УДК 547.466.1

РЕАКЦИОННАЯ СПОСОБНОСТЬ ТҮR–PRO В БЕНЗОИЛИРОВАНИИ В СРЕДЕ ВОДНОГО 1,4-ДИОКСАНА

© 2020 г. Т. П. Кустова^{*a*}, *, И. И. Локтева^{*a*}, Л. Б. Кочетова^{*a*}, Д. С. Хачатрян^{*b*}

^а ФГБОУ ВО «Ивановский государственный университет», 1530250, Россия, г. Иваново, ул. Ермака 39 *e-mail: kustova t@mail.ru

^b ФГУП «Институт химических реактивов и особо чистых химических веществ Национального исследовательского центра «Курчатовский институт», 107076, Россия, г. Москва, Богородский вал 3

> Поступила в редакцию 09 января 2020 г. После доработки 07 февраля 2020 г. Принята к публикации 11 февраля 2020 г.

На основе экспериментального изучения кинетики взаимодействия дипептида L-Tyr–L-Pro с активированными нитрогруппой фенилбензоатами в растворителе вода (40 масс %) – 1,4-диоксан в температурном интервале 298–313 К установлен диапазон изменения констант скорости k_{298} 0.035–0.564 л·моль⁻¹·c⁻¹ и активационные барьеры реакций 39–51 кДж·моль⁻¹. Методом DFT/B3LYP/cc-pVTZ выполнено компьютерное моделирование дипептида в нейтральной и анионной формах. NBO-анализ распределения электронной плотности в этих формах дипептида показал, что в рассматриваемой реакции из двух возможных нуклефильных центров – азота первичной аминогруппы и кислорода фенольного гидроксила – предпочтительным является первый.

Ключевые слова: дипептид, тирозилпролин, бензоилирование, кинетика, 1,4-диоксан, 2,4 - и 2,6-динитрофенилбензоаты, пикрилбензоат.

DOI: 10.31857/S0514749220060117

Имеюшиеся на сегодняшний день систематические данные о реакционной способности дипептидов в реакциях ацильного переноса исчерпывается кинетическими данными реакций глицилглицина и аланилаланина с рядом сложных эфиров и результатами исследования кинетики реакций дипептидов с бензоилхлоридом и сульфонилхлоридами в водном 1,4-диоксане, полученными в наших работах [1-4]. Вместе с тем, в литературе последних лет довольно много внимания уделяется биологической активности как самих природных олигопептидов, так и полученных на их основе функциональных производных, а также метаболизму этих соединений. Выполненный в работах [5, 6] анализ аминокислотных последовательностей 130 опиоидных пептидов, принадлежащих 30 семействам, выявил высокую частоту встречаемости дипептидного фрагмента Туг-Рго, авторами также было экспериментально установлено, что этот дипептид является минимальной из известных последовательностей аминокислот, проявляющих анальгетическую активность при раздражении термо-, механо- и хеморецепторов боли у крыс. Показано, что аналоги Туг-Pro, полученные путем его модификации по карбоксильной группе пролина Туг–Pro–X, где $X = NH_2$, OCH₃, ОС₂Н₅, обладают более сильной активностью в выполненных тестах. Получение функциональных производных этого дипептида по α-аминогруппе тирозина сдерживается отсутствием данных о реакционной способности этого нуклеофильного центра.





Целью настоящей работы является комплексное исследование реакционной способности двух нуклеофильных центров Туг–Рго – азота первичной аминогруппы и кислорода фенольного гидроксила – на основе квантово-химических расчетов структурных, энергетических и электронных характеристик дипептида в нейтральной и анионной формах, а также на основе изучения кинетики его *N*-ацилирования.

Кинетика реакции L-Туг–L-Рго с 2,4- и 2,6-динитрофениловыми эфирами (ДНФБ) и 2,4,6-тринитрофениловым эфиром (ТНФБ) бензойной кислоты исследована в растворителе вода–1,4-диоксан в интервале температур 298–313 К (схема 1). Как было показано ранее [2], в условиях кинетических опытов при рН 8.5–9 в реакциях со сложными эфирами единственной реакционноспособной формой α-аминокислот и дипептидов являются их анионы. В водно-органической среде параллельно с реакциями *N*-ацилирования может протекать гидролиз сложных эфиров. В ряде наших работ [2–4] показано, что фенилбензоаты в воде не гидролизуются, в связи с чем при расчете констант скорости, кроме целевой реакции [уравнение (1)] учитывался только щелочной гидролиз эфира [уравнение (2)].

