

УДК 541.21.22

ЭЛЕКТРОХИМИЧЕСКИЙ СИНТЕЗ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНОГО ВЕЩЕСТВА ПАХИКАРПИНА**Имангалиев Т.А., Акилов Т.К., Джалилов К.А., Адиходжаева К.Б.,
Токтибаева К.Р., Атаханова Н.А., Алпысбаева Е.Т.***Южно-Казахстанский государственный университет им. М. Ауезова,
Шымкент, e-mail: imangalievta@rambler.ru*

Исследовано электрохимическое восстановление алкалоидов группы d-спартеина: афиллина и афиллидина в биологически активное вещество – пахикарпин. Установлены оптимальные условия ведения процесса. Приведены зависимости выхода по веществу (ВВ%) и выхода по току (ВТ%) от потенциала катода и концентрации электролита. Методами хроматографии, ИК-, ЯМР- и масс-спектрометрии установлены механизм, структура и химическая формула целевого продукта пахикарпина. Для электролиза при постоянном потенциале электрода использовался потенциостат ПЭБ-20. Электролиз проводили в стеклянном электролизере с керамической диафрагмой. Потенциалы электродов контролировались относительно ртутно-сульфатного полуэлемента. Методом математического моделирования электросинтеза были определены оптимальные условия ведения процесса: время электролиза $\tau = 1,2$ часа, потенциал катода $U_k = +1,20$ В, температура $t = 25-30^\circ\text{C}$, концентрация исходной смеси $C_{\text{исх}} = 0,6$ М, концентрация серной кислоты = 1,4М. При оптимальных условиях выход по веществу и току пахикарпина составляют 92 и 69% соответственно.

Ключевые слова: электрохимический синтез, алкалоиды, электроды, потенциал, концентрация, хроматография, спектрометрия

**ELECTROCHEMICAL SYNTHESIS OF PACHYCARPINE,
BIOLOGICALLY ACTIVE SUBSTANCE****Imangaliyev T.A., Akilov T.K., Dzhaliyev K.A., Adikhodzhaeva K.B.,
Toktibayeva K.R., Atakhanova N.A., Alpysbayeva E.T.***M. Auezov South Kazakhstan State University, Shymkent, e-mail: imangalievta@rambler.ru*

Electrochemical reduction of alkaloids of d-sparteine group: aphylline and aphyllidyne in a biologically active substance – pachycarpine has been studied. Optimal conditions for carrying out of the process have been determined. Dependences of the substance output (SO%) and current output (CO%) on a cathode potential and electrolyte concentration have been formulated. A mechanism, structure and chemical formula of pachycarpine, the target product, have been determined by the methods of chromatography, IR, NMR and mass spectrometry. Potentiostats PEB-20 has been used for electrolysis at the constant potential of an electrode. The electrolysis has been carried out in a glass electrochemical reactor with ceramic diaphragm. The potentials of electrodes have been controlled with relation to a mercury-sulfate half-element. Optimal conditions for carrying out of the process: time of electrolysis $\tau = 1,2$ hour, cathode potential $U_k = +1,20$ V, temperature $t = 25-30^\circ\text{C}$, concentration of the initial mixture $C_{\text{mit}} = 0,6$ M, concentration of sulphuric acid = 1,4 M, have been determined by mathematical model approach of the electrolysis. At the optimal conditions the substance and current output on pachycarpine are 92% and 69% properly.

Keywords: electrochemical synthesis, alkaloids, electrodes, potential, concentration, chromatography, spectrometry

В Казахстане произрастает более 20 тысяч видов растений, 6 тысяч из них содержат биологически активные вещества (БАВ). Из этих шести тысяч 600 видов можно использовать как полуфабрикат для производства лекарственных веществ, а из более 500 видов можно получать готовые лекарственные препараты.

