

ПЛОВДИВСКИ УНИВЕРСИТЕТ „ПАИСИЙ ХИЛЕНДАРСКИ“
UNIVERSITY OF PLOVDIV „PAISII HILENDARSKI“

**НАУЧНИ
ТРУДОВЕ**
ТОМ 39, КН. 5, 2014

Химия

УНИВЕРСИТЕТСКО ИЗДАТЕЛСТВО „ПАИСИЙ ХИЛЕНДАРСКИ“

НАУЧНИ ТРУДОВЕ, ТОМ 39, КН. 5, 2014 – ХИМИЯ
UNIVERSITY OF PLOVDIV „PAISII HILENDARSKI“ – BULGARIA
SCIENTIFIC PAPERS, VOL. 39, BOOK 5, 2014 – CHEMISTRY

Редакционна колегия

Председател: проф. д-р Магдален Златанов

Членове: доц. д-р Веселин Кметов

доц. д-р Кирил Гавазов

доц. д-р Стела Статкова

доц. д-р Стоянка Христоскова

ISSN 0204–5346

СЪДЪРЖАНИЕ

ЕЛЕКТРОХИМИЧЕН БИОСЕНЗОР ЗА ОПРЕДЕЛЯНЕ НА L-АСКОРБИНОВА КИСЕЛИНА (ВИТАМИН С).....	5
--	---

Меги Качакова, Нина Димчева

CHARACTERIZATION AND APPLICATION OF SUCROESTERS AS ANTIMICROBIAL AGENTS.....	17
---	----

*G. Matev, N. Petkova, R. Vrancheva,
I. Ivanov, A. Pavlov, P. Denev*

ISOLATION AND CHARACTERIZATION OF INULIN FROM TAPROOTS OF COMMON CHICORY (CICHORIUM INTYBUS L.).....	25
--	----

N. Petkova, M. Ognyanov, P. Denev

СИНТЕЗ НА ПОЛИФУНКЦИОНАЛНИ СУЛФОНИ.Х. НУКЛЕОФИЛНО ПРИСЪЕДИНЯВАНЕ НА АРЕНСУЛФИНОВИ КИСЕЛИНИ КЪМ 4-БРОМО- β -ХЛОРО- β -НИТРОСТИРЕН.....	35
--	----

Павел Нешковски, Милен Димов, Соня Иванова

ЕЛЕКТРОФИЛНИ РЕАКЦИИ НА ФОСФОРИЛИРАНИ α -ХИДРОКСИАЛЕНИ	41
--	----

Исмаил Исмаилов, Ивайло Иванов, Валерий Христов

СИНТЕЗ И РЕАКЦИИ НА ЦИКЛОИЗОМЕРИЗАЦИЯ НА ФОСФОРИЛИРАНИ α -ХИДРОКСИАЛЕНИ.....	51
--	----

Исмаил Исмаилов, Ивайло Иванов, Валерий Христов

КОНКУРЕНТНИ РЕАКЦИИ НА ЕЛЕКТРОФИЛНА ЦИКЛИЗАЦИЯ НА 1,3-БИФУНКЦИОНАЛИЗИРАНИ АЛЕНИ.....	61
---	----

Ивайло Парушев, Ивайло Иванов, Валерий Христов

КОНКУРЕНТНА ЕЛЕКТРОФИЛНА ЦИКЛИЗАЦИЯ И ПРИСЪЕДИНИТЕЛНИ РЕАКЦИИ НА 4-ФОСФОРИЛИРАНИ АЛЕНКАРБОКСИЛАТИ.....	69
--	----

Ивайло Парушев, Ивайло Иванов, Валерий Христов

**НОВИ ПОДХОДИ ПРИ СИНТЕЗА
НА БИОЛОГИЧНО АКТИВНИ СУКРОЕСТЕРИ.....77**

Радка Грудева, Надежда Петкова, Пантелей Денев

**HYDROTHERMALLY ACTIVATED ZnO FOR
PHOTOCATALYTIC DISCOLORATION
OF TEXTILE DYE POLLUTED WATER89**

*M. Shipochka, K. Milenova, L. Dimitrov,
I. Stambolova, V. Blaskov, D. Stoyanova, A. Eliyas*

**НАСОЧЕН СИНТЕЗ И РЕГИОСЕЛЕКТИВНИ
ЦИКЛИЗАЦИИ НА 4-ХИДРОКСИ-1,3,4-ТРИФЕНИЛАЛЕНИЛ
ФОСФОНАТ И ФОСФИН ОКСИД99**

Хасан Хасанов, Ивайло Иванов, Валерий Христов

ЕЛЕКТРОХИМИЧЕН БИОСЕНЗОР ЗА ОПРЕДЕЛЯНЕ НА L-АСКОРБИНОВА КИСЕЛИНА (ВИТАМИН С)

Меги Качакова, Нина Димчева***

**Биологически факултет,
специалност „Биология и химия“, IV курс*

***Химически факултет, катедра „Физикохимия“
ПУ „Паисий Хилендарски“, гр. Пловдив, ул. „Цар Асен“ № 24*

РЕЗЮМЕ

Ензимът аскорбат оксидаза (АОх) – представител на семейството на поли-медните оксидази, е хемисорбиран върху златни наночастици, отложени чрез електрохимична редукция на хексахлороауратни йони върху повърхността на стъкловъглероден електрод. Полученият ензимен електрод е изследван с волтамперни и хроноамперометрични методи.

Полученият ензимен електрод е използван за електроаналитично определяне на витамин С, като за целта е определено оптималното рН на работната среда и областта от потенциали, в която биосензорът показва ниски нива на шума и висока чувствителност. Като оптимални условия за работа на електрохимичния биосензор са определени рН = 7,0 и потенциали 150 и 200 mV (vs. Ag / AgCl), като електродната чувствителност, определена при тези условия, е съответно 2,56 и 4,03 $\mu\text{A mM}^{-1} \text{mm}^{-2}$, а откриваемият минимум е 1,5 μM . С получения електрохимичен биосензор за аскорбинова киселина е определено съдържанието на витамин С в реални обекти: ампули с вит. С, лимон

сок и хранителна добавка. Резултатите от анализите са съпоставени с паралелно определяне концентрацията на аскорбинова киселина чрез йодометрично титруване на проби от същите реални обекти. Получените резултати показват над 90% съвпадение между двата метода.

Ключови думи: биосензор, златни наночастици, имобилизирана аскорбат оксидаза, биоелектрокатализа, витамин С

ВЪВЕДЕНИЕ

Аскорбат оксидазата е ензим от групата на поли-медните оксидази (MCOs), който катализира окислението на L-аскорбиновата киселина (L-AA, витамин С) до дехидроаскорбинова киселина (DHA) в присъствието на молекулярен кислород при едновременната му редукция до вода, съгласно уравнението [1]:



Ензимът е бил използван в различни видове биосензори от първо поколение за електроаналитично определяне на L-аскорбат [2 – 5], при което основен принцип на анализа е амперометричното проследяване на кислородната консумация с кислороден електрод (Кларков тип). Аналогично на други MCOs обаче, аскорбат оксидазата е способна на обмен на електрони с повърхността на електрода [6 – 11]. Първата публикация, описваща директен обмен на електрони между АОх и електродната повърхност, датира от 1996 г. [9]. Волтаметрични изследвания на АОх върху златен електрод, модифициран с различни промотори, разкриват редокс процеси, които авторите отнасят към окислително-редукционното превръщане на T1 медния център на ензима. Въпреки присъствието на три типа медни редокс центъра (T1, T2 и T3) в структурата на този ензим, в по-късните научни публикации има данни само за един редокс процес, свързан с T1 медния клъстер, наблюдаван при катодните и анодните потенциодинамични криви на АОх [7, 10].

Едва наскоро присъствието на трите ясно определени двойки на анодни и катодни пикове, свързани с T1 и триядрения меден център (T2, T3) на АОх, са били наблюдавани от Ивнитски [6] при волтаметрични изследвания върху въглероден електрод в аеробни и анаеробни условия. Методът на ензимното закрепване е от изключителна важност при създаването на 3-то поколение биосензорни устройства. В този

контекст ефективна комуникация между ензима и електрода е била постигната при включването на АОх в различни видове полимерни слоеве, покриващи повърхността на основния електрод [7, 10, 12] или при захващането на ензима върху повърхността на платинен дисков електрод в полимерен композит, съдържащ въглеродни нанотръбички (MWCNTs) [13], както и свързване на АОх с бифункционален реагент към повърхността на въглероден *screen-printed* електрод [7].

Литературният преглед върху електрохимичните изследвания с имобилизирана аскорбат оксидаза показва, че като правило електрохимичните биосензори за определяне на аскорбинова киселина се основават на измерване консумацията на кислород (биологична потребност от кислород) при ензимно-каталитичното окисление на субстрата. В редките случаи, в които е наблюдавана електрохимична активност на ензима, тя не е послужила като основа за разработване на електрохимичен биосензор за аскорбинова киселина, тъй като като правило ензимите от семейството на поли-медните оксидази проявяват много силен афинитет към кислорода и катализират неговата електроредукция до вода, което потиска активността на другия каталитичен център (Т1), отговорен за окислението на L-аскорбата.

В светлината на гореказаното настоящата работа е посветена на изследване електрохимията на хемисорбираната АОх и охарактеризирането на биоелектрично-каталитичното окисление на L-аскорбат като основа за разработване на трето поколение биосензори за витамин С, чието практическо приложение беше илюстрирано с анализа на съдържанието на L-аскорбат във фармацевтични продукти и лимонов сок. В настоящата работа е предложен принципно нов подход за имобилизирането на аскорбат оксидазата, без аналог в достъпната специализирана литература: ензимът АОх беше хемисорбиран върху златни наночастици, отложени чрез електрохимична редукция на хексахлороауратни йони върху повърхността на стъкловъглероден електрод. При разработването на ензимните електроди бяха варирани в широки граници експерименталните условия както за отлагането на златните наноструктури, така и за закрепването на ензима, като за един определен тип приготвяне на ензимния електрод беше наблюдавана директна електрохимия на ензима. Като следствие от това беше разработен електроаналитичен метод за определяне на витамин С, който е много по-селективен от традиционния метод за анализа му – йодометричното титруване.

ЕКСПЕРИМЕНТАЛНА ЧАСТ

Материали

При разработване на настоящата работа са използвани следните реактиви и материали:

Аскорбат оксидаза (АОх) (Е.С. 1.10.3.3) от Cucurbita Sp. (Sigma-Aldrich) с хомогенна активност $215,66 \text{ U mg}^{-1}$ (1 U окислява $1,0 \mu\text{mol}$ от L-аскорбата до дехидроаскорбат за 1 минута при рН 5,6 и 25°C).

L-аскорбинова киселина (Fluka), Na_2HPO_4 и NaH_2PO_4 (Sigma-Aldrich); $\text{HAuCl}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (Acros) със спецификации „чза“.

Концентрацията на L-аскорбинова киселина се определя с ензимни електроди в реални обекти: ампули витамин С, съдържащи 100 mg mL^{-1} L-аскорбат, произведени от Натурфарма, България; хранителна добавка Resveratrol С, произведена от „Голд Таймс“ ООД, и сок от лимон.

Работният електрод е диск от стъкловъглерод (диаметър = $1,0 \text{ mm}$, Metrohm, България, видима повърхност от ок. $0,8 \text{ mm}^2$).

Буферните разтвори ($0,1 \text{ M}$) бяха направени от натриеви фосфати (едноосновен и двуосновен), разтворени в двойно дестилирана вода с рН 5,6 и 7,0, контролирани с рН метър рН 211 (Hanna Instruments, USA).

Останалите реактиви бяха с чистота над 98% или със спецификация „спектрално чисти“ и не бяха подлагани на допълнителна обработка преди употреба.

Методи

Всички измервания бяха провеждани в стандартна, триелектродна стъклена клетка с неразделени електродни пространства и работен обем $10 - 20 \text{ cm}^3$, сравнителен електрод – Ag / AgCl , 3M KCl , използван като сравнителен електрод, стъкловъглероден работен електрод и платинена жица, използвана като спомагателен електрод, свързани към електрохимична работна станция Palm Sens с компютърен контрол и PS Trace 2.13 софтуер (Palm Instruments, Нидерландия).

В серия от предварителни експерименти върху повърхността на стъкловъглеродния електрод бяха отложени златни наночастици с размери на Au-структури до 200 nm чрез електрохимични (потенциостатични или потенциодинамични) методи, последвано от адсорбция на ензима в продължение на един час при стайна температура.

Преди употреба работният електрод се почиства механично чрез полиране върху алуминиева паста, последвано от трикратно промиване в дестилирана вода с ултразвук. Преди ензимната имобилизация

Au модифицираният електрод се почиства електрохимично в 0,5 M H_2SO_4 с метода циклична волтаперометрия (CV, скорост на сканиране $0,1 \text{ Vs}^{-1}$) в интервала от потенциали от 0 до 1,7 V (спрямо Ag / AgCl, 3 M калиев хлорид) за най-малко 20 цикъла, след това внимателно се изплаква с двойно дестилирана вода. Адсорбцията на АОх се извършва при статични условия чрез потапяне на модифицирани електроди в разтвори, съдържащи 2 или 5 mg mL^{-1} АОх разтвор в 0,1 M буфер на натриев фосфат, с $\text{pH} = 5,6$. След приключване на хемисорбцията несвързаният ензим се отделя от повърхността чрез наkisване на електрода в буфер с $\text{pH} 5,6$ в продължение на около $\frac{1}{2}$ час, при стайна температура и след това се изплаква с вода. Така полученият енизимен електрод се съхранява в 0,1 M натриев фосфатен буфер с $\text{pH} = 5,6$ в хладилник при температура 4°C до следващите измервания.

РЕЗУЛТАТИ И ДИСКУСИЯ

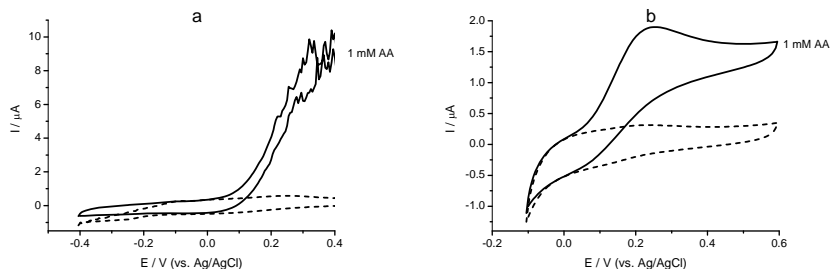
Електрохимична активност на имобилизирания ензим

Ензимните електроди, получени при имобилизиране на ензима АОх върху златни наночастици, отложени по електрохимичен път върху стъкловъглерод, бяха изследвани за електрохимична активност на ензима с помощта на метода квадратно вълнова волтаперометрия, като само един тип електрод показва такава – този, при който Au наночастици бяха отлагани при потенциал, изменящ се линейно с времето в диапазона от $-0,6$ до 0 V . Чрез промяната на продължителността на процеса адсорбция и понижаване на температурата до 4°C бяха установени оптималните условия за ензимна имобилизация.

Наблюдавахме поява на каталитична вълна в присъствието на ензимен субстрат върху цикличните волтаперни криви, което показва, че имобилизираният ензим е електрохимично и биокаталитично активен. Такова косвено доказателство за наличието на биоелектрокатализата е показана на Фиг. 1, изобразяваща циклична волтаперограма на ензимния електрод в отсъствието и в присъствието на L-аскорбинова киселина, при анаеробни условия (Фиг. 1а) и аеробни (Фиг. 1б) условия.

Както може да се види от цикличната волтаперограма на биоелектрокаталитичното окисление на L-аскорбат започва над 0 V и достига своя максимум при потенциал 240 mV . При същия потенциал се наблюдава пик на окислително превръщане на T1 медния център на ензима в отсъствието на неговия субстрат. Токът достигнат при посочения по-

тенциал в отсъствие на кислород, е 3,5 пъти по-висок в сравнение с неговата стойност в присъствието на кислород, но е съпроводен с много голям шум. Поради тази причина за аналитични цели би следвало да се предпочитат аеробните условия за определяне на L-аскорбат, независимо от по-ниския електроден сигнал.



Фигура 1. Циклична волтампорограма на АОх/Au/GC електрода в 0,1 М фосфатен буфер рН = 5,6 (пунктирна линия) и в присъствие на 1 mM L-аскорбат (плътна линия): а) в деаериран с Ar буфер; б) при аеробни условия, 25°C; $v = 5 \text{ mVs}^{-1}$; сравнителен електрод Ag / AgCl, 3M KCl

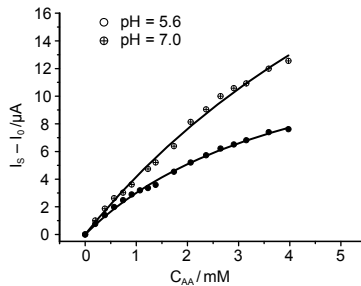
Амперометричен биосензор за L-аскорбат

Ензимният електрод беше тестван при количествено определяне на L-аскорбинова киселина (витамин С). Сред факторите, които влияят на ензима, като най-съществени следва да се отбележат: температура, рН на средата и работният потенциал.

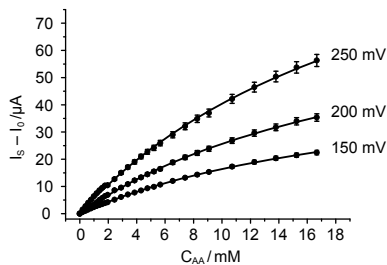
Амперометричните измервания с ензимния електрод бяха провеждани при постоянен потенциал при добавяне на аликвотни части от изходния разтвор на L-аскорбат. Беше установено, че рН на електролита (0,1 М фосфатен буферен разтвор), в който са извършени амперометричните измервания, значително влияе на електродния отклик. Независимо от факта, че окислително-редукционните пикове на имобилизираната АОх са по-ясно изразени при рН = 5,6, амперометричните измервания свидетелстват, че електродният отклик, регистриран в буфер с рН = 7,0, е $\approx 1,7$ пъти по-висок от този, получен в буфер с оптимално за ензима рН (Фиг. 2.).

Влиянието на работния потенциал на ензимния електрод беше изследван при рН = 7,0. При увеличаване на работния потенциал, токът при една постоянна концентрация на субстрата се увеличава значително

(Фиг. 3). При всички изследвани потенциали калибровъчните криви имат нелинеен ход с начална линейна област до концентрация на L-аскорбата 4,8 mM. Анализът на експерименталните данни показва, че те могат да бъдат описани от хиперболична крива, което подсказва, че ензимната кинетика се подчинява на механизма на Михаелис-Ментен. Електродната чувствителност значително се повишава с увеличаване на работния потенциал, докато константата на Михаелис остава непроменена в изучавания интервал от работни потенциали (Табл. 1). При прилагането на потенциал над 250 mV обаче нивото на шума силно се увеличава, като това пречи на прецизното определяне на електродния отклик.



Фигура 2. Отклик на ензимният електрод като функция от концентрацията на аскорбинова киселина при приложен потенциал 200 mV (спрямо Ag / AgCl, 3M KCl), 0,1 M натриев фосфатен буфер, pH 7,0 (празни кръгчета) и pH = 5,6 (пълни кръгчета); температура 25°C; 460 оборота в минута



Фигура 3. Сигнал на ензимния електрод като функция от концентрацията на аскорбинова киселина при работни потенциали 150, 200 и 250 mV, скорост на разбъркване: 460 оборота в минута; електролит: 0,1 M натриев фосфатен буфер, pH = 7,0; температура 25°C; RSD 3,9%

Таблица 1. Операционни параметри на аскорбатоксидазен ензимен електрод, диапазон на работния потенциал 150 – 250 mV (спрямо Ag / AgCl); фонов електролит 0,1 M фосфатен буфер, рН = 7,0; температура 25°C

Потенциал, mV	Чувствителност*, $\mu\text{A mM}^{-1} \text{mm}^{-2}$	r^2	Линейна динамична област, mM	K_M^{app} , mM
150	2,56	0,993	4,8	22,39 ± 3,7
200	4,03	0,989	4,8	22,59 ± 4,6
250	6,35	0,978	4,8	23,39 ± 9,1

* Електродната чувствителност се определя като наклона на линейната част на калибровъчната графика, разделена на геометричната площ на електрода.

При дадените експериментални условия (рН = 7,0; 200 mV) беше направена оценка на възпроизводимостта на сигнала – при 10 последователни измервания в присъствието на 100 μM или 2,8 mM аскорбинова киселина електродният отклик даде RSD от 3,9%. Границата на откриване (откриваем минимум) за посочените експериментални условия беше установена на 1,5 μM (при съотношение сигнал / шум 3 : 1).

В сравнение с други амперометрични биосензори за аскорбинова киселина описаният в настоящата работа предлага редица предимства. Аналитичната система се характеризира с относително бързо и лесно приготвяне, нисък работен потенциал, бърза реакция, широка динамична област и нисък откриваем минимум. Чувствителността на определянето (2,56 $\mu\text{A mM}^{-1} \text{mm}^{-2}$ при 150 mV) е значително предимство, тъй като тя е повече от 10 пъти по-висока от тази, постигната от Liu и др. с помощта на два вида електроди с комплексна архитектура със сандвичев тип структура [13, 14], показали чувствителност от 23,95 $\text{mA M}^{-1}\text{cm}^{-2}$ и 28,5 $\text{mA M}^{-1} \text{cm}^{-2}$ съответно, постигната при много по-висок работен потенциал (400 mV спрямо НКЕ).

За да покажем приложимостта на разработения биосензорен метод за анализ на L-аскорбат, с ензимния електрод беше определяна концентрацията на L-аскорбинова киселина във фармацевтичен продукт (ампули вит. С), хранителна добавка и сок от прясно изцеден лимон. Както може да се види от Таблица 2, съдържанието на витамин С, определяно с ензимния електрод, показва много добър аналитичен добив: стойността му се изменя между 95 и 102%. С увеличаване обема на пробата отклонението на концентрацията на вит. С от определената чрез йодо-

метрично титруване намалява от +2% до –5%, най-вероятно поради натрупване на обемна грешка. По-значително отклонение между измерената с биосензора концентрация на витамин С и определената йодометрично се наблюдава при определянето му в по-сложни реални обекти – сок от лимон и хранителна добавка, което най-вероятно се дължи на пречещо влияние на някой от компонентите на реалните проби.

Таблица 2. Резултати от анализираното съдържание на витамин С в реални обекти с ензимен електрод; потенциал 200 mV (спрямо Ag / AgCl, 3M KCl); електролит 0,1 M буфер, рН = 7,0; температура 25°C

Обем на пробата, µl	Концентрация на L-АА в пробата (след разреждане)	Концентрация на L-АА, определена с биосензора	Аналитичен добив*, %
Ампули витамин С			
20	1,25 mM	1,27 mM	102
40	2,49 mM	2,43 mM	98
60	3,73 mM	3,55 mM	95
Лимонов сок			
100	37,00 µM	33,32 µM	90
200	60,21 µM	54,20 µM	90
Хранителна добавка			
50	199,56 µM	187,70 µM	94
100	351,15 µM	333,61 µM	95

* Аналитичният добив (в %) се определя от съотношението на концентрацията на L-аскорбиновата киселина, анализирана с биосензора и чрез йодометрично титруване (преизчислена след разреждането на пробата).

СТАБИЛНОСТ НА ЕНЗИМНИЯ ЕЛЕКТРОД

Стабилността при съхранение на ензимния електрод (съхраняван повече от 8 месеца при оптимално рН = 5,6 в хладилник при 4°C) беше проследена чрез редовни измервания на активността му при 200 mV в присъствието на 2,8 mM аскорбинова киселина. Токовият сигнал на прясно приготвен ензимен електрод остава практически непроменен в течение на 8 часа работа. Остатъчната активност на четвъртия ден от неговото приготвяне е 95% от първоначалният отклик. След това тя постепенно намалява и след 35-дневно съхранение достига до около 63% от първоначално регистрираната активност, като остава на същото ниво през следващите 7 месеца.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Описаният в настоящата работа амперометричен биосензор за аскорбинова киселина притежава редица предимства: аналитичната система се характеризира с относително бързо и лесно приготвяне, нисък работен потенциал, бърза реакция, широка линейна динамична област и нисък откриваем минимум. Чувствителността на определянето ($2,56 \mu\text{A mM}^{-1} \text{mm}^{-2}$ при 150 mV) е значително предимство, тъй като тя е повече от 10 пъти по-висока от тази, постигната от Liu и др. с помощта на два вида електроди с комплексна архитектура, тип сандвич [13, 14], с чувствителност $23,95 \text{ mA M}^{-1} \text{cm}^{-2}$ и $28,5 \text{ mA M}^{-1} \text{cm}^{-2}$ съответно, постигната при много по-висок работен потенциал (400 mV спрямо НКЕ).

Ензимът показва активност при биоелектрокаталитична редукция на кислород или окисляване на L-аскорбат, като последното е по-ефективно при анаеробни условия.