Кинетику реакций изучали спектрофотометрическим методом (λ 400 нм) при большом избытке дипептида (в 10² раз) по сравнению с ацилирующим агентом. За скоростью взаимодействия следили по изменению концентрации продуктов реакции – нитрозамещенных фенолят-ионов. В условиях эксперимента скорость изменения концентрации ацилирующего агента (c_{au}) описывается уравнением (3):

$$-\frac{dc_{\mathrm{au}}}{d\tau} = [k_{\mathrm{r}} + (k\alpha)c_{\mathrm{o}}]c_{\mathrm{au}} = k_{\mathrm{H}}c_{\mathrm{au}}, \qquad (3)$$

где а – доля концентрации реакционноспособной (анионной) формы Туг–Рго от общей концентрации дипептида в растворе c_0 ; k (л·моль⁻¹·c⁻¹) – константа скорости ацилирования реакционноспособной формы; $k_{\rm r}$ (c⁻¹) – константа скорости гидролиза ацилирующего агента; $k_{\rm H}$ (c⁻¹) – наблюдаемая константа скорости:

$$k_{\rm H} = k_{\rm r} + (k\alpha)c_0 \tag{4}$$

Для создания определенной концентрации анионов дипептида в раствор добавляли щелочь ЖУРНАЛ ОРГАНИЧЕСКОЙ ХИМИИ том 56 № 6 2020

(КОН) в таком количестве, чтобы часть реагента оставалась в нереакционноспособной в ацилировании цвиттерионной форме. Концентрация анионной формы Tvr–Pro равнялась концентрации добавленной щелочи ($c = c_{\text{КОН}}$), а его доля в растворе α и наблюдаемая константа скорости k_н определялись выражениями (5) и (6):

$$\alpha = c_{\text{KOH}}/c_0 = c/c_0 \tag{5}$$

$$k_{\rm H} = k_{\rm \Gamma} + kc \tag{6}$$

Кинетические исследования, проведенные ранее [2-4], показали, что при отношении концентраций нереакционноспособной, цвиттерионной (с₊) и реакционноспособной, анионной (с) форм α -аминокислоты (или дипептида) $c_{+}/c > 4$, скоростью щелочного гидролиза эфира можно пренебречь по сравнению со скоростью *N*-ацилирования. В таком случае константу скорости реакции (1) можно рассчитать по уравнению:

$$k = \frac{k_{\rm H}}{c} \tag{7}$$

Для того, чтобы проверить, протекает ли гидролиз в условиях эксперимента, был проведен кинетический опыт (реакция L-пролина с 4-нитрофенилбензоатом), который повторяли несколько раз в растворителе одного и того же состава при одной температуре, изменяя только начальную концентрацию аминокислоты. Постоянство величин к в изученном диапазоне температур (табл. 1) свидетельствует о несущественном вкладе гидролиза эфиров в общую скорость реакции.

На рис. 1 представлена одна из экспериментально полученных кинетических кривых реакции бензоилирования Tyr-Pro.



времени для реакции Туг-Рго с 2,4-ДНФБ в растворителе вода (40 масс %) – 1,4-диоксан; 313 К.

Характер зависимости пропускания рабочего раствора от времени дает основание полагать, что в системе отсутствуют каталитические и автокаталитические процессы и что атаке ацилирующего агента подвергается единственный нуклеофильный центр – первичная аминогруппа тирозина. Как будет показано ниже, именно она проявляет более ярко выраженные электронодонорные свойства по сравнению с другим возможным нуклеофилом – фенольным гидроксилом.

Экспериментально определенные кинетические характеристики реакции (1) сведены в табл. 2.

