

УДК 547.633.6

КИСЛОТНО-ОСНОВНАЯ ДИССОЦИАЦИЯ И ТАУТОМЕРИЯ ТИОЭОЗИНА В СМЕСИ ВОДА – ЭТАНОЛ (9 : 91 ПО МАССЕ)

© 2005 Н.В. Саламанова, Н.А. Водолазкая, Н.О. Мчедлов-Петросян

При помощи спектрофотометрического метода определены термодинамические значения констант ступенчатой диссоциации тиоэозина ($H_2R \rightleftharpoons HR^- \rightleftharpoons R^{2-}$) при 298 К в водно-этанольной смеси с массовой долей спирта 91.4 %: $pK_{a1} = 4.02 \pm 0.01$; $pK_{a2} = 7.73 \pm 0.02$. Показано, что однозарядный анион красителя существует преимущественно в виде структуры с диссоциированной гидроксигруппой и недиссоциированной карбоксильной группой.

Хотя тиоаналоги флуоресцеиновых красителей, содержащие атом серы вместо гетероатома кислорода, известны давно [1-3] и обладают ценными спектральными и фотофизическими свойствами [4], их протолитическое поведение в растворах количественно охарактеризовано лишь в последние годы [5,6]. Продолжив исследования этих соединений, важных в прикладном аспекте, мы в настоящей работе определили константы кислотно-основной диссоциации тиоэозина в смеси этанола с водой при массовой доле спирта 91.4 %. В этом растворителе с относительной диэлектрической проницаемостью 28.5 (при 298 К) и параметром полярности $E_T^N = 0.67$ ранее были исследованы некоторые гидроксиксантеновые красители [7,8]. Диссоциацию тиоэозина можно представить следующим образом [5,6]:

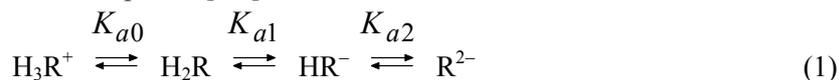


Схема 1 описывает детальное протолитическое равновесие тиоэозина и эозина в растворах [5-9].

Препарат тиоэозина (2,4,5,7-тетрабромтиофлуоресцеина) высокой чистоты был синтезирован в лаборатории профессора А. В. Ельцова (Санкт-Петербургский химико-технологический институт) и любезно передан нам кандидатом химических наук Д. В. Самойловым. Спектрофотометрическое определение значений pK_a в 91.4 %-ном C_2H_5OH проводили при длине поглощающего слоя 1 см и 5 см и, как правило, при рабочих концентрациях красителя порядка $1 \cdot 10^{-5}$ М (298 К). Спектры поглощения измеряли на приборе СФ-46. Кислотность варьировали при помощи буферных растворов, а также растворов HCl и NaOH. Исходные растворы красителя готовились в 96%-ном этаноле. Растворы этилового спирта готовили из перегнанного 96%-ного азеотропа высокой чистоты; отсутствие альдегидов в нем контролировали по ультрафиолетовым спектрам. В качестве компонентов буферных растворов применяли следующие органические кислоты: 5,5-диэтилбарбитуровую кислоту (ХЧ), бензойную кислоту (дополнительно очищали перекристаллизацией) и салициловую кислоту (очищали возгонкой). Бензол был очищен и высушен по стандартной методике; тетрапентиламмоний бромистый ($N(n-C_5H_{11})_4Br$) (хроматографически чистый) фирмы „Диагностикум” (г. Львов) использовался без дополнительной очистки. Для приготовления буферных растворов использовали водный раствор NaOH, защищенный от CO_2 .

В качестве меры кислотности использовали значения $pa_{H^+}^* = -\lg a_{H^+}^*$, где $a_{H^+}^*$ – активность в молярной шкале, стандартное состояние – гипотетический раствор в смешанном растворителе с $a_{H^+}^* = 1$ М и со свойствами бесконечно разбавленного раствора.