Възможността за продължително съхранение на разработения биосензор е тествана в продължение на 8 месеца, като през първите 35 дни се наблюдава постепенното спадане на активността до 63% от първоначалната, след което това ниво се задържа през следващите 7 месеца. Подобрената стабилност и добрите аналитични показания на биосензора предлагат нови перспективи за прилагането му при мониторинг в реално време на съдържанието на витамин С (неокислен) в различни фармацевтични продукти и храни.

Авторите изказват благодарност на фонд „Научни изследвания“ към МОН (тема ДВУ-02/38) за финансовата подкрепа при настоящите изследвания.

ЛИТЕРАТУРА

1. I. Bento, L. O. Martins, G. Gato Lopes, M. Armenia Carrondo and P. F. Lindley, *Dalton Transactions*, 3507 (2005).
2. E. Akyilmaz and E. Dinçkaya, *Talanta*, **50**, 87 (1999).
3. N. Chauhan, T. Dahiya, Priyanka and C. S. Pundir, *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*, **67**, 66 (2010).
4. N. Chauhan, J. Narang and C. S. Pundir, *Analyst*, **136**, 1938 (2011).
5. N. Tomita, A. Manzoli, F. L. Fertonani and H. Yamanaka, *Eclética Química*, **30**, 37 (2005).

6. D. M. Ivnitski, C. Khripin, H. R. Luckarift, G. R. Johnson and P. Atanassov, *Electrochimica Acta*, **55**, 7385 (2010).
7. K. Murata, N. Nakamura and H. Ohno, *Electroanalysis*, **19**, 530 (2007).
8. B. Patil, S. Fujikawa, T. Okajima and T. Ohsaka, Enzymatic Direct Electron Transfer at Ascorbate Oxidase-modified Gold Electrode Prepared by One-step Galvanostatic Method, in *Int. J. Electrochem. Sci.*, p. 5012 (2012).
9. T. Sakurai, *Chemistry Letters*, **25**, 481 (1996).
10. R. Santucci, T. Ferri, L. Morpurgo, I. Savini and L. Avigliano, *Biochem. J.*, **332**, 611 (1998).
11. S. Shleev, J. Tkac, A. Christenson, T. Ruzgas, A. I. Yaropolov, J. W. Whittaker and L. Gorton, *Biosensors and Bioelectronics*, **20**, 2517 (2005).
12. H. Wang and S. Mu, *Journal of Electroanalytical Chemistry*, **436**, 43 (1997).
13. M. Liu, Y. Wen, J. Xu, H. He, D. Li, R. Yue and G. Liu, *Analytical Sciences*, **27**, 477 (2011).
14. M. Liu, Y. Wen, D. Li, R. Yue, J. Xu and H. He, *Sensors and Actuators B: Chemical*, **159**, 277 (2011).

CHARACTERIZATION AND APPLICATION OF SUCROESTERS AS ANTIMICROBIAL AGENTS

*G. Matev**, *N. Petkova***, *R. Vrancheva****,
*I. Ivanov***, *A. Pavlov***, *P. Denev***

**University of Food Technologies,
student Analysis and Control of Food Products*

***University of Food Technologies,
Department of Organic Chemistry, 26 Maritza Blvd., 4002,
Plovdiv, Bulgaria, e-mail: petkovanadejda@abv.bg, denev57@abv.bg*

****University of Food Technologies,
Department of Analytical Chemistry, 26 Maritza Blvd., 4002*

ABSTRACT

Sucrose esters are nontoxic and biodegradable compounds with a large scale application in food industry as emulsifiers and solubiliser in cosmetics, agriculture and pharmaceuticals. Sucrose esters composed of C6 – C12 fatty acids have desirable insecticidal properties against many soft-bodied arthropod pests. Sucrose esters with saturated fatty acids (C10 to C18) and 10-unsaturated undecylenic acid have been synthesized. The obtained sucrose esters were characterized by FT-IR spectroscopy. The antimicrobial activity of some esters of sucrose has been investigated. Sucrolaurate was characterized with well-pronounced antimicrobial activity against fungi *Aspergillus* and *Penicillium*, Gram-positive bacteria: *Bacillus subtilis* and *Staphylococcus aureus*. Unsaturated undecylenic ester of sucrose showed

also very well antimicrobial activity against *Candida albicans*, exhibited inhibition activity against Gram-positive bacteria: *Bacillus subtilis* and *Bacillus cereus*, and Gram-negative *E. coli*, as also inhibited growth of *Pseudomonas aeruginosa*, against which undecylenic acid was inactive. On the base of this investigation sucroundecylenic and sucrolaurate ester could be used as potential antimicrobial agent for protecting plants and foods against some microorganisms.

Key words: *sucroesters, FT-IR, antimicrobial activity*

INTRODUCTION

Sugar esters synthesized from renewable sources such as fatty acids and sucrose constitute an interesting group of nonionic surfactants. They have broad application in food industry, in cosmetics as detergents, oral-care products, and medical supplies, and also in agriculture as insecticides [1, 7, 14]. Sucrose esters have very wide HLB, excellent physical properties and surface activity. Sucroesters were investigated to possessed emulsion stabilization activity, as sucrose laurate and sucrose palmitate have the capacity to stabilized O/W emulsions [10].

Apart from their emulsifying properties, they are completely biodegradable, harmless to the environment, non-toxic, skin-compatible, odorless and tasteless [1,7]. When they are ingested, they are hydrolyzed to form normal food products [12]. The use of these compounds in medicine and food may also due also to their antimicrobial and antitumor activity. In general Gram-positive were more susceptible than Gram-negative bacteria. These esters reorganize the cellular membrane altering its permeability [2, 6].

The preparation of esters of sucrose and saturated or slightly unsaturated fatty acids or mixtures of higher polyenolic acids has been published. It is known that with an increase in the degree of unsaturation of the hydrocarbon moiety the solubility of esters of sucrose rises, which is important for medicinal purpose. These compounds are more active because of the high biological activity of the free polyunsaturated fatty acid [3]. For the undecylenoyl sugar esters (1'-O-(10-undecylenoyl) sucrose) obtained by enzyme catalyzed reactions have been reported to possess superior surface tension activity and biodegradability, and can be utilized as anti-fungal, anti-bacterial and anti-viral activities in cosmetic, medicine and food [13].

Sucrose esters are naturally produced in the glandular secretions of leaf hairs of *Nicotiana* plants [7, 14]. For industrial scale needs they can be synthesized using either chemical or biological catalysts [2, 7, 8]. The chemical synthesis is usually base-catalyzed with alkali metals (sodium or potassium) hydroxides, carbonates and alkoxies at high temperature. Esterification of sucrose can be performed by reacting with acyl chlorides or anhydrides but more promising are chemical or biochemical methods based on ester interchange of methyl, cyanomethyl or ethyl esters of higher fatty acid esters with sucrose or their acetates under atmospheric, reduced pressure or in an inert gas atmosphere (nitrogen). Usually esterification process is carried out in solvent DMF and DMSO as reaction media. [6, 8, 15].

Enzyme-catalyzed processes for esterification of sucrose are more selective than chemical and conducted in mild conditions [2], but the purified enzymes is needed.

The aims of our current research are chemical synthesis and characterization of sucrose esters with different length of fatty acid chain (C10 to C16) and their application as antimicrobial agents. One of the main tasks of our study is to investigate the effect of obtained sucroesters on the growth of several microorganisms involved in food spoilage and poisoning (*Bacillus* sp.) and in a diversity of disease (*E. coli*, *St. aureus*, *Candida albicans*).

MATERIAL AND METHODS

Esterification process of sucrose with fatty acid methyl esters (C10 to C18) was conducted in molar ratio 2:1, in a dry two-neck round bottom flask with a thermometer and a reflux on a heating magnetic stirrer. The esterification process was carried out with 0.3 eq. NaOMe used as catalyst for 3 hours at 70°C under nitrogen atmosphere. The reaction mixture was neutralized and then crystalized with water. For synthesis of sucroundecylenic ester the reaction mixture were dissolved in 10% NaCl and washed twice with n-BuOH to obtained the ester. The solvent was removed by vacuum evaporation yielded as yellow-colored oil, which was recrystallized with ethanol-water (1:1/v/v).

The resulting sucrose esters were characterized by melting point and FT-IR spectroscopy. Melting point of sucrose esters were measured on a melting point apparatus BÜCHI 510 in capillary glass tube. The FT-IR was recorded in KBr pellets on a Nicolet FT-IR Avatar Nicolet Termo Science

spectrometer in the range 4.000 – 400 cm⁻¹ and absorption was reported in wavenumbers (cm⁻¹).

The antimicrobial effect of the synthesized sucrose laurate against bacteria *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *E.coli* and fungi *Aspergillus* and *Penicillium* was evaluated by agar diffusion method. The number of mold spores in 1 ml spore suspension was determined by counting in a chamber of Thoma [10].

For determination of antibacterial and antifungal activities of other sucroesters micro dilution method was employed as recommended by National Committee for Clinical Laboratory Standards [11] with some modifications. Microorganisms strains tested in this study were bacteria, namely *Escherichia coli* NBIMCC 858, *Bacillus subtilis* NBIMCC 1711, *Bacillus cereus* NBIMCC 1085, *Pseudomonas aeruginosa* NBIMCC 3590, *Pseudomonas fluorescens* NBIMCC 1442 and strain of fungus *Candida albicans* NBIMCC 72. The analysis of antimicrobial activity of tested substances were performed using different liquid media according of the microorganism: for *E. coli* – Luria Bertani Broth Miller (Himedia), for *Candia albicans* – GPM (Merck), and for *Ps. aeruginosa*, *Ps. fluorecens*, *B. subtilis*, *B. cereus*, Nutrient broth (Merck). Tested esters and 10-undecylenic acid were dissolved in 2% DMSO. The inoculated plates were incubated for 24 hours at 35°C and at 25°C for bacterial and fungi, respectively. After incubation the absorbance was read at 620 nm against controls (2% DMSO). The percent inhibition was calculated by equation (1). Each test was performed in triplicate and the results were presented as mean±SD.

$$\text{Inhibition (\%)} = \frac{A_{620}(\text{control}) - A_{620}(\text{sample})}{A_{620}(\text{kontrol})} \times 100 \quad (1)$$

RESULTS

A variety of fatty acid esters of sucrose were synthesized by transesterification reaction in absence of solvent only with presence of catalyst NaOMe (Figure 1). All of the obtained sucrose esters-caprinate, laurate, palmitate and stearate present white powder without smell with melting points 98 – 102 °C, 85 – 87°C, 75°C, 62°C respectively. Sucroundecylenate was in liquid state at room temperature and a yellow-solid at 7°C.

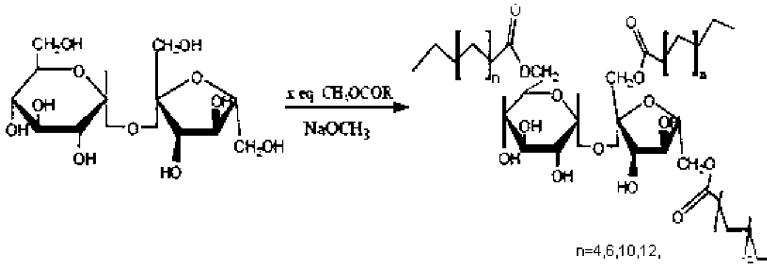


Figure 1. Esterification of sucrose with fatty acid methyl esters (FAME)

The obtained IR spectrum of sucrose esters indicated the decrease in width of the characteristic band for free hydroxyl group (O – H stretch of free hydroxyl in sucrose) at 3330 cm^{-1} . The new band around 1742 cm^{-1} characteristic of carbonyl ester functions, and the intensification on the CH_2 signals around 2920 cm^{-1} pointed out the presence of alkyl group was observed. The stretch at around 1745 cm^{-1} (C – O stretch of ester) meant that the esterification of sucrose has been successful. Apparently, 1728 and 995 cm^{-1} (glycoside bond stretch of sucrose) showed that the products were sucrose esters.

In FT-IR spectrum of sucoundecylenate can be observed that the bands at 3300 cm^{-1} diminished, because of esterification of OH groups and new stretch vibrations at 3080 cm^{-1} , due to end C = C bonds and carbonyl ester stretch vibration at 1745 cm^{-1} appeared (Figure 2).

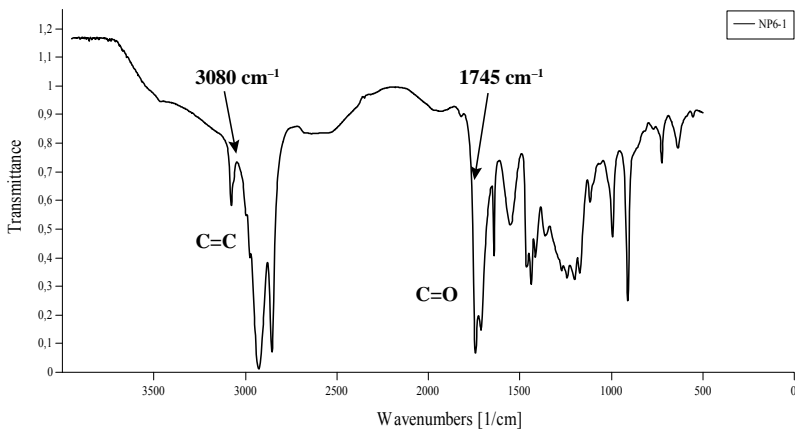


Figure 2. FT-IR spectrum of the synthetic undecylenic acid sugar ester

Sucrolaurate with concentration 0,1% inhibited the growth of bacteria *Listeria monocytogenes*, *B. subtilis* and *St. aureus*, and fungi *Penicillium* sp. *Aspergillus* sp., but was inactive to Gram-negative *E. coli*. Our results for inactivity of sucrose laurate against *E.coli* were in accordance with the reports of Kabara and Hatchcox [4, 5]. The concentration was used to test the ester, but for further studies, the high concentration could be applied for better results of its antimicrobial activity.

Table 1. Antimicrobial activity of sucrolaurinate (0.1% water solution)

Microorganisms						
Cfu, ml	<i>B. subtilis</i>	<i>E. coli</i>	<i>St. aureus</i>	<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Penicillium</i> sp.	<i>Aspergillus</i> sp.
	1,3.10 ⁹	1,8.10 ⁸	1,2.10 ¹⁰	9,2.10 ¹⁰	2.10 ⁵	1.10 ⁵
D, mm	15*	–	11	17	8**	9**

Diameter of zone with inhibition growth, mm, *after 24 h for bacteria, ** after 48 h for fungi

Tested sucrose, sucropalmitate and sucrostearate in concentration 1 mg/mL were inactive against *Candida albicans* and Gram-negative bacteria. However, in this concentration sucroundecylenic ester showed very good antimicrobial properties. Sucroundecylenic fatty acid ester inhibited not only the growth of Gram-positive bacteria (*B. cereus* and *B. subtilis*), but also act as antimicrobial agent against Gram-negative (*E. coli* and *Ps. aerogenosa*). This sucroester possesses well-pronounced antifungal activity. Sucroundecylenic ester shows stronger inhibition activity against *Candida albicans* than undecylenic acid (Table 2).

Table 2. Screening of antimicrobial properties of sucroundecylenate and undecylenic acid.

Compound/ Microorganism	Inhibition*, %					
	<i>Bacillus cereus</i>	<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Ps. fluorescences</i>	<i>Ps. aeruginosa</i>	<i>E coli</i>	<i>Candida albicans</i>
Sucroundecylenate	75,1 ± 0,3	59,2 ± 0,9	–	12,5 ± 4,9	17 ± 4,9	86,6 ± 1,9
Undecylenic acid	62,8 ± 3,1	58,9 ± 3,6	–	–	15 ± 2,7	68,1 ± 3,9

*Concentration of all tested compounds was 1 mg/mL

We observed that undecylenic acid at concentration 1 mg/mL not inhibited growth of Gram negative *Ps. aeruginosa*. This fact was in the accordance with statement of Kabara [5]. The highest antimicrobial activity sucroundecylenate showed against *Candida albicans* 86%. The chemically synthesized by us sucroundecylenic ester is new alternative as active agent with well-pronounced biological activity. It could be applied as new antimicrobial agent in food, cosmetics or medicine.

CONCLUSION

Sucrose esters with saturated fatty acids (C10 to C18) and 10-unsaturated undecylenic acid C11 were synthesized and characterized by FT-IR. Antimicrobial activity of sucrolaurinate and sucroundecylenate ester were investigated. The antimicrobial activity of sucrolaurinate is impressive, as this sucroester inhibited growth of Gram-positive, bacteria (*B. subtilis*), *St. aureus*, *Listeria monocytogenes* and fungi *Aspergillus* and *Penicillium*. The chemically synthesized sucroundecylenic ester is more active than undecylenic acid. In comparison between them this unsaturated sucrose ester exhibited better antimicrobial activity against Gram-positive bacteria, inhibition activity against yeast *Candida albicans* and Gram-negative *E. coli*, even it also inhibits growth of *Pseudomonas aeruginosa*, against which undecylenic acid is inactive. Sucroundecylenic ester is a proper candidate as a novel antimicrobial agent for future application in plants prevention, cosmetics and medicine for curing disease.

REFERENCES

1. Ducret, A., Giroux, A., Trani, M., Lortie, R., *Biotech. Bioeng.*, 1995, 48, 3.
2. Ferrer, M., J. Soliveri, F. J. Plou, N. Lopez-Cortes, D. Reyes-Duarte, M. Christensen, J. L. Copa-Patiño, A. Ballesteros. Synthesis of sugar esters in solvent mixtures by lipases from *Thermomyces lanuginosus* and *Candida antarctica* B, and their antimicrobial properties. *Enzyme & Microb. Tech.*, 2005, 36, 391 – 398.
3. Frangulyan, G. A., Komkov A. V., Prokofev, E. P., Synthesis and isolation of monoesters of sucrose and arachidonic acid, *Khimiya Prirodnikh Soedinenii*, 1988, 4, 499 – 502.

4. Hathcox, A. K. & Beuchat L. R., Inhibitory effect of sucrose fatty acid esters, alone and in combination with ethylenediaminetetraacetic acid and other organic acids, on viability of *Escherichia coli* O157:H7. *Food Microb.*, 13, 1996, 213 – 225.
5. Kabara, J. J. & D. Marshal, Medium-chain fatty acids and esters, Antimicrobials in food. (Eds. Davidson, P., M., Sofos, J., N. & Branen A. L.) CRC Taylor & Francis, NY, 2005, 328 – 336.
6. Kurzin, A. V., Evdokimov, A. N., Pavlova, O. S., Antipina, V. B., Esters of sucrose and tall oil fatty acids, *Russian J. Appl. Chem.*, 2007, 80, 344 – 345.
7. Li, Sh., Song, Z., Liu, Zh., Bai, S., Characterization and insecticidal activity of sucrose octanoates, *Agron. Sustain. Dev.*, 2008, 28, 239 – 245.
8. Liu, X., Gong, L., Xin M., Liu J., The synthesis of sucrose ester and selection of its catalysts, *J. Mol. Catal. A: Chemical.*, 1999, 147, 37 – 40.
9. Matev, G., Petkova N., Denev P., Popova V., Akterian S., Synthesis of modified carbohydrates with biological activity, Scientific research of Union of Scientists in Bulgaria Plovdiv, series C. Technics and Technologies, Union of Scientists, 2011, IX, 106 – 109.
10. Megahed, M., Preparation of sucrose fatty acid esters as food emulsifiers and evaluation of their surface active and emulsion properties, *Grasas y Aceites*, 1999, 50, 280 – 282.
11. National Committee Clinical Laboratory Standards, Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically. Approved Standard, 1990, NCCLS Publication, M7-A2, Villanova, PA, USA.
12. Osipow, L., Snell, F. D., Finchler, A., Sugar esters, *JAOCS*, 1954, 34, 185 – 188.
13. Raku, T., Kitagawa, M., Shimakawa, H., Tokiwa, Y., Enzymatic synthesis of hydrophilic undecylenic acid sugar esters and their biodegradability, *Biotech. Lett.*, 2003, 161, 161 – 166,
14. Song Zi-juan, Li Shu-jun, Chen X. Liu Li-mei, Song Zh., Synthesis of insecticidal sucrose esters, *For. Stud. China*, 2006, 8, 26 – 29
15. Yanachkova, H., B., Mitrev, N., Y. & Stoineva, B., Iv., Novel method for acylation of unprotected saccharides, Scientific Works Vol. LX „Food science, engineering and technology 2013“, 18 – 19 October 2013, Plovdiv, 923 – 924.

ISOLATION AND CHARACTERIZATION OF INULIN FROM TAPROOTS OF COMMON CHICORY (*CICHORIUM INTYBUS* L.)

*N. Petkova**, *M. Ognyanov***, *P. Denev**

**University of Food Technologies, Department of Organic Chemistry,
26 Maritza Blvd., 4002, Plovdiv, Bulgaria, e-mail: petkovanadejda@abv.bg*

***Institute of Organic Chemistry with Centre of Phytochemistry, Bul-
garian Academy of Sciences, Laboratory of Biologically Active Sub-
stances, 139 Ruski Blvd, 4000 Plovdiv, Bulgaria*

ABSTRACT

Polysaccharide inulin has been isolated from the dry taproots of common chicory *Cichorium intybus* L. by hot water extraction procedure under high-pressure conditions and further precipitation with acetone at low temperature. The obtained inulin was characterized by the measurement of melting point and angle of optical rotation. The total fructose content was determined by resorcinol spectrophotometric method. The purity of isolated polysaccharide was defined by HPLC-RID method for analysis of inulin. The reducing groups were evaluated by PAHBAH. The protein content was analyzed by Bradford protein assay. IR-FT spectrum was recorded in KBr pellets and the absorption was reported in wavenumbers (cm^{-1}).

The isolated substance from chicory roots presented a white powder, without taste. It characterized with the melting point 165°C , the angle of optical rotation $[\alpha]_D^{25} = -22$ ($c = 0.5$; H_2O) and gave positive Selivanoff reaction, an indication for the presence of ketose groups. This carbohydrate was

characterized with the fructose content 96%, purity 97%, reducing groups 3.6%, degree of polymerization (DP) 27 and the molecular weight 4.3 kDa. The protein content in the polysaccharide fraction was below 0.2%. The IR-FT spectrum were characterized by absorption bands at 3330 cm^{-1} $\nu(\text{OH})$; strong complex absorption at 1170 cm^{-1} , 1087 cm^{-1} , 1030 cm^{-1} related to valent stretching vibrations of (C – C), (C – O), (C – O – C) groups and ring vibrational modes in furanoside structure. The bands at 827, 860 and 938 cm^{-1} belonged to β 2 \rightarrow 1 glycosidic bond. These data suggest that the isolated polysaccharide substance is inulin-type fructan.

Key words: *chicory, inulin, HPLC analysis, IR-FT spectrum*

INTRODUCTION

Chicory (*Cichorium intybus* L.) is a biennial plant belongs to the *Asteraceae* family with many applications in the food industry. Its roots are rich source of inulin [13]. It is a reserve polydisperse plant polysaccharide, member of the fructan family, consisting mainly of β -(2 \rightarrow 1) fructofuranosyl units (Fm), and a terminal α -glycopyranose unit (1 \rightarrow 2) (GFn). The degree of polymerization (DP) of inulin varies from 2 to 70 [17].

Because of its healthy effect inulin are recommended for treating and curing diabetes mellitus, alimentary corpulence, atherosclerosis, and dysbacteriosis. It also improves mineral absorption, possessed prebiotic and immunomodulating properties [2, 3]. Inulin is used as soluble dietary fiber and texture modifier in food production and as a substrate for the production of high fructose content syrups (HFCS) used in beverage industry [9, 22].

Due to their wide distribution in nature and significant role in industry, the extraction, isolation and characterization of inulin-type fructans are still gaining attention in recent years [24]. The main sources for inulin industrial production are chicory witloof, Jerusalem artichoke and dahlia [9].

Many investigations were developed to set optimum extraction conditions in order to improve inulin extraction from plants, temperature, extraction time, and solvent/solid ratio were identified as the most important factors influencing the yield [1, 23]. The main procedures for production of inulin powder include extraction, filtration, refrigeration/freezing, centrifugation, precipitation and drying [23]. Because of its water solubility, all inulin extraction methods described in the literature used hot water as a solvent, with only small differences in temperature and extraction time. For

industrial production of inulin hot water diffusion process has been applied followed by refining with ion exchanger, concentration and spray drying [9]. Inulin isolation from chicory roots could be done also by batch extraction at 70°C with continuous stirring and clarification by filtration through silica-chitosan bed [8]. Laboratory investigations include extraction procedures from dry chicory roots by hot water diffusion at an average temperature of $80 \pm 2^\circ\text{C}$ for 1 h with continuous stirring [23], from globe artichoke by distilled water (80°C) at pH 6.8 (by NaOH) to avoid inulin hydrolysis at $\text{pH} < 6$ [22] and from *H. tuberosus* L by hot deionized water at 85°C for 2 – 3 min [7].

Clearing procedure by active carbon pretreatment of the extract was reported for inulin from Jerusalem artichoke tubers [1, 7]. Other widespread technique for clarification is carbonation. For many years this method is applied for refining inulin, because of its advantages as effectiveness and low-cost price [16]. For precipitation of inulin solvents as ethanol, acetone or 2-propanol were applied [7, 12].