Но существующие технологии производства лекарственных препаратов очень трудоемки, многостадийны и энергоемки. Кроме того, чистота получаемых продуктов оставляет желать лучшего, поэтому они не конкурентоспособны на мировом рынке. В связи с этим определенный интерес представляет поиск других, более эффективных методов получения БАВ на основе растительного сырья Республики Казахстан (РК). Из растительного сырья путем экстракции получают лекарственные препараты: морфин, кодеин,

папаверин и т.п., а сопутствующие алкалоиды идут в отвал, т.к. некоторые из них проявляют токсичность, другие малоэффективны, а некоторые вообще не обладают фармакологической активностью. До настоящего времени эти побочные продукты находятся в складских помещениях нереализованными. Но структуры этих алкалоидов позволяют получать на их основе уже известные или же новые БАВ путем изменения их структуры, введения новых функциональных групп $-\text{OH}$, $-\text{OCH}_3$, $-\text{OC}_2\text{H}_5$, $-\text{NO}_2$, димеризация и т.д. [1, 2].

Целью данной работы является электрохимический синтез БАВ – пахикарпина на основе алкалоидов группы d-спартеина: афиллина и афиллидина.

Для проведения электролиза при постоянном значении потенциала электрода использовался потенциостат ПЭБ-20.

Электролиз проводили в стеклянном электролизере с керамической диафрагмой, пропитанной жидким стеклом. Система термостатирования состояла из ультратермостата U-10 (теплоноситель – вода). Перемешивание проводилось с помощью магнитной мешалки. Потенциалы электродов контролировались относительно ртутно-сульфатного полуэлемента. Концентрация исходных и конечных веществ в процессе электролиза контролировалась путем титрования кремневольфрамовой кислотой. Определение состава и количественного содержания газообразных продуктов осуществлялось с помощью газоанализатора КГИ-2. Для электроокисления или электровосстановления природных гетероциклических соединений обычно используются чаще всего Hg или Pb электроды, хотя имеются случаи электролиза и на других материалах электродов [1–4].

В данной работе с целью выбора материала катода для электровосстановления смеси алкалоидов афиллина и афиллидина в пахикарпин были предварительно исследованы металлы как с высоким, так и с низким перенапряжением водорода. На основании результатов поисковых опытов в качестве материала катода был выбран – Pb.

Методы идентификации конечных продуктов

Разделение и анализ конечных продуктов электросинтеза проводились с помощью тонкослойной хроматографии на пластинках «Syllifol» (Чехия). Элюирование проводили экспериментально подобранными системами растворителей (хлороформ-метанол-бензол) в соотношении 1:0,5:0,1 об. Установление строения полученных целевых веществ проводились путем снятия ИК-, ЯМР- и масс-спектров. Снятие ИК-спектров проводились на двухлучевом спектрофотометре «Specord-75J» (400–4000 см⁻¹). Для снятия ЯМР-спектров использовались приборы «Varian-S-100XL» (США) с частотой 100 МГц и «Hitachi» (Япония) частотой – 60 МГц. Спектры снимались при $t = 25^\circ\text{C}$ и концентрации 20–30 мг/0,5 мл CHCl₃ или D₂O. Масс-спектр снимался на масс-спектрометре «Varian-MAT-313» (США) при напряженности электронного поля $E = 60$ эВ и $t = 25^\circ\text{C}$ без растворителя.

Электрохимическое восстановление афиллина и афиллидина в пахикарпин

При производстве анабазина гидрохлорида – лекарственного препарата из алкалоидов «Anabasis appilla» образуются отходы в виде смеси алкалоидов: лупини-

