

ГИДРАЗОН ПИРИДОКСАЛЬ-5-ФОСФАТА И ПИРАЗИН-2-КАРБОГИДРАЗИДА: СИНТЕЗ, УСТОЙЧИВОСТЬ, КИНЕТИКА ОБРАЗОВАНИЯ И ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ С ДНК

© 2019 г. Г. А. Гамов*, М. Н. Завалишин, В. В. Александрийский, В. А. Шарнин

Ивановский государственный химико-технологический университет,
пр. Шереметевский 7, Иваново, 153000 Россия
*e-mail: oxt705@isuct.ru

Поступило в Редакцию 7 июня 2018 г.

После доработки 7 июня 2018 г.

Принято к печати 14 июня 2018 г.

Синтезирован (5-гидрокси-6-метил-4- $\{(E)$ -[2-оксо-2-(пиразин-2-ил)этил]-гидразинилиденметил}пиридин-3-ил)метилфосфат – продукт взаимодействия (гидразон) пиридоксаль-5-фосфата и пиразин-2-карбогидразида – и определены константы его устойчивости в водном растворе при pH = 1.9, 6.6, 7.0, 7.4. Исследована кинетика образования и гидролиза полученного гидразона, из электронных спектров поглощения вычислены константы скорости прямой и обратной реакции. Исследовано его взаимодействие, а также его комплекса с Cu(II) с ДНК тимуса теленка.

Ключевые слова: гидразон, константа устойчивости, константа скорости, пиридоксаль-5-фосфат, ДНК

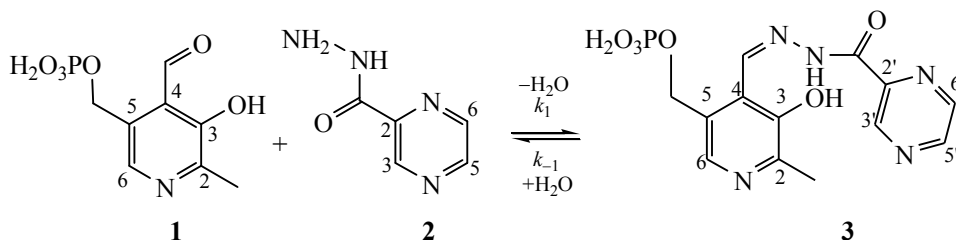
DOI: 10.1134/S0044460X19020100

Гидразоны привлекают внимание исследователей в качестве индикаторов благодаря своим хелатирующим свойствам по отношению к ионам металлов и способности изменять структуру в зависимости от pH среды [1, 2]. Гидразоны, образованные витамином B₆ (пиридоксаль-5-фосфатом **1**), а также его витамером – пиридоксалем, могут проявлять полезную биологическую активность. В частности, гидразоны пиридоксалия (и их комплексы с ионами металлов) могут оказаться полезными при лечении болезни Альцгеймера [3], обладают противомикробными свойствами [4]. Способность гидразонов либо их металлокомплексов к интеркаляции в молекулы

ДНК делает их потенциальными противоопухолевыми агентами [5].

Возможная биологическая активность гидразонов зависит от их устойчивости в растворе, а также от скорости их гидролиза. Нами получен гидразон **3** на основе пиридоксаль-5-фосфата **1** и пиразин-2-карбогидразида **2** и определены константы его устойчивости, скорости образования и распада при некоторых физиологических значениях pH (1.9, соответствующем кислотности желудочного сока; 6.6–7.4, соответствующим кислотности межклеточной жидкости патологических и здоровых тканей) в водном растворе.

Схема 1.