The aim of the current study was isolation and physicochemical characterization of inulin obtained from taproots of medicinal plant *Cichorium intybus* L.

MATERIALS AND METHOD

Inulin has been isolated from common chicory (*Chicorium intybus* L.) grown on the territory of Bulgaria (Chehlaré village). The roots were collected in October 2010, and then they were washed with tap water and dried at 40°C in the vacuum oven. The ground taproots were extracted with hot water (~90°C) under pressure 1.5 MPa for 2 – 3 min. The extraction was repeated twice, the filtrates were mixed and pH was adjusted to 8.0 by adding $\text{Ca}(\text{OH})_2$. The mixture was left at room temperature for 1 h. After that, the sludge was filtrated. The filtrate was neutralized to pH 7 at temperature 60 – 65°C by oxalic acid. An activated carbon was added and then filtration procedure was done again. The concentrated filtrate was precipitated by addition of acetone and left to settle down at 2 – 5°C. The resulting amorphous substance was filtrated, washed twice with ethanol, once with acetone and finally dried at 40°C (Figure 1)

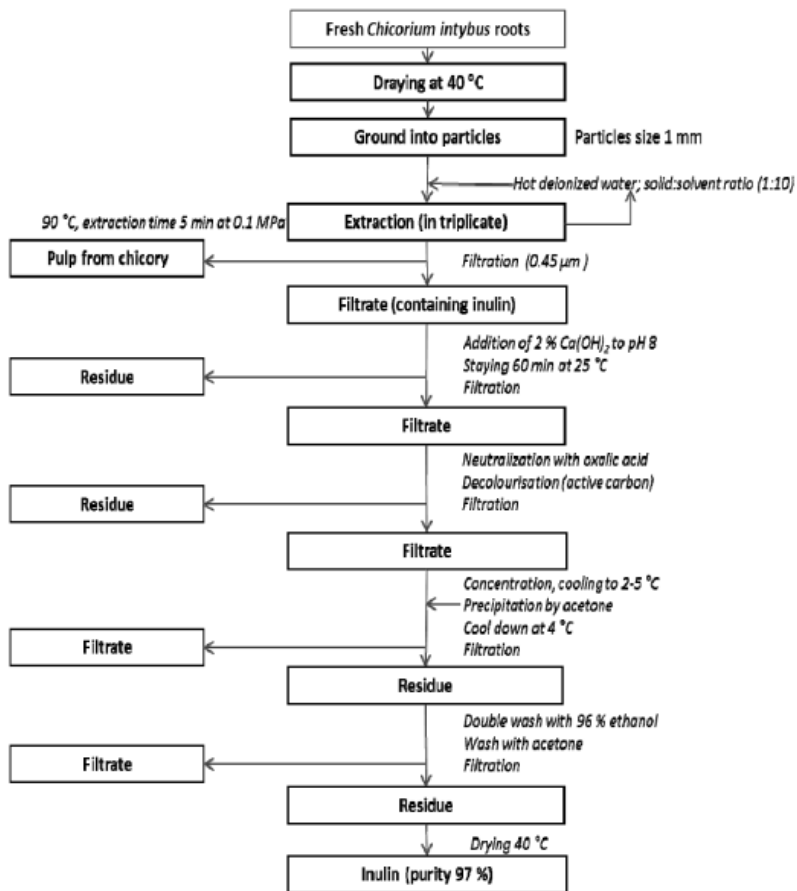


Figure 1. Schematic procedure of inulin extraction from common chicory

Melting point of inulin was measured on a melting point apparatus BÜCHI 510 in capillary glass tube. Optical rotation of 5% water solutions of inulin samples was determined on automated polarimeter Polamat A (Carl Zeiss, Jena, Germany) in a tube 1 dm long with volume 10 ml using sodium lamp as light source.

Protein content was assessed by Bradford's method with bovine serum albumin as a standard [6]. The reducing groups were assayed by PAHBAH,

as measuring the absorbance at 410 nm [14]. The calibration curve was built by use of D-fructose (Mw = 180.16, Fluka) as a reference.

The fructose content was analyzed by resorcinol assay with measuring absorbance of the color complex at 480 nm [20].

Inulin content in the isolated substance from roots of common chicory was analyzed by HPLC-RID method. The inulin solution was filtered through a 0.45 µm filter prior to analysis. Chromatographic separations were performed on HPLC Shimadzu, coupled with LC-20AD pump, refractive index detector Shimadzu RID-10A. The control of the system, data acquisition, and data analysis were under the control of the software program LC solution version 1.24 SP1 (Shimadzu Corporation, Kyoto, Japan). The chromatographic separations were performed on a Shodex® Sugar SP0810 with Pb²⁺ a guard column (50 × 9.2 mm i.d.) and an analytical column (300 mm × 8.0 mm i.d.). The mobile phase used for separation was distilled water with flow rate 1.0 ml/min. The concentration of the sample was 8 mg/ml and the injection volume 20 µL.

To evaluate the average degree of polymerization (DP) of isolated inulin the equation (1) were applied [15]. Molecular weight was calculated on the base of the obtained value of DP.

$$DP = C_{\text{fructose}}/C_{\text{glucose}} + 1, \text{ where } C - \text{concentration, \%} \quad (1)$$

Fourier transformation infrared spectroscopy (FT-IR) was used to elucidate and characterize the structure of isolated substance from common chicory. The analysis was recorded in KBr pellets on a Nicolet FT-IR Avatar Nicolet Termo Science spectrometer in the range 4.000 – 400 cm⁻¹ and absorption was reported in wavenumbers (cm⁻¹). The sample (2 mg) was pressed into pellets of KBr (200 mg).

For the characterization and identification of isolated inulin, comparative study were made with commercially available inulin Frutafit® TEX (DP = 22) from *Cichorium intybus* (Sensus, Rosendaal, the Netherlands).

Statistical analysis was performed using MS Excel 2010.

RESULTS AND DISCUSSION

The procedure for extraction and purification of inulin form medicinal plant common chicory were easy to perform. The following data were characteristics for isolated inulin: yield 12%; odorless and tasteless white powder; soluble in water, with melting point 164 – 165°C and $[\alpha]_D^{25} = -22$

($c = 0.5$; H_2O). The negative optical rotation could be explained with the presence of β -configuration of the glycoside bonds between the fructofuranosyl units. The negative values of optical rotation of inulin isolated from dahlia, topinambour and burdock were also reported in the literature [5, 7, 10, 18].

The reducing groups in inulin isolated from roots of common chicory were established to be 3.6% dw. Similar values to our results were reported for the purified samples of inulin obtained from different plant sources: elecampane, dahlia, Jerusalem artichoke and chicory have glucose content of 2.2 – 2.6% [19], 4.3% [2], 4.9 – 5.2% [1] and 6% [4], respectively.

The studied powder material contained average $96.1 \pm 0.7\%$ fructose defined by ketose specific method with resorcinol. The calculated degree of polymerization of isolated inulin was 27. This value is close to the DP 23 reported by Praznik & Beck for chicory inulin [21] and 25 for high performance inulin isolated from chicory witloof [9]. The molecular weight of isolated inulin on the base of its DP was established to be 4.3 kDa.

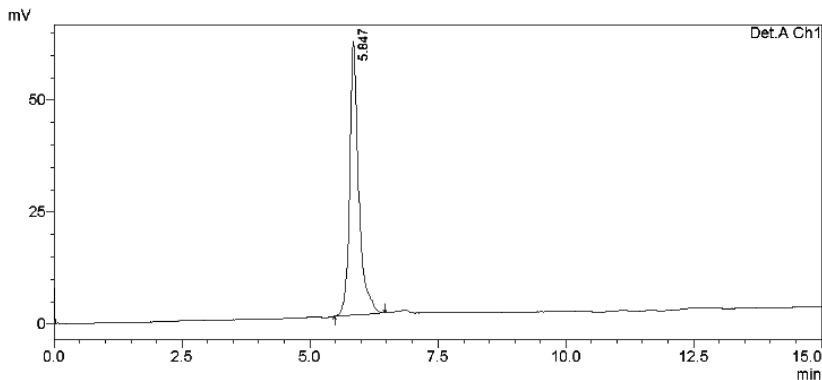


Figure 2. HPLC chromatogram of isolated inulin

The purity of inulin was tested by HPLC-RID. The obtained chromatogram showed the presence of only one peak without any interfering compounds (Figure 2). The retention time of the investigated substance ($t_R = 5.85$ min) is the same with that of pure inulin (DP = 22) used as a reference. The amount of inulin present in the isolated substance from common chicory was 97%. The high purity of inulin showed the effectiveness of the applied method for extraction and purification. Above

95 – 96% purity of inulin from *Helianthus tuberosus* L. applying near procedure for isolated was reported by Denev et al. and Zhang et al. [7, 25]. The protein content in the isolated inulin was 0,3%.

The IR-FT spectra of the investigated substance contained band typical for inulin-type fructans (Figure 3).

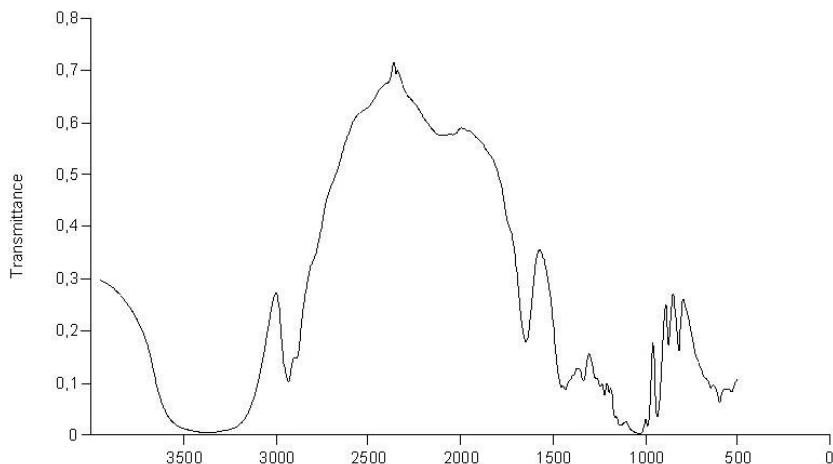


Figure 3. IR-FT spectra of isolated inulin from chicory

The detail information about the IR-FT spectra of inulin isolated from common chicory was presented in Table 1. The bands at 1170 cm^{-1} , 1087 cm^{-1} , 1030 cm^{-1} are characteristic for (C – C), (C – O), (C – O – C) stretching vibrations in furanose ring. 2-ketose in furanose form contain band at 874 cm^{-1} и 817 cm^{-1} , which are evidence for presence of β -(2→1) glycosidic bonds.

Table 1. General assignment of IR-FT spectra of inulin

Wavenumber, cm^{-1}	Experimental IR bands, cm^{-1}	Assignment
3200 – 3400	3361	$\nu_{\text{O-H}}$ (OH); intermolecular H-bonds
2933 – 2981	2931	$\nu_{\text{C-H}}^{\text{as}}$ (CH_2)
2850 – 2904	2880	$\nu_{\text{C-H}}^{\text{s}}$ (CH_2)
1664 – 1634	1635	Absorption of water

1416 – 1430	1430	$\delta_{\text{C-H}}^{\text{s}}(\text{CH}_2)$
1335 – 1336	1335	$\beta_{\text{O-H}}(\text{OH})$
1225 – 1235	1220	$\beta_{\text{O-H}}(\text{OH})$
1125 – 1162	1135	$\nu_{\text{C-O-C}}^{\text{as}}(\text{C-O-C})$
1015 – 1060	1031	$\nu_{\text{C-O}}(\text{C-O})$
985 – 996	987	$\nu_{\text{C-O}}(\text{C-O})$
930	935	$\alpha\text{-D-Glcp}$ residue in chain
892 – 895 874	873	Anomeric bendings $\delta(\text{C1-H})$, ring vibration (2-ketofuranose)
817	817	2-ketose

Our observation is similar to the reported bands for inulin by Grube & Olennikov [11, 18]. The obtained results from IR spectrum prove that the isolated substance from roots of common chicory is inulin-type fructan.

CONCLUSION

The proposed procedure for extraction and purification of inulin from common chicory gave final product with high yield and purity. Inulin was characterized with DP 27, which will define its functional properties and its future application in healthy nutrition as a potential prebiotic and as texture modifier in food. The roots of medicinal plant common chicory as well as inulin isolated from them are a potential source of soluble dietary fibers, which could be used in preparation of functional food and nutritional formula with well-pronounced healthy effect.

The proposed analytical methods for inulin analysis could be applied for determination of its purity, content in food products and additives, for food labeling purpose or for revealing adulteration.

REFERENCES

1. Abou-Arab A., Talaat H., Abu-Salem F., Physico-chemical Properties of Inulin Produced from Jerusalem Artichoke Tubers on Bench and Pilot Plant Scale. *Aust. J. Basic Appl. Sci.*, 2011, 5, 1297 – 1309.

2. Anan`ina N. A., Andreeva O. A., Mycots L. P., Oganesyanyan E. T., *Farm. Chem. J.*, 2009, 43, 157 – 159.
3. Barclay T., Ginic-Markovic M., Cooper P., Petrovsky N., Inulin – a versatile polysaccharide with multiple pharmaceutical and food chemical uses. *J. Excipients Food Chem.*, 2010, 1, 3.
4. Beirão-da-costa M. L., Januário M. I. N., Simão F. M. S., Leitão, A. E. B., Characterisation of inulin from chicory and salsify cultivated in Portugal. *Alim. Nutr.*, Araraquara, 2005, 16, 221 – 225.
5. Bernal B. H., Calle J., Duarte E., Pinzón R., Velásquez M. Inulin from tubers of *Dalia imperialis* Roetz. *Rev. Col. Cienc. Quim. Farm.*, 2005, 34, 122 – 124.
6. Bradford M. M. A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal. Biochem.*, 1976, 72, 248 – 254.
7. Denev P., Delchev N., Dobrev G., Pantchev I., Kirchev N., Isolation and characterization of inulin from topinambour. *J. Food Ind.* (in Bulgarian), 2010, 3, 24 – 28.
8. Dobre T., Stroescu M., Stoica A., Drachici E., Antohe N., Inulin extraction and encapsulation. *Chem. Bull. „Politehnica“ Univ. Timisoara.*, 2008, 53, 215 – 217.
9. Frank, A., Technological functionality of inulin and oligofructoses, *Br. J. Nutr.*, 2002, 87, 287 – 291.
10. Fu Y. L., Isolation, purification and structural elucidation of fructan from *Arctium lappa* L., *J. Med. Plants Res.*, 2009, 3, 171 – 173.
11. Grube M., Bekers M., Upite D. & Kaminska E., Infrared spectra of some fructans. *Spectroscopy*, 2002, 16, 289 – 296.
12. Hirst E. L., Persival E. G. V., *J. Chem. Soc.*, 1950, 1297.
13. Jurgonbski A., Milala J., Jusbkiewicz J., Zdunbczyk Z. & Kryl B., Composition of Chicory Root, Peel, Seed and Leaf Ethanol Extracts and Biological Properties of Their Non-Inulin Fractions, *Food Technol. Biotech.*, 2011, 49, 40 – 47.
14. Lever M., A New reaction for colorimetric determination of carbohydrates, *Anal. Biochem.*, 1972, 47, 273 – 279.
15. Lopez-Molina D, Navarro-Martinez M. D., Melgarejo F. R., Hiner A. N. P, Chazarra S., Rodriguez-Lopez J. N., Molecular properties and prebiotic effect of inulin obtained from artichoke (*Cynara scolymus* L.). *Phytochem.*, 2005, 66, 1476 – 1484.

16. Moodley M., Schorn, P. M., Walthew D. C. et al., Optimizing the carbonation process. *Int. Sugar J.*, 2003, 105, 24 – 28.
17. Ninness K., Inulin and Oligofructose: What are they? *J. Nutr.*, 1999, 129, 1402S – 1406S.
18. Olennikov D., Tankhaeva L., Rokhin A. Glucofructans from *Saussurea lappa* roots. *Chem. Nat. Compd.*, 2012; 47, 339 – 342.
19. Palmer A., The specific determination and detection of glucose as a probable constituent radical of certain fructosans by mean of notatin. *Biochem. J.*, 1950, 48, 389 – 393.
20. Pencheva D., Petkova, N., Denev, P., Determination of inulin in dough products. Scientific works of UFT: „Food science, engineering and technologies“, UFT Academic Publishing House, Plovdiv, 2012, 59, 339 – 344.
21. Praznik W., Beck R. H. F., Application of gel permeation chromatographic systems to the determination of the molecular weight of inulin. *J. Chromatogr. A*, 1985, 348, 187 – 197.
22. Ronkart S. N., Blecker C. S., Fourmanoir H., Fougnyes C., Deroanne C., Van Herck J. C., et al., Isolation and identification of inulo oligosaccharides resulting from inulin hydrolysis. *Anal. Chim. Acta*, 2007, 604, 81 – 87.
23. Toneli J. T. C. L., Park K. J., Ramalho J. R. P., Murr F. E. X., Fabbro I. M. D., Rheological characterization of chicory root (*Cichorium intybus* L.) inulin solution. *Braz. J. Chem.*, 2008, 25, 461 – 471.
24. Zhang Z., Zhang J., Wang H., Liu H., Ultrasonic extraction and purification of inulin from Jerusalem artichoke and purity testing by HPLC, *Sci. Tech. Food Ind.*, 2009, 6, 82.
25. Zhao, Z., Zhu H. J., Yu, J. J., Li, Ch., Gao G.Y., Zeng Y.W, Impurity removal from inulin extract of Jerusalem artichoke tubers by carbonation, *Food Sci.*, 2009, 30, 67. (in Chinese)

СИНТЕЗ НА ПОЛИФУНКЦИОНАЛНИ СУЛФОНИ.Х. НУКЛЕОФИЛНО ПРИСЪЕДИНЯВАНЕ НА АРЕНСУЛФИНОВИ КИСЕЛИНИ КЪМ 4-БРОМО- β -ХЛОРО- β -НИТРОСТИРЕН

Павел Нешковски, Милен Димов, Соня Иванова

*Катедра „Органична химия“, Университет „Проф. д-р Асен Златаров“,
8010 Бургас, бул. „Проф. Якимов“ № 1, e-mail: viperorg@abv.bg*

ABSTRACT

Polyfunctional sulfones are interesting object to study because they proved extensive synthetic and practice possibilities. A series of nitrosulfones were obtained by the nucleophilic addition reaction. The structure of the sulfones thus obtained were confirmed by microanalytical and spectral methods.

Key words: heteroconjugated alkenes, nucleophilic addition, sulfones

ВЪВЕДЕНИЕ

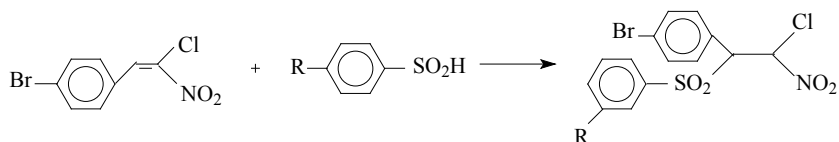
През последните години в литературата е отделено голямо внимание на вициналните и геминалните монохалогенонитроетени [1]. Разработени са методи за тяхното получаване [2, 3], изучена е геометрията на молекулите на α,β -дибромо- β -нитростирен и 1-бромо-1-нитро-(*p*-хлорофенил)етен въз основа на квантовохимични изчисления и рентгеноструктурен анализ, изследвана е структура им с магнитни методи.

Това е свързано с големите синтетични възможности, а така също и с практическото им приложение като фунгициди, акарицидни съставки и др. видове биологична активност [4, 5]. Особено внимание се отделя на химията на арилзаместени 1-халогено-1-нитроетени [6, 7] – 1-бромо-1-нитро-2-(*p*-хлорофенил)етенът активно взаимодейства с различни СН-киселини, в резултат на което се получават нитроциклоалкани, дихидрофурани, тетраhydroкумарани. Последните са активни антикоагуланти на кръвта, проявяват спазмолитично и атропиноподобно действие, а нитроциклопропаните могат да участват в синтеза на антибиотици и инсектициди.

Настоящата работа е логично продължение на изследванията ни върху химията и областите на приложение на 2-нитро-2-халогеноетениларени.

ДИСКУСИЯ

Взаимодействието между аренсулфинови киселини и 4-бромо- β -хлоро- β -нитростирен е показано на следната схема:



Нитросулфоните са получени чрез смесване на еквимолни количества от изходните реагенти при стайна температура и продължителност 12 ч. Чистотата на веществата е потвърдена чрез тънкослойна хроматография, съставът и структурата – с инструментални методи. Стойностите на константите за спин-спиново взаимодействие за СН-NO₂ (13.0 – 13.1 Hz) доказват трансструктура на изходния нитрохалоалкен. Синтезираните сулфони са с два хирални центъра и данните от ¹³C-ЯМР спектроскопия показват, че се получава смес от два стереоизомера (еритро- и treo-).

МАТЕРИАЛИ И МЕТОДИ

Изходните сулфинови киселини и 4-бромо- β -хлоро- β -нитростирен са синтезирани по описани методи [1].

ИЧ-, ^1H -ЯМР и ^{13}C -ЯМР и спектрите са снети съответно на Perkin-Elmer FT IR-1750 (таблетки от KBr) и Bruker 350 MHz (стандарт TMS и разтворител деутериран хлороформ).

Синтез на 1-арил-1-арилсулфонил-2-нитро-2-хлороетани

Към 4-бромо- β -хлоро- β -нитростирен (0.1 mol), разтворен в 50 ml 95% етанол, се прибавя сулфинова киселина (0.1 mol). Реакционната смес престоива 12 ч. при стайна температура. Получените кристали се филтруват и прекристализират от хексан/бензен. Синтезираните съединения са кристални вещества с кремав оттенък, устойчиви при продължително съхраняване, много добре разтворими в ацетон, диксан, хлороформ. Добивът на получените съединения е в интервал 95 – 97%.

Избрани данни за получените съединения

2-нитро-1-фенилсулфонил-1-(4-бромофенил)-2-хлороетан

T_r 181°C; ИЧС (ν , cm^{-1}): 1550, 1360 (NO_2); 1305, 1130 (SO_2); ^1H -ЯМР (δ , ppm): 7.25 – 7.70 (m, 9H, ArH); 5.20 (d, 1H, CH); 6.18 (d, 1H, CH). Намерено: %C 41.55, %H 2.70, %N 3.45, %S 7.90. Изчислено за $\text{C}_{14}\text{H}_{11}\text{ClBrNO}_4\text{S}$ (404.5): %C 41.53, %H 2.72, %N 3.46, %S 7.91.

2-нитро-1-(4-толилсулфонил)-1-(4-бромофенил)-2-хлороетан

T_r 176°C; ИЧС (ν , cm^{-1}): 1560, 1360 (NO_2); 1310, 1130 (SO_2); ^1H -ЯМР (δ , ppm): 7.20 – 7.70 (m, 8H, ArH); 5.20 (d, 1H, CH); 6.20 (d, 1H, CH); 2.40 (s, CH_3). Намерено: %C 43.04, %H 3.10, %N 3.32, %S 7.66. Изчислено за $\text{C}_{15}\text{H}_{13}\text{ClBrNO}_4\text{S}$ (418.5): %C 43.04, %H 3.10, %N 3.32, %S 7.66.

2-нитро-1-(4-метоксифенилсулфонил)-1-(4-бромофенил)-2-хлороетан

T_r 172°C; ИЧС (ν , cm^{-1}): 1560, 1365 (NO_2); 1310, 1135 (SO_2); ^1H -ЯМР (δ , ppm): 7.23 – 7.68 (m, 8H, ArH); 5.20 (d, 1H, CH); 6.19 (d, 1H, CH). Намерено: %C 41.40, %H 2.97, %N 3.20, %S 7.36. Изчислено за $\text{C}_{15}\text{H}_{13}\text{ClBrNO}_5\text{S}$ (434.5): %C 41.43, %H 2.99, %N 3.22, %S 7.37.

2-нитро-1-(4-хлорофенилсулфонил)-1-(4-бромофенил)-2-хлороетан

T_r 169°C; ИЧС (ν , cm^{-1}): 1565, 1365 (NO_2); 1310, 1130 (SO_2); ^1H -ЯМР (δ , ppm): 7.22 – 7.69 (m, 8H, ArH); 5.20 (d, 1H, CH); 6.19 (d, 1H, CH). Намерено: %C 41.26, %H 2.45, %N 3.34, %S 7.86. Изчислено за $\text{C}_{14}\text{H}_{10}\text{Cl}_2\text{BrNO}_4\text{S}$ (407): %C 41.28, %H 2.46, %N 3.34, %S 7.86.

*2-нитро-1-(4-бромобензилсульфонил)-1-(4-бромобензил)-
2-хлороетан*

T_r 181°C; ИЧС (ν , cm^{-1}): 1560, 1360 (NO_2); 1310, 1130 (SO_2); ^1H -ЯМР (δ , ppm): 7.26 – 7.71 (m, 8H, ArH); 5.20 (d, 1H, CH); 6.20 (d, 1H, CH). Намерено: %C 34.67, %H 2.05, %N 2.90, %S 6.62. Изчислено за $\text{C}_{14}\text{H}_{10}\text{ClBr}_2\text{NO}_4\text{S}$ (483.5): %C 34.75, %H 2.07, %N 2.90, %S 6.62.

