

И. С. Черепанов, А. А. Белков

СТРОЕНИЕ ПРОДУКТОВ ТЕРМОДЕСТРУКЦИИ

p-(*N*- β -*D*-МАННОПИРАНОЗИЛ)АМИНОБЕНЗОЙНОЙ КИСЛОТЫ*Ключевые слова:* *D*-манноза, *p*-аминобензойная кислота, аминоконъюгат, спектроскопия, термодеструкция.

N-гликозилирование аминов является одним из наиболее эффективных направлений синтеза биологически активных веществ углеводной природы. Модифицирование ариламинов углеводами позволяет повысить их растворимость и снизить токсичность при сохранении высокого уровня биоактивности продуктов. Нами ранее синтезирована, выделена и на основании данных элементного анализа и ИК-Фурье спектроскопии идентифицирована *p*-(*N*- β -*D*-маннопиранозил)аминобензойная кислота, в настоящей работе изучено строение продуктов ее термодеструкции (150⁰С). Данная проблема имеет как теоретическое значение, поскольку поведение углеводных конъюгатов низкоосновных аминов в условиях термодеструкции практически не изучено, так и практическую значимость: продукты термоконверсии сахаров и их производных перспективны в качестве углерод-насыщенных материалов. Применение метода матричной изоляции (КВr-матрица) позволило сделать предположение о строении продуктов сухой термодеструкции, а их также этанол-экстрагируемой и этанол-нерастворимой фракций. Показано, что термораспад аминоконъюгата реализуется за счет глубокой трансформации углеводного фрагмента, наличие нескольких сигналов в области 1710–1650 см⁻¹ указывает на наличие С=О-функций в различном структурном окружении. Преобладание в электронных и колебательных спектрах этанол-растворимой фракции полос поглощения *p*-аминобензойной кислоты свидетельствует о ее элиминировании в ходе деструкции аминоконъюгата, и образовании значительного количества летучих продуктов термораспада. Окрашенные этанол-растворимые вещества представлены неароматическими полисопряженными системами, образующимися, вероятно, в результате конденсации низкомолекулярных продуктов фрагментации ациклической азотиновой формы аминоконъюгата. Конденсированная этанол-нерастворимая фаза исследовалась методом ИК-Фурье спектроскопии диффузионного отражения; установлено наличие структурных фрагментов замещенных ароматических гетероциклов фуранового ряда и продуктов их трансформации.

I.S. Cherepanov, A.A. Belkov

STRUCTURE OF *p*-(*N*- β -*D*-MANNOPYRANOSYL)AMINO BENZOIC ACID

THERMOCHEMICAL DESTRUCTION PRODUCTS

Keywords: *D*-mannose, *p*-aminobenzoic acid, aminoconjugate, spectroscopy, thermodestruction.

N-glycosylation of amines is one of the most effective directions of synthesis of biologically active substances of carbohydrate nature. Modification of arylamines by carbohydrates makes it possible to increase their solubility and reduce toxicity while maintaining high level of modified product's bioactivity. We have earlier synthesized, isolated and identified on the basis of ultimate analysis and IR Fourier transform spectroscopy data the *p*-(*N*- β -*D*-mannopyranosyl)aminobenzoic acid, in the present paper its thermodestruction (150⁰С) product's structure has been studied. This problem has both theoretical significances, since the behavior of carbohydrate conjugates of low-base amines under thermal degradation conditions has not been practically studied, and practical significance: the products of thermal conversion of sugars and their derivatives are promising as carbon-saturated materials. The application of the matrix isolation method (KBr-matrix) allowed us to make an assumption about the structure of dry thermal degradation products, as well as their ethanol-extractable and ethanol-insoluble fractions. It is shown that the thermal decomposition of the amino conjugate is realized due to the deep transformation of the carbohydrate fragment, the presence of several signals in the area of 1710-1650 cm⁻¹ indicates the presence of C=O functional groups in a different structural environment. The predominance in the electronic and vibrational spectra of the ethanol-soluble fraction of the absorption bands of *p*-aminobenzoic acid indicates its elimination during the destruction of the amino conjugate, and the formation of a significant amount of volatile thermal decomposition products. Colored ethanol-soluble substances are represented by nonaromatic polyconjugate systems formed, probably, as a result of low molecular weight product's condensation of aminoconjugate acyclic form (Schiff base) cleavage. The condensed ethanol-insoluble phase was studied by the diffuse reflectance IR-Fourier transform spectroscopy method; the presence of aromatic heterocycles of the furan groups structural fragments and products of their transformation was established.