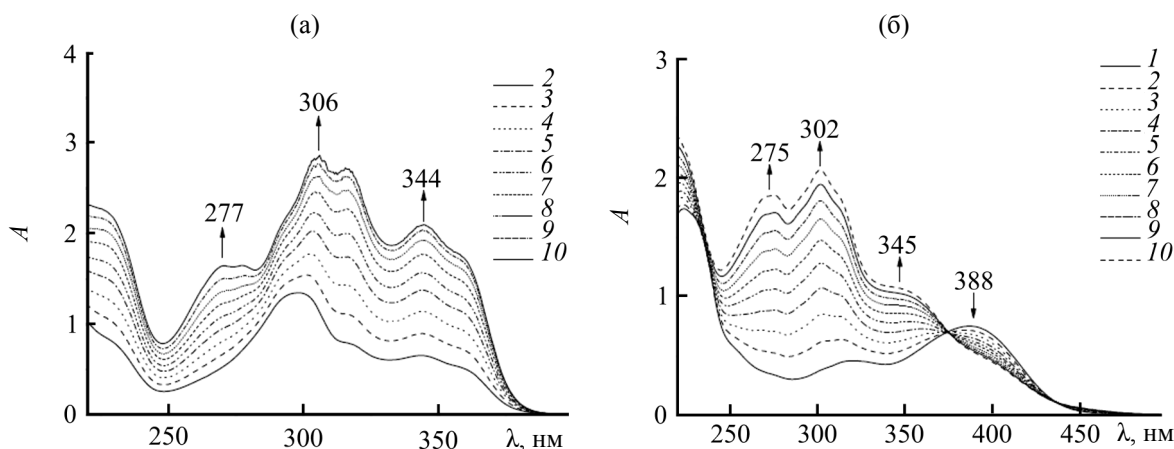


Рис. 1. Электронные спектры поглощения растворов смесей соединений **1** и **2** при pH = 1.9 (а) и 7.4 (б). Общие концентрации соединений **1** и **2**, моль/л: 1 – 1.5×10^{-4} и 1.5×10^{-5} ; 2 – 1.5×10^{-4} и 3.0×10^{-5} ; 3 – 1.5×10^{-4} и 4.5×10^{-5} ; 4 – 1.5×10^{-4} и 6.0×10^{-5} ; 5 – 1.5×10^{-4} и 7.5×10^{-5} ; 6 – 1.5×10^{-4} и 9.0×10^{-5} ; 7 – 1.5×10^{-4} и 1.1×10^{-4} ; 8 – 1.5×10^{-4} и 1.2×10^{-4} ; 9 – 1.5×10^{-4} и 1.4×10^{-4} ; 10 – 1.5×10^{-4} и 1.5×10^{-4} .

Изучено взаимодействие соединения **3**, а также его комплекса с ионом меди(II) с ДНК тимуса теленка.

Гидразон **3** получен взаимодействием эквивалентных количеств пиридоксаль-5-фосфата **1** и пиразин-2-карбогидразида **2** (схема 1) [6]. Образование основания Шиффа **3** подтверждено данными ЯМР ^1H и ^{13}C . Характерные для альдегидной группы сигналы при 9.90 (^1H) и 196.5 м. д. (^{13}C), наблюдаемые в спектре пиридоксаль-5-фосфата, исчезают при добавлении гидразида. Вместо них проявляются новые сигналы при 8.65 (^1H) и 147.7 м. д. (^{13}C), относящиеся к группе $-\text{CH}=\text{N}-$.

Образование гидразона **3** приводит к существенным изменениям в электронном спектре поглощения (рис. 1), в частности, к образованию интенсивной полосы при 302–306 нм, обусловленной возникновением единой сопряженной $\pi-\pi-p-\pi$ -электронной системы [7]. Константы устойчивости, скорости образования и гидролиза гидразона **3** приведены в табл. 1. Величины погрешностей в табл. 1 представляют собой

полуширину доверительного интервала при доверительной вероятности 0.95 (выборка из 3 опытов).

Устойчивость гидразона исследовали по описанной ранее методике [6]. Значения $\lg K_{\text{сф}}$ были определены при обработке электронных спектров поглощения растворов соединений **1** с постоянной концентрацией (1.5×10^{-4} моль/л) и **2** с переменными концентрациями (1.5×10^{-5} – 1.5×10^{-4}) при помощи программы FTMT [8]. Принцип расчета заключается в аппроксимации экспериментальной зависимости оптической плотности при нескольких длинах волн от общих концентраций реагентов. Константы скорости образования и гидролиза гидразона **3** были определены из зависимости оптической плотности при фиксированном значении длины волны (соответствующей электронному переходу в системе $\pi-\pi-p-\pi$) от времени. Вначале по значениям оптической плотности рассчитывали равновесные концентрации реагентов и продукта реакции [9]. Полученные зависимости равновесных концен-

Таблица 1. Константы устойчивости, скорости образования и гидролиза гидразона **3** при различных значениях pH

Параметр	pH			
	1.9	6.6	7.0	7.4
$\lg K_{\text{сф}}$	5.00 ± 0.08	4.94 ± 0.15	4.53 ± 0.09	4.65 ± 0.13
k_1 , л/(моль·мин)	–	46.0 ± 0.2	24.6 ± 1.0	25.4 ± 0.8
k_{-1} , мин $^{-1}$	–	$(6 \pm 4) \times 10^{-4}$	$(5 \pm 2) \times 10^{-4}$	$(4 \pm 2) \times 10^{-4}$
$\lg K_{\text{кин}}$	–	4.88 ± 0.48	4.69 ± 0.24	4.80 ± 0.31