*2-нитро-1-(4-йодобензилсульфонил)-1-(4-бромобензил)-
2-хлороетан*

T_r 193°C; ИЧС (ν , cm^{-1}): 1565, 1360 (NO_2); 1305, 1135 (SO_2); ^1H -ЯМР (δ , ppm): 7.23 – 7.69 (m, 8H, ArH); 5.20 (d, 1H, CH); 6.20 (d, 1H, CH). Намерено: %C 31.66, %H 1.88, %N 2.63, %S 6.03. Изчислено за $\text{C}_{14}\text{H}_{10}\text{ClBrINO}_4\text{S}$ (530.5): %C 31.67, %H 1.89, %N 2.04, %S 6.03.

*2-нитро-1-(4-нитробензилсульфонил)-1-(4-бромобензил)-
2-хлороетан*

T_r 174°C; ИЧС (ν , cm^{-1}): 1560, 1355 (NO_2); 1300, 1140 (SO_2); ^1H -ЯМР (δ , ppm): 7.22 – 7.68 (m, 8H, ArH); 5.20 (d, 1H, CH); 6.20 (d, 1H, CH). Намерено: %C 37.37, %H 2.20, %N 6.23, %S 7.12. Изчислено за: $\text{C}_{14}\text{H}_{10}\text{ClBrN}_2\text{O}_6\text{S}$ (449.5): %C 37.37, %H 2.22, %N 6.23, %S 7.12.

*2-нитро-1-(1(2)-нафтилсульфонил)-1-(4-бромобензил)-
2-хлороетан*

T_r 196°C; ИЧС (ν , cm^{-1}): 1560, 1360 (NO_2); 1300, 1135(SO_2); ^1H -ЯМР (δ , ppm): 7.23 – 7.76 (m, 11H, ArH); 5.21 (d, 1H, CH); 6.21 (d, 1H, CH). Намерено: %C 47.51, %H 2.85, %N 3.08, %S 7.04. Изчислено за $\text{C}_{18}\text{H}_{13}\text{ClBrNO}_4\text{S}$ (454.5): %C 47.52, %H 2.86, %N 3.08, %S 7.04.

*2-нитро-1-(4-ацетиламинобензилсульфонил)-1-(4-бромобензил)-
2-хлороетан*

T_r 178°C; ИЧС (ν , cm^{-1}): 1565, 1360 (NO_2); 1300, 1135 (SO_2); ^1H -ЯМР (δ , ppm): 7.20 – 7.67 (m, 8H, ArH); 5.20 (d, 1H, CH); 6.19 (d, 1H, CH). Намерено: %C 41.60, %H 3.02, %N 6.06, %S 6.93. Изчислено за $\text{C}_{16}\text{H}_{14}\text{ClBrN}_2\text{O}_5\text{S}$ (461.5): %C 41.60, %H 3.03, %N 6.07, %S 6.93.

ЛИТЕРАТУРА

1. Perekalin, V. V., E. S. Lipina, V. M. Berestovitskaya, *Nitroalkenes Conjugated Nitrocompounds*, London, John Wiley & Sons, 1994.
2. Макаренко, С. В., Е. В. Трухин, В. М. Берестовицкая, *ЖОрХ*, 1988, 34, 7, 1112 – 1114.
3. Берестовицкая, В. М., С. В. Макаренко, Е. В. Трухин, *ЖОрХ*, 1999, 69, 5, 835 – 840.
4. Dore, I. C., C. Viel, *Farmaco Ed. Sci.*, 1975, 30, 2, 81 – 83.
5. Yajima, T., T. Yoshida, T. Noyauava, K. Tago, *Kitasato Arch. Exp. Med.*, 1957, 30, 99 – 102.
6. Макаренко, С. В., Е. В. Трухин, Т. Н. Макмилан, В. М. Берестовицкая, *ЖОрХ*, 1999, 35, 330 – 335.
7. Макаренко, С. В., Е. В. Трухин, В. М. Берестовицкая, *ЖОрХ*, 2003, 73, 4, 603 – 607.

ЕЛЕКТРОФИЛНИ РЕАКЦИИ НА ФОСФОРИЛИРАНИ α -ХИДРОКСИАЛЕНИ

Исмаил Исмаилов, Ивайло Иванов, Валерий Христов

*Шуменски университет „Епископ Константин Преславски“,
Факултет по природни науки,*

*Катедра по органична химия и технология,
9712 Шумен, ул. „Университетска“ 115, e-mail: ismail78@abv.bg*

ABSTRACT

This paper discusses a reaction of phosphorylated α -hydroxyallenes with protected or unprotected hydroxy groups involving 5-*endo-trig* cyclizations. Various electrophilic reagents such as sulfonyl chloride, bromine, benzenesulfonyl and benzeneselenenyl chlorides have been applied. Electrophilic reactions of the prepared allenephosphonates and allenyl phosphine oxides with protected and unprotected hydroxymethyl group in α -position were investigated and it became obvious that the reactions proceeded with formation of various heterocyclic or unsaturated compounds.

Key words: *Phosphorylated α -hydroxyallenes, electrophilic cyclization, neighbouring group participation, 2,5-dihydro-1,2-oxaphospholes, (1E)-2,3-adducts*

ВЪВЕДЕНИЕ

През последните 35 – 40 години една от най-интензивно изследваните области на органичната химия е тази на аленовите съединения.

Изследванията в тази област стимулират както развитието на теоретичната органична химия, така и органичния синтез чрез получаване на разнообразни продукти, интересни от приложна гледна точка [1]. Едни от най-характерните реакции на алелите са реакциите на електрофилно присъединяване, при които се получават обикновено продукти на присъединяване на реагента по едната или другата двойна връзка на аленовата система [2].

Създаването на удобни и селективни методи за получаване на функционализирани алени е особено актуална и интересна задача. Взаимното влияние на двата фрагмента – аленовата система от двойни връзки и функционалната група – правят алелите интересни субстрати за изследване на техните електрофилни реакции с оглед проучване на възможностите и ограниченията им. В литературата са описани редица методи за получаване на аленфосфонати [3] и аленил фосфин оксиди [4].

Като част от нашата дългогодишна програма за изследване на реакциите на циклизация на функционализирани алени, ние се насочихме към изследване на реакциите на α -хидроксиалкил-аленфосфонати и аленил фосфин оксиди със защитена и незащитена хидроксилна група **1 – 4** (Схема 1) с различни електрофилни реагенти с оглед проучване на възможностите и ограниченията на протичащата електрофилна циклизация.

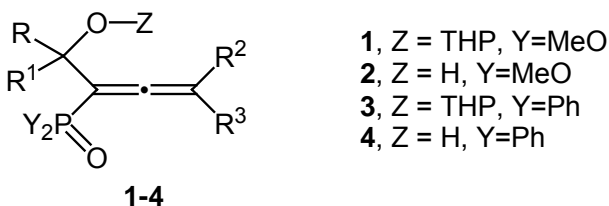


Схема 1. Изходни фосфорилирани α -хидроксиалени **1 – 4**

Предложихме удобен и ефикасен метод [5] за синтез на фосфорилирани α -хидроксиалени (**1 – 4**), състоящ се от четири етапа, а именно: 1) защита на хидроксилната група на пропаргилови алкохоли; 2) последващо взаимодействие с Гриняров реактив до получаване на съответните алкиноли със защитена хидроксилна група; 3) взаимодействие с фосфорсъдържащ хлорид в присъствието на база и

4) [2,3]-сигматропна прегрупировка на междинно получените пропаргил фосфити или фосфинити със защитена хидроксилна група.

ИЗЛОЖЕНИЕ

1. Електрофилна циклизация на 1-хидроксиалкил-аленфосфонатите със защитена и незащитена хидроксилна група **1** и **2**

Изучаването на реакциите на фосфорилираните хидроксиалени със защитена и незащитена хидроксилна група **1** и **2** с електрофилни реагенти започна с изследване влиянието на вида на разтворителя, реакционната температура, реакционното време и еквивалентността на електрофилния реагент върху техния ход, т. е. с оптимизиране на реакционните условия. За целта първоначално изследвахме бромването на моделното съединение 3-метил-1-(тетраhydro-2H-пиран-2-илоксиметил)-пента-1,2-диенфосфоната **1a** при различни реакционни условия (Таблица 1). Експерименталните данни показват, че във всички случаи реакцията протича с циклизация с участие като съседна група на фосфонатната функция и води до получаването на 2-[(4-бромо-5-етил-2-метокси-5-метил-2-оксо-2,5-дихидро-1,2-оксафосфол-3-ил)метокси]-тетраhydro-2H-пирана **5ab** (Схема 2).



Схема 2. Оптимизиране на реакционните условия за електрофилна циклизация на диметил 3-метил-1-(тетраhydro-2H-пиран-2-илоксиметил)-пента-1,2-диенфосфоната **1a** с бром.

Данните от таблицата показват, че реакцията протича както в неполярни, така и в полярни разтворители. Провеждането на реакцията в неполярни разтворители (като тетрахлорометан и бензен) при стайна температура води до получаването на продукта **5ab** с ниски добиви от 45% и 34% (Таблица 1, № 1 и № 2). В полярни разтворители (Таблица 1, № 3 – № 13) реакцията протича в рамките на 2.5 – 5.5 часа и добивите са зна-

чително по-високи (57 – 81%). По-ниски добиви се получават при стайна температура и кипене (Таблица 1, № 1 – № 3, № 8). Когато реакцията протича при отрицателни температури в рамките на 2,5 – 6 часа (Таблица 1, № 4 – № 7, № 10 – № 13), добивът нараства значително – до 81% (при –20°C – за 3 часа). При използването на разтворители като 1,2-дихлороетан, ацетонитрил и нитрометан (Таблица 1, № 4 – № 7) се получават пониски добиви, дори и при по-продължително времетраене на реакцията (4 – 4.5 часа). Висок добив се получава при използване на 1.2 екв. електрофилен реагент. От таблицата е видно, че най-подходящата температура е –20°C. Когато се повиши или понижи температурата, добивът намалява. От проведените изследвания направихме извода, че оптималните условия за провеждане на реакцията са следните: разтворител дихлорометан при температура –20°C за 3 часа с 1.2 екв. бром (Таблица 1, № 10).

Таблица 1. Оптимизиране на реакционните условия за електрофилна циклизация на диметил 3-метил-1-(тетрахидро-2H-пиран-2-илоксиметил)-пента-1,2-диенфосфоната **1a** с бром

№	Бром (екв.)	Разтворител*	Реакционна темп. (°C)	Реакционно време (h)	Добив (%)
1	1.0	CCl ₄	rt	6	45
2	1.0	PhH	rt	8	34
3	1.0	CHCl ₃	rt	5.5	58
4	1.2	ClCH ₂ CH ₂ Cl	–20	4	78
5	1.2	ClCH ₂ CH ₂ Cl	–30	4	75
6	1.2	MeCN	–20	4.5	68
7	1.2	MeNO ₂	–20	4	72
8	1.0	CH ₂ Cl ₂	rt	5	62
9	1.0	CH ₂ Cl ₂	кипене	4	57
10	1.2	CH ₂ Cl ₂	–20	3	81
11	1.5	CH ₂ Cl ₂	–20	2.5	76
12	2.0	CH ₂ Cl ₂	–20	2.5	73
13	1.2	CH ₂ Cl ₂	–78	5	77

* Реакциите са проведени в съответния разтворител (10 mL + 10 mL)

Проверихме оптимизираните условия и при реакция на моделно съединение с незащитена хидроксилна група – α-хидрокси-ален-

фосфоната **2a** с бром. Установихме, че протича циклизация с анхимерното участие на фосфонатната група с получаване на (4-бromo-5-етил-2-метокси-5-метил-2-оксо-2,5-дихидро-1,2-оксафосфол-3-ил)-метанола **6ab** с добив 80% (Схема 3).

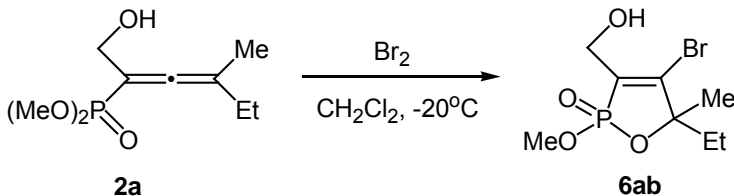


Схема 3. Оптимизиране на реакционните условия за електрофилна циклизация на диметил 3-метил-1-хидроксиметилпента-1,2-диенфосфонат **2a** с бром

Използвахме оптимизираните реакционни условия за изучаване реакциите на електрофилна циклизация на 1-хидроксиалкил-аленфосфонатите със защитена и незащитена хидроксилна група **1** и **2** при взаимодействието им с електрофилни реагенти като сулфурил хлорид, бром, бензенсулфанил хлорид и бензенселанил хлорид. Установихме, че взаимодействието на 1-функционализираните аленфосфонати **1** и **2** с електрофилни реагенти протича с *5-endo-trig* циклизация независимо от заместителите в аленовата система и хидроксилната група (Схема 4), с анхимерно съдействие като вътрешен нуклеофил само на фосфонатната група и с получаване на 2-метокси-2,5-дихидро-1,2-оксафосфол-2-оксидите **5** и **6** (Таблица 2).

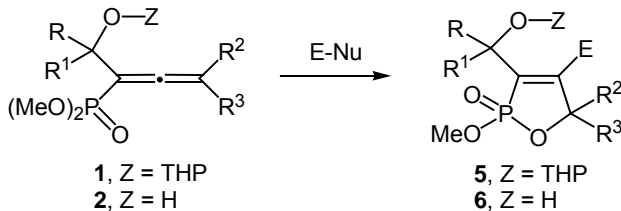


Схема 4. Електрофилна циклизация на 1-хидроксиалкил-аленфосфонатите със защитена и незащитена хидроксилна група **1** и **2**

Таблица 2. Получаване на 2-метокси-2-оксо-2,5-дихидро-1,2-оксафосфоли **5** и **6**

№	Ален	R	R ¹	R ²	R ³	E	Nu	Продукт	Време, h	Добив*, %
1	1a	H	H	Me	Et	Br	Br	5ab	3	81
2	1b	H	H	Me	Bu	Br	Br	5bb	3	80
3	1c	H	H	-(CH ₂) ₅ -		Cl	Cl	5ca	3	83
4	1c	H	H	-(CH ₂) ₅ -		Br	Br	5cb	3.5	84
5	1d	H	Me	-(CH ₂) ₅ -		PhSe	Cl	5fd	4	74
6	1e	Me	Me	Me	Bu	PhSe	Cl	5hd	4.5	73
7	2a	H	H	Me	Et	Br	Br	6ab	3	80
8	2b	H	H	Me	Bu	PhS	Cl	6bc	6	75
9	2c	H	H	-(CH ₂) ₅ -		PhSe	Cl	6cd	4.5	74
10	2f	H	Me	-(CH ₂) ₅ -		Cl	Cl	6fa	3.5	82
11	2h	Me	Me	Me	Bu	Br	Br	6hb	4	81

*Изолерани чрез колонна хроматография

2. Реакции на 1-хидроксиалкил-аленил фосфин оксидите със защитена и незащитена хидроксилна група **3** и **4** с електрофилни реагенти

В процеса на работа научният ни интерес бе насочен към това да разберем как ще протекат електрофилните реакции, ако променим вида на заместителите във фосфорилната група. За целта изследвахме взаимодействието на 1-хидроксиалкил-аленил фосфин оксиди със защитена и незащитена хидроксилна група **3** и **4** с електрофилните реагенти сулфурил хлорид, бром, бензенсулфанил хлорид и бензенселанил хлорид. Използвани бяха оптимизираните условия за вида на разтворителя, еквивалента електрофил спрямо алена и реакционната температура (Таблица 1, № 10). Установихме, че реакциите на аленил фосфин оксидите **3** и **4** с електрофилни реагенти водят до образуването на смес от продукти. Конкументно се получават 2,5-дихидро-1,2-оксафосфол-2-ониевите халогениди **7** и **9** и алк-(1*E*)-ен-1-ил фосфин оксидите **8** и **10** в различно съотношение. Получаването на смес от продукти се обяснява с конкурентното участие на двата нуклеофила – вътрешния и външния. При участие на фосфиноксидната група като вътрешен нуклеофил се получават 1,2-оксафосфол-2-ониевите халоген-

на електрофила. Установено е, че реакциите протичат еднотипно, независимо от това дали хидроксилната група е защитена, или незащитена. Получават се хетероциклени и ненаситени ациклени съединения в зависимост от вида на заместителите при фосфорилната група.

БЛАГОДАРНОСТИ

Настоящата работа е част от научноизследователския проект № РД-08-208/2014 г., който се финансира от фонд „Научни изследвания“ на ШУ „Еп. Константин Преславски“. Този доклад е подкрепен по Проект BG051PO001-3.3.06-0003 „Изграждане и устойчиво развитие на докторанти, постдокторанти и млади учени в областта на природните, техническите и математическите науки“. Проектът се осъществява с финансовата подкрепа на Оперативна програма „Развитие на човешките ресурси“, съфинансирана от Европейския социален фонд на Европейския съюз.

ЛИТЕРАТУРА

1. (a) Patai, S., Ed.: *The Chemistry of Ketenes, Allenes and Related Compounds*; John Wiley & Sons: New York, **1980**; (b) Landor, S. R., Ed.: *The Chemistry of the Allenes*; Academic Press: London, **1982**; (c) Patai, S., Ed.: *Tetrahedron* **1984**, *40*, 2805; (d) Schuster, H. F.; Coppola, G. M. *Allenenes in Organic Synthesis*; John Wiley & Sons: New York, **1988**; (e) Zimmer, R. *Synthesis* **1993**, 165 – 178; (f) Elsevier, C. J. In *Methods of Organic Chemistry (Houben-Weyl)*; Vol. E21a; Helmchen, R. W.; Mulzer, J.; Schaumann, E., Eds.; Thieme: Stuttgart, **1995**, 537 – 566; (g) *Modern Allene Chemistry*, Vol. 1 & 2; Krause, N.; Hashmi, A. S. K., Eds.; Wiley-VCH: Weinheim, **2004**.
2. (a) Brummond, K. M.; DeForrest, J. E. *Synthesis* **2007**, 795 – 818; (b) Bates, R. W.; Satcharoen, V. *Chem. Soc. Rev.* **2002**, *31*, 12 – 21; (c) Ma, S. *Aldrichimica Acta* **2007**, *40*, 91 – 102; (d) Hassan, H. H. A. M. *Curr. Org. Synth.* **2007**, *4*, 413 – 439; (e) Ma, S. Ionic Addition to Allenes in *Modern Allene Chemistry*; Krause, N.; Hashmi, A. S. K., Eds.; Wiley-VCH: Weinheim, 2004, Vol. 2, 595 – 699; (f) Smadja, W. *Chem. Rev.* **1983**, *83*, 263 – 320; (g) Back, T. G.; Clary, K. N.; Gao, D. *Chem. Rev.* **2010**, *110*, 4498 – 4553.

3. (a) Pudovik, A. N.; Aladjeva, I. M. *J. Gen. Chem.* **1963**, *33*, 700 – 706; (b) Macomber, R. S. *J. Am. Chem. Soc.* **1977**, *99*, 3072 – 3075; (c) Denmark, S. E.; Marlin, J. E. *J. Org. Chem.* **1991**, *56*, 1003 – 1013; (d) Cai, B.; Blackburn, G. M. *Synth. Commun.* **1997**, *27*, 3943 – 3949; (e) Saalfrank, R. W. Haubner, M. Deutscher, C. Bauer, U. *Eur. J. Org. Chem.* **1999**, 2367 – 2372.
4. (a) Nicolaou, K. C.; Maligres, P.; Shin, J.; de Leon, E.; Rideout, D. *J. Am. Chem. Soc.* **1990**, *112*, 7825 – 7826; (b) Curfin, M. L.; Okamura, W. H. *J. Org. Chem.* **1990**, *55*, 5278 – 5287; (c) Grissom, J. W.; Huang, D. *Angew. Chem. Int. Ed.* **1995**, *34*, 2037–2039; (d) Darcel, C.; Bruneau, C.; Dixneuf, P. H. *Synthesis* **1996**, 711 – 714; (e) de Frutos, O.; Echavarren, A. M. *Tetrahedron Lett.* **1997**, *38*, 7941 – 7943; (f) Schmittle, M.; Steffen, J.-P.; Maywald, M.; Engels, B.; Helten, H.; Musch, P. *J. Chem. Soc. Perkin Trans 2* **2001**, 1331 – 1342.
5. Ismailov, I. E.; Ivanov, I. K.; Christov, V. Ch. *Molecules* **2014**, *19*, 6309 – 6329.

СИНТЕЗ И РЕАКЦИИ НА ЦИКЛОИЗО- МЕРИЗАЦИЯ НА ФОСФОРИЛИРАНИ α -ХИДРОКСИАЛЕНИ

Исмаил Исмаилов, Ивайло Иванов, Валерий Христов

*Шуменски университет „Епископ Константин Преславски“,
Факултет по природни науки,*

*Катедра по органична химия и технология,
9712 Шумен, ул. „Университетска“ 115, e-mail: ismail78@abv.bg*

ABSTRACT

The paper describes a convenient and efficient method for regioselective synthesis of phosphorylated α -hydroxyallenes using an atom economical [2,3]-sigmatropic rearrangement of intermediate propargyl phosphites or phosphinites. These can be readily prepared via reaction of protected alkynols with dimethyl chlorophosphite or chlorodiphenyl phosphine respectively in the presence of a base. Cycloisomerization reactions of α -hydroxy-substituted allenephosphonates and allenyl phosphine oxides with the so called coin metals ions such as Ag^+ , Au^+ , Pd^{2+} , Cu^+ etc. leads to formation of the 3-phosphorylated-2,5-dihydrofuranes.

***Key words:** Synthesis, hydroxy group protection, phosphorylated α -hydroxyallenes, cycloisomerization reactions, 2,5-dihydrofuranes*

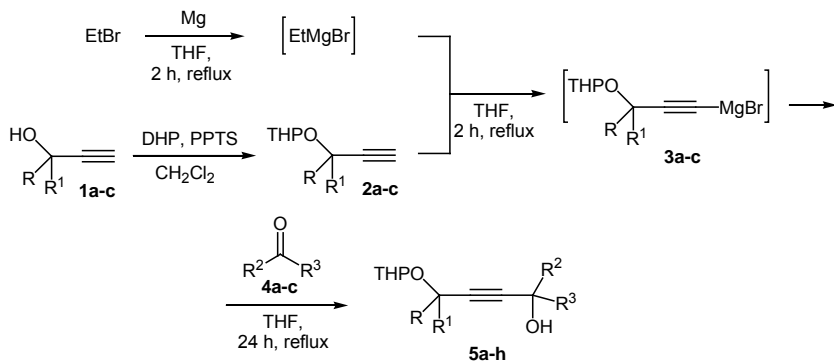
ВЪВЕДЕНИЕ

Химията на аленовите съединения е една от най-интензивно изследваните области през последните години в органичната химия [1]. Прави впечатление големият брой получени карбо- и хетероциклени съединения при използването на различни аленови производни като

изходни материали. От друга страна, реакциите на циклоизомеризация съставляват голяма и бързо разширяваща се област в органичната химия, синтетичните възможности и теоретичното значение на които са напълно осъзнати в последно време. Органофосфорните съединения години наред продължават да са обект на непрекъснати изследвания както поради многообразните им и важни приложения, така и поради богатия фундаментален принос към органичната химия, свързан с участието им в най-различни превръщания [2]. Ненаситените органофосфорни съединения са особено интересни като обекти за изучаване на влиянието на фосфорната функция на реакционната им способност и направлението на реакцията на сложните връзки. В литературата са описани редица методи за получаване на фосфорилираните алени (фосфонати [3] и фосфин оксиди [4]). Като част от нашата програма за изследване на реакциите на циклизация на функционализирани алени, ние си поставихме следните цели и задачи в настоящата работа, а именно: 1) Създаване на удобни и високоселективни методи за синтез на α -хидроксиалкил-аленфосфонати и аленил фосфин оксиди с възможности за вариране на заместителите както в аленовата система, така и във фосфорилната функция; и 2) Изследване на реакциите на циклоизомеризация на получените на α -хидроксиалкил-аленфосфонати и аленил фосфин оксиди при взаимодействие с йони на т. нар. монетни метали.

ИЗЛОЖЕНИЕ

Следвайки поставените цели, ние създадохме и използвахме един нов региоселективен метод за получаване на α -хидроксиалкил-заместени аленфосфонати и аленил фосфин оксиди. Той се състои във взаимодействие на етилмагнезиев бромид, получен *in situ* от етил бромид и магнезий, с пропаргилловите алкохоли **1**, на които предварително беше защитена хидроксилната група с помощта на ДНР. Реакцията протича с междинно образуване на етинил магнезиеви бромиди **3a – c**, които при реакция на нуклеофилно присъединяване към карбонилната група на съответните кетони **4a – c** дават (тетрахидро-2*H*-пиран-2-илокси)-заместените алкиноли **5a – h** с добри добиви (Схема 1).