на, афиллина, афиллидина и анабазамина в соотношении 0,1:0,8:0,05:0,05 масс. При их разделении на фракции лупинин и анабазамина легко переходят в водорастворимые соли хлоргидраты. А смесь афиллина и афиллидина относится к высококипящей фракции, и для их разделения на отдельные компоненты требуются дополнительные реактивы и расходы. Поэтому для получения пахикарпина нами в качестве исходного сырья была использована смесь афиллина и афиллидина. Электрохимическое восстановление смеси афиллина и афиллидина в соотношении концентрации 1:1 масс. проводилось в водном растворе H₂SO₄ в интервале концентрации электролита 1,0:2,5 М. Электролиз при контролируемом потенциале свинцового катода проводился в интервале $E = 0,60:1,25$ В

Влияние концентрации электролита

Влияние природы электролита и pH среды на процесс электровосстановления рассматривался в ряде работ [5,9–12]. Авторами отмечается влияние кислотности среды на выход целевых продуктов при восстановлении ряда гетероциклических соединений. На рис. 1 приведена зависимость выхода по веществу (ВВ%) и выхода по току (ВТ%) от концентрации электролита.

Как заметно из рис. 1 и как было отмечено выше, концентрация свободной серной кислоты благоприятно влияет на процесс. Вместе с тем, как видно из рис. 1, кривые зависимости ВВ% (кривая-1) и ВТ% (кривая-2) от концентрации электролита проходят через максимум при $\approx 1,4$ М. По-видимому, максимум обусловлен образованием солей исходных афиллина и афиллидина в растворе электролита и увеличением скорости диффузии на поверхность свинцового катода в области ДЭС, а также увеличением скорости десорбции конечного продукта пахикарпина от поверхности электрода, что согласуется с данными литературы [6–8].

На рис. 2 показана зависимость выхода пахикарпина ВВ% и ВТ% от потенциала свинцового катода: кривая 1 – ВВ%, кривая 2 – ВТ%.

Влияние плотности тока

Электрохимическое восстановление протекает в довольно широком диапазоне катодных плотностей тока: от 0,01 до 0,1 А/см².

Как видно, повышение плотности тока благоприятно влияет на выход целевого продукта. На рис. 2 видно, что выход пахикарпина проходит через максимум при $E = -1,2$ В. С дальнейшим повышением потенциала катода выход продукта уменьшается, что, по-видимому, связано с десорбцией исходного афиллина и афиллидина.

Как известно, органические вещества могут адсорбироваться на поверхности электрода при определенном потенциале. $E = -1,2$ В, по всей видимости, соответствует тому потенциалу, когда наблюдается максимальная адсорбция исходных веществ. Препаративное электровосстановление смеси афиллина и афиллидина при контролируемом

потенциале Рb-катода показало, что образование целевого продукта происходит при $E = -0,95; -1,25$ В. Электролиз при $E = -0,95 \pm 0,3$ В, как показал анализ состава раствора, приводит к полному восстановлению афиллидина до афиллина. Максимальный выход целевого продукта электролиза пахикарпина образуется при $E = -1,2$ В.

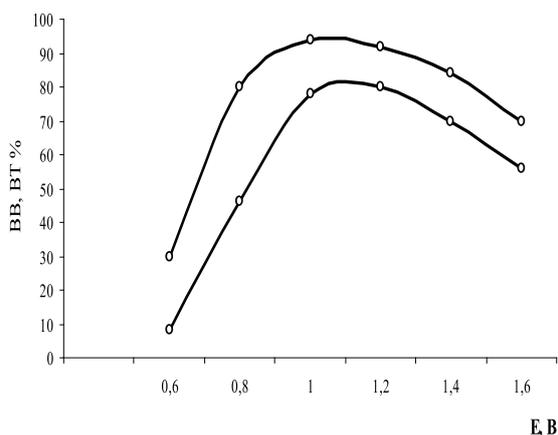


Рис. 1. Зависимость выхода по ВВ% и ВТ% пахикарпина от концентрации электролита H_2SO_4