Введение

Проблемы термостабильности аминоконъюгатов углеводов остаются актуальными в настоящее время и изучение механизмов их термопревращений позволяет прогнозировать динамику биохимически важных процессов с участием аминоконъюгатов, а также учитывать термостабильность при разработке

технологии получения функциональных продуктов на их основе.

Описанная проблема имеет как теоретическое значение, поскольку поведение углеводных конъюгатов ариламинов с низкой основностью в условиях термодеструкции практически не изучено, так и практическую значимость: продукты термоконверсии сахаров и их производных перспективны в качестве биологически-активных веществ и углерод-насыщенных материалов [1-5].

Одной из основных проблем изучения поведения функционализированных углеводов при повышенных температурах является образование продуктов различного фракционного состава, требующее их разделения перед изучением. Хроматографические методы позволяют фракционировать и идентифицировать низкомолекулярные летучие продукты деструкции, тогда как конденсированные фазы могут изучаться только спектральными методами. Последнее при условии выделения отдельных фракций продуктов позволяет установить их функционально-групповой состав и сделать предположения относительно механизмов термодеструкции.

Известны работы, авторы которых в качестве матриц для фиксации продуктов распада при изучении термостабильности аминоконъюгатов применяли различные жидкие (глицерин) и твёрдые (парафин, соли) инертные иммерсионные системы [1,2], при этом структурно-групповой состав конденсированных продуктов глубокой деструкции не детализируется.

В данной работе представлены результаты по исследованию термодеструкции аминоконъюгата активного углевода (*D*-маннозы) с низкоосновным амином (*n*-аминобензойной кислотой) с применением модифицированного метода матричной изоляции. Последний позволяет фиксировать в инертной к термическим воздействиям матрице продукты реакций разложения исходного субстрата, которые при последующей экстракции растворителями различной полярности изучаются методами молекулярной спектроскопии.

Экспериментальная часть

Синтез, очистку и идентификацию исследуемого аминоконъюгата (*n*-(*N*-β-*D*-маннопиранозил)аминобензойной кислоты) проводили по методикам [2]. Образцом для изучения целевых процессов являлся KBr-диск (2 мг аминоконъюгата в 500 мг матрицы) толщиной 1 мм и диаметром 10 мм служил одновременно матрицей для проведения реакций и образцом для последующей получения колебательных спектров. Малые количества пробы исследуемого вещества в матрице позволяют избежать значительного числа побочных реакций, затрудняющих идентификацию первичных продуктов термораспада, в частности, за счет конденсации последних.

Продолжительность термодеструкции в свободно-аэрируемых условиях составляла 1 час (150°C), последующую регистрацию ИК-Фурье-спектров в режиме поглощения проводили на ИК-Фурье спектрометре ФСМ-2201 (ООО «Инфраспек», СПб, Россия) в интервале волновых чисел 4000-400 см⁻¹ (разрешение по волновому числу 2 см⁻¹ при 60 сканах). Затем образец растворяли в 10 мл 96% этанола и выдерживали в течение суток, после чего отфильтровывали от нерастворившегося остатка и регистрировали электронные спектры экстрактов на спектрофотометре СФ-2000 (ОКБ «Спектр», СПб, Россия) в диапазоне длин волн 200-

800 нм с разрешением 5 нм. Последующее удаление растворителя приводило к выделению твердой фазы этанол-экстрагируемых продуктов термодеструкции, функционально-групповой состав которых также изучался методом колебательной спектроскопии.

Конденсированную фазу, нерастворимую в этаноле, высушивали и исследовали методом спектроскопии диффузионного отражения (DRIFT) с использованием приставки ПДО (ООО «Инфраспек», СПб, Россия), образцы изучались в форме порошков в смеси с KBr (5 мг образца в 100 мг KBr). Спектры регистрировали в интервале волновых чисел 4000-400 см⁻¹ (разрешение по волновому числу 2 см⁻¹ при 150 сканах) относительно чистого порошка KBr.