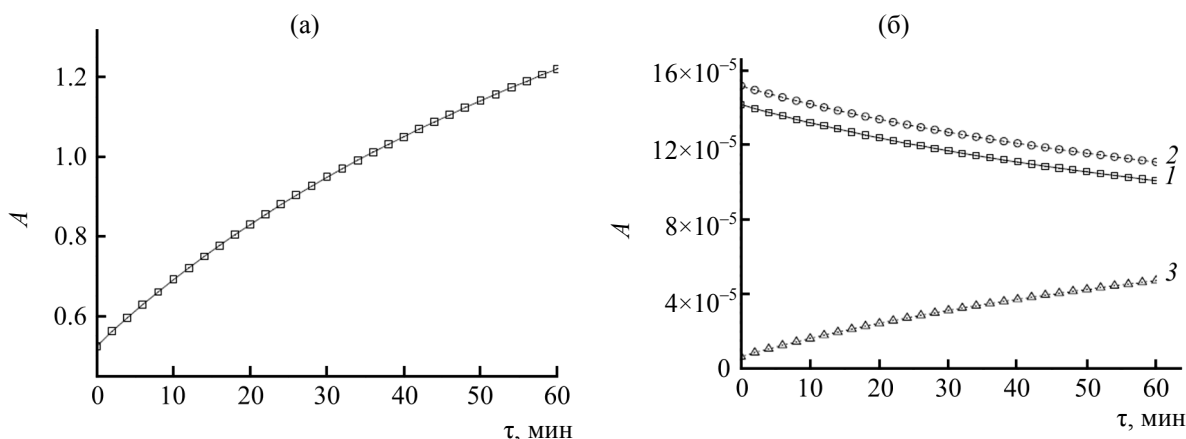


Рис. 2. Зависимость (а) оптической плотности при $\lambda = 301$ нм (б) и экспериментальных (точки) и расчетных (линии) концентраций соединений **1** (1), **2** (2) и их гидразона **3** (3) от времени при pH = 6.6.

траций от времени обрабатывали при помощи программы Kinet [10, 11]. Начальные концентрации обоих реагентов **1** и **2** составляли 1.5×10^{-4} моль/л. При pH = 1.9 реакция протекает слишком быстро, чтобы надежно определить ее кинетические характеристики.

Малая величина k_{-1} определяет высокую погрешность ее расчета (табл. 1). Исключение гидролиза соединения **3** из математической модели приводит к изменению значения k_1 в пределах статистической погрешности эксперимента. Из-за высокой погрешности расчета константы скорости обратной реакции значения $\lg K_{\text{кин}}/K_{\text{кин}}$ ($K_{\text{кин}} = k_1/k_{-1}$) также характеризуются существенной погрешностью (табл. 1). Примеры расчетных и экспериментальных зависимостей оптической плотности от времени приведены на рис. 2.

Устойчивость гидразона **3** несущественно изменяется при варьировании значения pH среды. Константа равновесия порядка 10^5 ($\lg K \sim 5$) характерна и для реакции между пиридоксаль-5-фосфатом **1** и гидразидами, производными пиридина, пиразола и имидазола [6, 12]. Константа скорости реакции образования основания Шиффа уменьшается при переходе от слабокислой среды (pH = 6.6) к слабощелочной (pH = 7.4) (табл. 1).

Для пиридоксаль-5-фосфата **1** характерен набор протолитических равновесий (отщепление протонов от фосфатной группы и гидроксигруппы в положении 3), а также переход одного из ионов водорода к гетероатому азота, что приводит к образованию цвиттер-иона. Для гидразона **3** также возможны эти реакции, кроме того, для него вероятно еще равновесие имин–кетонамин [13]. Прямая либо обратная реакция с участием каждой

из форм соединения **1** и гидразона **3** характеризуется собственной константой скорости [13]. Таким образом, изменение pH среды, смещающее протолитические равновесия исходного реагента и продукта реакции, приводит к изменениям значений k_1 и k_{-1} .

Исследование взаимодействия различных соединений с ДНК представляет интерес с точки зрения оценки их мутагенной способности. Плоские гетероароматические соединения способны встраиваться между основаниями ДНК [14, раздел 4.1], что приводит к сдвигу рамки считывания. Многочисленные работы (см., например, обзоры [14, 15], а также статьи [16–20]) описывают результаты исследования интеркаляции органических соединений различной природы, а также их металлокомплексов в ДНК.

Спектр раствора смеси гидразона **3** (10^{-4} моль/л) и ДНК тимуса телят (2.4×10^{-5} моль/л) совпадает с суммой спектров соединения **3** и ДНК, зарегистрированных по отдельности. Это означает, что гидразон **3** не вступает во взаимодействие с ДНК в указанных концентрационных условиях.