Как видно из данных табл. 2, значения констант скорости реакции Туг-Рго с эфирами увеличивается в ряду: 2,6-ДНФБ < 2,4-ДНФБ < 2,4,6-ТНФБ. Такая же последовательность реакционной способности эфиров, связанная с усилением их электрофильности, наблюдалась ранее в реакциях с

<i>X</i> ₁ ,	c , моль \cdot л ⁻¹	$k_{\rm H} \times 10^2$, c ⁻¹	k, л·моль ^{-1} ·c ^{-1}
0.765	0.0169	1.87 ± 0.06	1.10 ± 0.04
	0.00846	0.93 ± 0.01	1.10 ± 0.02
	0.00564	0.64 ± 0.01	1.13 ± 0.02
	0.00423	0.493 ± 0.007	1.16 ± 0.02
0.951	0.0196	5.0 ± 0.6	2.6 ± 0.3
	0.00980	2.46 ± 0.07	2.51 ± 0.07
	0.00653	1.67 ± 0.06	2.56 ± 0.09

Таблица 1. Значения k_и и k реакции L-пролина с 4-нитрофенилбензоатом при разных концентрациях анионов аминокислоты с; X₁ – мольная доля воды в 1,4-диоксане; 298 К.

ЖУРНАЛ ОРГАНИЧЕСКОЙ ХИМИИ том 56 № 6 2020

КУСТОВА и др.

Tuotingu 2 Tumern reckite Aupukrepherinki peukijin (1) 5 puerbophiene bodu (10 muee 70) - 1, 1 diokeun.							
Т, К	<i>с</i> , моль·л ⁻¹	$k_{\rm H} \times 10^4$, c ⁻¹	$k \times 10^2$, л·моль ⁻¹ ·c ⁻¹	$\Delta H^{\not=}_{298}$, кДж·моль ⁻¹	$-\Delta S_{298}^{\neq}$, Дж·моль ⁻¹ ·K ⁻¹		
			2,4-ДНФБ		~		
298		4.19 ± 0.17	4.79 ± 0.19				
303	0.00876	5.21 ± 0.16	5.94 ± 0.18	27 + 2	145 ± 7		
308	0.00870	6.49 ± 0.43	7.40 ± 0.49	37 ± 2			
313		9.43 ± 0.57	10.8 ± 0.65				
			2,6-ДНФБ				
298	0.00876	3.02 ± 0.22	3.45 ± 0.25	_	_		
			2,4,6-ТНФБ				
298		25.3 ± 0.3	28.9 ± 0.3				
303	0.00876	37.3 ± 0.5	42.6 ± 0.6	49 ± 2	91 ± 6		
308	308		56.4 ± 0.1				

Таблица 2. Кинетические характеристики реакции (1) в растворителе вода (40 масс %) – 1,4-диоксан.

Gly–Gly и Ala–Ala [2, 4]. Следует отметить также близкие величины активационных параметров в случае реакции с 2,4-ДНФБ рассматриваемого нами дипептида Туг–Рго (табл. 2) и аналогичной реакции с Gly ($\Delta H_{298}^{\neq} = 31 \text{ кДж} \cdot \text{моль}^{-1}$, $\Delta S_{298}^{\neq} = -134 \text{ Дж} \cdot \text{моль}^{-1} \cdot \text{K}^{-1}$) [4].

Сопоставление кинетических характеристик бензоилирования α-аминокислот и дипептидов в водном 1,4-диоксане (табл. 3) указывает на определяющее влияние основности участвующих в ацилировании аминогрупп на скорость реакции.

Анализируя данные табл. 3, видно, что при переходе от Gly к Gly–Gly величина рK уменьшается на 1.55, а величина константы скорости ацилирования – в 3.6 раза. Согласно данным [7] дипептид Туг–Pro демонстрирует низкую основность в водных растворах [pK(Tyr)–Pro) 7.81, для сравнения pK(Tyr) 9.11], что, по всей видимости, является причиной снижения на порядок величины k реакции бензоилирования Туг–Pro (табл. 2) по сравнению с Gly–Gly. При наращивании пептидной цепи до семи аминокислотных фрагментов: Туг–Pro–Phe–Pro–Gly–Pro–Ile и Туг–Pro–Phe–Val–Glu–

Таблица 3. Константы скорости *N*-ацилирования α-аминокислот и дипептидов в растворителе вода (40 масс %) – 1,4-диоксан, 298 К.