Термодинамические значения pK_{HA} буферных кислот HA в молярной шкале концентраций были определены ранее [8] и составляют 5.58 для салициловой кислоты, 7.50 для бензойной кислоты и 10.79 для 5,5-диэтилбарбитуровой кислоты. Значения $pa_{H^+}^*$ вычисляли с использованием значений pK_{HA} буферных кислот по уравнению (2):

$$p a_{H^+}^* = pK_{HA} + \lg \frac{[A^-]}{[HA]} + \lg f_{A^-}, \quad (2)$$

где $[A^-]$ и $[HA]$ – равновесная концентрация соответствующего иона или молекулы, f_{A^-} – концентрационный коэффициент активности иона A^- . Значение f молекулярной формы, HA , принято равным единице. В ходе опытов ионная сила была постоянной и составляла 0.05 М (NaCl); возможной неполнотой диссоциации солей NaA пренебрегали. Термодинамические значения pK_a тиозозина, представленные в статье, получены путем приведения к бесконечно-малу разбавлению при помощи второго приближения уравнения Дебая–Хюккеля для коэффициентов активности анионов буферных кислот и красителя (значение ионного параметра во всех случаях принято равным 5 Å, константы **A** и **B** равны 2.33 (моль/л)^{-1/2} и 0.546·10¹⁰ (М)⁻¹(моль/л)^{-1/2} соответственно). Коэффициент активности молекулы красителя H₂R считали равным единице.

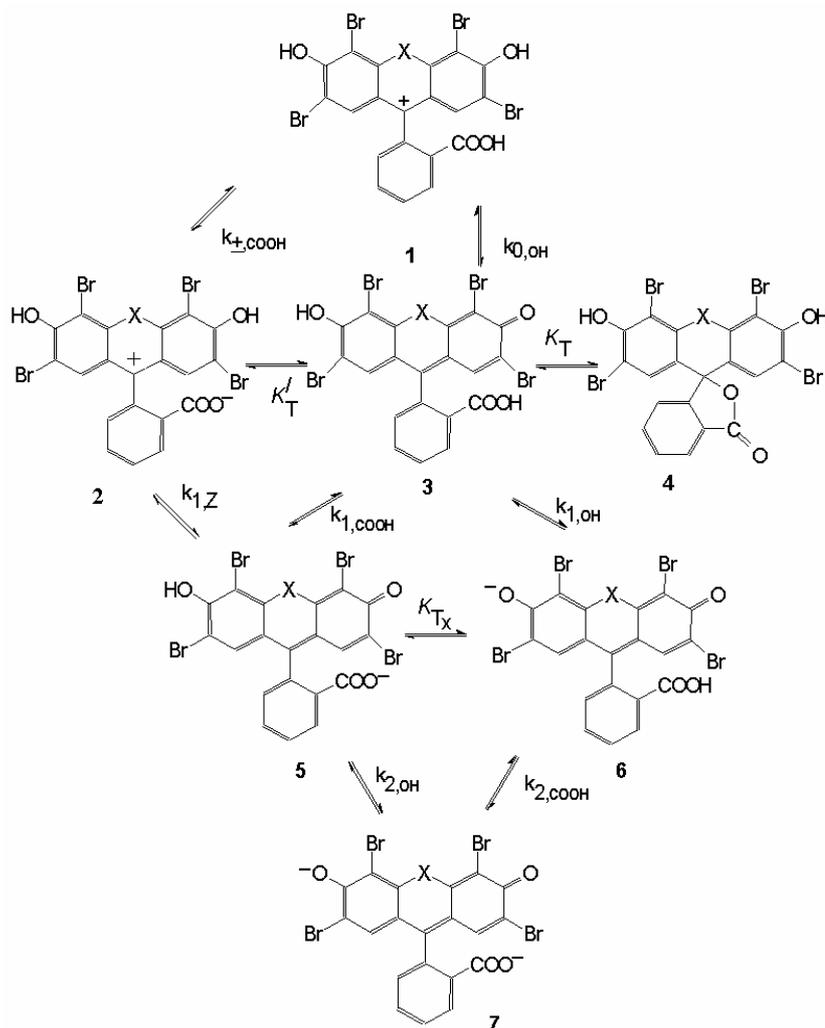


Схема 1. Протолитические превращения тиозозина (X = S) и эозина (X = O). $K_T = [4]/[3]$; $K'_T = [2]/[3]$; $K_{Tx} = [6]/[5]$; $k_{\pm COOH} = a_{H^+}^* [2]/[1]$; $k_{0,OH} = a_{H^+}^* [3]/[1]$; $k_{1,Z} = a_{H^+}^* [5]/[2]$; $k_{1,COOH} = a_{H^+}^* [5]/[3]$; $k_{1,OH} = a_{H^+}^* [6]/[3]$; $k_{2,OH} = a_{H^+}^* [7]/[5]$; $k_{2,COOH} = a_{H^+}^* [7]/[6]$.