Обсуждение результатов

Анализ профилей колебательных спектров продуктов термодеструкции в сопоставлении со спектрами исходного аминоконъюгата [2] показывает наличие продуктов достаточно глубокой деструкции углеводного фрагмента. В частности, фиксируется исчезновение интенсивных полос в области 1100–1000 см⁻¹ (δ_{ring}), относимых к колебаниям гликозидных циклов (рис. 1), а также отсутствие сигналов в интервале 950–880 см⁻¹ (δ_{COC} , δ_{CH}).

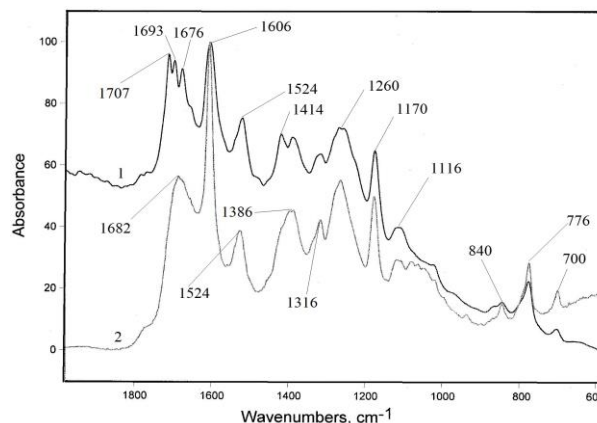


Рис. 1 – ИК-Фурье спектры поглощения продуктов термодеструкции аминоконъюгата в KBr-матрице (1) и твердой фазы этанол-экстрагируемой фракции (2)

Fig. 1 – FTIR absorbance spectra of aminoconjugate thermodestruction product in KBr-matrix (1) and ethanol-extractable fraction solid phase (2)

Несколько интенсивных полос в области валентных колебаний C=O-функций 1710–1650 см⁻¹ указывает на присутствие карбонильных групп продуктов в различном структурном окружении [3-5], в том числе C=O(OH)-фрагментов *n*-аминобензойной кислоты. Сигналы 1707, 1693, 1676 см⁻¹ можно отнести к валентным C=O-колебаниям кетонных и карбоксильных групп, плечо при 1630 см⁻¹, вероятно, характеризует колебания C=N азометинов и колебания сопряженных C=C-связей.

В ИК-Фурье спектре твердой фазы этанол-растворимой вытяжки (рис. 1, спектр 2) широкая полоса с максимумом 1682 см^{-1} отвечает в основном поглощению карбоксильной группы *n*-аминобензойной кислоты (с вкладом колебаний C=O-групп других продуктов), элиминирующейся в ходе термодеструкции, о чем свидетельствуют и другие характерные сигналы: $1606, 1524\text{ (C=C)}$, 1316 (Ar-N) , $1260, 1170\text{ (C-O)}$, 840 (=C-H) см^{-1} , а также полосы поглощения $215, 295\text{ нм}$ в электронном спектре (рис. 2).

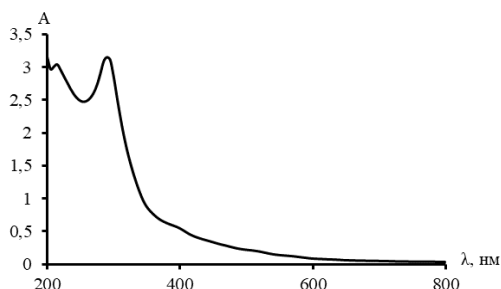


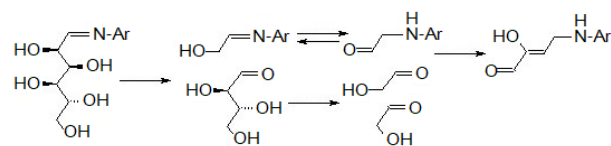
Рис. 2 – Электронный спектр этанольного экстракта продуктов термодеструкции