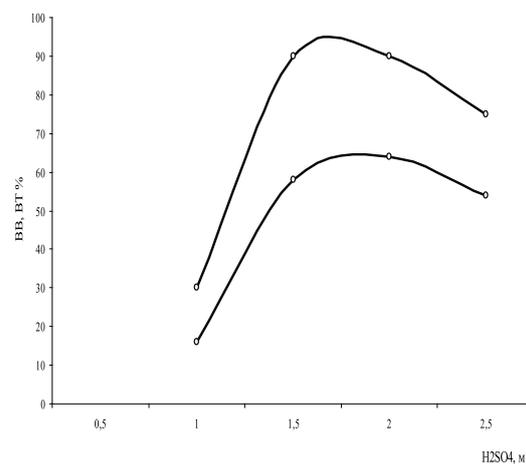


Рис. 2. Зависимость выхода по ВВ% и ВТ% пахикарпина от потенциала катода

Влияние температуры и времени электролиза

Температурную зависимость ВВ% и ВТ% пахикарпина исследовали в пределах $25-40^\circ\text{C}$. Влияние времени электролиза на процесс исследовали в интервале $0,5-3$ ч.

Обычно катодные процессы проводятся при низких значениях температуры с целью упрощения технологии процесса и получения стабильных, химически устойчивых конечных продуктов. На основании предварительных экспериментов установлено, что влияние температуры процесса на выход целевого продукта – пахикарпина – очень незначительно, увеличение температуры приводит к некоторому уменьшению выхода целевого продукта в основном за счет процессов осмоления конечных веществ.

Методом математического моделирования электросинтеза были определены оптимальные условия ведения процесса: время электролиза $\tau = 1,2$ часа, потенциал катода Ук $= +120$ В, температура $t = 25-30^\circ\text{C}$, концентрация исходной смеси $C_{\text{исх}} = 0,6$ М, концентрация серной кислоты $= 1,4$ М.

При оптимальных условиях ведения процесса выход по веществу и току пахикарпина составляют 92,0 и 69% соответственно.

Идентификация конечных продуктов электросинтеза

На основании результатов ТСХ и адсорбционной хроматографии при электровосстановлении смеси афиллина и афиллидина образуются два конечных продукта с $R^f = 0,6$ (продукт 1) и $R^f = 0,92$ (продукт 2).

Вещество с $R^f = 0,92$ (продукт 2) составлял основную массу полученных продуктов.

В отличие от ИК-спектра продукта 1 в спектре продукта 2 не наблюдаются полосы поглощения в области 3500 см^{-1} , характерные для гидроксильной группы. В спектре продукта 2 не обнаружен обертон колебаний $>C=O$ лактамной группы в диапазоне частот 3300 см^{-1} , характерный для спектров исходных алкалоидов. Полоса поглощения в спектре начинается при 2920 см^{-1} , образуя два пика с максимумами 2910 см^{-1} , причем очень сильные и широкие с интенсивностью $\approx 90,0\%$, что характерно для деформационных колебаний $>C-H_2$ связей алкалоидов группы d-спертеина. В ЯМР-спектре продукта 2 полностью отсутствуют характерные сигналы функциональных групп. Сигналы при $\delta_{\text{м.д}} = 1,25$, $\delta_{\text{м.д}} = 2,11$, $\delta_{\text{м.д}} = 2,61$ относятся, по-видимому, только к колебаниям протонов $>C-H_2$ связей, т.к. колебания протонов функциональных групп обыкновенно

лежат в более высокой области химического сдвига.

В масс-спектре продукта 2 при электронном ударе образуются основные фрагменты ионов с массой $m/e = 97, 110, 137, 197, 224$. Недиссоциированный ион с $m/e = 234$ определен как молекулярный. Ион с $m/e = 137$ является максимальным, интенсивность остальных ионов на рисунке приведена относительно интенсивности максимального иона в%. Образование основного фрагмента с массой $m/e = 136, 137, 138$ при электронном ударе $E = 60$ эВ характерно для алкалоидов группы д-спартеина (пахикарпина). Наибольшая интенсивность фрагмента с $m/e = 136$ для алкалоидов пахикарпина наблюдается и в работе авторов [10]. Молекулярный ион с $M^+ = 234$ в спектре продукта 2 по массе совпадает с молекулярной массой алкалоида пахикарпина, что дало возможность предположить их идентичность. Поэтому для подтверждения этого предположения были сняты в тех же условиях, что и спектры продукта 2, ИК-, ЯМР- и масс-спектры природного пахикарпина.