Для детального анализа процессов, протекающих в системе, в которой одновременно присутствуют компоненты буферной системы трис(2-амино-2-гидроксиметилпропан-1,3-диол)–HCl, Cu^{2+} , исследуемый гидразон и ДНК, необходимо знать константы возможных координационных равновесий ($\text{Cu}^{2+} + \text{Трис}$, $\text{Cu}^{2+} + \text{ДНК}$, $\text{Cu}^{2+} + \text{3}$). Система Cu^{2+} –Трис исследована подробно [21], константа устойчивости комплекса иона меди(II) с ДНК тимуса телят определена в работе [22].

Стехиометрический состав и устойчивость комплекса Cu^{2+} –**3** определены нами спектро-

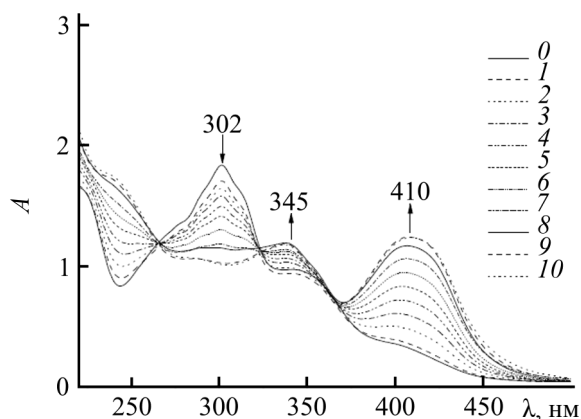


Рис. 3. Электронные спектры поглощения смесей гидразона **3** и иона меди(II) при pH = 7.2 с различной концентрацией гидразона **3** и Cu(II), моль/л: 0 – 1×10^{-4} и 0; 1 – 1×10^{-4} и 7.5×10^{-6} ; 2 – 1×10^{-4} и 1.5×10^{-5} ; 3 – 1×10^{-4} и 2.3×10^{-5} ; 4 – 1×10^{-4} и 3×10^{-5} ; 5 – 1×10^{-4} и 3.8×10^{-5} ; 6 – 1×10^{-4} и 4.5×10^{-5} ; 7 – 1×10^{-4} и 5.3×10^{-5} ; 8 – 1×10^{-4} и 6.0×10^{-5} ; 9 – 1×10^{-4} и 6.8×10^{-5} ; 10 – 1×10^{-4} и 7.5×10^{-5} .

фотометрическим методом. Пример изменения электронного спектра поглощения раствора гидразона с постоянной концентрацией (10^{-4} моль/л) при добавлении переменного количества иона меди(II) (7.5×10^{-6} – 7.5×10^{-5} моль/л) приведен на рис. 3. На основании анализа зависимостей оптических плотностей при длинах волн, соответствующих максимумам поглощения металло-комплекса и свободного лиганда, от соотношения общих концентраций ион металла–лиганд [23] было установлено, что координационное соединение Cu^{2+} –**3** может быть описано условной формулой $\text{ML}'_2 \cdot \text{L}'$, что обозначает совокупность

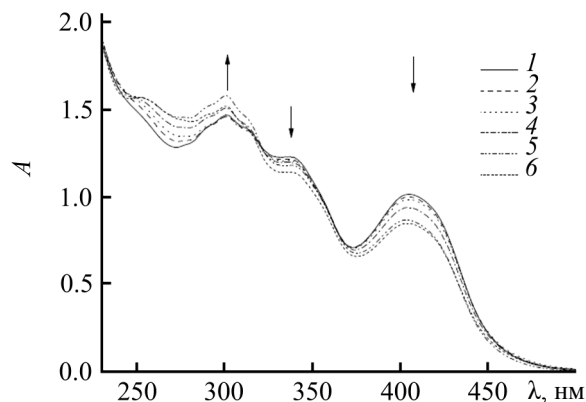


Рис. 4. Электронные спектры поглощения смесей гидразона **3**, иона Cu(II) и ДНК при pH = 7.2. Общие концентрации гидразона и комплексообразователя равны 1×10^{-4} и 5×10^{-5} моль/л соответственно. Общая концентрация ДНК в пересчете на 1 пару нуклеотидов, мкмоль/л: 1 – 0, 2 – 6, 3 – 12, 4 – 18, 5 – 24, 6 – 30.

всех протонированных форм лиганда, существующих при значении pH = 7.2.