/ / / /							
Амин	pK ^a	Эфир	$k^{\rm b}$, л·моль ⁻¹ ·c ⁻¹	Амин	pK ^a	Эфир	$k^{\rm b}$, л·моль ⁻¹ ·c ⁻¹
Gly	9.78	2,4-ДНФБ	2.12		10.64	2,4-ДНФБ	11.1
		2,5-ДНФБ	0.42	L-Pro		2,5-ДНФБ	7.9
		2,6-ДНФБ	0.30			2,6-ДНФБ	3.0
		2,4,6-ТНФБ	11.2			2,4,6-ТНФБ	36.5
DL-Val 9.72		2,4-ДНФБ	0.54	L-Asn	8.80	2,4,6-ТНФБ	0.75
	0.72	2,5-ДНФБ	0.09	DL-Ser	9.15	2,4,6-ТНФБ	1.67
	9.72	2,6-ДНФБ	0.06	Gly–Gly	8.23	2,4,6-ТНФБ	3.1
		2,4,6-ТНФБ	5.2	L-Ala–L-Ala	8.14	2,4-ДНФБ	0.35 ^c

^а Величина рК, характеризующая протонирование первичной аминогруппы в воде, взята из базы данных [7].

^b Ошибки в определении константы скорости не превышают 5%.

^с Величина k приведена для растворителя вода (60 масс %) – 1,4-диоксан.

ЖУРНАЛ ОРГАНИЧЕСКОЙ ХИМИИ том 56 № 6 2020



 $\Delta E = 0$ ккал/моль (конформер 1) $\Delta E = 0.64$ ккал/моль (конформер 2)



 $\Delta E = 2.96$ ккал/моль (конформер 3)

Рис. 2. Строение конформеров молекулы Туг–Рго и их относительная энергия. Все конформеры имеют внутримолекулярную водородную связь в карбоксильной группе.

Рго–Пе величины р*K* уменьшаются незначительно и составляют 7.31 и 7.34 соответственно [7]. Для прогнозирования констант скорости реакций гептапептидов с 2,4,6-ТНФБ была использована линейная корреляция между lgk реакций аминокислот и дипептидов с 2,4,6-ТНФБ (табл. 3) и значениями р*K* их аминогрупп. Экстраполяция данной зависимости дает для этих соединений величину *k* на уровне 0.080–0.084 л·моль⁻¹·c⁻¹.

В связи с наличием в молекуле Туг–Рго двух пригодных для атаки электрофильной группой (бензоилом) нуклеофильных центров – первичной аминогруппы тирозина и его фенольного гидроксила – представляло интерес на основе компьютерного моделирования рассматриваемой молекулы выяснить, электронодонорные свойства какой из этих функциональных групп выражены сильнее.

Методом DFT/B3LYP/cc-pVTZ с использованием программы Gaussian 03 [8] проведено компьютерное моделирование исследуемого объекта (дипептида) в нейтральной и анионной формах. При расчетах выполняли полную оптимизацию геометрических параметров обеих форм дипептида. Соответствие оптимизированной геометрии минимуму на поверхности потенциальной энергии проверяли расчетом частот колебаний, мнимых

ЖУРНАЛ ОРГАНИЧЕСКОЙ ХИМИИ том 56 № 6 2020

частот не обнаружено. Для депротонированной (по карбоксильной группе пролина) формы дипептида заряд принимали равным –1, а мультиплетность 1.

На основании выполненных квантово-химических расчетов среди возможных конформеров нейтральной формы Туг–Рго были выбраны 3 наиболее устойчивые структуры, изображенные на рис. 2.

На рис. 3 представлена геометрическая структура депротонированной формы дипептида.

Из данных рис. 2 и 3 видно, что геометрическое строение дипептида (конформер 1) претерпевает значительные изменения при переходе от нейтральной к анионной форме. Существенно увеличивается торсионный угол N¹–C⁵–C⁶–C⁷ и расстояние между циклическими фрагментами молекулы. Торсионный угол N¹–C⁵–C⁶–N², напротив, уменьшается за счёт образования внутримолекулярной водородной связи между кислородом депротонированной карбоксильной группы и водородом первичной аминогруппы, связь N–H при этом удлиняется (от 1.015 до 1.021 A), что облегчает её разрыв в ходе реакции ацилирования. Также происходит изменение направления и ве-



Рис. 3. Геометрическое строение анионной формы Туг–Рго с изображением неподеленных пар $LP(N^2)$ и $LP_2(O^2)$ на нуклеофильных центрах.

личины дипольного момента при переходе от нейтральной (μ 4.38 D) к анионной форме дипептида (μ 11.23 D).