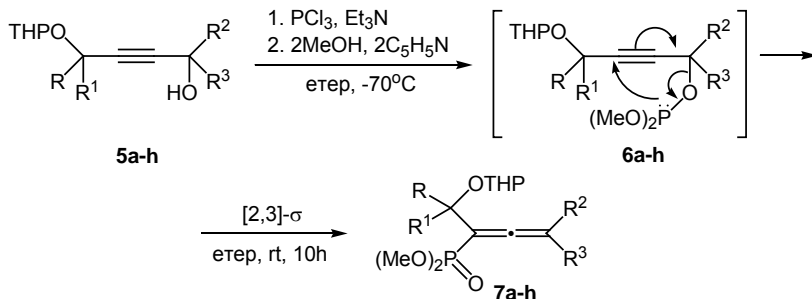


8 примера, добив 53-61%

$\text{R} = \text{H, Me}; \text{R}^1 = \text{H, Me}; \text{R}^2 = \text{Me}; \text{R}^3 = \text{Et, Bu}; \text{R}^2 + \text{R}^3 = -(\text{CH}_2)_5-$

Схема 1. Получаване на (тетрахидро-2H-пиран-2-илокси)-алкинолите **5a – h**

Взаимодействието на алкохолите **5a-h** с диметил хлорофосфит, получен *in situ* от фосфорен трихлорид и метанол в присъствие на органична база, протича с образуването на пропаргиловите фосфити **6a – h**, които лесно търпят [2,3]-сигматропна прегрупировка. Получават се съответните диметил 1-(тетрахидро-2H-пиран-2-илокси)-алка-1,2-диенфосфонати **7a – h** (Схема 2).



8 примера, добив 70-78%

$\text{R} = \text{H, Me}; \text{R}^1 = \text{H, Me}; \text{R}^2 = \text{Me}; \text{R}^3 = \text{Et, Bu}; \text{R}^2 + \text{R}^3 = -(\text{CH}_2)_5-$

Схема 2. Синтез на диметил 1-(тетрахидро-2H-пиран-2-илокси)-алка-1,2-диенфосфонатите **7a – h**

Реакцията на алкохолите **5a – h** с дифенил хлорофосфин проведохме в диетилов етер в присъствие на триетиламин при температура -70°C . Установихме, че се образуват 4-(тетраhydro-2H-пиран-2-илокси)-пропаргил фосфинитите **8a – h**, които лесно при стайна температура търпят [2,3]-сигматропна прегрупировка с получаването на съответните 2-(2-дифенилфосфиноил-алка-2,3-диенилокси)-тетраhydro-2H-пирани **9a – h** с много добри добиви (Схема 3).

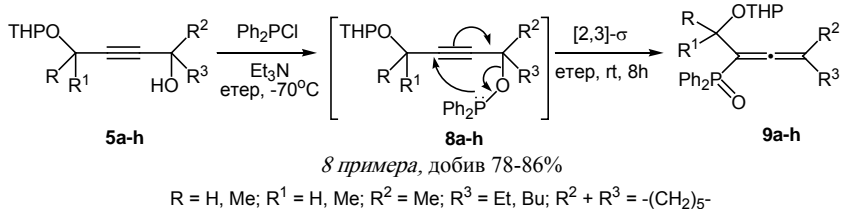


Схема 3. Синтез на 2-(2-дифенилфосфиноил-алка-2,3-диенилокси)-тетраhydro-2H-пираните **9a – h**

С цел получаване на α -хидроксиалкил-аленфосфонати **10a – h** и α -хидроксиалкил-аленил фосфин оксиди **11a – h** ние свалихме защитата на хидроксилната група на съответните фосфорилрани α -хидроксиалени със защитена хидроксилна група. Реакцията осъществихме в етанол при стайна температура в присъствие на каталитични количества PPTS с получаване на очакваните 1-хидроксиалкил-алка-1,2-диенфосфонати **10a – h**, 3-дифенилфосфиноил-алка-2,3-диен-1-оли и 3-дифенилфосфиноил-алка-3,4-диен-2-оли **11a – h** (Схема 4).

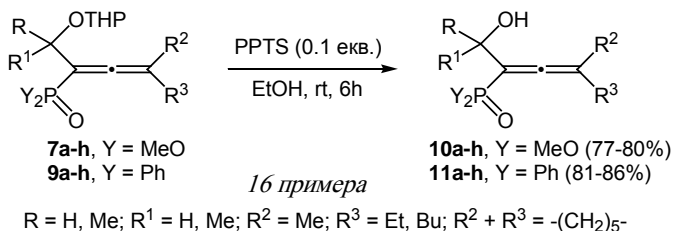


Схема 4. Получаване на 1-хидроксиалкил-алка-1,2-диенфосфонатите **10a – h**, 3-дифенилфосфиноил-алка-2,3-диен-1-олите и 3-дифенилфосфиноил-алка-3,4-диен-2-олите **11a – h**

Така получените α -хидроксиалкил-аленфосфонати **10a – h** и α -хидроксиалкил-аленил фосфин оксиди **11a – h** ни послужиха като субстрати за по-нататъшното изследване на реакциите на циклоизомеризация.

С цел оптимизиране на реакционните условия, като влияние на разтворителя, реакционната температура и молното съотношение на катализатора върху реакцията на циклоизомеризация на α -хидроксиалкил-аленфосфонатите, ние иницирахме изследванията с изучаване на реакцията на моделното съединение **10a** с AgNO_3 , като установихме, че реакцията протича с получаване само на диметил (2,5-дихидрофуран-3-ил)фосфоната **12a** (Схема 5).

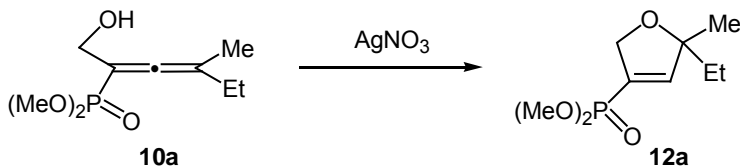


Схема 5. Получаване на диметил (2,5-дихидрофуран-3-ил) фосфоната **12a**

В Таблица 1 са представени експерименталните резултати от проведените изследвания за оптимизиране на реакционните условия на циклоизомеризацията на моделното съединение **10a**. Първоначално проведохме реакцията в разтворител дихлороетан при -20°C с 5 мол % катализатор (Таблица 1, № 1). При тези условия реакцията протича с добив 41%. Със същия катализатор, но при стайна температура в дихлороетан добивът значително се увеличава (Таблица 1, № 2). По-нисък добив се получава при кипене в същия разтворител (Таблица 1, № 3). От гореизложеното е видно, че стайната температура е оптимална за реакцията на циклоизомеризация на моделното съединение **10a**. Използването на полярни разтворители като хлороформ, етанол, ацетонитрил и тетраhydroфуран при стайна температура с 5 мол % AgNO_3 (Таблица 1, № 4 – 7) води до получаване на продукта със сравнително добри добиви. С подобен добив протича и взаимодействието в толуен (Таблица 1, № 8). При използване на разтворителна система, състояща се от смес от ацетон и H_2O при стайна температура и 5 мол % катализатор, добивът е 77%, а при използване на 10 мол % катализатор при същите останали условия добивът намалява (Таблица 1, № 10 – № 11).

Таблица 1. Оптимизиране на реакционните условия за циклоизомеризация на 1-хидроксиметил-3-метилпента-1,2-диенфосфоната **10a** с катализатор AgNO_3

№	Разтворител*	Реакционна темп. (°C)	AgNO_3 , (мол %)	Добив (%)
1	$\text{ClCH}_2\text{CH}_2\text{Cl}$	-20	5	41
2	$\text{ClCH}_2\text{CH}_2\text{Cl}$	rt	5	53
3	$\text{ClCH}_2\text{CH}_2\text{Cl}$	reflux	5	45
4	CHCl_3	rt	5	78
5	EtOH	rt	5	76
6	MeCN	rt	5	65
7	THF	rt	5	70
8	толуен	rt	5	68
9	ацетон	rt	5	71
10	ацетон/ H_2O	rt	5	77
11	ацетон/ H_2O	rt	10	75
12	CH_2Cl_2	-20	5	72
13	CH_2Cl_2	rt	5	84
14	CH_2Cl_2	rt	10	80

* Реакциите са проведени в съответния разтворител (10 mL + 10 mL)

Експерименталните данни показват, че оптималните условия за циклоизомеризация на моделното съединение **10a** (Таблица 1, № 13) са разтворител дихлорометан и 5 мол % катализатор при стайна температура. От друга страна, установихме, че при провеждане на реакциите в метиленхлорид при понижаване или повишаване на реакционната температура, различна от оптималната, добивът намалява. Намаляване на добива се наблюдава и при 10 мол % катализатор при стайна температура (Таблица 1, № 12 и № 14).

Интерес за нас представляваше влиянието на вида на катализатора върху добива на получения продукт при циклоизомеризация на фосфорилирания хидроксиален **10a**. За целта проведохме серия от експе-

рименти за оптимизиране на реакционните условия на моделното съединение **10a** със следните катализатори: AgNO₃, AgClO₄, AuCl, AuCl₃, ZnCl₂, NiCl₂, PtCl₂, SnCl₂, AlCl₃, PdCl₂, Pd(PPh₃)₄, CuCl₂, CuCl, CuBr и CuI (Схема 6). Експерименталните данни показват, че отлични катализатори в тази насока са златните и сребърните, много добри са палладиевите, Cu(II), платинените и цинковите катализатори, сравнително добри са никеловите, калаените и алуминиевите такива, а лоши са Cu(I) катализатори. Характеристиките на участието на всички по-горе описани катализатори в реакцията на циклоизомеризация на 1-хидроксиметил-пента-1,2-диенилфосфоната **10a** са описани в Таблица 2.

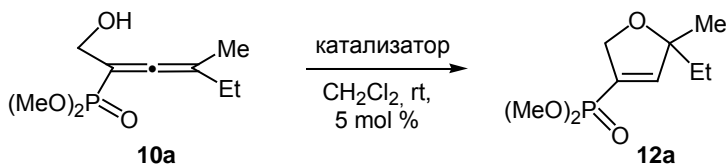


Схема 6. Циклоизомеризация на диметил 1-хидроксиметил-3-метилпента-1,2-диенилфосфоната **10a**

Таблица 2. Метал-катализирана циклоизомеризация на диметил 1-хидроксиметил-3-метилпента-1,2-диенилфосфоната **10a**

№	Катализатор	Реакционно време (мин.)	Добив (%)
1	AuCl	20	97
2	AuCl ₃	30	94
3	AgClO₄	30	83
4	AgNO ₃	50	80
5	PdCl ₂	100	73
6	Pd(PPh ₃) ₄	105	74
7	CuCl ₂	115	77
8	PtCl ₂	135	66
9	ZnCl ₂	160	50
10	NiCl ₂	225	53
11	SnCl ₂	310	38
12	AlCl ₃	345	34
13	CuCl	530	27
14	CuBr	545	29
15	CuI	600	24

Имайки предвид високите цени на златните катализатори, за разширяване на нашите изследвания решихме да използваме като основен катализатор в реакциите на циклоизомеризация AgClO_4 .

Системно изследвахме реакциите на циклоизомеризация на синтезираните от нас α -хидроксиалкил-аленфосфонати **10** и α -хидроксиалкил-аленил фосфин оксидите **11**. Реакциите бяха проведени в оптимизираните условия за реакционна температура, вида на разтворителя и молно съотношение на катализатора спрямо реагента с използване на AgClO_4 като катализатор. Резултатите са еднозначни – протича каталитична *5-endo-trig* циклоизомеризация с участие като вътрешен нуклеофил на хидроксилната група и получаване на петчленните хетероциклически съединения **12** и **13** (Схема 7).

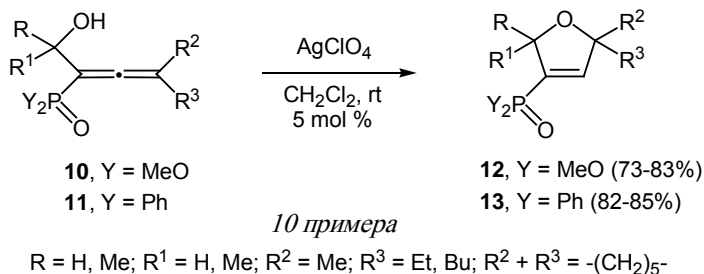


Схема 7. Синтез на 3-фосфорил-2,5-дихидрофурани **12** и **13**

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Създаден е метод за синтез на α -хидроксиалкил-аленфосфонати и аленил фосфин оксиди, който е високо региоселективен, изключително удобен и дава възможности за вариране на заместителите както в аленовата система, така и във фосфорилната функция. Изследвани са реакциите на циклоизомеризация на фосфорилираните α -хидроксиалени с каталитичното участие на йони на т. нар. монетни метали. Оптимизирани са условията на циклоизомеризацията по отношение на разтворител, реакционно време и температура, вид и молно съотношение на катализатора. Установено е, че циклоизомеризацията на фосфорилираните α -хидроксиалени протича като *5-endo-trig* процес с получаване на 3-фосфорил-2,5-дихидрофурани.

БЛАГОДАРНОСТИ

Настоящата работа е част от научноизследователския проект № РД-08-208/2014 г., който се финансира от фонд „Научни изследвания“ на ШУ „Еп. Константин Преславски“. Този доклад е подкрепен по Проект ВГ051Р0001-3.3.06-0003 „Изграждане и устойчиво развитие на докторанти, постдокторанти и млади учени в областта на природните, техническите и математическите науки“. Проектът се осъществява с финансовата подкрепа на Оперативна програма „Развитие на човешките ресурси“, съфинансирана от Европейския социален фонд на Европейския съюз.

ЛИТЕРАТУРА

1. (a) Patai, S., Ed.: *The Chemistry of Ketenes, Allenes and Related Compounds*; John Wiley & Sons: New York, **1980**; (b) Landor, S. R., Ed.: *The Chemistry of the Allenes*; Academic Press: London, **1982**; (c) Pasto, D. J. *Tetrahedron* **1984**, *40*, 2805; (d) Schuster, H. F.; Coppola, G. M. *Allenenes in Organic Synthesis*; John Wiley & Sons: New York, **1988**; (e) Zimmer, R. *Synthesis* **1993**, 165 – 178; (f) Elsevier, C. J. In *Methods of Organic Chemistry (Houben-Weyl)*; Vol. E21a; Helmchen, R. W.; Mulzer, J.; Schaumann, E., Eds.; Thieme: Stuttgart, **1995**, 537 – 566; (g) *Modern Allene Chemistry*, Vol. 1 & 2; Krause, N; Hashmi, A. S. K., Eds.; Wiley-VCH: Weinheim, **2004**.
2. a) Emsley, J.; Hall, D. *The Chemistry of Phosphorus*, Harper and Pow: London, **1976**; b) Quin, L. D. *The Heterocyclic Chemistry of Phosphorus*, Wiley-Interscience: New York, **1981**; c) Корбридж, Д. *Фосфор*, Мир: Москва, **1982**; d) *Часть 10. Соединения фосфора в Общая органическая химия*, под ред. Д. Бартона, В. Д. Оллиса, т. 4, Химия: Москва, **1983**, 595 – 718; e) *Часть 10. Соединения фосфора в Общая органическая химия*, под ред. Д. Бартона, В. Д. Оллиса, т. 5, Химия: Москва, **1983**, 16 – 129.
3. (a) Pudovik, A. N.; Aladjeva, I. M. *J. Gen. Chem.* **1963**, *33*, 700-706; (b) Macomber, R. S. *J. Am. Chem. Soc.* **1977**, *99*, 3072 – 3075; (c) Denmark, S. E.; Marlin, J. E. *J. Org. Chem.* **1991**, *56*, 1003 – 1013; (d) Cai, B.; Blackburn, G. M. *Synth. Commun.* **1997**, *27*, 3943 – 3949;

- (e) Saalfrank, R. W. Haubner, M. Deutscher, C. Bauer, U. *Eur. J. Org. Chem.* **1999**, 2367 – 2372.
4. (a) Nicolaou, K. C.; Maligres, P.; Shin, J.; de Leon, E.; Rideout, D. *J. Am. Chem. Soc.* **1990**, *112*, 7825 – 7826; (b) Curfin, M. L.; Okamura, W. H. *J. Org. Chem.* **1990**, *55*, 5278 – 5287; (c) Grissom, J. W.; Huang, D. *Angew. Chem. Int. Ed.* **1995**, *34*, 2037 – 2039; (d) Darcel, C.; Bruneau, C.; Dixneuf, P. H. *Synthesis* **1996**, 711 – 714; (e) de Frutos, O.; Echavarren, A. M. *Tetrahedron Lett.* **1997**, *38*, 7941 – 7943; (f) Schmittel, M.; Steffen, J.-P.; Maywald, M.; Engels, B.; Helten, H.; Musch, P. *J. Chem. Soc. Perkin Trans 2* **2001**, 1331 – 1342.

КОНКУРЕНТНИ РЕАКЦИИ НА ЕЛЕКТРОФИЛНА ЦИКЛИЗАЦИЯ НА 1,3-БИФУНКЦИОНАЛИЗИРАНИ АЛЕНИ

Ивайло Парушев, Ивайло Иванов, Валерий Христов

*Шуменски университет „Епископ Константин Преславски“,
Факултет по природни науки,*

*Катедра по органична химия и технология,
9712 Шумен, ул. „Университетска“ 115, e-mail: parushev.chem@abv.bg*

ABSTRACT

The present article discusses a reaction of 4-sulfinylated and 4-sulfonylated allenecarboxylates with different electrophilic reagents such as sulfonyl chloride, bromine, benzenesulfonyl and benzeneselenyl chlorides. Treatment of 4-(benzenesulfonyl)-allenoates with electrophiles gives 5-(benzenesulfonyl)-furan-2(5*H*)-ones as a result of the neighbouring carboxylate group participation in the cyclization. On the other hand, 4-(methanesulfonyl)alk-(3*E*)-enoates were prepared by *chemo*-, *regio*-, and *stereoselective* electrophilic addition to the C²-C³-double bond in the allenoate moiety of 4-(methanesulfonyl)-allenecarboxylates. When R¹ = Me, the treatment with electrophiles gives mixtures of 4-(methanesulfonyl)alk-(3*E*)-enoates and 4-(methanesulfonyl)-2-methylene-alk-(3*E*)-enoates as a result of addition and elimination reactions.

Key words: *Bifunctionalized allenes, electrophilic cyclization, furan-2(5*H*)-ones, (3*E*)-3,2-adducts*

ВЪВЕДЕНИЕ

Алените са изключително реактивоспособни съединения, като през последните 10 – 15 години са изучени голям брой нови реакции с тяхното участие. Много от тези реакции са намерили приложение като етапи от многостадийни процеси за синтеза на природни вещества [1].

Синтетичният потенциал на функционализираните алени предизвиква вниманието на все повече учени, което довежда до създаването на нови методи за получаване на различни хетеро- и карбоцикленни системи [2].

Като част от нашата дългогодишна програма за синтез и изучаване на електрофилните реакции на бифункционализирани алени [3], ние насочихме своите изследвания върху реакциите на синтезирани от нас 4-сулфинилирани или 4-сулфонилирани аленкарбоксилати с поредица електрофилни реагенти.

ИЗЛОЖЕНИЕ

В предишна разработка ние докладвахме удобен и селективен метод за синтез на 1,3-бифункционализирани алени [4]. Този метод се състои (Схема 1) във взаимодействие на синтезирани от нас 2-хидроксиалк-3-иноати **1** със сулфанил- или сулфинил-хлориди в присъствие на органична база с междинно образуване на пропаргил сулфанати **2** или сулфинати **4**, които спонтанно (при сулфанатите) или при кипене в толуен (при сулфинатите) търпят [2,3]-сигматропна прегрупировка до очакваните 1,3-бифункционализирани алени.

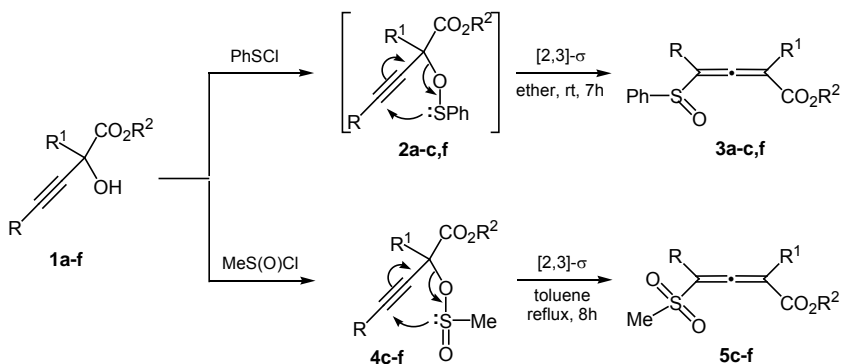


Схема 1. Получаване на 4-сулфинилирани или 4-сулфонилирани аленкарбоксилати **3** и **5**

В настоящата статия представяме получените резултати от изучаването на реакциите на синтезираните от нас 4-сулфинилирани или 4-сулфонилирани аленкарбоксилати **3** или **5** с електрофилни реагенти. Нашите изследвания започнахме с оптимизиране на реакционните условия. За целта проведохме бромиране на моделното съединение етил 4-(бензенсулфинил)-2,4-дифенил-бута-2,3-диеноат **3f** в различни разтворители с промяна на реакционната температура, реакционното време и еквивалентността на електрофилния реагент.

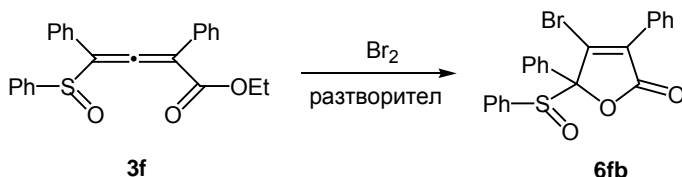


Схема 2. Оптимизиране на реакционните условия за електрофилна циклизация на етил 4-(бензенсулфинил)-2,4-дифенилбута-2,3-диеноата **3f**

Установихме, че във всички случаи при бромиране протича 5-*endo-trig* циклизация с анхимерно съдействие като съседна група на етоксикарбонилната функция и получаване на 5-(бензенсулфинил)-4-бромо-3,5-дифенилфуран-2(5H)-она **6fb** (Схема 2).

В Таблица 1 са представени експерименталните резултати от проведените изследвания за оптимизиране на реакционните условия на електрофилна циклизация на етил 4-(бензенсулфинил)-2,4-дифенилбута-2,3-диеноата **3f** с бром. Първоначално изследвахме реакцията в разтворител дихлороетан при стайна температура (Таблица 1, № 1). При тези условия бромирането протича с добив 44%. При кипене в дихлороетан добивът намалява (Таблица 1, № 2). По-високи добиви се получават при провеждане на реакцията при отрицателни температури в разтвор на дихлороетан или хлороформ с 1.5 екв. бром (Таблица 1, № 3 – № 5). Използването на полярни разтворители, като тетраhydroфуран, етанол, ацетонитрил и нитрометан (Таблица 1, № 6 – № 9), води до получаването на продукта с ниски добиви. С подобен добив протича и взаимодействието в бензен (Таблица 1, № 10). От друга страна, при провеждането на реакцията в дихлорометан добивът достига до 73% (Таблица 1, № 11 – № 14). Нашите изследвания показаха, че най-висок добив от продукта се получава в дихлорометан при температура -20°C и 1.5 екв. електрофилен реагент (Таблица 1, № 13).

Таблица 1. Оптимизиране на реакционните условия за електрофилна циклизация на етил 4-(бензенсулфинил)-2,4-дифенилбута-2,3-диеноата **3f** с бром

№	Бром (екв.)	Разтворител*	Реакционна темп. (°C)	Реакционно време (h)	Добив** (%)
1	1.0	ClCH ₂ CH ₂ Cl	rt	10	44
2	1.5	ClCH ₂ CH ₂ Cl	кипене	6	31
3	1.5	ClCH ₂ CH ₂ Cl	-78	7	51
4	1.5	ClCH ₂ CH ₂ Cl	-20	7	60
5	1.5	CHCl ₃	-20	6	52
6	1.5	THF	-20	8	51
7	1.5	EtOH	-30	6	28
8	1.5	MeCN	-20	8	49
9	1.5	MeNO ₂	-20	7	57
10	1.5	PhH	rt	8	35
11	1.0	CH ₂ Cl ₂	rt	8	56
12	1.2	CH ₂ Cl ₂	-20	7	66
13	1.5	CH₂Cl₂	-20	7	73
14	2.0	CH ₂ Cl ₂	-20	9	65

* Реакциите са проведени в съответния разтворител (10 mL + 10 mL)

** Добиви след изолиране с колонна хроматография

За да изследваме възможностите за електрофилна циклизация на синтезираните от нас сулфинилирани аленкарбоксилати **3a – c,f**, ние изследвахме взаимодействието им с поредица електрофилни реагенти. Експерименталните резултати показват, че във всички случаи се осъществява петчленна хетероциклизация с анхимерно съдействие като вътрешна група само на алкоксикарбонилната функция с получаването на γ -лактоните **6** с добив 66 – 73%.