По данным рис. 3 можно рассчитать условную константу устойчивости комплекса $\text{ML}'_2 \beta'_2$ (1), где $[\text{L}']$ – сумма равновесных концентраций всех ионизированных форм лиганда (2), $[\text{ML}'_2]$ – сумма равновесных концентраций всех возможных форм комплекса (3). Заряды ионов опущены для удобства восприятия.

$$\beta'_2 = \frac{[\text{ML}'_2]}{[\text{M}][\text{L}']^2}, \quad (1)$$

Таблица 2. Побочные реакции, протекающие в растворе, содержащем фосфат-ионы, ионы Cu(II), Zn(II) и гидразон

№	Реакция	lgK (ионная сила, I)	Литературная ссылка
1	$\text{H}^+ + \text{Tris} \leftrightarrow \text{HTris}$	8.19 (I = 0.1)	[21]
2	$\text{Cu}^{2+} + \text{H}_2\text{O} \leftrightarrow \text{CuOH}^+ + \text{H}^+$	–7.83 (I = 0.15)	[24]
3	$\text{Cu}^{2+} + \text{Tris} \leftrightarrow \text{CuTris}^+ + \text{H}^+$	–2.22 (I = 0.1)	[21]
4	$\text{Cu}^{2+} + \text{Tris} \leftrightarrow \text{CuTris} + 2\text{H}^+$	–10.51 (I = 0.1)	[21]
5	$\text{Cu}^{2+} + 2\text{Tris} \leftrightarrow \text{CuTris}_2^+ + \text{H}^+$	1.47 (I = 0.1)	[21]
6	$\text{Cu}^{2+} + 2\text{Tris} \leftrightarrow \text{CuTris}_2 + 2\text{H}^+$	–6.39 (I = 0.1)	[21]
7	$\text{Cu}^{2+} + 2\text{Tris} \leftrightarrow \text{CuTris}_2^- + 3\text{H}^+$	–17.24 (I = 0.1)	[21]
8	$2\text{Cu}^{2+} + 2\text{Tris} \leftrightarrow \text{Cu}_2\text{Tris}_2^{2+} + 2\text{H}^+$	–1.67 (I = 0.1)	[21]
9	$2\text{Cu}^{2+} + 2\text{Tris} \leftrightarrow \text{Cu}_2\text{Tris}_2^+ + 3\text{H}^+$	–9.05 (I = 0.1)	[21]
10	$\mathbf{3} + \text{H}_2\text{O} \leftrightarrow \text{Продукты гидролиза}$	–4.53 (I = 0.25)	^a

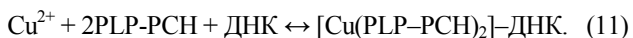
^a См. табл. 1.

$$[L'] = [L] + [LH] + [LH_2] + \dots + [LH_5], \quad (2)$$

$$[ML'_2] = [ML_2] + [ML_2H] + [ML_2H_2] + \dots + [ML_2H_{10}], \quad (3)$$

Значение условной константы β'_2 (1) зависит от pH среды. Применение буферного раствора обеспечивает существование одного и того же набора форм лиганда и комплекса. Для обеспечения независимости $\lg\beta'_2$ от концентрации побочных лигандов (Трис и гидроксид-ионов) необходимо учесть побочные реакции с участием иона Cu^{2+} , протекающие в растворе (табл. 2). В результате обработки зависимостей оптической плотности при трех длинах волн от общих концентраций лиганда и комплексообразователя с учетом процессов реакций (1–10) (табл. 2) была получена величина $\lg\beta'_2 = 11.85 \pm 0.17$.

Рассмотрим ситуацию, когда в растворе одновременно присутствуют ионы меди(II), Трис, гидразон, ДНК (рис. 4). Добавление возрастающего количества ДНК к раствору, содержащему фиксированное количество иона металла и гидразона, приводит к увеличению поглощения света в коротковолновой части спектра и уменьшению – в длинноволновой. В отсутствие ДНК такие же изменения наблюдаются при уменьшении общей концентрации меди(II) (см. рис. 3 при переходе от спектра 10 к спектру 1). Следовательно, металлокомплекс не взаимодействует с ДНК как целое; вместо этого в растворе протекают конкурирующие координационные равновесия с участием иона Cu^{2+} и Трис, гидразона и ДНК. Действительно, математическая модель эксперимента (рис. 4), учитывающая реакции (1)–(10) (табл. 2), образование комплекса Cu^{2+} –(3)₂, комплексообразование медь(II)–ДНК и реакцию (11), неадекватна.



При исключении процесса интеркаляции ДНК комплексом меди(II) с гидразоном, наблюдаемые на рис. 4 изменения в электронном спектре поглощения металлокомплекса удовлетворительно описываются набором реакций (1)–(10) (табл. 2) с добавлением комплексообразования Cu^{2+} –гидразон и Cu^{2+} –ДНК. Аналогичный результат был получен недавно при исследовании взаимодействия комплекса меди(II) и 3-пиридинкарбогидразоном пиридоксаль 5'-фосфата с ДНК тимуса телят [25].