С целью сопоставления электронных характеристик двух возможных нуклеофильных центров – азота первичной аминогруппы (N²) и кислорода (O²) фенольного гидроксила – выполнен NBO-анализ [9, 10] распределения электронной плотности в двух формах дипептида. Результаты NBO-анализа указывают на то, что атом кислорода фенильного фрагмента имеет 2 неподеленные пары: LP₁(*sp*^{1,2}-гибридизации) с низкой энергией и LP₂(p_{π}) (рис. 3) с более высокой энергией (табл. 4), однако, LP₂-орбиталь кислорода вовлечена в сильное сопряжение с π -системой ароматического кольца LP₂ $\rightarrow \pi^*(C^{12}-C^{13})$ (табл. 4), за счёт чего её электронодонорные свойства снижаются. Атом N² имеет одну неподеленную пару LP(*sp*^{3,6}-

гибридизации) с более высокой энергией по сравнению с LP_2 -орбиталью кислорода. При переходе от нейтральной к анионной форме дипептида энергия орбитали $LP(N^2)$ повышается и ее электронодонорные свойства усиливаются.

Таким образом, NBO-анализ распределения электронной плотности в анионной форме дипептида показал, что в рассматриваемой реакции из двух возможных нуклефильных центров – азота первичной аминогруппы и кислорода фенольного гидроксила – предпочтительным является первый. Результаты выполненных квантово-химических расчетов и полученные кинетические данные реакции (1) открывают возможности модификации дипептида Туг–Рго по α-аминогруппе тирозина.

Дипептид L-Tyr-L-Pro в форме гидрохлорида был синтезирован в ФГУП «Институт химических реактивов и особо чистых химических веществ Национального исследовательского центра «Курчатовский институт»» (содержание основного вещества составляло 99.95%). 2,4-, 2,6-динитрофениловые и 2,4,6-тринитрофениловый эфиры бензойной кислоты получали ацилированием соответствующих нитропроизводных фенола бензоилхлоридом. Все реактивы и растворитель были очищены до полного соответствия их физических параметров (температура плавления/кипения и показатель преломления) литературным данным. 1,4-Диоксан квалификации «хч» в течение семи дней выдерживали над гидроксидом калия, затем осуществляли его перегонку при атмосферном

2	Нейтральная форма			Анионная форма			
Электронные характеристики	N ²	O ²		N ²	O ²		
Величина заряда, а.е.з.	-0.826	-0.6	529	-0.849	-0.	782	
Энергия неподеленных пар, эВ	-8.51	-16.55 -8.68	(LP ₁) (LP ₂)	-5.15	-14.54 -6.52	$(LP_1) (LP_2)$	
Заселенность LP-орбиталей	1.95	1.98 (1.88 ((LP_1) (LP_2)	1.94 1.98 (LP ₁) 1.89 (LP ₂)		(LP_1) (LP_2)	
Взаимодействующие орбитали (донор → акцептор)	$\begin{array}{c} LP \rightarrow \\ \sigma^*(C^5 – C^6) \end{array}$	$\begin{array}{c} LP_1 \rightarrow \\ \sigma^*(C^{12}\text{-}C^{13}) \end{array}$	$\begin{array}{c} LP_2 \rightarrow \\ \pi^*(C^{12}-C^{13}) \end{array}$	$\begin{array}{c} LP \rightarrow \\ \sigma^{*}(C^{5} - C^{6}) \end{array}$	$\begin{array}{c} LP_1 \rightarrow \\ \sigma^*(C^{12} - C^{13}) \end{array}$	$\begin{array}{c} LP_2 \rightarrow \\ \pi^*(C^{12}-C^{13}) \end{array}$	
Энергия донорно-акцепторного взаимодействия, ккал/моль	8.45	6.70	25.23	9.44	7.13	27.88	

Таблица 4. Электронные характеристики двух возможных нуклеофильных центров в нейтральной и анионной формах дипептида Туг–Рго.

ЖУРНАЛ ОРГАНИЧЕСКОЙ ХИМИИ том 56 № 6 2020

давлении в присутствии металлического натрия с целью удаления органических перекисей. Для приготовления бинарного растворителя использовали деионизованную воду, полученную на деионизаторе воды «ДВ-1». Рабочий раствор дипептида с КОН в бинарном растворителе и рабочий раствор эфира в 1,4-диоксане готовили по точной навеске и термостатировали в течение 30 мин до начала опыта. Начальные концентрации реагентов составляли 10^{-2} и 10^{-4} моль/л соответственно. Изменение пропускания раствора в ходе реакции фиксировали с помощью спектрофотометра СФ-56, снабженного термостатируемой ячейкой для кювет.