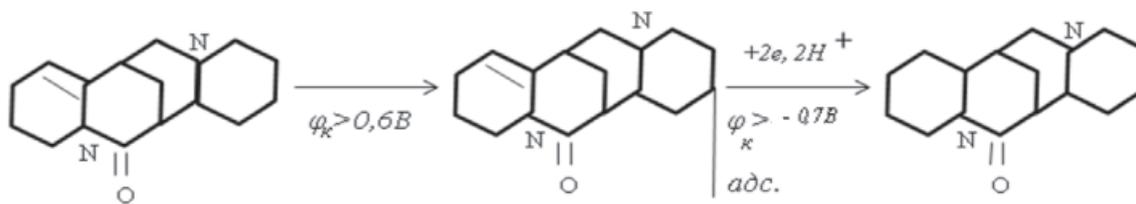
При сравнении соответствующих спектров продукта – 2 и спектров природного пахикарпина выявлена их полная аналогия.

По результатам анализа ИК-, ЯМР- и масс-спектров природного пахикарпина и вещества – 2, последний был идентифицирован, как пахикарпин [13,14].

Схема реакции и ее обсуждение

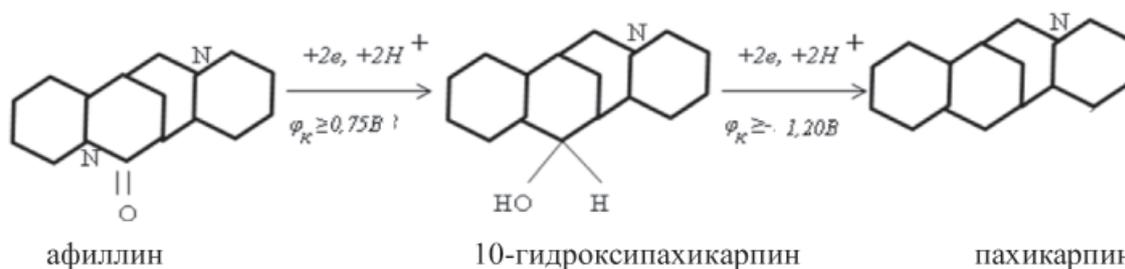
По литературным данным, при электровосстановлении гетероциклических соединений, содержащих в своей структуре карбонильные $>C=O$ группы, в зависимости от условий ведения процесса могут образоваться полностью восстановленные гетероциклические углеводороды, гидрокси- или димерные производные. В сернокислых растворах на электродах с высоким перенапряжением в основном образуются углеводороды и гидроксипроизводные.

На основании результатов вольтамперометрических и емкостных измерений, а также данных анализа по идентификации образование продуктов электровосстановления можно представить следующим образом:



Афилидин

Схема 1



афиллин

10-гидроксипахикарпин

пахикарпин

Схема 2

На основании результатов идентификации продуктов электровосстановления смеси афиллина и афилидина основным продуктом электролиза является пахикарпин.

При $E > -0,6$ В афиллин адсорбируется на поверхности свинцового катода. Максимум адсорбции, по данным вольтамперных и импедансных измерений, находится при $E > -0,95$ В. При таком потенциале катода, по-видимому, происходит протонизация связи молекулы афиллидина в положении 5 и 6, по схеме 1, и он переходит в афиллин,

который является одним из компонентов исходной смеси.

