker WP-200 SY” с рабочей частотой 200 МГц в дегидрированных ДМСО для соединений Ia - Iv; IIa - IIv и IIId и в трифтторуксусной кислоте IIIa - IIIv, внутренний стандарт ТМС при температуре 30°C. Спектры ЯМР ¹H соединения IIIg снимали при температуре 30 и 90°C на приборе “Varian 400 XL” с рабочей частотой 400 МГц в ДМСО.

Полиглутаминовую кислоту (III) получали по методике [2].

Олигомеры γ-метил-L-глутамата и L-аланина, содержащие 7-аминокумарин (IV), 7-оксикумарин (Va) и сафранин (VI). NKA-метод (соединения Ia, Ib, Iv; IIa, IIb, IIv – схема 1). 0.01 моля NKA-γ-метил-L-глутаминовой кислоты (L-аланина) растворяли в ДМФА (10%), затем вводили 0.01 моля красителя (7-аминокумарин, 7-оксикумарин, сафранин) в ДМФА (10%). Для соединений Ia - Iv, IIa - IIv соотношения составили 1 : 1, 1 : 3, 1 : 5, 1 : 10. Через 168 ч отфильтровывали осадок, фильтрат выливали в 300 мл хлороформа. Осадок отфильтровывали, промывали спиртом, затем эфиром. Выход соединения Ia, Ib – 13%, R_F = 0.68 - 0.70; Iv, IIv – 25%, R_F = 0.54 - 0.56; IIa, IIb – 15%, R_F = 0.66 - 0.68.

ИК-спектры (ν, см⁻¹) соединений Ia, Ib, Iv; IIa, IIb, IIv: 1735 (C=O); 1530 (CONH); 1220 (C—O); 3300 - 3340 (NH). Спектры ЯМР ¹H (δ, м. д.) соединений Ia, Ib; IIa, IIb: 1.23 (-CH₃ аланина), 2.09 (β-CH₂), 2.31 (γ-CH₂), 4.21 (α-CH), 8.08 (-NH), 3.58 (-OCH₃), 5.68 (-NH кумарин), 5.51 - 7.51 (протоны кумарина); соединений Iv, IIv: 2.35 (β-CH₂), 2.66 (γ-CH₂), 3.93 (α-CH), 3.57 (OCH₃), 8.1 (NH глутамата, аланина), 2.09 (-CH₃), 7.79 (Ph), 7.54 (протоны сафранина), 5.92 (-NH сафранин).

Полиглутаминовая кислота, связанная с 7-амино-4-метилкумарином (IIIa) и 7-окси-4-метилкумарином (IIIb) (схема 2). 0.003 моля полиглутаминовой кислоты (*M* = 6000) растворяли в 10 мл ДМСО, затем добавляли 0.001 моля 7-аминокумарина (IV) или 7-оксикумарина (V), 0.005 моля ДЦГК и 0.11 мл пиридина. Через 120 ч отфильтровывали выпавшую дициклогексилмочевину. Фильтрат упаривали, выливали в 400 мл хлороформа. Осадок отфильтровывали, промывали спиртом, затем эфиром. Выход IIIa – 18%, R_{F(A)} = 0.72 - 0.74; IIIb – 17%, R_{F(A)} = 0.72 - 0.74.

ИК-спектры (ν , см^{-1}): 1220 (C—O), 1660, 1540 (CONH), 1735 (C=O), 3300 - 3340 (NH). Спектры ЯМР ^1H (δ , м. д.): 2.36 (β -CH₂), 2.68 (γ -CH₂), 4.39 (α -CH), 8.1 (-NH глутамин), 2.86 (-CH₃), 6.62 - 7.25 (протоны аминокумарина), 6.49 (-NH кумарин), 5.60 - 7.55 (протоны оксикумарина).

Полиглутаминовая кислота, связанная с сафранином (Шв). 0.005 моля полиглутаминовой кислоты ($M = 6000$) растворяли в 10 мл ДМСО, затем добавляли 0.001 моля сафранина, 0.008 моля ДЦГК и 0.15 мл пиридина; через 72 ч отфильтровывали выпавшую дициклогексилмочевину, фильтрат выливали в 400 мл хлороформа. Осадок отфильтровывали, промывали спиртом, затем эфиром. Выход 20%, $R_{F(A)} = 0.80 - 0.82$.