Зависимость оптической плотности от $\text{p}a_{\text{H}^+}^*$ (рис. 1) показывает, что в растворе в области $2 < \text{p}a_{\text{H}^+}^* < 12$ имеют место два сопряженных равновесия ($\text{H}_2\text{R} \rightleftharpoons \text{HR}^- \rightleftharpoons \text{R}^{2-}$). Катионная форма H_3R^+ появляется в растворе лишь в очень кислой среде ($\lambda_{\text{max}} = 445 \text{ нм}$), поэтому значение $\text{p}K_{a0}$ в 91.4 %-ном этаноле не определяли.

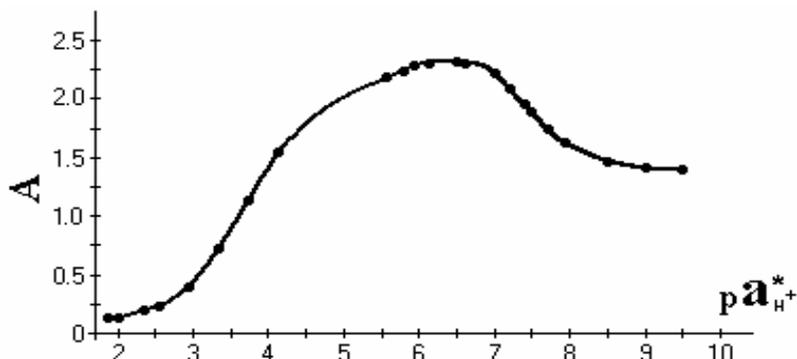


Рис. 1. Зависимость поглощения растворов тиозозина от кислотности среды при $\lambda = 550 \text{ нм}$ в 91.4%-ном водном этаноле; данные приведены к концентрации красителя $1 \cdot 10^{-3} \text{ М}$ и длине поглощающего слоя 5 см.

Для расчета значений $\text{p}K_{a1}$ и $\text{p}K_{a2}$ тиозозина использовали оптические плотности 17 растворов; результаты измерений приводили к одной концентрации красителя и длине поглощающего слоя. Значения $\text{p}K_a$ рассчитывали по описанному ранее алгоритму [5] из зависимостей оптической плотности A от $\text{p}a_{\text{H}^+}^*$ по уравнению (3):

$$A = \frac{A_{\text{H}_2\text{R}} 10^{\text{p}K_{a1} - \text{p}a_{\text{H}^+}^*} + A_{\text{HR}^-} + A_{\text{R}^{2-}} 10^{\text{p}a_{\text{H}^+}^* - \text{p}K_{a2}}}{10^{\text{p}K_{a1} - \text{p}a_{\text{H}^+}^*} + 1 + 10^{\text{p}a_{\text{H}^+}^* - \text{p}K_{a2}}}, \quad (3)$$

где $A_{\text{H}_2\text{R}}$, A_{HR^-} и $A_{\text{R}^{2-}}$ – значения A при полном превращении красителя в соответствующую форму. Значения $A_{\text{H}_2\text{R}}$ и $A_{\text{R}^{2-}}$ измеряли непосредственно в условиях доминирования соответствующих форм, а A_{HR^-} – рассчитывали совместно с K_{a1} и K_{a2} ; A – значение оптической плотности при текущем значении $\text{p}a_{\text{H}^+}^*$. Дополнительные расчеты $A_{\text{H}_2\text{R}}$ с помощью найденных значений $\text{p}K_a$ подтверждают малый вклад примесей интенсивно окрашенных ионных форм в спектр поглощения в условиях измерения спектра формы H_2R . Этот спектр уточнялся по уравнению (4):

$$A_{\text{H}_2\text{R}} = A + (A - A_{\text{HR}^-}) 10^{\text{p}a_{\text{H}^+}^* - \text{p}K_{a1}}, \quad (4)$$