Афиллин максимально адсорбируется при $E \geq -1,20$ В, при этом потенциале к нему присоединяются $2e$ и $2H^+$ с образованием 10-гидроксипахикарпина по схеме 2. Затем 10-гидроксипахикарпин также принимает $2e$, $2H^+$ и с замещением гидрокси-группы образуется полностью восстановленное гетероциклическое соединение – пахикарпин. Такая схема процесса хорошо согласуется с данными идентификации продуктов

электросинтеза пахикарпина, проведенного при контролируемом потенциале.

Анализ продуктов электролиза при контролируемом потенциале показал, что при $E \leq -0,6$ В не происходит восстановления афиллидина, в основном образуются смолообразные продукты. Афиллидин до афиллина восстанавливается при $E \geq -0,65$ В. Следы 10-гидроксипахикарпина появляются при значении $E = -0,75$ В, что, по-видимому, объясняется восстановлением адсорбированного афиллина. С увеличением $E > -0,75$ В повышается выход по веществу 10-гидроксипахикарпина и при значении $E \geq -0,8$ В наблюдается образование пахикарпина. Максимальный выход по веществу пахикарпина наблюдается при $E \geq -1,20$ В.

Количественную очистку основного продукта пахикарпина от исходной смеси афиллина и афиллидина можно проводить путем перевода его в водорастворимую соль хлоргидрат пахикарпина.

Заключение

Установлено электрохимическое поведение алкалоидов группы d-спартеина: афиллина и афиллидина. Показана возможность электрохимического восстановления смеси алкалоидов в биологически активное вещество – пахикарпин. Определены влияющие экспериментальные факторы на процесс. Сняты ИК-, ЯМР- и масс-спектры целевого продукта пахикарпина. Установлены оптимальные условия ведения процесса.

Список литературы

1. Асланов Х.А., Шиббаев А.И., Садыков А.С. // Химия природных соединений. – 1972. – Вып. 324. – С. 274.
2. Ахмед С., Хан А.И., Куренин Р., Субхани М.С. Ассоциация водородных связей в промежуточных продуктах электровосстановления бензохинонов и нафтохинонов. // Электрохимия. – 2007. – Т. 43, № 7. – С. 851–860.
3. Дамаскин Б.Б., Петрий О.А., Батраков В.В. Адсорбция органических соединений на электродах. – М.: Наука, 1968. – С. 176.
4. Журинов М.Ж., Серикбаев А.Б., Фиошин М.Я., Асманов Х.А. // Узбекский химический журнал. – Ташкент, 1986. – № 3. – С. 243.
5. Журинов М.Ж., Серикбаев Б.А., Приходко Н.А., Имангалиев Т.А., Еримбетов А.К. // V Всесоюзное совещание по электрохимии: тезисы докладов конференции. – М., 1974.
6. Конарев А.А., Лукьянц Е.А., Негримовский В.М. Электросинтез гидрохлорида 5-амино-4-оксопентановой кислоты // Электрохимия. – 2007. – Т. 43, № 11. – С. 1320–1328.
7. Конарев А.А. Электрохимический синтез 1,3-диметил-4-амино-5-формиламиноурацила в присутствии хлорида аммония. // Электрохимия. – 2007. – Т. 43, № 10. – С. 1272–1276.
8. Луковцев В.П., Доронин А.Н., Луковцева Н.В., Семенова В.А., Ганшин В.М. Идентификация алкалоидов методом инверсионной вольтамперометрии. // Электрохимия. – 2009. – Т. 45, № 7. – С. 869–872.

9. Лялин Б.В., Петросян В.А., Уграк Б.И. Электросинтез 4-хлорпроизводных пиразола и его алкилзаменяющих // Электрохимия. – 2008. – Т. 44, № 12. – С. 1418–1425.

10. Мулдахметов З.М., Журинов М.Ж., Минаев Б.Ф. Квантовая электрохимия алкалоидов. – Алматы: Наука, 1996. – С. 107.