ИК-спектр (ν , см^{-1}): 1640 - 1530 (CONH), 1735 (C=O), 3300 - 3340 (NH). Спектр ЯМР ^1H (δ , м. д.): 2.29 ($\beta\text{-CH}_2$), 2.86 ($\gamma\text{-CH}_2$), 4.36 ($\alpha\text{-CH}$), 8.03 (-NH глутамин), 2.10 (- CH_3), 2.29 (- CH_3), 7.76 (Ph), 7.54 (протоны сафранина), 5.98 (-NH сафранина).

Полиглутаминовая кислота, связанная с окси-карбоцианином (соединение IIIг). 0.004 моля поли-L-глутаминовой кислоты ($M = 6000$) растворяли в 8 мл ДМСО, затем добавляли 0.001 моля красителя VII, 0.008 моля ДЦГК и 0.11 мл пиридина; через 192 ч добавляли 40 мл смеси этилацетата с ацетонитрилом (1 : 1), отфильтровывали выпавшую дициклогексимочевину. Фильтрат упаривали, выливали в 500 мл эфира, выпавший осадок отфильтровывали и промывали ацетонитрилом. Выход 78%; $R_{F(A)}$ = 0.65 - 0.68; т. пл. 195 - 200°C.

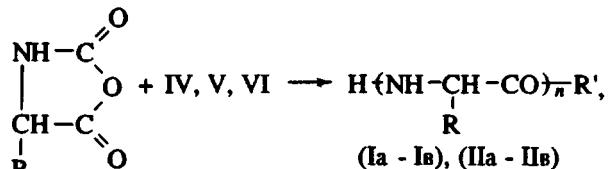
ИК-спектр (ν , см^{-1}): 1260 (C—O), 1670, 1545 (CONH), 1735 (C=O), 3300 (NH). Спектр ЯМР ^1H (δ , м. д.): 1.87 ($\beta\text{-CH}_2$), 2.29 ($\gamma\text{-CH}_2$), 4.24 ($\alpha\text{-CH}$), 8.10 ($-\text{NH}$ глутамин), 1.35 ($-\text{CH}_3$), 1.46 ($-\text{CH}_3$), 2.46 ($-\text{CH}_3$), 4.46 ($-\text{CH}_2$), 4.69 ($-\text{CH}_2$), 6.02 (C—OH), 6.88 - 8.32 (бензольные протоны).

Полиглутаминовая кислота, связанная с аминокарбоницином (соединение IIIд). 0.005 моля полиглутаминовой кислоты растворяли в 10 мл ДМСО, затем добавляли 0.001 моля красителя VIII, 0.0088 моля ДЦГК и 0.15 мл пиридина. Через 48 ч отфильтровывали выпавшую дициклогексилмочевину, фильтрат упаривали, выливали в 300 мл хлороформа, осадок отфильтровывали, промывали ацетонитрилом, затем эфиrom. Выход 77%; $R_{F(A)} = 0.68 - 0.70$; т. пл. = 215 - 219°C.

ИК-спектр (ν , см^{-1}): 1675, 1540 (CONH), 1730 (C=O), 2800 - 3000 ($^+\text{NH}_4$), 3300 (NH). Спектр ЯМР ^1H (δ , м. д.): 1.80 ($\beta\text{-CH}_2$), 2.29 ($\gamma\text{-CH}_2$), 4.24 ($\alpha\text{-CH}$), 8.10 ($-\text{NH}$ глутамин), 2.07 ($-\text{CH}_2$), 2.65 ($-\text{CH}_2\text{SO}_3^-$), 4.34 ($^+\text{N}-\text{CH}_2$), 5.87 ($-\text{C=CH}$), 6.8 ($-\text{NH}$), 7.24 - 7.91 (бензольные протоны).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Учитывая особенности инициирования полимеризации NKA-основаниями [3], например NKA- γ -эфиров глутаминовой кислоты (I) и NKA-аланина (II), мы применяли красители со свободной первичной аминогруппой 7-амино-4-метилкумарин (IV), сафранин Т (VI) и Na-соль 7-окси-4-метилкумарины (Va), в результате чего синтезировали олигоглутаматы и олигоаланины, содержащие в конце цепи кумарин (Ia, Iб; IIa, IIб) и сафранин (Iв, IIв) (схема 1).