и с уточненными значениями $A_{\text{H}_2\text{R}}$ вновь рассчитывали значения K_{a1} и K_{a2} . После определения интервальных значений констант диссоциации при ионной силе 0.05 М ($\text{p}K_{a1} = 4.02 \pm 0.01$; $\text{p}K_{a2} = 7.73 \pm 0.02$) с использованием наиболее информативных длин волн (4–10 значений λ) полные спектры ионов HR^- находили из спектров растворов со значениями $\text{p}a_{\text{H}^+}^*$, отвечающими максимальному выходу моноанионов. Расчет A_{HR^-} вели при помощи уравнения (5):

$$A_{\text{HR}^-} = (A - A_{\text{H}_2\text{R}}) 10^{\text{p}K_{a1} - \text{p}a_{\text{H}^+}^*} + A + (A - A_{\text{R}^{2-}}) 10^{\text{p}a_{\text{H}^+}^* - \text{p}K_{a2}} \quad (5)$$

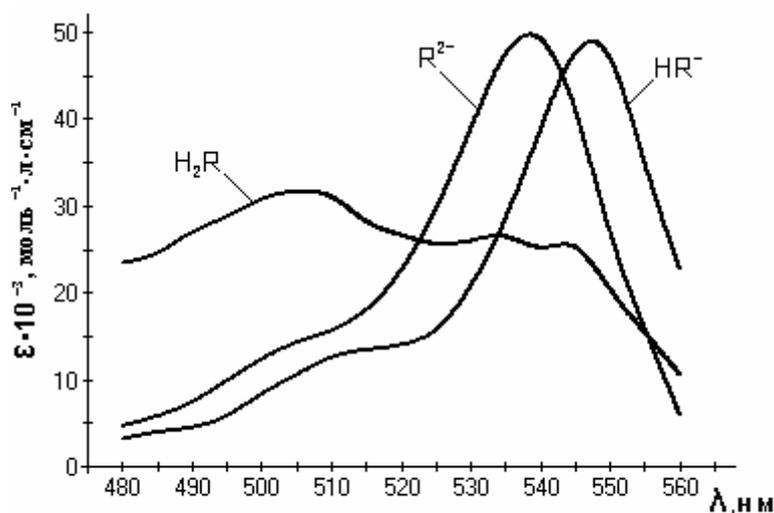


Рис.2. Спектры поглощения ионных и молекулярной форм тиозозина в 91,4%-ном водном этаноле. Значения ϵ (H_2R) увеличены в 10 раз.

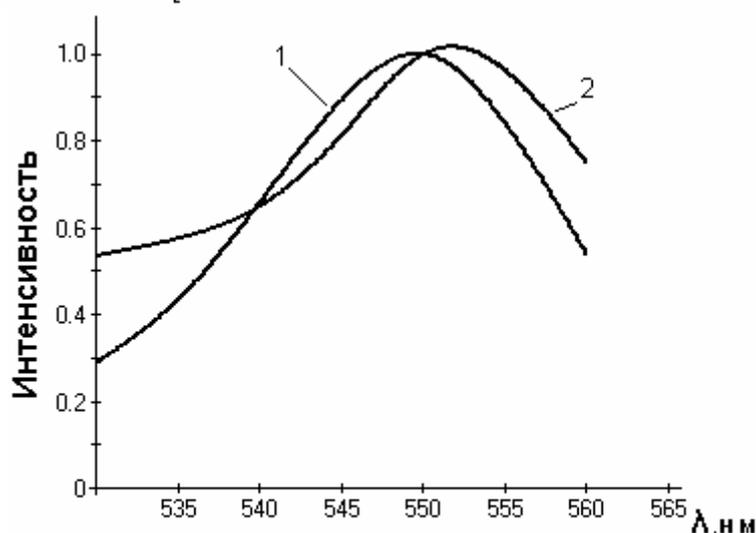


Рис.3. Спектры поглощения бензольных экстрактов ионных ассоциатов тиозозина с ионами тетрапентиламмония: 1- $[N(H-C_5H_{11})_4^+]_2R^{2-}$; 2- $N(H-C_5H_{11})_4^+HR^-$.