11. Сильверштейн Р., Басслер Г., Морриа Г. В кн. «Спектрометрическая идентификация органических соединений» – М.: Мир, 1977. – С. 164.

12. Томилов А.П., Фиошин М.Я., Смирнов В.И., Майрановский С.Г. в кн. «Электрохимия органических соединений» – М.: Химия, 1967. – С. 79.

13. Томилов А.П., Фиошин М.Я., Смирнов В.А. В кн. «Электрохимический синтез органических веществ» – М.: Химия, 1976. – С. 413.

14. Фиошин М.Я., Миркинд Л.А., Журинов М.Ж. // Успехи химии. – 1973. – Т. 42, № 4. – С. 677–694.

References

1. Aslanov Kh.A., Shibaev A.I., Sadykov A.S. // Chemistry of Natural Compounds // Number.324 1972, pp. 274.
2. Ahmed S., Khan A.I., Kurenin R., Subhani M.S. Association of hydrogen bonds in the intermediates of electroreduction of benzoquinones and naphthoquinones // Electrochemistry 2007, Volume 43, no. 7, pp. 851–860.
3. Damascus B.B., Peter O., Hinds V. The adsorption of organic compounds on the electrodes. Moscow: Nauka, 1968, pp. 176.
4. Zhurinov M.Zh., Serikbaev A.B., Flyushin M.Ya., Asmanov Kh.A. // Uzbek chemical magazine. Tashkent, 1986, no.3, pp. 243.
5. Zhurinov M.Zh., Serikbaev B.A., Prikhodko N.A., Imangaliev T.A., Erimbetov A.K. // Thesis of the conference V All-USSR Meeting on Electrochemistry. M., 1974.
6. Konarev A.A., Lukyantsev E.A., Negrimovsky V.M. Electrosynthesis of 5-amino-4-oxo-pentanoic acid // Electrochemistry // 2007, Vol. 43, no. 11, pp. 1320–1328.
7. Konarev A.A. Electrochemical synthesis of 1,3-dimethyl-4-amino-5-formilaminouracil in the presence of ammonium chloride // Electrochemistry. 2007. Vol. 43, no. 10, pp. 1272–1276.
8. Lukovtsev V.P., Doronin A.N., Lukovtseva N.V., Semenov V.A., Ganshin V.M. Identification of alkaloids by stripping voltamperometries // Electrochemistry // 2009, Volume 45, no. 7, pp. 869–872.
9. Lialin B.V., Petrosian V., Ugrak B.I. Electrosynthesis of 4-chloro derivatives and pyrazole alkylchanging // Electrochemistry. 2008, Volume 44, no. 12, pp. 1418–1425.
10. Muldahmetov Z.M., Zhurinov M.J., Minaev B.F. Quantum electrochemistry alkaloids. Almaty, «Science», 1996, pp. 107.
11. Silverstein R., Bassler G., Morra G. Spectrometric Identification of organic compounds. – M. «The World», 1977, pp. 164.
12. Tomilov A.P., Fioшин M.Zh., Smirnov V.I., Mairanovsky S.G. In the book «Electrochemistry of organic compounds». M. «Chemistry», 1967, pp. 79.
13. Tomilov A.P., Fioшин M.Zh., Smirnov V.A. In the book «Electrochemical synthesis of organic compounds». M. «Chemistry», 1976, pp. 413.
14. Fioшин M.Ya., Mirkind L.A., Zhurinov M.Zh. Russian Chemical, 1973, v. 42, no. 4, pp. 677–694.

Рецензенты:

Надиров К.С., д.х.н., профессор, зав. кафедрой «Нефтегазовое дело», ЮКГУ им. М.О. Ауэзова, г. Шымкент;
Шакиров Б.С., д.т.н., профессор, зав. кафедрой «Экология», ЮКГУ им. М.О. Ауэзова, г. Шымкент.

Работа поступила в редакцию 22.11.2013.