где R = CH₃ (Ia - Ib) и -(CH₂)₂COOCH₃ (IIa - IIb)

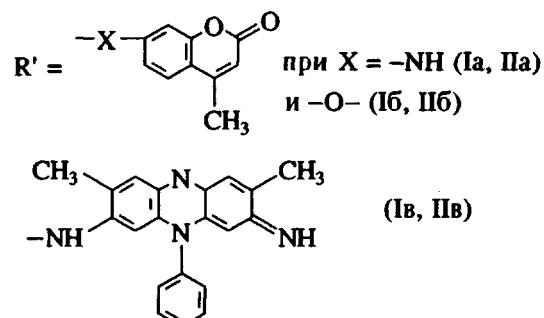


Схема 1

Известные литературные данные [4] и собственные исследования [5] показали возможность при невысоких степенях полимеризации $n \leq 10$ получать олигомеры определенной ММ в зависимости от соотношения M/I, т.е. может быть реализовано равенство $M/I = n$ (M – мономер, I – инициатор, n – степень полимеризации).

Для кумариновых красителей и сафранина это соотношение не соблюдалось. Нам не удалось получить короткие цепи полиаминокислот, содержащих на конце молекулы красителя. По данным ЯМР, соотношение аминокислот : краситель в среднем составило 30 : 1. Характер спектров ПМР, анализ тонкослойных хроматограмм и гель-хроматография полученных полиаминокислот указывали на довольно узкое ММР. Учитывая строение кумариновых красителей IV, V и сафранина T (VI), пониженную реакционную способность аминогрупп в соединениях I_a, I_a и оксигрупп в соединениях I_b, II_b, можно предположить, что при раскрытии N-карбоксиангидридного цикла аминокислоты амином образующийся форполимер сам инициирует дальнейший рост цепи, в результате чего образуется полиаминокислота с более высокой молекулярной массой, чем предполагали первоначально выбранные условия, и соотношение М/Л = *n* в этом случае не соблюдается. Подобные факты известны в литературе [3].

Очевидно, форполимер более активен и при инициировании полимеризации NKA Na-солью 7-окси-кумарины (Iб, IIб). Природа аминокислот (глутаминовая или аланин) заметного влияния на течение полимеризации не оказывала. Выход полиаминокислот составил от 30 до 45%.

Прямое введение красителей (карбоцианинов (VII, VIII), кумариновых (IV, V) и сафранина Т (VI)) в цепь полиглутаминовой кислоты ($M = 6000$) осуществляли методом ДЦГК (схема 2).

Предварительное рассмотрение пространственных моделей Стюарта-Бриглеба для γ -глутамилкарбоцианинов (IIIг, IIIд) показало, что карбоцианиновый краситель VII может присоединяться к полиглутаминовой кислоте не менее чем через три свободных аминокислотных единицы. Поэтому стехиометрическое соотношение аминокислоты III : краситель VII составило максимально 4 : 1 и далее 8 : 1, 12 : 1. Введение красителя VIII в полиглутаминовую кислоту возможно не менее чем через четыре свободные аминокислоты, т.е. стехиометрия аминокислота III : краситель VIII соответствует 5 : 1. Выход амида полиглутаминовой кислоты IIIд 75 – 80%, сложного эфира IIIг – до 75%.