Fig. 2 – UV-Vis spectra of thermolysis product ethanolic extract

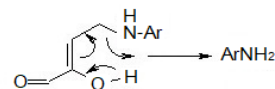
Электронные спектры этанольного экстракта показывают наличие интенсивных полос $215\text{ и }295\text{ нм}$ (C=C и C=O-производные), широкого сигнала в виде плеча со слабым максимумом 400 нм (сопряженные C=C-системы) и область непрерывного поглощения до 700 нм , что указывает на протекание меланоидинообразования в ходе термодеструкции (рис. 2). Соотношение A_{465}/A_{665} составляет 5.1 , свидетельствуя об отсутствии высоко конденсированных ароматических продуктов в составе экстракта, что подтверждает структурные выводы, сделанные выше. Невысокие значения оптической плотности $A_{400-480}$ в совокупности с отсутствием интенсивных полос, характерных для меланоидинов, в ИК-Фурье спектре (рис. 1, спектр 2) свидетельствует о образовании значительного количества низкомолекулярных веществ в ходе термодеструкции.

Известно, что достаточно основные ариламиноконъюгаты в ходе термодеструкции претерпевают перегруппировку Амадори [5], впоследствии образуя продукты дальнейшего распада. По мере понижения основности амина данное направление становится все менее вероятным и в итоге приводит к смене механизма реакции, включающего элиминирование ариламина [6]. Можно предположить, что в указанные процессы вступает ациклическая форма аминоконъюгата – основание Шиффа; в частности, описываются их фрагментация [7] и циклизация [8]. Затруднение перегруппировки Амадори приводит к преобладанию трансформации азометина в ходе термодеструкции, вероятно, посредством его ретроальдольного распада [9] с последующей

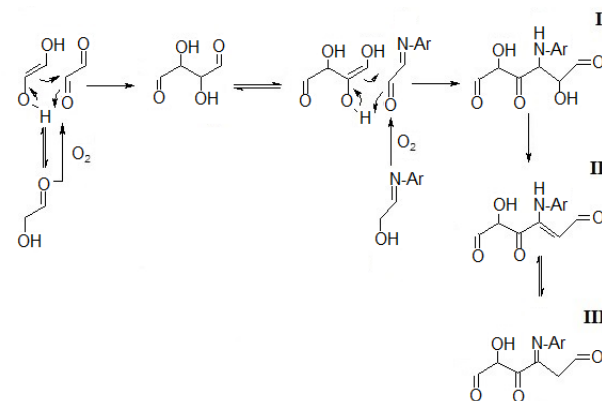
альдольно-кетоновой конденсацией продуктов фрагментации:



и далее непосредственно элиминирование ариламина:



Образование меланоидинов по нашему предположению протекает с участием низкомолекулярных C₂-продуктов фрагментации: процесс начинается с конденсации глиоксаля с енольной формой глиоксильного альдегида [10]:



Дальнейшие реакции реализуются по аналогичной схеме, в том числе с возможным участием иминных форм. Структуры I – III характеризуются функционализацией, подтверждающейся проанализированными ранее спектральными данными. Активные концевые альдегидные группы способны к развитию процессов, сопровождающихся усложнением структуры.

Твердая фаза коричневого цвета, нерастворимая в этаноле, также представляет определенный интерес, поскольку подобные системы перспективны в качестве углерод-насыщенных материалов, в частности сорбентов в пищевой промышленности [4].

В качестве метода исследования применяли спектроскопию диффузионного отражения, которая в сравнении с регистрацией спектров поглощения в КВг имеет определенные преимущества при изучении структурно-группового состава углей и родственных углерод-насыщенных материалов [11,12].

На рис. 3 представлены фрагменты спектров пропускания и диффузионного отражения этанол-нерастворимой твердой фазы.

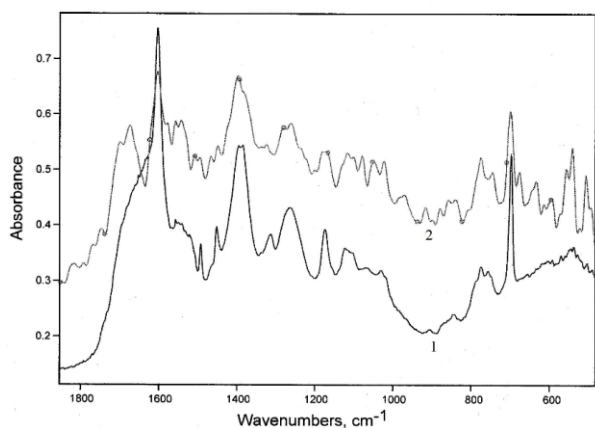
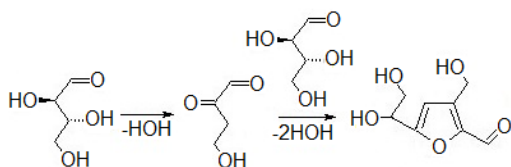