Таким образом, на наш взгляд, описание взаимодействия металлокомплексов с ДНК при помощи единственной формулы, в которой вычисляется

условная константа связывания {уравнение (2) [16]} чрезмерно упрощено. Вероятны ситуации, подобные описанной в настоящей работе, при которой металлокомплекс с нуклеиновой кислотой не взаимодействует, а наблюдаемые изменения в электронных спектрах соответствуют изменению равновесной концентрации металлокомплекса и свободного лиганда. В этом случае расчет условной константы связывания приводит к бессмысленному результату, не отражающему никакого процесса. По нашему мнению, во всех случаях расчету констант связывания должен предшествовать эксперимент, доказывающий, что интеркаляция действительно протекает. Нам удалось найти единственную работу, в которой обсуждается способность иона меди(II) высвобождаться из комплекса с некоторыми трипептидами при взаимодействии с ДНК [26].

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Электронные спектры поглощения зарегистрированы на двухлучевом спектрофотометре Shimadzu UV1800 (США) в диапазоне длин волн 190–500 нм. Соответствующий буфер (дистиллированная вода при pH = 1.9) использовали как раствор сравнения. Ошибка определения длины волны не превышала 0.5 нм, максимальная погрешность измерения оптической плотности ± 0.006 ед. Температуру 298.2 ± 0.1 К поддерживали при помощи внешнего термостата. Элементный анализ проводили на приборе FLASH EA1112 (Termo Quest, Италия). Спектры ЯМР ^1H , ^{13}C в D_2O (pD ~12) зарегистрированы на ЯМР спектрометре Avance Bruker 500 с рабочими частотами 500.17 (^1H) и 125.77 (^{13}C) МГц. Отнесение сигналов в спектрах исследуемых соединений проводили на основании литературных данных [27].

Пиридоксаль-5-фосфат (>99 мас%) использовали без предварительной подготовки. Лиофилизированный препарат ДНК тимуса телят – коммерческий препарат (Sigma Aldrich, США). Пиразин-2-карбогидразид получали из соответствующего карбоксиамида при кипячении с гидразингидратом в этаноле. Отсутствие примесей контролировали при помощи спектроскопии ЯМР ^1H . Буферные растворы с pH = 6.6, 7.0, 7.4 готовили с использованием $Na_2HPO_4 \cdot 12H_2O$ и $NaH_2PO_4 \cdot 2H_2O$ (Спектр-Хим, Россия). Значение pH = 1.9 создавалось добавлением предварительно стандартизированной HCl. Кислотность буферных растворов контролировали потенциометрически.

Все растворы готовили на бидистиллированной воде ($\kappa = 1.7$ мкСм/см, pH = 6.6). Значение ионной силы $I = 0.25$, близкое к величине I в эритроцитах [27], задавали за счет компонентов буферной смеси (при pH = 6.6, 7.0, 7.4) или KNO₃ (pH = 1.9). Растворы ДНК готовили на основе 20 мМ. буфера Трис–HCl, pH = 7.2. Навеску препарата нуклеиновой кислоты для стокового раствора растворяли в течение 4 сут при 4°C. Соотношение оптических плотностей $A_{260}/A_{280} = 1.9$ свидетельствовало о высокой чистоте ДНК. Концентрация ДНК в стоковом растворе была определена спектрофотометрически методом построения градуировочного графика с использованием литературного значения $\varepsilon_{260} = 6600$ на нуклеотид [16].