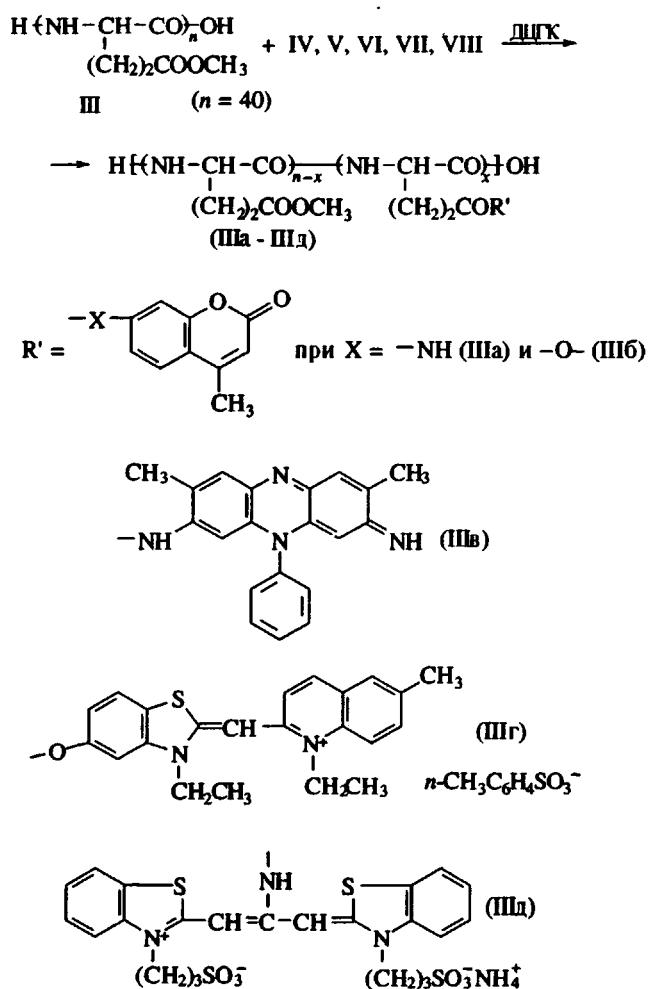


Схема 2

Значения x для IIIа - IIIд приведены ниже.

Полимер	IIIа	IIIб	IIIв	IIIг	IIIд
x	2	2	3	13	8

Получение полиглутаминовой кислоты, связанной с кумариновыми фрагментами, осуществляли также методом ДЦГК (схема 2). При этом удалось ввести около 1 - 3% кумаринов. Выход иммобилизованных кумаринов также был невысок (до 20%); из реакционной массы был выделен непрореагировавший кумарин (~75%).

В процессе конденсации полиглутаминовой кислоты с сафранином также выделили непрореагировавший сафранин (~10%). Полученный полимер по данным спектров ПМР содержал до 50% сафранина. Однако при обработке полимера водой отмечали переход свободного сафранина в водный слой с окрашиванием последнего. После отделения нерастворимой части оказалось, что полиглутаминовая кислота, ковалентно-связанная с сафранином, содержала последний ~3%, остальная масса красителя, очевидно, составила комплекс с полиглутаминовой кислотой, как это известно для комплексов полиглутаминовой кислоты с акридиновым оранжевым, пиколиновым синим, родамином Б [6].

Для всех синтезированных соединений были рассмотрены их спектральные характеристики (их данные представлены в экспериментальной части). УФ-спектры иммобилизованных красителей имели поглощение, соответствующее λ_{\max} красителей: 310 - 330 нм – кумарин, 650 нм – сафранин, 450 - 475 нм – карбоцианины [7]. Наиболее информативными являются спектры ПМР. Целесообразно рассмотреть спектральные характеристики на примере карбоцианиновых производных полиаминокислот. При образовании амидной связи между группой NH_2 карбоцианинового красителя VIII и группой $\gamma\text{-COOH}$ полиглутаминовой кислоты интерпретация данных ИК- и ЯМР-спектроскопии для соединения IIIд проста. Определенный интерес представляет рассмотрение спектральных характеристик соединения IIIг. В УФ-спектрах продуктов реакции существует поглощение $\lambda_{\max} = 458$ нм, характерное для красителя VII и отсутствующее в полиглутаминовой кислоте. В ИК-спектрах отчетливо проявляется полоса поглощения валентных колебаний сложноэфирной связи 1735 cm^{-1} между красителем и группой $\gamma\text{-COOH}$ глутаминовой кислоты наряду с оставшейся полосой поглощения 1700 cm^{-1} , относящейся к валентным колебаниям свободных групп COOH в полиглутаминовой кислоте, как и диффузное поглощение в области $2800 - 3000 \text{ cm}^{-1}$. В спектрах ЯМР ^1H продукта IIIг отсутствует синглет $\delta = 10.16 \text{ м. д.}$, характерный для протона группы OH красителя VII.