Рис. 3 - ИК-Фурье спектры поглощения (1) и диффузионного отражения (2) конденсированной этанол-нерастворимой фазы в области 1800–600 cm^{-1}

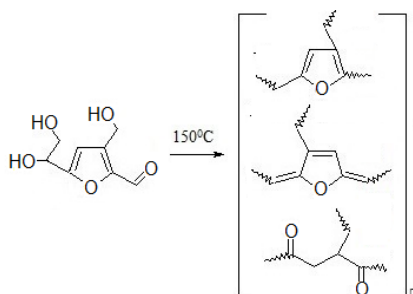
Fig. 3 – FTIR absorbance (1) and diffuse reflectance (2) spectra of condensed ethanol-insoluble phase in 1800–600 cm^{-1} region

В спектре 1 в области валентных колебаний C=O-групп регистрируется только инфлексия, тогда как спектр диффузионного отражения позволяет различить дублет 1710 + 1750 cm^{-1} , что по данным [4] отвечает колебаниям карбонил, формирующихся при трансформации фурановых циклов. Интенсивная полоса 1400 cm^{-1} [4] в совокупности с хорошо разрешенными сигналами 1610, 1550, 1500 (C=C), 1260 (C-O-C), 790 (=C-H) cm^{-1} [13] в спектре 2 свидетельствуют о присутствии в структуре фурановых полимеров.

Образование фурановых циклов происходит путем конденсации образующихся в матрице продуктов фрагментации исходного субстрата [8]:



Дальнейшие процессы дегидратации, конденсации и рециклизации формируют конечную полимерную структуру [14]:



На рис. 4 в сопоставлении представлены фрагменты спектров в области валентных колебаний C-H-связей.

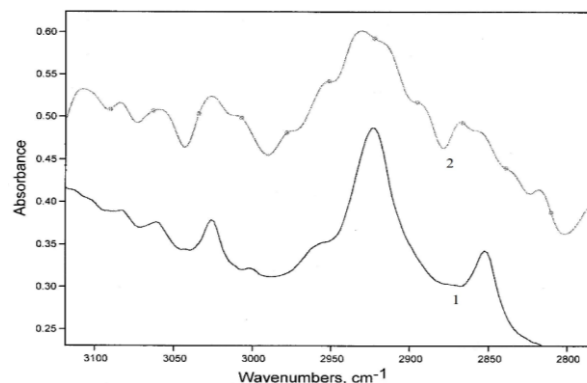


Рис. 4 - ИК-Фурье спектры поглощения (1) и диффузионного отражения (2) конденсированной этанол-нерастворимой фазы в области 3140–2800 cm^{-1}

Fig. 4 – FTIR absorbance (1) and diffuse reflectance (2) spectra of condensed ethanol-insoluble phase in 3140–2800 cm^{-1} region

В спектре диффузионного отражения достаточно четко фиксируется пик 3125 cm^{-1} (=C-H) [13], подтверждая образование замещенных фурановых циклов в структуре продуктов этанол-нерастворимой фракции.

Заключение

Таким образом, изучено поведение конъюгата *D*-маннозы с *n*-аминобензойной кислотой в условиях термодеструкции в свободно-аэрируемых условиях. Применение метода матричной изоляции (КВг-матрица) позволило выделить и исследовать отдельные фракции продуктов деструкции. Сделаны предположения относительно механизмов формирования структуры продуктов разных фракций, подтвержденные данными молекулярной спектроскопии. Предполагается, что трансформации на начальном этапе подвергается ациклическая форма аминоконъюгата – основание Шиффа, образующиеся продукты вступают в реакции линейной конденсации, формируя этанол-растворимую фракцию, а также гетероциклизации, давая замещенные циклы фуранового ряда, которые в дальнейшем образуют полимерную структуру продуктов этанол-нерастворимой фракции.