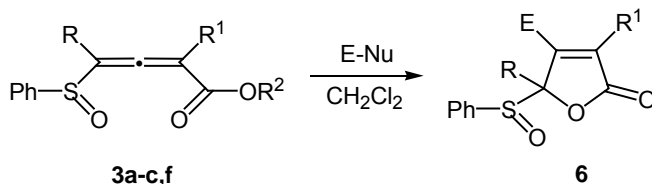


Схема 3. Електрофилна циклизация на 4-сулфинираните аленкарбоксилати **3**

Таблица 2. Получаване на 5-(бензенсулфинил)-фуран-2(5H)-оните 6

№	Ален	R	R ¹	R ²	E	Време, h	6, Добив*, %
1	3a	Pr	Me	Et	Cl	4	6aa, 70
2	3a	Pr	Me	Et	SePh	6	6ad, 68
3	3b	Pr	Ph	Me	Br	6.5	6bb, 72
4	3c	Bu	Me	Et	Br	5	6cb, 71
5	3c	Bu	Me	Et	SePh	6	6cd, 67
6	3f	Ph	Ph	Et	Cl	6	6fa, 71
7	3f	Ph	Ph	Et	Br	7	6fb, 73
8	3f	Ph	Ph	Et	SPh	11	6fc, 68
9	3f	Ph	Ph	Et	SePh	9	6fd, 66

* Изоларани чрез колонна хроматография

Синтезираните от нас 4-сулфониларани аленкарбоксилати 5c – f използвахме като субстрати за разширяване на изследванията ни върху реакциите на сърасъдържащи алени с електрофилни реагенти.

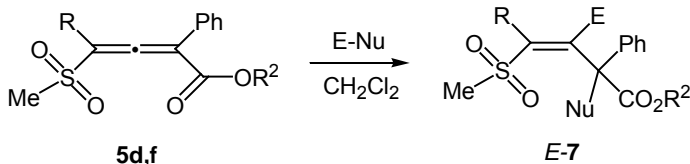


Схема 4. Електрофилни реакции на 4-сулфонилараните 2-фенил-аленкарбоксилати 5d,f

Реакциите на 4-сулфонилараните 2-фенил-аленкарбоксилати 5d,f с халогени и бензенселанил хлорид (Схема 4) протичат *региоселективно* с присъединяване на реагента по 2,3-двойната връзка на аленоатната система и образуването на ациклените 4-(метансулфонил)-2-фенил-алк-(3E)-еноати 7 с добри добиви (Таблица 3).

Таблица 3. Получаване на 4-(метансулфонил)-алк-(3E)-еноатите 7

№	Ален	R	R ²	E	Nu	Време, h	7, Добив*, %
1	5d	Bu	Me	Br	Br	7	7db, 68
2	5d	Bu	Me	SePh	Cl	9	7dd, 64
3	5f	Ph	Et	Cl	Cl	6	7fa, 67
4	5f	Ph	Et	Br	Br	9.5	7fb, 70
5	5f	Ph	Et	SePh	Cl	13	7fd, 64

* Изоларани чрез колонна хроматография

Когато в молекулата на аленовите субстрати **5c,e** се съдържа метилов заместител при C²-атома на аленоатната система (R¹ = Me), ходът на реакцията се променя, като резултатите показват получаването на смес от ациклените 4-(метансулфонил)-2-метил-алк-(3*E*)-еноати **7** и 2-метилен-4-(метансулфонил)-алк-(3*E*)-еноати **8** в съотношение приблизително 1.6 : 1 (Таблица 4).

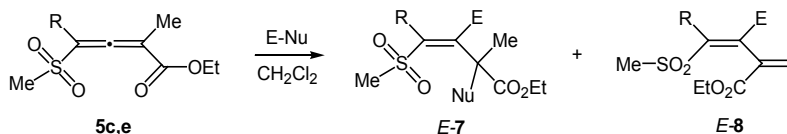


Схема 5. Електрофилни реакции на 4-сулфонилните 2-метил-аленкарбоксилати **5c,e**

Таблица 4. Получаване на 4-(метансулфонил)-алк-(3*E*)-еноатите **7** и 2-метилен-4-(метансулфонил)-алк-(3*E*)-еноатите **8**

№	Ален	R	E	Nu	Време, h	7 , Добив*, %	8 , Добив*, %	Съотношение
1	5c	Bu	Br	Br	6	7cb , 43	8cb , 27	1.55 : 1
2	5c	Bu	SePh	Cl	8	7cd , 41	8cd , 25	1.63 : 1
3	5e	Ph	Br	Br	8	7eb , 44	8eb , 27	1.61 : 1
4	5e	Ph	SePh	Cl	10.5	7ed , 41	8ed , 24	1.72 : 1

* Изоларани чрез колонна хроматография

Наблюдаваният ход на реакцията вероятно се дължи на протичането на реакция на дехидрохалогениране на 2-метил-алк-(3*E*)-еноатите **7**. Това наше предположение беше потвърдено след кипене в бензен на изолирания етил 2,3-дибромо-4-(метансулфонил)-2-метилокт-(3*E*)-еноат **7cb** в присъствие на триетиламин, който елиминира бромоводород с получаване на етил 3-бромо-4-(метансулфонил)-2-метилен-окт-(3*E*)-еноата **8cb**.

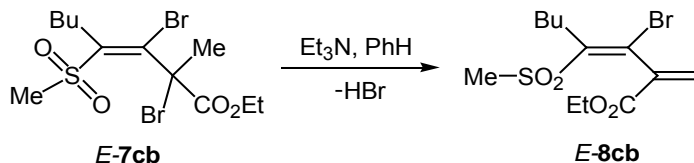


Схема 6. Реакция на елиминирание на 2-метилокт-(3*E*)-еноата **7cb**

В експериментално отношение ходът на всички реакции е проследяван тънкослойно хроматографски и ИЧ-спектрално. Получените продукти са изолирани и пречистени чрез колонна хроматография, а структурата на синтезираните съединения е установена чрез ИЧ-, ^1H - и ^{13}C -ЯМР-спектроскопия и елементен анализ.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Изследвани са взаимодействията на 4-сулфинилрани или 4-сулфонилирани аленкарбоксилати с електрофилни реагенти като сулфурил хлорид, бром, бензенсулфанил хлорид и бензенселанил хлорид. Оптимизирани са условията на реакциите по отношение на разтворител, реакционна температура и време и молно съотношение на електрофила. Установено е, че се получават хетероциклени или ненаситени ациклени съединения в зависимост от вида на сярната функция.

БЛАГОДАРНОСТ

Настоящата работа е част от научноизследователския проект № РД-08-208/2014 г., който се финансира от фонд „Научни изследвания“ на ШУ „Еп. Константин Преславски“. Този доклад е подкрепен по Проект BG051PO001-3.3.06-0003 „Изграждане и устойчиво развитие на докторанти, постдокторанти и млади учени в областта на природните, техническите и математическите науки“. Проектът се осъществява с финансовата подкрепа на Оперативна програма „Развитие на човешките ресурси“, съфинансирана от Европейския социален фонд на Европейския съюз.

ЛИТЕРАТУРА

1. (a) Ma, S. *Chem. Rev.* **2005**, *105*, 2829 – 2871; (b) Ma, S. *Aldrichimica Acta* **2007**, *40*, 91 – 102.
2. (a) Bates, R. W.; Satcharoen, V. *Chem. Soc. Rev.* **2002**, *31*, 12 – 21; (b) Petrov, P. Y.; Angelov, C. M.; Petrov, G.; Alexiev, A.; Cavell, R. G. *Heteroatom Chem.* **2004**, *15*, 413 – 417; (c) Hassan, H. H. A. M. *Curr. Org. Synth.* **2007**, *4*, 413 – 439; (d) Petrov, P. Y.; Angelov, C. M.; McDonald, R.; Alexiev, A.; Cavell, R. G. *Heteroatom Chem.* **2010**, *21*, 196 – 202; (e) Back, T. G.; Clary, K. N.; Gao, D. *Chem. Rev.* **2010**, *110*, 4498 – 4553.

3. (a) Christov, V. Ch.; Nikolova, R.; Prodanov, B. *Phosphorus, Sulfur, Silicon* **2000**, *166*, 275 – 281; (b) Christov, V. Ch.; Prodanov, B. *Phosphorus, Sulfur, Silicon* **2000**, *166*, 265 – 273; (c) Christov, V. Ch.; Prodanov, B. *Heterocyclic Commun.* **2002**, *8*, 349 – 354; (d) Christov, V. Ch.; Prodanov, B. *Phosphorus, Sulfur, Silicon* **2002**, *177*, 243 – 249; (e) Christov, V. Ch.; Prodanov, B. *Heterocycles* **2002**, *57*, 1777 – 1780; (f) Christov, V. Ch.; Prodanov, B. *Synth. Commun.* **2004**, *34*, 1577 – 1588; (g) Christov, V. Ch.; Ivanova, J. G. *Synth. Commun.* **2006**, *36*, 2231 – 2244; (h) Ismailov, I. E.; Ivanov, I. K.; Christov, V. Ch. *Molecules* **2014**, *19*, 11056 – 11076; (i) Ismailov, I. E.; Ivanov, I. K.; Christov, V. Ch. *Molecules* **2014**, *19*, 6309 – 6329.
4. Ivanov, I. K.; Parushev, I. D.; Christov, V. Ch. *Heteroatom Chem.* **2013**, *24*, 322 – 331.

КОНКУРЕНТНА ЕЛЕКТРОФИЛНА ЦИКЛИЗАЦИЯ И ПРИСЪЕДИНИТЕЛНИ РЕАКЦИИ НА 4-ФОСФОРИЛИРАНИ АЛЕНКАРБОКСИЛАТИ

Ивайло Парушев, Ивайло Иванов, Валерий Христов

*Шуменски университет „Епископ Константин Преславски“,
Факултет по природни науки,*

*Катедра по органична химия и технология,
9712 Шумен, ул. „Университетска“ 115, e-mail: parushev.chem@abv.bg*

ABSTRACT

The paper discusses a reaction of 4-phosphorylated allenecarboxylates with different electrophilic reagents such as sulfonyl chloride, bromine, benzenesulfonyl and benzeneselenyl chlorides. Treatment of the 4-(dimethoxyphosphoryl)-allenoates with electrophiles gives mixtures of 2,5-dihydro-1,2-oxaphospholes and furan-2(5H)-ones as a result of the neighbouring group participation of phosphonate and carboxylate groups in the cyclization. On the other hand, 4-(diphenylphosphoryl)-alk-(3E)-enoates were prepared, in moderate yields, by *chemo*-, *regio*-, and *stereoselective* electrophilic addition to the C²-C³-double bond in the allenoate moiety.

Key words: Phosphorylated allenes, allenecarboxylates, electrophilic cyclization, furan-2(5H)-ones, (3E)-3,2-adducts

ВЪВЕДЕНИЕ

През последните години функционализираните алени привличат вниманието на все повече изследователи, което ги превръща в основен градивен елемент на органичния синтез.

В литературата са описани редица методи за получаване на функционализирани с карбоксилна [1] и фосфорилна група (фосфонати [2] и фосфин оксиди [3]) алени. За разлика от аленовите въглеводороди наличието на функционална група, свързана с аленовата система, съществено променя хода на реакциите с електрофилни реагенти, като литературните данни сочат, че в зависимост от вида на реагентите и условията на реакциите се получават хетероциклени и/или ациклени продукти или смес от такива [4, 5].

Като част от нашата дългогодишна програма за изследване на електрофилните реакции на бифункционализирани алени, ние създадохме удобен и селективен метод за синтез на 4-фосфорилираните аленкарбоксилати **1** и **2** (Схема 1).

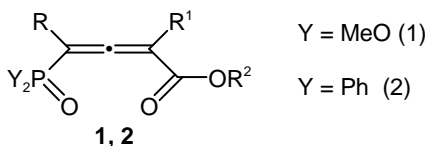


Схема 1. Изходни 4-фосфорилирани аленкарбоксилати **1** и **2**

В настоящата работа представяме получените резултати от изучаването на реакциите на 4-фосфорилираните аленкарбоксилати **1** и **2** с електрофилни реагенти.

ИЗЛОЖЕНИЕ

Изучаването на реакциите на 4-фосфорилираните аленкарбоксилати **1** и **2** с електрофилни реагенти започнахме с изследване на влиянието, което оказват върху техния ход видът на разтворителя, реакционната температура, реакционното време и еквивалентността на електрофилния реагент. За целта първоначално изследвахме бромирането на моделното съединение етил 4-(диметоксифосфорил)-2,4-дифенилбута-2,3-диеноат **1f** при различни реакционни условия (Таблица 1). Експерименталните данни показват, че във всички случаи реакцията протича с два типа циклизация, с едновременното участие като съсед-

ни групи на фосфонатната и етоксикарбонилната функция и образуването на смес от етил 4-бромо-2-метокси-3,5-дифенил-2-оксо-2,5-дихидро-1,2-оксафосфол-5-карбоксилата **3fb** и диметил (3-бромо-5-оксо-2,4-дифенил-2,5-дихидрофуран-2-ил) фосфоната **4fb** (Схема 2).

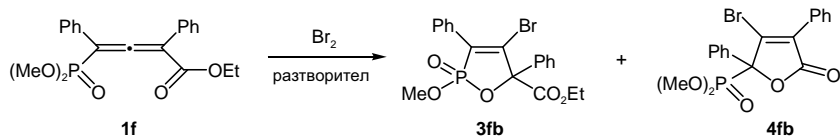


Схема 2. Оптимизиране на реакционните условия за електрофилна циклизация на етил 4-(диметоксифосфорил)-2,4-дифенил-бута-2,3-диеноата **1f**

В Таблица 1 са представени експерименталните данни от оптимизирането на реакционните условия за електрофилна циклизация на етил 4-(диметоксифосфорил)-2,4-дифенил-бута-2,3-диеноата **1f**.

Таблица 1. Оптимизиране на реакционните условия за електрофилна циклизация на етил 4-(диметоксифосфорил)-2,4-дифенил-бута-2,3-диеноата **1f**

№	Бром (екв.)	Разтворител*	Реакционна темп. (°C)	Реакционно време (h)	Добив** (%)		Съотношение 3fb : 4fb
					3fb	4fb	
1	1.0	ClCH ₂ CH ₂ Cl	rt	4	31	19	1.63:1
2	1.5	ClCH ₂ CH ₂ Cl	кипене	3	24	15	1.60:1
3	1.5	ClCH ₂ CH ₂ Cl	-78	5	21	12	1.75:1
4	1.5	ClCH ₂ CH ₂ Cl	-20	5	20	11	1.81:1
5	1.5	CHCl ₃	-20	4	22	13	1.69:1
6	1.2	EtOH	-30	6	18	10	1.80:1
7	1.2	MeCN	-20	8	19	11	1.73:1
8	1.2	MeNO ₂	-20	7	17	10	1.70:1
9	1.2	PhH	rt	8	15	9	1.67:1
10	1.0	CH ₂ Cl ₂	rt	8	46	25	1.84:1
11	1.2	CH₂Cl₂	-20	5	50	28	1.79:1
12	1.5	CH ₂ Cl ₂	-20	6	45	24	1.88:1
13	2.0	CH ₂ Cl ₂	-20	7	39	22	1.77:1

* Реакциите са прведени в съответния разтворител (10 mL + 10 mL)

** Добиви след изолиране с колонна хроматография

Провеждането на реакцията в дихлороетан при стайна температура води до получаването на сумарен добив от 50% (Таблица 1, № 1). При кипене и при отрицателни температури в същия разтворител добивите са по-ниски (Таблица 1, № 2 – № 4). Провеждането на реакцията в полярни разтворители, като етанол, ацетонитрил и нитрометан, води до получаването на продуктите с ниски добиви (до 35%). Подобен добив (24%) се получава и при провеждането на взаимодействието в бензен. От друга страна, при използването на дихлорометан като разтворител при стайна и отрицателни температури за 5 – 8 часа добивът достига до 78% (Таблица 1, № 10 – № 13). Оказа се, че най-подходяща температура е -20°C . Когато се повиши или понижи реакционната температура, добивът намалява.

От проведените изследвания направихме извода, че най-добър добив се получава при провеждане на реакцията с 1.2 екв. бром в дихлорометан при температура -20°C за 5 часа (Таблица 1, № 11).

Едновременното присъствие в синтезираните от нас алкил 4-(диметоксифосфорил)-алка-2,3-диеноати **1a – c, f** като функционални групи (и потенциални вътрешни нуклеофили) на алкоксикарбонилна и фосфонатна група прави тези съединения изключително интересни субстрати за изучаване на реакциите на електрофилна циклизация. За целта ние изследвахме взаимодействието им с електрофилните реагенти сулфурил хлорид, бром, бензенсулфанил хлорид и бензенселанил хлорид.

Установихме, че взаимодействието на алкил 4-(диметоксифосфорил)-алка-2,3-диеноатите **1a – c, f** с електрофилни реагенти във всички случаи протича с *5-endo-trig* циклизация (Схема 3). Получават се смеси от 2,5-дихидро-1,2-оксафосфолите **3** и 2,5-дихидрофураните **4**, т.е. в процеса на циклизация анхимерно съдействие като съседна група оказват както фосфонатната, така и алкоксикарбонилната група.

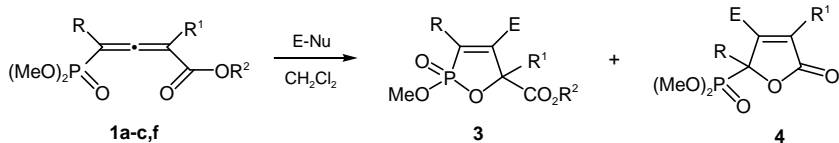


Схема 3. Електрофилна циклизация на алкил 4-(диметоксифосфорил)-алка-2,3-диеноатите **1a – c, f**

Таблица 2. Получаване на алкил 2-метокси-2-оксо-2,5-дихидро-1,2-оксафосфол-5-карбоксилатите **3** и диметил (5-оксо-2,5-дихидрофуран-2-ил)-фосфонатите **4**

№	Ален	R	R ¹	R ²	E	Време, h	3 , Добив*, %	4 , Добив*, %	Съотношение
1	1a	Pr	Me	Et	Cl	3	3aa , 50	4aa , 28	1.79 : 1
2	1a	Pr	Me	Et	SePh	5	3ad , 46	4ad , 28	1.64 : 1
3	1b	Pr	Ph	Me	Br	6	3bb , 45	4bb , 28	1.61 : 1
4	1b	Pr	Ph	Me	SePh	4	3bd , 48	4bd , 29	1.66 : 1
5	1c	Bu	Me	Et	Br	3.5	3cb , 51	4cb , 28	1.82 : 1
6	1c	Bu	Me	Et	SePh	5	3cd , 46	4cd , 29	1.59 : 1
7	1f	Ph	Ph	Et	Cl	4	3fa , 49	4fa , 27	1.81 : 1
8	1f	Ph	Ph	Et	Br	5	3fb , 50	4fb , 28	1.79 : 1
9	1f	Ph	Ph	Et	SPh	9	3fc , 45	4fc , 28	1.61 : 1
10	1f	Ph	Ph	Et	SePh	7.5	3fd , 47	4fd , 27	1.74 : 1

* Изоларани чрез колонна хроматография

Интересно за нас бе как ще протекат електрофилните реакции, ако променим вида на заместителите във фосфорилната група на аленовата система. За целта изследвахме взаимодействието на синтезираните от нас алкил 4-(дифенилфосфиноил)-алка-2,3-диеноати **2c – f** с електрофилните реагенти сулфурил хлорид, бром, бензенсулфанил хлорид и бензенселанил хлорид. Експерименталните резултати показват, че във всички случаи взаимодействието на алкил 4-(дифенилфосфиноил)-алка-2,3-диеноатите **2c – f** с електрофилни реагенти в дихлорометан протича селективно с образуването на ациклените продукти **5** с добив 63 – 73%. Спектралните изследвания показват, че се получават 3,2-адукти с (*E*)-конфигурация, т.е. реакциите са хемо-, регио- и стереоселективни.

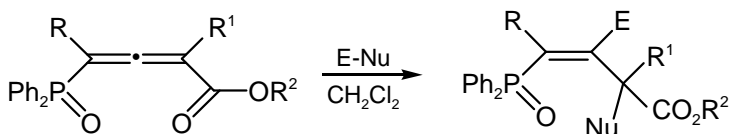


Схема 4. Електрофилни реакции на алкил 4-(дифенилфосфиноил)-алка-2,3-диеноатите **2c – f**

Таблица 3. Получаване на 4-(дифенилфосфиноил)-алк-(3E)-еноатите 5

№	Ален	R	R ¹	R ²	E	Nu	Време, h	5, Добив*, %
1	2c	Bu	Me	Et	Br	Br	4	5cb , 70
2	2c	Bu	Me	Et	SePh	Cl	6	5cd , 64
3	2d	Bu	Ph	Me	Br	Br	5	5db , 73
4	2d	Bu	Ph	Me	SePh	Cl	7	5dd , 65
5	2e	Ph	Me	Et	Br	Br	6	5eb , 72
6	2e	Ph	Me	Et	SePh	Cl	6.5	5ed , 64
7	2f	Ph	Ph	Et	Cl	Cl	5.5	5fa , 69
8	2f	Ph	Ph	Et	Br	Br	7	5fb , 71
9	2f	Ph	Ph	Et	SPh	Cl	7.5	5fc , 66
10	2f	Ph	Ph	Et	SePh	Cl	8	5fd , 63

* Изолирани чрез колонна хроматография

В експериментално отношение ходът на всички реакции е проследяван тънкослойно хроматографски и ИЧ-спектрално. Получените продукти са изолирани и пречистени чрез колонна хроматография, а структурата на синтезираните съединения е установена чрез ИЧ-, ¹H-, ¹³C- и ³¹P – ЯМР-спектроскопия и елементен анализ.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Изследвани са взаимодействията на 4-фосфорилирани аленкарбоксилати с електрофилни реагенти като сулфурил хлорид, бром, бензенсулфанил хлорид и бензенселанил хлорид. Оптимизирани са условията на реакциите по отношение на разтворител, реакционна температура и време и молно съотношение на електрофила. Установено е, че се получават хетероциклени или ненаситени ациклени съединения в зависимост от вида на заместителя при фосфорилната група.

БЛАГОДАРНОСТ

Настоящата работа е част от научноизследователския проект № РД-08-208/2014 г., който се финансира от фонд „Научни изследвания“ на ШУ „Еп. Константин Преславски“. Този доклад е подкрепен по Проект BG051PO001-3.3.06-0003 „Изграждане и устойчиво развитие на докторанти, постдокторанти и млади учени в областта на при-

родните, техническите и математическите науки“. Проектът се осъществява с финансовата подкрепа на Оперативна програма „Развитие на човешките ресурси“, съфинансирана от Европейския социален фонд на Европейския съюз.

ЛИТЕРАТУРА

1. (a) Bestmann, H. J.; Hartung, H. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1963**, 2, 214 – 215; (b) Aksnes, G.; Froeyen, P. *Acta Chim. Scand.* **1968**, 22, 2347 – 2347; (c) Lang, R. W.; Hansen, H. -J. *Helv. Chim. Acta* **1980**, 63, 438 – 455; (d) Fillion, H.; Hseine, A.; Pera, M. -H.; Dufaud, V.; Refouvelet, B. *Synthesis* **1987**, 708 – 709; (e) Tanaka, K.; Otsubo, K.; Fuji, K. *Synlett.* **1995**, 933 (f) Li, C. -Y.; Wang, X. -B.; Sun, X. -L.; Tang, Y.; Zheng, J. -C.; Xu, Z. -H.; Zhou, Y. -G.; Dai, L. -X. *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, 129, 1494 – 1495.
2. (a) Pudovik, A. N.; Aladjeva, I. M. *J. Gen. Chem.* **1963**, 33, 700 – 706; (b) Macomber, R. S. *J. Am. Chem. Soc.* **1977**, 99, 3072 – 3075; (c) Denmark, S. E.; Marlin, J. E. *J. Org. Chem.* **1991**, 56, 1003 – 1013; (d) Cai, B.; Blackburn, G. M. *Synth. Commun.* **1997**, 27, 3943 – 3949; (e) Saalfrank, R. W. Haubner, M. Deutscher, C. Bauer, U. *Eur. J. Org. Chem.* **1999**, 2367 – 2372.
3. (a) Nicolaou, K. C.; Maligres, P.; Shin, J.; de Leon, E.; Rideout, D. *J. Am. Chem. Soc.* **1990**, 112, 7825 – 7826; (b) Curfin, M. L.; Okamura, W. H. *J. Org. Chem.* **1990**, 55, 5278 – 5287; (c) Grissom, J. W.; Huang, D. *Angew. Chem. Int. Ed.* **1995**, 34, 2037 – 2039; (d) Darcel, C.; Bruneau, C.; Dixneuf, P. H. *Synthesis* **1996**, 711 – 714; (e) de Frutos, O.; Echavarren, A. M. *Tetrahedron Lett.* **1997**, 38, 7941 – 7943; (f) Schmittel, M.; Steffen, J.-P.; Maywald, M.; Engels, B.; Helten, H.; Musch, P. *J. Chem. Soc. Perkin Trans 2* **2001**, 1331 – 1342.
4. (a) Ma, S.; Pan, F.; Hao, X.; Huang, X. *Synlett.* **2004**, 85 – 88; (b) Fu, C.; Ma, S. *Eur. J. Org. Chem.* **2005**, 3942 – 3945; (c) Chen, G.; Fu, C.; Ma, S. *Tetrahedron* **2006**, 62, 4444 – 4452; (d) Zhou, C.; Ma, Z.; Gu, Z.; Fu, C.; Ma, S. *J. Org. Chem.* **2008**, 73, 772 – 774. (e) Guo, H.; Qian, R.; Guo, Y.; Ma, S. *J. Org. Chem.* **2008**, 73, 7934 – 7938. (f) He, G.; Fu, C.; Ma, S. *Tetrahedron* **2009**, 65, 8035 – 8042. (g) He, G.; Guo, H.; Qian, R.; Guo, Y.; Fu, C.; Ma, S. *Tetrahedron* **2009**, 65, 4877 – 4889.