При изменении концентрации и температуры (до 90°C) спектр ПМР продукта IIIг не изменяется, что свидетельствует о наличии ковалентной

связи между группой OH карбоцианина VII и группой COOH полиглутаминовой кислоты. Все остальные сигналы соответствуют сигналам протонов полиглутаминовой кислоты и остатка карбоцианина VII и не противоречат предполагаемой структуре соединения IIIг.

В спектре ЯМР ^{13}C соединения IIIг присутствует пик с $\delta = 170.79$ м. д., который следует отнести к углероду бензольного кольца красителя VII, непосредственно связанного сложноэфирной связью с полиаминокислотой.

Для всех полиаминокислот, связанных с хромофорами, были получены мономолекулярные пленки типа Ленгмюра–Блодже (ЛБ).

ЛБ-пленки из комплекса полиглутаминовой кислоты и сафранина получали из смеси ДМСО и хлороформа (9 : 1). Адсорбированная часть красителя при этом переходит в водный слой. Оставшаяся часть полимера образует стабильную пленку – при нанесении 10 и даже более слоев – слабоокрашенную. ЛБ-пленки из полиглутаминовой кислоты и сафранина, полученные методом NKA, соединения (Iв, IIв) также слабоохранены, но достаточно стабильны, дают обычную кривую, как и для чистой полиглутаминовой кислоты.

Авторы выражают признательность за поддержку выбранной темы и научную консультацию В.В. Кирееву и В.Ф. Травеню.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Чечель О.В., Николаев Е.Н. // Зарубеж. радиоэлектрон. 1989. № 11. С. 30.
2. Fletcher G.A., Young G.T. // J. Chem. Soc. Perkin Trans. I. 1972. V. 1. P. 1867.
3. Шрёдер Э., Любке К. Пептиды. М.: Мир, 1967. Т. 1. С. 116.
4. Blout E.R., Karlson R.N. // Am. Chem. Soc. 1956. V. 78. P. 941.
5. Попова Г.В., Неклюдов А.Д., Суворов Н.Н. // Тез. докл. V Всесоюз. коллоквиума "Химия, биохимия и фармакология производных индола". Тбилиси, 1981. С. 155.
6. Sato Y., Hanto M. // Bull. Chem. Soc. Jpn. 1973. V. 46. № 11. P. 3339; Pal M.K., Mandel M. // Biopolymers. 1979. V. 18. № 9. P. 2267; Yasunaga T., Lakenoka H. // Chem. and Biol. Appl. Relaxat Spectrometry Proc. NATO. Adv. Inst. Salford, 1977. P. 467.
7. Лурье Ю.Ю. Справочник по аналитической химии. М.: Химия, 1989. Т. 6. С. 448.

Synthesis and Properties of Dye-Containing Polyamino Acid for the Langmuir–Blodgett Film Deposition

Makher Khalid*, E. N. Eliseeva*, G. V. Popova*, and S. G. Yudin**

*Mendeleyev University of Chemical Engineering, Miusskaya pl. 9, Moscow, 125190 Russia

**Institute of Crystallography, Russian Academy of Sciences, ul. Butlerova 17, Moscow, 117333 Russia

Abstract – Pathways are considered for the synthesis of polyglutamic acid bonded to various dyes, including 7-amino- and 7-hydroxycumarines, safranine T, and carbocyanines. The highest content of dyes is achieved upon the immobilization of carbocyanines. All the synthesized compounds are capable of forming colored monomolecular Langmuir–Blodgett films.