Литература

1. E. Birch, J. Lelievre, E. Richards *Carbohydr. Res.*, **128**, 351–355 (1984);
2. И.С. Черепанов, А.А. Белков *Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология*, **12** (2) 291–298 (2022);
3. R. Huang, H. Gao, Y. Tang, Q. Liu *China Foundry*, **8**, 161–165 (2011);
4. C. Burket, R. Rajagopalan, A. Marencic, K. Dronvajjala, H. Foley *Carbon*, **44**, 2957–2963 (2006);
5. L. Quinquet, P. Delliere, N. Guigo *Molecules*, **27**, 3212 (2022);
6. И.С. Черепанов, А.В. Трубочев, Г.М. Абдуллина *Химическая физика и мезоскопия*, **19**(3) 466–472 (2017);
7. F. Hayase *Food Sci. Technol. Res.*, **6**(2) 79–86 (2000);
8. B. Cammerer, B. Wedzicha, L. Kroh *Eur. Food Res. Technol.*, **209**, 261–265 (1999);

9. M. Glomb, V. Monnier *J. Biol. Chem.*, **270**(17) 10017–10026 (1995);
10. G. Moshin, F.-J. Schmitt, C. Kanzler, J. Epping, S. Flemig, A. Hornemann *Food Chem.*, **245** 761–767 (2018);
11. M. Sobkowiak, P. Painter *Energy Fuels*, **9**, 359–363 (1995);
12. H. Machnikowska, A. Krzton, J. Machnikowski *Fuel*, **81**, 245–252 (2002);
13. E. Edwards, S. Oishi, E. Botelho *Polimeros* **28**(1), 15–22 (2018)
14. N. Shi, Q. Liu, R. Ji., X. He, Y. Zhang, S. Tang, L. Ma *Acs Omega* **4**, 7330–7343 (2019)

References

1. E. Birch, J. Lelievre, E. Richards *Carbohydr. Res.*, **128**, 351–355 (1984);
2. I.S. Cherepanov, A.A. Belkov *Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology*, **12**(2) 291–298 (2022);
3. R. Huang, H. Gao, Y. Tang, Q. Liu *China Foundry*, **8**, 161–165 (2011);

4. C. Burket, R. Rajagopalan, A. Marencic, K. Dronvajjala, H. Foley *Carbon*, **44**, 2957–2963 (2006);
5. L. Quinquet, P. Delliere, N. Guigo *Molecules*, **27**, 3212 (2022);
6. I.S. Cherepanov, A.V. Trubachev, G.M. Abdullina *Chemical Physics and Mesoscopy*, **19**(3) 466–472 (2017);
7. F. Hayase *Food Sci. Technol. Res.*, **6**(2) 79–86 (2000);
8. B. Cammerer, B. Wedzicha, L. Kroh *Eur. Food Res. Technol.*, **209**, 261–265 (1999);
9. M. Glomb, V. Monnier *J. Biol. Chem.*, **270**(17) 10017–10026 (1995);
10. G. Moshin, F.-J. Schmitt, C. Kanzler, J. Epping, S. Flemig, A. Hornemann *Food Chem.*, **245** 761–767 (2018);
11. M. Sobkowiak, P. Painter *Energy Fuels*, **9**, 359–363 (1995);
12. H. Machnikowska, A. Krzton, J. Machnikowski *Fuel*, **81**, 245–252 (2002);
13. E. Edwards, S. Oishi, E. Botelho *Polimeros* **28**(1), 15–22 (2018)
14. N. Shi, Q. Liu, R. Ji., X. He, Y. Zhang, S. Tang, L. Ma *Acs Omega* **4**, 7330–7343 (2019).

© **И. С. Черепанов** – кандидат химических наук, доцент. кафедры Фундаментальной и прикладной химии, Удмуртский государственный университет, cherchem@mail.ru; **А. А. Белков** – студент той же кафедры, Удмуртский государственный университет, cherchem@mail.ru.

© **I. S. Cherepanov** – PhD (Chemical Sci.), Associate Professor, department of Fundamental and Applied Chemistry, Udmurt State University, cherchem@mail.ru; **A. A. Belkov** – Student at the same Department, Udmurt State University, cherchem@mail.ru.