Спектры форм R^{2-} , HR^- и H_2R представлены на рис. 2. В таблице 1 приведены спектральные характеристики сопряженных форм эозина и тиозозина в водно – этанольных смесях. Аналогичное исследование протолитических свойств эозина в 91,4 %-ном водном этаноле привело к значениям: $pK_{a1} = 4.69$; $pK_{a2} = 7.44$ [8].

Спектры дианионов и моноанионов тиозозина и эозина однотипны и различаются, главным образом, положением максимумов. Спектры моноанионов соответствуют фенолятному таутомеру (6); небольшое bathochromное смещение полос таутомеров 6 относительно полос дианионов 7 соответствующих красителей обусловлено протонированием карбоксильной группы ($COO^- \rightarrow COOH$) [7-9]. Для изоляции анионов тиозозина применили экстракцию этих форм в виде ионных ассоциатов с катионами тетра-*n*-пентиламмония из водного раствора в бензольную фазу по описанной ранее методике [10]. Извлечение ассоциатов $[N(H-C_5H_{11})_4^+]_2R^{2-}$ проводили при $pH = 12$, а $N(H-C_5H_{11})_4^+HR^-$ – при

$pH = 3.3$. Концентрации красителя и $(N(H-C_5H_{11})_4^+)$ составляли $1 \cdot 10^{-5}$ М и $1 \cdot 10^{-4}$ М соответственно. Нормированные спектры бензольных экстрактов ионных ассоциатов приведены на рис. 3. Форма полученных спектров доказывает существование моноаниона в виде структуры (6).

Для исследованного красителя, как и в случае эозина, наблюдается резкое снижение интенсивности поглощения света при переходе от анионных форм к нейтральным; следовательно, форма H_2R находится в растворе преимущественно в виде бесцветного лактона (4). В целом характер изменения спектров поглощения тиозозина и эозина, а также сравнение их значений pK_a говорят о сходстве свойств этих красителей в изученной среде. При сравнении интенсивностей поглощения анионов эозина и тиозозина заметно сильное различие в значениях коэффициентов молярного поглощения (ϵ_{max}) в максимумах полос. Вероятной причиной снижения значений ϵ_{max} тиозозина при замене кислорода на серу является искажение валентных углов в тиопирановом цикле и планарности ксантенового ядра при увеличении атомного радиуса гетероатома, что нарушает в нем сопряжение.

Таблица 1. Спектральные характеристики ионных и молекулярных форм эозина и тиозозина в водно – этанольных смесях, 25° С

Соединение	Масс. доля этанола, %	λ_{\max} , нм ($\varepsilon_{\max} \times 10^{-3}$, л моль ⁻¹ см ⁻¹)			Источник
		R ²⁻	HR ⁻	H ₂ R	
Эозин	50	520 (99.6)	530 (84.0)	480 (5.19); 500-505 (4.56)	[5]
	91.4	520 (97.6)	530 (90.4)	475 (4.56)*; 505 (3.75)	[8]
Тиозозин	50	536 (46.6)	545 (48.0)	505 (4.3)	[5,6]
	91.4	538 (49.4)	545 (47.6)	505 (3.16); 535 (2.64)	настоящая работа

* Для нейтральной формы HR этилэозина: 480 нм (23.4).