БЛАГОДАРНОСТИ

Авторы выражают благодарность профессору Гиричевой Н.И. за помощь в выполнении и обсуждении результатов квантово-химических расчетов.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Антипин И.С., Казымова М.А., Кузнецов М.А., Васильев А.В., Ищенко М.А., Кирюшкин А.А., Кузнецова Л.М., Макаренко С.В., Островский В.А., Петров М.Л., Солод О.В., Тришин Ю.Г., Яковлев И.П., Ненайденко В.Г., Белоглазкина Е.К., Белецкая И.П., Устынюк Ю.А., Соловьев П.А., Иванов И.В., Малина Е.В., Сивова Н.В., Негребецкий В.В., Бауков Ю.И., Пожарская Н.А., Травень В.Ф., Щекотихин А.Е., Варламов А.В., Борисова Т.Н., Лесина Ю.А., Краснокутская Е.А., Рогожников С.И., Шуров С.Н., Кустова Т.П., Клюев М.В., Хелевина О.Г., Стужин П.А., Федоров А.Ю., Гущин А.В., Додонов В.А., Колобов А.В., Плахтинский В.В., Орлов В.Ю., Кривенько А.П., Федотова О.В., Пчелинцева Н.В., Чарушин В.Н., Чупахин О.Н., Климочкин Ю.Н., Климочкина А.Ю., Курятников В.Н., Малиновская Ю.А., Левина А.С., Журавлев О.Е., Ворончихина Л.И., Фисюк А.С., Аксенов А.В., Аксенов Н.А., Аксенова И.В. ЖОрХ. 2017, 53, 1257-1408. [Antipin I.S., Kazymova M.A., Kuznetsov M.A., Vasilyev A.V., Ishchenko M.A., Kiryushkin A.A., Kuznetsova L.M., Makarenko S.V., Ostrovskii V.A., Petrov M.L., Solod O.V., Trishin Yu.G., Yakovlev I.P., Nenaidenko V.G., Belog-ЖУРНАЛ ОРГАНИЧЕСКОЙ ХИМИИ том 56 № 6 2020 lazkina E.K., Beletskaya I.P., Ustynyuk Yu.A., Solov'ev P.A., Ivanov I.V., Malina E.V., Sivova N.V., Negrebetskii V.V., Baukov Yu.I., Pozharskaya N.A., Traven' V.F., Shchekotikhin A.E., Varlamov A.V., Borisova T.N., Lesina Yu.A., Krasnokutskaya E.A., Rogozhnikov S.I., Shurov S.N., Kustova T.P., Klyuev M.V., Khelevina O.G., Stuzhin P.A., Fedorov A.Yu., Gushchin A.V., Dodonov V.A., Kolobov A.V., Plakhtinskii V.V., Orlov V.Yu., Kriven'ko A.P., Fedotova O.V., Pchelintseva N.V., Charushin V.N., Chupakhin O.N., Klimochkin Yu.N., Klimochkina A.Yu., Kuryatnikov V.N., Malinovskaya Yu.A., Levina A.S., Zhuravlev O.E., Voronchikhina L.I., Fisyuk A.S., Aksenov A.V., Aksenov N.A., Aksenova I.V. *Russ. J. Org. Chem.* **2017**, *53*, 1275–

 Курицын Л.В., Кустова Т.П., Садовников А.И., Калинина Н.В., Клюев М.В. Кинетика реакций ацильного переноса. Ред. Л.В. Курицын. Иваново: изд-во Иван. гос. ун-та, 2006.