(5-Гидрокси-6-метил-4-{(E)-[2-оксо-2-(пиразин-2-ил)этил]-гидразинилиденметил}пиридин-3-ил)-метилфосфат (3). Смесь нагретого до 70–80°C раствора 0.618 г (2.5 ммоль) пиридоксаль-5-фосфата **1** в 15 мл воды и нагретого до 70–80°C раствора 0.345 г (2.5 ммоль) пиразин-2-карбогидразида **2** в 15 мл воды охлаждали 1 ч при комнатной температуре. Образовавшийся кристаллический осадок отфильтровывали, промывали небольшим количеством холодной дистиллированной воды и ацетона и сушили на воздухе. Выход 0.815 г (84.6%), светло-желтые кристаллы, R_f 0.86 (подвижная фаза – 25%-ный водный аммиак, Polygram Sil G/UV₂₅₄). УФ спектр (pH = 7.4, H₂O), $\lambda_{\max}$, нм (lg ϵ): 302 (4.29); зеленая люминесценция в твердой фазе при $\lambda_{\text{ex}} = 365$ нм. Спектр ЯМР ¹H (D₂O, pD ~12), δ , м. д.: 8.90 д (1H, H³, ⁴J = 0.9 Гц), 8.65 с (1H, CH=), 8.47 д. д (1H, H^{5'}, ³J = 2.4, ⁴J = 0.9 Гц), 8.41 д (1H, H⁶, ³J = 2.4 Гц), 7.51 с (1H, H⁶), 4.75 д (2H, CH₂, ³J = 4.3 Гц), 2.22 с (3H, CH₃). Спектр ЯМР ¹³C, δ_C , м. д.: 166.1 (C=O), 158.5 (C³), 151.2 (C²), 149.4 (C^{2'}), 147.7 (CH=), 145.6 (C^{3'}), 144.0 (C⁵), 143.5 (C⁶), 134 (C⁶), 130.4 (C⁵), 120.3 (C⁴), 61.7 (CH₂), 18.2 (CH₃). Спектр ЯМР ³¹P: δ_P 3.79 м. д. Масс-спектр, m/z : 368.07 [$M + H$]⁺. Найдено, %: C 42.22; H 4.00; N 18.61. C₁₃H₁₄N₅O₆P. Вычислено, %: C 42.52; H 3.84; N 19.07. M 367.25.

ФОНДОВАЯ ПОДДЕРЖКА

Работа выполнена в Научно-исследовательском институте термодинамики и кинетики химических процессов Ивановского государственного химико-технологического университета в рамках государственного задания Министерства науки и образования РФ (проект № 4.7305.2017/8.9) при

финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (проект № 16-33-60017) и Совета по грантам при Президенте Российской Федерации (проект № 14.Z56.18.877-МК).

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Su X., Aprahamian I. // Chem. Soc. Rev. 2014. Vol. 43. P. 1963. doi 10.1039/C3CS60385G
2. Kejik Z., Kaplanek R., Havlik M., Briza T., Vavrinova D., Dolensky B., Martasek P., Kral V. // J. Luminesc. 2016. Vol. 180. N 1. P. 269. doi 10.1016/j.jlumin.2016.08.047
3. D'Acunto C.W., Kaplanek R., Gbelcova H., Kejik Z., Briza T., Vasina L., Havlik M., Ruml T., Kral V. // Eur. J. Med. Chem. 2018. Vol. 150. P. 140. doi 10.1016/j.ejmech.2018.02.084
4. Mezey R.-S., Mathe I., Shova S., Grecu M.-N., Rosu T. // Polyhedron. 2015. Vol. 102. P. 684. doi 10.1016/j.poly.2015.10.035
5. Kaplanek R., Havlik M., Dolensky B., Rak J., Dzubak P., Konecny P., Hajdich M., Kralova J., Kral V. // Bioorg. Med. Chem. 2015. Vol. 23. N. 7. P. 1651. doi 10.1016/j.bmc.2015.01.029
6. Гамов Г.А., Александрыйский В.В., Завалишин М.Н., Хохлова А.Ю., Шарнин В.А. // ЖОХ. 2017. Т. 87. Вып. 6. С. 940; Gamov G.A., Aleksandriiskii V.V., Zavalishin M.N., Khokhlova A.Yu., Sharnin V.A. // Russ. J. Gen. Chem. 2017. Vol. 87. N. 6. P. 1161. doi 10.1134/S1070363217060093
7. Кутаев Ю.П., Бузыкин Б.И. Гидразоны. М.: Наука, 1974. С. 105.
8. Гридчин С.Н., Кочергина Л.А., Коновалов П.Г. // Коорд. хим. 2003. Т. 29. Вып. 12. С. 932; Gridchin S.N., Kochergina L.A., Kononov P.G. // Russ. J. Coord. Chem. 2003. Vol. 29. N 12. P. 868. doi 10.1023/B:RUCO.0000008399.53700.43
9. Гамов Г.А., Завалишин М.Н., Усачева Т.Р., Шарнин В.А. // ЖФХ. 2017. Т. 91. № 5. С. 800. doi 10.7868/S0044453717050119; Gamov G.A., Zavalishin M.N., Usacheva T.R., Sharnin V.A. // Russ. J. Phys. Chem. (A). 2017. Vol. 91. No. 5. P. 843. doi 10.1134/S0036024417050107
10. Практикум по физической химии. Кинетика и катализ. Электрохимия / Под ред. В.В. Лунина, Е.П. Агеева. М.: Академия, 2012. С. 70.
11. Kinet. <http://www.chem.msu.su/rus/teaching/KINET2012>.
12. Gamov G.A., Kiselev A.N., Aleksandriiskii V.V., Sharnin V.A. // J. Mol. Liq. 2017. Vol. 242. P. 1148. doi 10.1016/j.molliq.2017.07.106