В случае тиозозина связь значений K_a , констант таутомерных равновесий и микроконстант диссоциации отдельных таутомеров, k , можно представить в виде уравнений:

$$\begin{aligned}
 pK_{a1} &= pk_{1,COOH} + \lg(1 + K_T + K_T') - \lg(1 + K_{Tx}) = \\
 &= pk_{1Z} + \lg\{1 + K_T'' + (K_T')^{-1}\} - \lg(1 + K_{Tx}) = \\
 &= pk_{1,OH} + \lg(1 + K_T + K_T') - \lg(1 + K_{Tx}^{-1}); \quad (6)
 \end{aligned}$$

$$pK_{a2} = pk_{2,COOH} + \lg(1 + K_{Tx}^{-1}) = pk_{2,OH} + \lg(1 + K_{Tx}). \quad (7)$$

С помощью этих уравнений можно вычислить значения микроконстант k . Расчет долей таутомеров (α) формы H₂R проводится по следующим уравнениям [7]:

$$\varepsilon(H_2R) = \alpha(2) \cdot \varepsilon(2) + \alpha(3) \cdot \varepsilon(3) \quad (8)$$

$$1 = \alpha(2) + \alpha(3) + \alpha(4) \quad (9)$$

Доля таутомера **2** статистически незначима; $\alpha(2) \ll \alpha(3)$; доля таутомера **3** рассчитывается следующим образом. Соотношение $\varepsilon_{\max}(3) / \varepsilon_{\max}(7)$ для тиозозина в 91.4% - ном водном этаноле принимается равным аналогичному соотношению для эозина в том же растворителе, при этом значение $\varepsilon_{\max}(3)$ для эозина приравнивается значению ε_{\max} формы HR его сложного этилового эфира (этилэозина), не способного образовывать лактонной структуры.

Из уравнений (8) и (9) находим $\alpha(3) = 0.245$, $\alpha(4) = 0.755$. Отсюда $K_T = 3.08$, $pk_{1,OH} = 3.41$, $pk_{2,COOH} = pK_{a2} = 7.73$. Сравнение значений pK_{a2} тиозозина и эозина в 91.4 %-ном водном этаноле позволяет сделать вывод, что переход от флуоресцеиновых к тиофлуоресцеиновым красителям несколько ослабляет кислотную силу карбоксильной группы.

Таким образом, в ходе ступенчатой диссоциации в растворе тиозозина реально существуют следующие частицы:



Литература

1. Meyer R. Chem. Ber. 1900. Bd. 33. S. 2561-2573.
2. Mauther F. Chem. Ber. 1906. Bd. 39. S. 3594-3612.
3. Пат. 636224 (1936). Германия. С. А. 1937. V. 31. Ref. 872.
4. Ельцов А.В., Поняев А.И., Мартынова В.П. Журн. общей химии. 1992. Т. 62. Вып. 7. С. 1626-1630.
5. Мчедлов-Петросян Н.О., Водолазкая Н.А., Мартынова В.П., Самойлов Д.В., Ельцов А.В. Журн. общей химии. 2002. Т. 72. Вып. 5. С. 839-847.
6. Водолазкая Н.А. Автореф... канд. хим. наук. Харьков, 2002. 20 с.
7. Мчедлов-Петросян Н.О. Вестник Харьк. нац. университета. 2002. №573. Вып.9 (32). С.224-357.
8. Мчедлов-Петросян Н.О. Дисс. ... докт. хим. наук. Харьков, 1992. 619 с.
9. Mchedlov-Petrossyan N.O., Kukhtik V.I., Bezugliy V.D. J. Phys. Org. Chem. 2003. V. 16. P. 380-397.
10. Мчедлов-Петросян Н.О, Егорова С.И., Ариас Кордова Э. Доклады АН СССР. 1992. Т. 323. № 4. С. 696-701.

Поступила в редакцию 15 июня 2005 г

Kharkov University Bulletin. 2005. №669. Chemical Series. Issue 13(36). N.V. Salamanova, N.A. Vodolazkaya, N.O. Mchedlov-Petrossyan. Acid-Base dissociation and tautomerism of thioeosin in water-ethanol mixture (mass ratio 9 : 91).

By using the spectrophotometric method the thermodynamic constants of thioeosin stepwise dissociation ($H_2R \rightleftharpoons HR^- \rightleftharpoons R^{2-}$) were determined at 298 K in water-ethanol mixture with mass fraction of ethanol 91.4 %: $pK_{a1} = 4.02 \pm 0.01$; $pK_{a2} = 7.73 \pm 0.02$. It was demonstrated that the monoanion of the dye exists in solutions mostly as a structure with dissociated hydroxyl group and non-dissociated carboxylic group.