5. (a) Zhou, C.; Fang, Z.; Fu, C.; S. Ma, S. *J. Org. Chem.* **2009**, *74*, 2887; (b) He, G.; Zhou, C.; Fu, C.; Ma, S. *Tetrahedron* **2007**, *63*, 3800; (c) Wang, M.; Fu, C.; Ma, S. *Chem. Sci.* **2013**, *4*, 1016; (d) Zhou, C.; Fu, C.; Ma, S. *Tetrahedron*, **2007**, *63*, 7612; (e) Zhou, C.; Fu, C.; Ma, S. *Angew. Chem., Int. Ed.*, **2007**, *46*, 4379.

НОВИ ПОДХОДИ ПРИ СИНТЕЗА НА БИОЛОГИЧНО АКТИВНИ СУКРОЕСТЕРИ

Радка Грудева, Надежда Петкова, Пантелей Денев

*Университет по хранителни технологии,
катедра „Органична химия, бул. „Марица“ 26, 4002 Пловдив,
e-mail: radka_grudeva@outlook.com, petkovanadejda@abv.bg*

РЕЗЮМЕ

Сукроестерите представляват нейногенни повърхностноактивни вещества с важно значение в растителната защита, медицината, козметиката и хранителната промишленост. Освен регламентираното им приложение като добавки в храните (емулгатори), те се утвърдиха и като вещества с потенциална антимикробна активност. Настоящият преглед има за цел да разгледа новите подходи, прилагани при синтеза на естери на захарозата, характеризиращи се с повишена биологична активност. Химичният синтез на сукроестери (каприлати, лаурати, миристати и палмитати) обикновено се осъществява в DMSO чрез преестерификация на винилови или етилови естери на съответните мастни киселини в присъствие на алкални катализатори. В настоящия обзор е направена сравнителна характеристика на новите химични и ензимни методи за естерификация на захароза. Подробно са разгледани ускореният ултразвуков химичен синтез на сукроестери, както и ензимна модификация, осъществена в присъствие на липаза, проведена под микровълново, ултразвуково въздействие и реакционната среда със суперкритичен въглероден диоксид. Представените нови подходи за получаване на биологично активни сукроестери имат за крайна цел

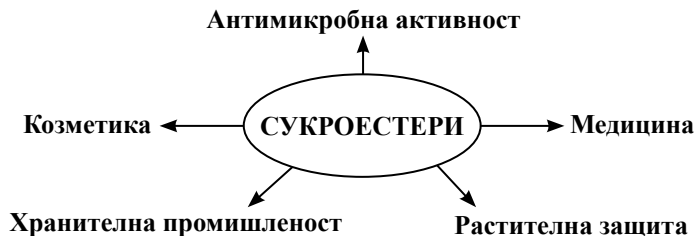
преимущественото натрупване на моноестери, отличаващи се с най-висока антимикробна активност. Оценен е потенциалът на приложението на ултразвуковото въздействие при интензифициране на естерификационния процес.

Ключови думи: *сукроестери, ултразвуков синтез, микровълнов синтез, ензимен катализ, антимикробна активност*

ВЪВЕДЕНИЕ

Нарастващият интерес към сукроестерите и широкото им приложение обуславят необходимостта от нови, подобрени, бързи и ефективни методи за тяхното получаване. В настоящия обзор са представени класически и нови подходи при синтеза на биологично активни сукроестери. Естерите на захарозата с висши мастни киселини намират широко приложение в хранително-вкусовата промишленост [31, 43], в козметичната индустрия, в стоматологичните и медицинските консумативи (**Фиг. 1**). Във фармацията сукростеаратът и сукропалмитатът се използват като пълнители за лекарствените формули, за да се контролира скоростта на разтваряне и освобождаване на активната субстанция [32]. Изследвано е действието им като антибиотични препарати [27] и способността им да проявяват антитуморни [33, 41] и инсектицидни свойства [6].

Сукроестерите са легализирани за употреба в храните през 1959 г. в Япония [35]. В европейското хранително законодателство са класифицирани като добавка в храните – Е 473. Поради ниската им токсичност е прието те да се влагат като емулгатори с концентрация, не по-висока от 10 mg/mL. Максималният допустим дневен прием на сукроестерите е сравнително висок – до 20 mg/kg телесна маса [12].



Фигура 1. *Приложение на сукроестерите*

Количеството на остатъците от мастни киселини от моно- до окта-замествания в захарозата, дължината на ацилната верига и нейната ненаситеност и степента на заместване [16] определят хидрофилно-липофилния баланс HLB на продукта.

МЕТОДИ ЗА ПОЛУЧАВАНЕ НА СУКРОЕСТЕРИ

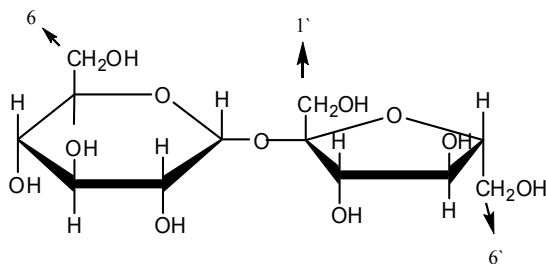
1. Конвенционален химичен синтез

Химичният синтез на естери на захарозата е осъществен за първи път от Херцфелд [18]. При него реакциите на естерификация и преестерификация протичат при висока температура в присъствието на алкален катализатор [13]. Алкоксиди на алкалните метали често се използват за катализатори – натриев метилат (CH_3ONa), и дават много високи добиви (>98%) за кратко реакционно време (30 мин.), дори при ниски моларни концентрации (0.5 mol %). Хидроксидите на алкалните метали (KOH и NaOH) са по-малко активни от металните алкоксиди, но са добра алтернатива поради високите добиви чрез увеличаване на концентрацията на катализатора с 1 или 2 mol %. Също така трябва да се има предвид, че в системата ще се отдели малко вода, която ще хидролизира част от произведения естер с последващо образуване на сапун.

Използването на калиев карбонат в концентрация от 2 или 3 mol % намалява образуването на сапун и дава възможност за повишени добиви. В действителност добавянето му дава възможност за образуване на хидрогенкарбонати вместо вода и естерите не се хидролизират. По време на преестерификация на захароза с метилови естери на мастните киселини се образува метанол, който може да бъде отстранен чрез дестилация или вакуум по време на реакцията. Това променя равновесието в полза на получения сукроестер и подобрява добива на желания продукт. Spuces et al. [10] съобщават за 72% добив от 2-О-лаурил захароза, като използват за катализатор Na_2HPO_4 при 40°C в продължение на 5 часа в DMF с виниллауринат като донор.

Реакцията на трансестерификация не позволява региоселективност и контрол относно степента на заместване на хидроксилните групи на захарозата [34, 38, 39]. Въпреки това реакцията може да бъде насочена към конкретна форма на заместване чрез внимателен

избор на катализатор и условия на реакцията. Повечето изследвания са показали, че добивът на захарни моно- и диестери се увеличава в зависимост от моларното съотношение захароза : мастна киселина. Това се дължи на повишената реакционна способност на първичните хидроксилни групи в захарозата, която се променя в следната последователност: 6-OH \geq 6'-OH > 1'-OH > вторични -OH (Фиг. 2) [1, 30].

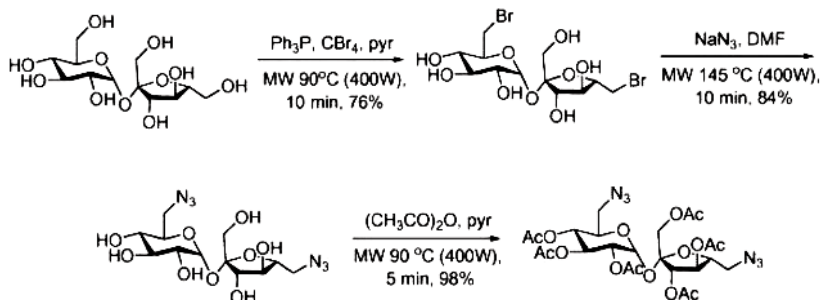


Фигура 2. Реакционни групи в захарозната молекула

2. Синтез чрез микровълново въздействие

Микровълновият синтез се използва в почти всички области на химичната наука, включително и във въглехидратната химия [8, 26]. Този метод позволява значително намаляване на времето за реакция и получаване на желаните захарни производни в сравнение с класическите методи за синтез [11, 30].

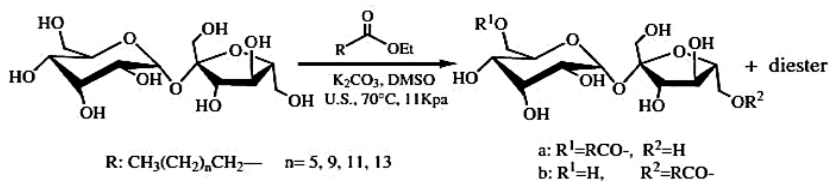
Ключовият момент за успешния синтез при микровълново облъчване е специално проектираното за химически лаборатории оборудване. То разполага с много прецизен контрол върху условията – температура и налягане, в сравнение с домашните микровълнови фурни. Софтуерът осигурява опростен процес на наблюдение и контрол, което води до по-точни и по-надеждни условия за реакция. При микровълновото облъчване преносът на енергия е невероятно бърз. Чрез контрол на температурата се избягва разграждането на субстратите и се получават сравнително високи добиви за кратко реакционно време. При този метод, когато температурата достигне стойността на входа, мощността се намалява, така че реакционната смес не надвишава зададената точка. След това остава на по-ниско ниво, за да се поддържа зададената температура през цялата реакция.



Фигура 3. Микровълново въздействие при синтез на сукроестери

3. Синтез чрез ултразвуково въздействие

Ултразвуковото облъчване е полезен метод за емулгиране на несмесващи се течности. Този метод предизвиква образуване на кавитационни мехурчета, които намаляват фазовата граница, причиняват емулгиране и молекулите попаднат от една течност в друга [29]. Престерификацията на захароза с естери на мастни киселини може да бъде ускорена чрез ултразвуково облъчване. Получена е хомоложна серия захарозни моноестери с N-ацилни вериги от 8, 12, 14 и 16 въглеродни атома чрез ултразвуково облъчване с добър добив (73%) и висок процент на моноестери (92%). Експерименталните условия, които влияят на добива, са видът и концентрацията на катализатора, времето за реакция и системата за налягане [19].



Фигура 4. Реакционна схема на синтез на сукроестери при ултразвуково въздействие [19]

Особено важна е ролята и на катализатора при синтеза на сукроестери (Табл. 1).

Таблица 1. *Връзка между катализатор и крайния добив [19]*

Катализатор	Mol (%)	Налягане (кПа)	Време (h)	Добив (%)
Без	0	11	5	0
NaH ₂ PO ₄	200	100	4	0
NaH ₂ PO ₄	200	11	3	2
K ₂ CO ₃	10	100	2	10.5
K ₂ CO ₃	8	11	2	63.6
K ₂ CO ₃	10	11	2	67.7
K ₂ CO ₃	13	11	2	74.8
K ₂ CO ₃	16	11	2	68.1
K ₂ CO ₃	20	11	2	60.4
K ₂ CO ₃ +PEG-400	10	100	3	0
K ₂ CO ₃ +PEG-400	10	11	2.5	10.1

4. Ензимен синтез

Ензимите са успешно прилагани за региоселективни синтези на моно- и олигозахариди, включително ацилиране, деацилиране и окислителни реакции. Синтезът на сукроестери посредством ензимна катализа осигурява регио- и стереоселективни продукти (Табл. 2).

Таблица 2. *Ацилиране на захароза в органичен разтворител чрез ензимен катализатор [5, 35, 37]*

Ензим	Разтворител	Ацилиращ агент	Място на ацилиране
Протеаза N	DMF	Винилов естер (C ₈)	1'
Протеаза N	DMF	Метилов естер (C ₈ -C ₁₂)	1'
Субтилисин	DMF	2,2,2-трихлороетил бутират	1'
Субтилисин BPN'	Пиридин	Винилов естер (C ₂ -C ₁₀)	1', 6
Субтилисин Carlsberg	Пиридин	Винилов естер(C ₂ -C ₁₀)	1', 6
Субтилисин	Пиридин	Винилов естер(C ₁₂ -C ₁₈)	1'

Термолизин	DMSO	Винил лауреат (C ₁₂)	2
Алкална протеаза AL 89	DMF:DMSO (1:1 v/v)	Винилов естер (C ₁₀ -C ₁₈)	2
Липаза В от <i>C. antarctica</i>	<i>t</i> -бутанол	Етилов бутират (C ₄)	6, 6'
Липаза В от <i>C. antarctica</i>	<i>t</i> -пентанол-пиридин (11:9 v/v)	Винил стеарат (C ₁₈)	6, 6'

Условията, при които протича синтезът, са по-меки в сравнение с химичния, което ограничава нежеланите странични реакции [3, 15]. Обаче за оптимизирането на реакцията на ензимна катализа е необходимо да се съобразят голям брой параметри [9, 23]:

- 1. Водна активност:** Минималното съдържание на вода е необходимо за поддържане на ензима в активна форма [2, 14, 25].
- 2. Природата на органичния разтворител:** Трябва да се вземе предвид как органичният разтворител влияе на ензима и субстрата, ефективността, рентабилността на реакцията, спазването на законодателството относно областта на приложение на разтворителите и тяхната токсичност в храните.
- 3. Условия на реакцията:** температура, рН, време за реакция и молно съотношение, полярност на средата [4, 9]. Разтворители като пиридин, диметилформамид и *t*-бутилов алкохол [24, 34, 44] разтварят захарозата и мастните киселини, но само няколко ензима запазват своята активност в тези разтворители [3]. Освен това използването на разтворители, които са съвместими с прилагането на захарни естери като хранителни добавки, се ограничава от Директива 96/77/ЕО. Установено е, че суперкритичният въглероден диоксид (SCCO₂) може да се използва като алтернативен разтворител. Той е незапалим, нетоксичен и по време на ензимен синтез не образува странични продукти [28,42].

Антимикробна активност на сукроестери

Поради добрите си повърхностноактивни свойства естери на мастните киселини със захароза се използват като ПАВ. Тези естери представляват възобновяем ресурс и имат широк спектър на приложение в ХВП [12]. Бактерицидната им активност зависи от тяхната приро-

да – дължина на алкилната верига, както и от щама микроорганизми. По принцип грам-положителните бактерии са по-чувствителни от грам-отрицателните. Това явление може би се дължи на разликата в строежа на външната мембрана на клетъчната стена на бактериите [40]. Все още не е напълно изяснен механизмът, чрез който сукроестерите унищожават микроорганизмите. Електронномикроскопски изследвания показват, че липидните молекули имат способността да разрушават клетъчните мембрани [20]. Сукроестерите проявяват тенденция за понижаване на антимикробния ефект на дадения естер с повишаване дължината на веригата [7]. Сукроестерите са неактивни към развитието на грам-отрицателни бактерии, обаче проявяват активност към грам-положителни. По-голямата молекулна структура води до химични и структурни промени, които повлияват понижаването на инхибиращата активност на активната субстанция спрямо тествания микроорганизъм. Установено е, че средноверижните мастни киселини на захарозните естери са най-активни [21]. Дори сукролауринатът има по-висока активност срещу *E. coli* от самата лауринова киселина [7], като инхибиращата концентрация е 1 mg/mL [22]. С висока активност се отличават и захарозни моноестери с 10-ундециленовата киселина, което показва потенциалното им приложение като антигъбични, антибактериални и антивирусни препарати в козметиката, медицината и храните [36]. Търговските сукроестери се влагат като антимикуробни агенти в консервирани храни и напитки главно в Япония с цел стабилизиране на емулсиите по време на стерилизационния процес и за инхибиране развитието на спори на бактерии [17].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Получаването на сукроестери може да протече по химичен или по ензимен начин. При ензимния подход може да се използват като биологични катализатори различни видове липази. Основното предимство на ензимния синтез е високата му региоселективност, което може да доведе до получаване на високоефективен биологично активен естер. Освен това ензимният метод може да се извършва при меки реакционни условия. Така денатурирането на субстрата и/или продуктите може да бъде избегнато. Въпреки че химическият синтез се характеризира с ниска селективност и води до смес от захарни естери с различна степен на естерификация, той осигурява високи добиви и ниска себестойност. Той все още е предпочитаният метод за продукти с определени

функционални свойства. Съпътстващите проблеми – токсични органични разтворители и високи температури, което води до оцветяване на крайните продукти и карамелизиране на захарозата, могат да се избегнат при използването на нови технологични подходи: суперкритичен въглероден диоксид, ултразвуково поле и високочестотно облъчване. Полученият краен продукт от моноестери или смес от моно-, ди- и полиестери се характеризира с повишена биологична активност с широко приложение в различни области на хранителната и фармацевтичната индустрия.

ЛИТЕРАТУРА

1. Allen, D. K., Tao, B. Y., Carbohydrate-alkyl ester derivatives as biosurfactants. *J. Surfact. Deterg.*, 1999, 2, 383 – 390.
2. Blecker, C., La catalyse en milieu organique: potentialité d'utilisation des lipases. *Bull. Rech. Agron. Gembloux*, 1993, 28, 51 – 85.
3. Cao, L., Fischer, A., Bornscheuer, U. T., Schmid R. D., Lipase-catalyzed solid phase synthesis of sugar fatty acid ester, *Biocatal. Biotransform.*, 1997, 14, 269 – 283.
4. Carrea, G., Ottolina, G., Riva S., Role of solvent in the control of enzyme selectivity in organic media. *Trends Biotechnol.*, 1995, 13, 63 – 70.
5. Chamouleau, F., Coulon, D., Girardin, M., Ghoul, M., Influence of water activity and water content on sugar esters lipase-catalyzed synthesis in organic media, *J. Mol. Catal. B: Enzymatic*, 2001, 11, 949 – 954.
6. Chortyk, O. T., Pomonis, J. G., Johnson, A. W. Synthesis and characterization of insecticidal sucrose esters. *J. Agric. Food Chem.*, 1996, 44, 1551 – 1557.
7. Conley, A., Kabara, J., Antimicrobial action of esters of polyhydric alcohols, *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 1973, 4(5), 501 – 506.
8. Corsaro, A., Chiacchio, U., Pistara, V., Romeo, G., Microwave-assisted Chemistry of Carbohydrates, *Curr. Org. Chem.*, 2004, 8, 511 – 538.
9. Coulon, D., Ghoul, M., The enzymatic synthesis of non ionic surfactants: the sugar esters – an overview., *Agro. Food Ind. Hi Tech.*, 1998, 9, 22 – 26.

10. Cruces, M. A., Otero, C., Bernabe, M., Martin-Lomas, M., Ballesteros, A. Enzymatic preparation of acylated sucroses. *Annals N. Y. Acad. Sci.*, 1992, 672, 436 – 443.
11. Crucho, C. C., Petrova, K. T., Pinto, R. C., and Barros, M. T., Novel Unsaturated Sucrose Ethers and Their Application as Monomers, *Molecules*, 2008, 13, 762 – 770.
12. Ferrer, M., Soliveri, J., Plou, F. J., Lopez-Cortes, N., Reyes-Duarte, D., Christensen, M., Copa-Patiño, J. L., Ballesteros A., Synthesis of sugar esters in solvent mixtures by lipases from *Thermomyces lanuginosus* and *Candida antarctica* B, and their antimicrobial properties. *Enzyme & Microb. Tech.*, 2005, 36, 391 – 398.
13. Fregapane, G., Sarney, D. B., Greenberg, S.G., Knight D. J., Vulfson E. N., Enzymatic synthesis of monosaccharide fatty acid esters and their comparison with conventional products., *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 1994, 71, 87 – 91.
14. Gorman, L. A. S., Dordick J. S., Organic solvents strip water off enzymes. *Biotechnol. Bioeng.*, 1992, 39, 393 – 397.
15. Gumel, A. M., Annuar, M. S. M., Lipase mediated synthesis of sugar fatty acid esters, *Process Biochemistry*, 2011, 46 (11), 2079 – 2090.
16. Gupta, R. K., Sucrose Esters and Sucrose Ester/Glyceride Blends as Emulsifiers, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 1983, 60, 862 – 869.
17. Habulin, M., Šabeder, S., Knez, Ž., Enzymatic synthesis of sugar fatty acid esters in organic solvent and in supercritical carbon dioxide and their antimicrobial activity, *Journal of Supercritical Fluids*, 2008, 45 (3), 338 – 345.
18. Herzfeld, A., Acetylierung einiger Kohlenhydrate nach dem LiebermannYschen Verfahren, *Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft*, 1880, 13 (1), 265 – 268.
19. Huang, D., Jiang, X., Improved synthesis of sucrose fatty acid monoesters under ultrasonic irradiation, *Ultrasonics Sonochemistry*, 2010, 17, 352 – 355.
20. Kabara, J., *Antimicrobials in Food*. Marcel Dekker, New York, 1993, 307 – 341.
21. Kabara, J., Marshall, D., *Medium-chain fatty acids and esters, Antimicrobials in food*, (Eds P. Davidson, J. Sofos, A. Branen), CRC press Taylor & Francis Group, New York, 2005, 328 – 336.

22. Kato, A., Arima, K., Inhibitory effect of sucrose ester of lauric acid on the growth of *Escherichia coli.*, *Biochemical & Biophysical Research Communications*, 1971, 42 (4), 596 – 601.
23. Krishna, S. H., Manohar, B., Divakar, S., Karanth, N. G., Lipase-catalysed synthesis of isoamyl butyrate: optimisation by response surface methodology., *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 1999, 76, 1483 – 1488.
24. Ku, M. A., Hang, Y. D., Enzymatic synthesis of esters in organic medium with lipase from *Byssoschlamys*, *Biotechnol. Lett.*, 1995, 17, 1081 – 1084.
25. Liaquat, M., Owusu Apenten R. K., Synthesis of low molecular weight flavour esters using plant seedling lipase in organic media., *J. Food. Sci.*, 2000, 65, 295 – 299.
26. Lidström, P.; Tierney, J.; Wathey, B.; Westman, J. *Tetrahedron*, 2001, 57, 9225.
27. Marshall, D. L., Bullerman, L. B., Antimicrobial properties of sucrose fatty acid esters, In: Akoh, C. C. and B. G. Swanson, B. G. (Eds.) Carbohydrate Polyesters as Fat Substitutes, Marcel Dekker, 1994, 149 – 167.
28. Marty, A., Combes, D., Condoret, J.-S., Continuous reaction–separation process for enzymatic esterification in supercritical carbon dioxide, *Biotechnol. Bioeng.*, 1994, 43, 497 – 504.
29. Mason, T. J., Practical Sonochemistry, Ellis Horwood Ltd., 1991.
30. Molinier, V., Fitremann, J., Bouchu, A., Queneau, Y., Sucrose esterification under Mitsunobu conditions: evidence for the formation of 6-O-acyl-3',6'-anhydrosucrose besides mono and diesters of fatty acids, *Tetrahedron: Asymmetry*, 2004, 15, 1753 – 1762.
31. Nakamura, S., Using sucrose esters as food emulsifiers, *Oleochemicals*, 1997, 8, 866 – 874.
32. Ntawukulilyayo, J. D., Demuyneck, C., Remon, J. P., Microcrystalline cellulose – sucrose esters as tablet matrix forming agents. *Int. J. Pharm.*, 1995, 121, 205 – 210.
33. Okabe, S., Saganuma, M., Tada, Y., Ochiai, Y., Sueoka, E., Kohya, H., Shibata, A., Plou F. J., M. A Cruces., M. Bernabe, M. Martin-Lomas, J. L. Parra, A. Ballesteros. Enzymatic synthesis of partially acylated sucroses, *Enzyme Eng. XII – Ann. N Y Acad. Sci.*, 1995, 750, 332 – 337.