1437.] doi 10.1134/S1070428017090019

- Курицын Л.В., Кочетова Л.Б., Калинина Н.В., Кустова Т.П. ЖОХ. 2012, 82, 1814–1819. [Kuritsyn L.V., Kochetova L.B., Kalinina N.V., Kustova T.P. Russ. J. Gen. Chem. 2012, 82, 1805–1809.] doi 10.1134/S1070363212110114
- Кочетова Л.Б., Калинина Н.В., Грабчилева Ю.Э., Симонова К.А., Кустова Т.П. Бутлеровские сообщения. 2015, 43, 1–11. roi. jbc-01/15-43-7-1
- Гузеватых Л.С., Воронина Т.А., Емельянова Т.Г., Андреева Л.А., Алфеева Л.Ю., Середенин С.Б., Мясоедов Н.Ф. Изв. РАН. Сер. биол. 2008, 35, 61–67. [Guzevatykh L.S., Voronina T.A., Emelyanova T.G., Seredenin S.B., Andreeva L.A., Alfeeva L.Yu., Myasoedov N.F. Biology Bull. 2008, 35, 50–55.] doi 10.1134/S1062359008010081
- Гузеватых Л.С. Биоорг. хим., 2008, 34, 591–609. [Guzevatykh L.S. Russ. J. Bioorg. Chem. 2008, 34, 526–543.] doi 10.1134/S1068162008050026
- The IUPAC Stability Constants Database (SC-Database)[©], software version 5.86, data version 4.83.
- Frisch M.J., Trucks G.W., Schlegel H.B., Scuseria G.E., Robb M.A., Cheeseman J.R., Montgomery J.A. Jr., Vreven T., Kudin K.N., Burant J.C., Millam J.M., Iyengar S.S., Tomasi J., Barone V., Mennucci B., Cossi M., Scalmani G., Rega N., Petersson G.A., Nakatsuji H., Hada M., Ehara M., Toyota K., Fukuda R., Hasegawa J., Ishida M., Nakajima T., Honda Y.,

Kitao O., Nakai H., Klene, Li X., Knox J.E., Hratchian H.P., Cross J.B., Adamo C., Jaramillo J., Gomperts R., Stratmann R.E., Yazyev O., Austin A.J., Cammi R., Pomelli C., Ochterski J.W., Ayala P.Y., Morokuma K., Voth G.A., Salvador P., Dannenberg J.J., Zakrzewski V.G., Dapprich S., Daniels A.D., Strain M.C., Farkas O., Malick D.K., Rabuck A.D., Raghavachari K., Foresman J.B., Ortiz J.V., Cui Q., Baboul A.G., Clifford S., Cioslowski J., Stefanov B.B., Liu G., Liashenko A., Piskorz P., Komaromi I., Martin R.L., Fox D.J., Keith T., Al-Laham M.A., PengC.Y., NanayakkaraA., ChallacombeM., GillP.M.W., Johnson B., Chen W., Wong M.W., Gonzalez C., Pople J.A. *Gaussian 03*, Revision B 04, Gaussian Inc, Pittsburgh, PA, **2003**.

- 9. Glendening E.D., Reed A.E., Carpenter J.E., Weinhold F. *NBO 3.1*, QCPE Bull., *10*, 58, **1990**.
- Weinhold F., Landis C.R. Valency and Bonding. A Natural Bond Orbital Donor-Acceptor Perspective. Cambridge: Cambridge University Press, 2005.

Tyr–Pro Reactivity in Benzoylation in the Medium of Aqueous 1,4-Dioxane

T. P. Kustova^{*a*}, *, I. I. Lokteva^{*a*}, L. B. Kochetova^{*a*}, and D. S. Khachatryan^{*b*}

^a Ivanovo State University, 1530250, Russia, Ivanovo, ul. Ermaka 39 *e-mail: kustova t@mail.ru

^b Institute of Chemical Reagents and Highly Pure Chemical Substances, National Research Center «Kurchatov Institute»», 107076, Russia, Moscow, Bogorodskii val 3

Received January 9, 2020; revised February 7, 2020; accepted February 11, 2020

On a base of experimental study of the kinetics of L-Tyr–L-Pro dipeptide interaction with activated by nitro group phenyl benzoates in the solvent water (40 wt %)–1,4-dioxane in the temperature interval 298–313 K, a diapason of rate constants variation $k_{298} = 0.035-0.564 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ and the reactions activation barriers 37–49 kJ·mole⁻¹ are established. A computer simulation of neutral and anionic forms of the dipeptide is carried out at DFT/B3LYP/cc-pVTZ level. NBO-analysis of the electronic density distribution in these forms of the dipeptide has shown that in the reaction under study, of the two possible nucleophylic centers – nitrogen of the primary amine group and oxygen of phenol hydroxyl – the former is most preferable.

Keywords: dipeptide, tyrosylproline, benzoylation, kinetics, 1,4-dioxane, 2,4- and 2,6-dinitro phenyl benzoates, picril benzoate