13. Echevarria G.R., Basagoitia A., Santos J.G., Blanco F.G. // J. Mol. Cat. (A). 2000. Vol. 160. P. 209. doi 10.1016/S1381-1169(00)00266-1
14. Sirajuddin M., Saqib A., Badshah A. // J. Photochem. Photobiol. (B). 2013. Vol. 124. P. 1. doi 10.1016/j.jphotobiol.2013.03.013
15. Erxleben A. // Coord. Chem. Rev. 2018. Vol. 360. P. 92. doi 10.1016/j.ccr.2018.01.008
16. Bordbar M., Tavoosi F., Yeganeh-Faal A., Zebajadi-an M.H. // J. Mol. Struct. 2018. Vol. 1152. P. 128. doi 10.1016/j.molstruc.2017.09.088
17. Kalaiarasi G., Rajkumar S.R.J., Dharani S., Lynch V.M., Prabhakaran R. // Inorg. Chim. Acta. 2018. P. 759. doi 10.1016/j.ica.2017.12.008
18. Sedighipour M., Kianfar A.H., Sabzalian M.R., Abyar F. // Spectrochim. Acta (A). 2018. Vol. 198. P. 38. doi 10.1016/j.saa.2018.02.050
19. Palanimurugan A., Kulandaisamy A. // J. Organomet. Chem. 2018. Vol. 861. P. 263. doi 10.1016/j.jorganchem.2018.02.051
20. Neelakantan M.A., Balamurugan K., Balakrishnan C., Subha, L. // Appl. Organomet. Chem. 2018. Vol. 32. N 4. doi 10.1002/aoc.4259
21. Nagaj J., Stokowa-Soltys K., Kurowska E., Fraczyk T., Jezowska-Bojczuk M., Bal W. // Inorg. Chem. 2013. Vol. 52. N 24. P. 13927. doi 10.1021/ic401451s
22. Яцимирский К.Б., Кривц Е.Е., Ахпамеева Т.И. // Докл. АН СССР. 1966. Т. 168. № 568. С. 840.
23. Filipsky T., Riha M., Hrdina R., Vávrová K., Mladenka P. // Bioorg. Chem. 2013. Vol. 49. P. 1. doi 10.1016/j.bioorg.2013.06.002
24. Brown P.L., Ekberg C. Hydrolysis of Metal Ions. Weinheim: Wiley-VCH Verlag GmbH & Co., 2016. 945 p.
25. Gamov G.A., Zavalishin M.N., Sharnin V.A. // Spectrochim. Acta (A). 2019. Vol. 206. P. 160. doi 10.1016/j.saa.2018.08.009
26. Nagane R., Koshigoe T., Chikira M., Long E.C. // J. Inorg. Biochem. 2001. Vol. 83. N 1. P. 17. doi 10.1016/S0162-0134(00)00129-X
27. Bruno T.J., Svoronos P.D.N. Handbook of Basic Tables for Chemical Analysis. Boca Raton: CRC Press, 2011. P. 441.
28. Mouat M.F., Manchester K.L. // Comp. Haematol. Int. 1998. Vol. 8. N 1. P. 58. doi 10.1007/BF02628107

Pyrazine-2-Carbohydrazone of Pyridoxal 5'-Phosphate: Synthesis, Stability, Formation Kinetics and Interaction with DNA

G. A. Gamov^{a*}, M. N. Zavalishin^a, V. V. Alexandriyskii^a, and V. A. Sharnin^a

^a Ivanovo State University of Chemical Technology, pr. Sheremetevskii 7, Ivanovo, 153000 Russia

*e-mail: oxt705@isuct.ru

Received June 7, 2018; revised June 7, 2018; accepted June 14, 2018

(5-Hydroxy-6-methyl-4- $\{ (E) \text{-} [2\text{-oxo-2-(pyrazin-2-yl)ethyl} \} \text{hydrazinylidenemethyl} \}$ pyridin-3-yl)methyl phosphate was synthesized as a product of the interaction of pyridoxal-5-phosphate and pyrazin-2-carbohydrazide. Its stability constants were determined in aqueous solution at pH = 1.9, 6.6, 7.0, 7.4. The kinetics of formation and hydrolysis of the hydrazone obtained was studied, and rate constants of the direct and reverse reactions were calculated from the electronic absorption spectra. Interaction of the obtained hydrazone and its Cu(II) complex with calf thymus DNA was investigated.

Keywords: hydrazone, stability constant, rate constant, pyridoxal-5-phosphate, DNA