34. Plou, F. J., Cruces, M. A., Ferrer, M., Fuentes, G., Pastor, E., Bernabe, M., Christensen, M., Comelles, F., Parra, J. L., Ballesteros, A., Enzymatic acylation of di- and trisaccharides with fatty acids: choosing the appropriate enzyme, support and solvent, *J. Biotechnol.*, 2002, 96 (1), 55 – 66.
35. Polat, T., R. J. Lindhardt, Syntheses and applications of sucrose-based esters. *Journal of Surfactants and Detergents*, 2001, 4(4), 407 – 414.
36. Raku, T., Kitagawa, M., Shimakawa, H., Tokiwa, Y., Enzymatic synthesis of hydrophilic undecylenic acid sugar esters and their biodegradability, *Biotech. Lett.*, 2003, 161, 161 – 166.
37. Riva, S., Nonini, M., Ottolina, G., Danieli, B. (1998) Subtilisin-catalyzed esterification of di- and oligosaccharides containing a D-fructose moiety, *Carbohydr. Res.*, 314, 259 – 266
38. Sin, Y. M., Cho, K. W., Lee, T. H. (). Synthesis of fructose esters by *Pseudomonas* sp. lipase in anhydrous pyridine, *Biotechnol. Lett.*, 1998, 20, 91 – 94.
39. Spiliotis, N., Voustas, E., Magoulas, K., Tassios, D. Recovery of fructose laurate produced through enzymatic esterification. *Separ. Purif. Technol.*, 2000, 19, 229 – 236.
40. Sun, C., O'Connor, C., Robertson, A., Antibacterial actions of fatty acids and monoglycerides against *Helicobacter pylori*, *FEMS Immunology & Medical Microbiology*, 2003, 36 (1 – 2), 9 – 17.
41. Takahashi, M., Mizutani, M., Matsuzaki, T. and Fujiki, H., Disaccharide esters screened for inhibition of tumor necrosis factor- α release are new anticancer agents. *Jpn. J. Cancer Res.*, 1999, 90, 669 – 676.
42. Tsitsimpikou, C., Stamatis, H., Sereti, V., Dafflos, H., Kolisis F. N., Acylation of glucose catalyzed by lipases in supercritical carbon dioxide, *J. Chem. Technol. Biotechnol.*, 1998, 71, 309 – 314.
43. Watanabe, T., Sucrose fatty acid esters-past, present and future., *Foods Food Ingredients Journal of Japan*, 1999, 180, 18 – 25
44. Woudenberg-van Oosterom, M., F. Van Rantwijk, R. A., Sheldon, Regioselective acylation of disaccharides in tert-butyl alcohol catalyzed by *Candida antarctica* lipase, *Biotechnol. Bioeng.*, 1996, 49, 328 – 333.

HYDROTHERMALLY ACTIVATED ZnO FOR PHOTOCATALYTIC DISCOLORATION OF TEXTILE DYE POLLUTED WATER

*M. Shipochka**, *K. Milenova***, *L. Dimitrov****,
*I. Stambolova**, *V. Blaskov**, *D. Stoyanova**, *A. Eliyas***

** Institute of General and Inorganic Chemistry, BAS,
Acad. G. Bonchev Str., bl. 11, 1113 Sofia, Bulgaria,*

*** Institute of Catalysis, BAS, Acad. G. Bonchev Str.,
bl. 11, 1113 Sofia, Bulgaria, e-mail: kmilenova@ic.bas.bg*

**** Institute of Mineralogy and Crystallography „Acad. I. Kostov“,
Acad. G. Bonchev Str., bl. 109, 1113 Sofia, Bulgaria*

ABSTRACT

Two ZnO powder-form photocatalytic materials have been prepared by two different methods: precipitation and hydrothermal activation. The powders have been characterized by the following methods: X-ray diffraction (XRD), Infrared spectroscopy (IRS) and BET analysis for determination of specific surface area and pore size distribution. According to the XRD results the powders represent well crystallized wurtzite phase without any other impurities. This result has been proved also by IR spectroscopic data. BET analyses revealed that the samples have micropores as well as mesopores in the range 2÷22 nm.

The photocatalytic activity tests were carried out in the reaction of oxidative discoloration of aqueous solution of the model azo dye contaminant (Reactive Black 5 (RB5), concentration 20 ppm), applied in the textile industry. The discoloration of the dye was estimated under UV light illumination in view of the wide band gap of ZnO semiconductors. The discoloration degree after 2 hours of illumination over the hydrothermally obtained samples is 65% with rate constant of $8.5 \times 10^{-3} \text{ min}^{-1}$. The obtained results show that the application of hydrothermal activation of the precipitate is a promising method for preparation of well-crystallized ZnO nanopowders, possessing activity for azo dye discoloration under UV light.

Key words: *photocatalysis, ZnO, azo dye, mesopores*

INTRODUCTION

Zinc oxide (wurtzite crystalline structure) is a wide band gap semiconductor (3.37 eV), possessing excellent electrical, optical, sensing, catalytic and other properties, which favour its numerous potential applications in various electronic, optoelectronic, sensing, energy storage and other devices [1]. Another aspect of zinc oxide applications includes major uses of ZnO, particularly in powder form, as pigments [2], photocatalysts [3], and UV absorbers. Many expensive ZnO synthesis methods, such as metallic zinc vaporization [4] or decomposition of zinc-containing salts [5], have also been applied. Among the ZnO powders preparation techniques, the hydrothermal method is a low cost and fast synthesis method, offering potential applicability to obtain non-aggregated ZnO structures with different morphologies and narrow range of crystallite size distributions [6].

Synthetic dyes, which are harmful even at low concentration to the environment, are continuously being discharged into the environment in the form of effluents, originating from the textile, leather and printing industries. Photocatalytic oxidation, based on UV-irradiated semiconductor metal oxides is a potentially applicable process for discoloration of wastewaters, since the chromophoric groups can be disrupted leading to their degradation and mineralization. The researchers have developed many materials and tested them as photocatalysts: ZnO, TiO₂, WO₃, Fe₂O₃ etc. Among them, ZnO is an outstanding material for photocatalytic detoxifica-

tion of organic pollutants, due to its excellent properties (inexpensiveness, non-toxic nature, high photosensitivity and at the same resistant to photo-corrosion) [7].

The aim of this work was the application of hydrothermal activation to the ZnO precipitates to obtain powders, observing the effect on the photocatalytic efficiency for azo dye discoloration.

EXPERIMENTAL DETAILS

1. Materials synthesis

All chemicals were commercial analytical grade of purity reagents without any further purification. In a typical experiment, the Zn^{2+} precursor ($\text{Zn}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$) solution was prepared by dissolving of 2 g Zn acetate in 200 ml deionized water. Sodium hydroxide (2,4 g) was dissolved into 15 ml water. The precipitant sodium solution was added slowly into zinc acetate solution until reaching $\text{pH} = 13$. The pH of the solution was checked by means of color-fixed indicator strips (Machery-Nagel, Germany). The resulting suspension was magnetically stirred for 2h and then transferred into a Teflon-lined autoclave. The autoclave was heated at 140°C for 12 h, after that the autoclave was cooled down naturally. The white powder was collected and washed with distilled water and ethanol several times. Then the resulting powder was dried at 80°C for 10 hours. The so prepared ZnO material was denoted by (B).

In order to estimate the activities of these materials additional photocatalytic experiment with ZnO referent samples was conducted. Activated ZnO powder (A) was obtained by procedures, described in Bulgarian Patent [8]. The preparation procedure includes dissolution of commercial ZnO in nitric acid, followed by the addition of NH_4OH solution leading to precipitation of $\text{Zn}(\text{OH})\text{CO}_3$ in the course of CO_2 bubbling (barbotage) and finally thermal decomposition at 450°C 2 h.

2 Characterization

X-ray diffraction (XRD) patterns were recorded on a Bruker D2 Phaser diffractometer in the range of 2θ values between 25° and 75° using Cu K_α radiation ($\lambda = 0.154056 \text{ nm}$) at 40 kV and 35 mA. The samples were scanned at a step of 0.05° and signal collection time 1 second per step. The observed patterns were cross-matched with those available in the JCPDS database.

The IRS investigations were carried out on a Bruker FT-IR Tensor-37 spectrometer in the 400 – 4000 cm^{-1} spectral region using a KBr technique. The measurements were performed at 2 cm^{-1} resolution, accumulating 32 scans.

The express BET method has been applied to measure the specific surface area, based on low-temperature adsorption of nitrogen – i.e. at the boiling temperature of liquid nitrogen 77K. The relative error of the method amounts to about 8%. The specific surface area measurement and the pore size distribution were accomplished on an automated apparatus NOVA Win/ Nova Win – CFR Quantachrom – Gas Sorption System. The calculation of the specific surface area was done using the BET equation, whereupon the pore size distribution, as well as the average pore diameter were evaluated by Density Functional Theory (DFT) assuming a cylindrical model of the pores. The total pore volume was estimated in accordance with the rule of Gurvich at relative pressure $P/P_0 = 0.96$.

The UV–Vis absorption spectra were recorded by a spectrophotometer UV-1600PC using wavelength range from 200 to 800 nm.

3 Photocatalytic activity tests

The model azo dye Reactive Black 5 (RB5) aqueous solution with concentration of 20 ppm was used for the tests. The suspensions were prepared by addition of 150 mg ZnO into the solution in a magnetically stirred glass beaker. Prior to switching on the illumination, the suspension had been kept in the dark for half an hour to achieve adsorption-desorption equilibrium. Then the solution was illuminated with polychromatic UV-A lamp illumination (18 W giving 0.66 mW/cm^2 illumination intensity) with maximum emission at wavelength 365 nm under continuous stirring at room temperature. The absorbance of RB5 solution is measured at 599 nm, corresponding to the azo bond. The course of the photocatalytic oxidation reaction was followed by taking aliquot samples of the solution at regular time intervals and calculating the residual concentration, based on calibration, using spectrophotometer UV-1600PC in the wavelength range from 200 to 800 nm.

RESULTS AND DISCUSSION

Figure 1 shows an XRD spectrum of a ZnO activated (a) and hydrothermal (b) powders. The results show that all the ZnO samples possess a wurtzite structure (space group P63mc), and the diffraction peaks can be

indexed to hexagonal ZnO (JCPDS no. 36 – 1451) [9]. The samples possess high degree of crystallization, which is obvious from the narrow width of the peaks. No other crystallographic phases were registered.

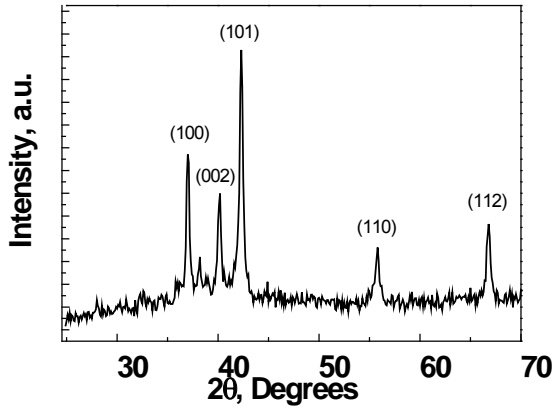


Figure 1-a. XRD pattern of activated ZnO powders (sample A)

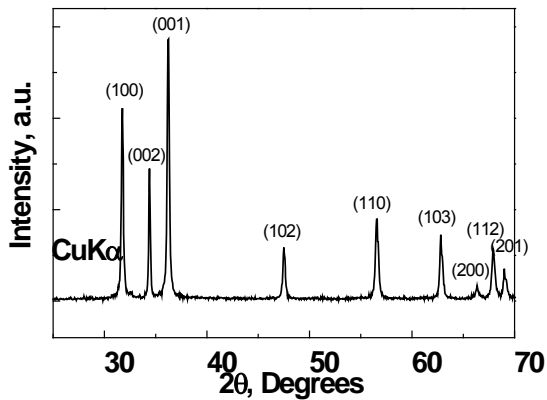


Figure 1-b. XRD pattern of hydrothermally obtained ZnO powders (sample B)

Figure 2 represents the IR spectrum of hydrothermally activated ZnO powders with characteristic bands at 422, 471 and 575 with a shoulder at 534 cm^{-1} .

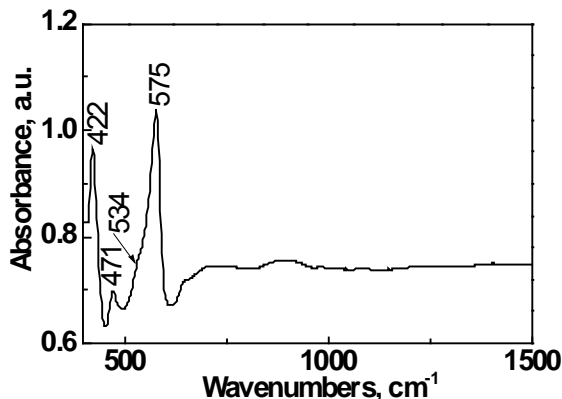


Figure 2. IR spectrum of hydrothermally obtained ZnO sample

The ZnO powders IRS spectra show characteristic bands at 422, 471 and 575 with a shoulder at 534 cm^{-1} . These bands of ZnO are somewhat different from the ones, observed at 487 and 517 cm^{-1} by Hariharan [10]. In several other works the respective bands are observed at 539 cm^{-1} , close to the shoulder, observed also at 539 cm^{-1} in the present work [11] and the one at 419 cm^{-1} [12]. All the bands were assigned to the Zn-O bonding without specifying the type of vibrations at 422 cm^{-1} indicative of Zn-O bonding [11], the 539 cm^{-1} and 419 cm^{-1} bands were also ascribed to Zn-O bonding, for ZnO flowers-like crystals [12].

The desorption isotherm of hydrothermally treated precipitate B belongs to the type IV of isotherms probably with a hysteresis loop H3, following the nomenclature of IUPAC, representative of the presence of cylindrical pores. Similar BET behavior was displayed by the ZnO particles [13]. The adsorption-desorption isotherm of the sample A is similar. Taking into account the pore size distribution it can be concluded that the hydrothermally obtained powders contain both micropores (2 – 10 nm) and mesopores in the range 10 – 22 nm. The average pore diameters for B sample is 8.4 nm and total pore volume is $2.1 \times 10^{-2} \text{cm}^3/\text{g}$. The surface area of the sample A (19 m^2/g) is larger than that of the sample B (10 m^2/g).

Figure 3 represents the results from the testing of the photocatalytic activity of the sample B, compared with referent ZnO sample A, prepared by activation.

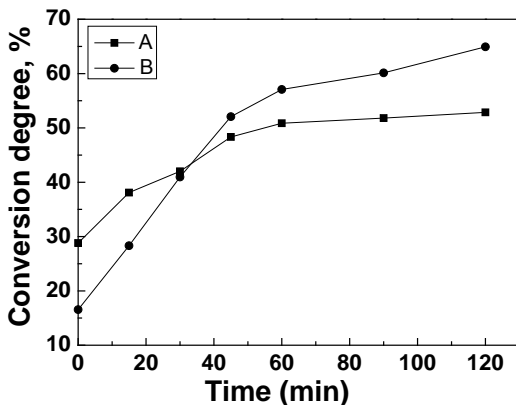


Figure 3. Conversion degree as a function of the time of illumination of hydrothermally prepared sample B and referent sample A

The conversion degree of the dye degradation was evaluated using the following equation:

$$D, \% = (C_0 - C / C_0) \times 100 \quad (1)$$

Where C_0 is the initial absorbance of the dye solution, C is the absorbance of the decolorized solution after 120 minutes. The presented values of the degradation were measured with 150 mg of photocatalyst in 150 ml of the solution.

The sample A is more active (30% adsorptive discoloration in the dark) due to its higher specific surface area, respectively larger adsorption capacity. However the advantage of mesoporous hydrothermally obtained sample becomes obvious after the 40th minute of UV illumination, which is understandable in view of the large size of the dye molecule of Reactive Black 5 and probable diffusion retardation effect. It is well-known that the photocatalytic activities are strongly dependent on the specific surface areas of the photocatalyst samples as the reactant molecules are adsorbed on their surfaces. The presence of mesopores in sample B porous structure provides a larger number of active sites for the photocatalytic reactions. In

addition to this, the mesoporous channels also facilitated the diffusion of reactant molecules thereby increasing the quantum efficiency of photocatalytic material [14].

CONCLUSIONS

Two types of ZnO photocatalyst samples have been prepared by: 1) precipitation method (sample A), 2) hydrothermal treatment (sample B). The photocatalytic activity test revealed that sample B is more active than A, due to the prevailing mesopores in the porous structure. The photocatalytic activity is a counterplay between two factors: adsorption capacity, which is higher at greater specific surface area (sample A), on one side. The second factor is the facilitated diffusion in mesopores (sample B), whose advantage is revealed only after longer time intervals of irradiation making the entire internal surface area available to the adsorbate molecules. The low-cost hydrothermal synthesis procedure enables obtaining well crystallized wurtzite phase ZnO powders, having great potential for photocatalytic applications.

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors express their gratitude to the National Science Fund for the sponsorship of Contract NSF T 02 16/12.12.2014. This work was carried out thanks to the joint cooperation between the Bulgarian Academy of Sciences Bulgaria and Serbian Academy of Sciences and Arts in project „Development of advanced catalytic systems applicable to chemical and photochemical processes for neutralization of environmental pollutions“.

REFERENCES

1. Udom, I., M. K. Ram, E. K. Stefanakos, A. F. Hepp, D. Y. Goswami, *Mater. Sci. Semicond. Process.*, 16, 2013, 2070.
2. Ekamparam, S., *J. Alloys Compd.*, 390, 2005, L4.
3. Milenova, K., I. Avramova, A. Eliyas, V. Blaskov, I. Stambolova, N. Kassabova, *Environ. Sci. Poll. Res.* 21, 2014, 12249.
4. Brown, H. E., *Zinc Oxide-Properties and Applications*, International Lead Zinc Research Organization Inc., New York, 1976.

5. Bhushan, S., in: D. R. Vij, N. Singh (Eds.), *Zinc Oxide*, Nova Science Publishers Inc., Commack NY, 1998, p. 363 – 386.
6. Baruah, S., A. Dutta, IOP publishing, *Sci. Technol. Adv. Materials*, 10, 2009, 013001.
7. Stambolova, I., V. Blaskov, M. Shipochka, S. Vassilev, C. Dushkin, Y. Dimitriev, *Mater. Chem. Phys.*, 121, 2010, 447.
8. Shishkov, D., C. Velinova, N. Kassabova, C. Canov, D. Ivanov, D. Klisurski, V. Iordanova, I. Uzunov (1980), Method of preparation of activated zinc oxide. Bulgarian Patent 28915/1980 (Classification Index C 01 G 9/02) (in Bulgarian).
9. Xua, L., H. Wang, L. Yang, M. Jiang, S. Weia, T. Zhang, Low temperature growth of highly crystallized ZnO: Al films by ultrasonic spray pyrolysis from acetylacetone salt, *Mater. Sci. Eng. B* 167 (2010), 182 – 186.
10. Hariharan, C., Photocatalytic degradation of organic contaminants in water by ZnO nanoparticles: Revisited, *Appl. Catal. A*, 304 (2006), 55 – 61.
11. Wu, L., Y. Wu, L. Wei, Preparation of ZnO Nanorods and optical characterizations, *Physica E*, 28, № 1 (2005), 76 – 82.
12. Saikia, L., D. Bhuyan, M. Saiki, B. Malakar, D. K. Dutta, P. Sengupta, Photocatalytic performance of ZnO nanomaterials for self sensitized degradation of Malachite Green dye under solar light, *Appl. Catal. A*, 490 (2015), 42 – 49.
13. Liu, I.-H., P. Chen, Coarsening, coalescence and sintering of hexagonal ZnO elongated nanoparticles, *Ceram. Int.* 36, № 4 (2010), 1289 – 1296.
14. Lamba, R., A. Umar, S. K. Mehta, S. K. Kansal, Well-crystalline porous ZnO – SnO₂ nanosheets: An effective visible-light driven photocatalyst and highly sensitive smart sensor material, *Talanta*, 131 (2015), 490 – 498.

НАСОЧЕН СИНТЕЗ И РЕГИОСЕЛЕКТИВНИ ЦИКЛИЗАЦИИ НА 4-ХИДРОКСИ-1,3,4-ТРИФЕНИЛАЛЕНИЛ ФОСФОНАТ И ФОСФИН ОКСИД

Хасан Хасанов, Ивайло Иванов, Валерий Христов

Шуменски университет „Епископ Константин Преславски“,

Факултет по природни науки,

Катедра по органична химия и технология,

9712 Шумен, ул. „Университетска“ 115,

e-mail: hasi__@abv.bg

ABSTRACT

The paper describes a convenient and efficient method for regioselective synthesis of 4-hydroxy-1,3,4-triphenylallenyl phosphonate and phosphine oxide using an atom economical [2,3]-sigmatropic rearrangement of intermediate propargyl phosphites or phosphinites. These can be readily prepared via reaction of protected alkynol with dimethyl chlorophosphite or chlorodiphenyl phosphine respectively in the presence of a base. Reactions of the prepared 3-hydroxymethyl-substituted allenephosphonate and allenyl phosphine oxide with protected and unprotected hydroxyl group with different electrophilic reagents such as sulfonyl chloride, bromine, benzenesulfonyl and benzeneselenyl chlorides takes place with 5-endo-trig cyclization or 2,3-addition reaction depending on the kind of the substituents in phosphoryl group. Cycloisomerization reactions of 3-hydroxymethyl-substituted allenephosphonate and allenyl phosphine oxide with the so called coin metals ions such as Ag^+ , Au^+ , Cu^+ etc. leads to formation of the 2-phosphorylated-2,5-dihydrofurans.

Key words: *Synthesis, hydroxy group protection, phosphorylated 4-hydroxyallenes, electrophilic cyclization, 2,5-dihydro-1,2-oxaphospholes, 2,5-dihydrofuranes.*

ВЪВЕДЕНИЕ

През последните десетилетия изследванията в областта на органичната химия се характеризират с бързото развитие на химията на аленовите съединения [1]. Особено интересни субстрати за изследване на реакциите на електрофилно присъединяване са функционализираните алени. В литературата са описани редица методи за получаване на фосфорилираните алени (фосфонати [2] и фосфин оксиди [3]). За разлика от аленовите въглеводороди, наличието на фосфорна функционална група, свързана с аленовата система, съществено променя хода на реакциите с електрофилни реагенти, като литературните данни [4] показват, че в повечето случаи протича петчленна хетероциклизация.

В продължение на нашите изследвания върху реакциите на циклизация на функционализираните алени ние си поставихме следните цели и задачи в настоящата работа, а именно: 1) Създаване на удобни и високоселективни методи за синтез на 3-хидроксиметил-аленфосфонати и аленил фосфин оксиди с възможности за вариране на заместителите както в аленовата система, така и във фосфорната и хидроксиметилната функция; и 2) Изследване на реакциите на електрофилна циклизация и циклоизомеризация на получените 3-хидроксиметил-аленфосфонати и аленил фосфин оксиди при взаимодействие с електрофилни реагенти и йони на т. нар. монетни метали (Ag, Au и Cu) с оглед проучване на възможностите и ограниченията на протичащата циклизация с конкурентното участие на едната и/или другата функция, свързани с аленовата система.

ИЗЛОЖЕНИЕ

Ние създадохме и използвахме един нов *региоселективен* метод (Схема 1) за получаване на фосфорилирани 3-хидроксиалени, който се състои във взаимодействие на етилмагнезиев бромид, получен *in situ* от етил бромид и магнезий, с фенилацетилен **1** с междинно образуване на съответния етинил магнезиев бромид **A**. Последният след нуклеофилно присъединяване към карбонилната група на бензоина **2**, на който предварително беше защитена хидроксилната група с помощ-

та на DHP (3,4-дихидро-2*H*-пиран), води до получаване на 1-(тетрахидро-2*H*-пиран-2-илокси)-заместения 3-бутин-2-ол **4**.

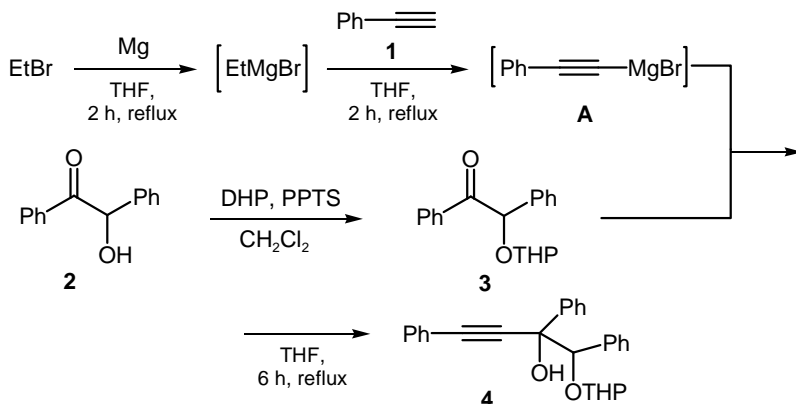


Схема 1

Така синтезираният от нас алкинол **4** използвахме като изходен субстрат за получаването на фосфорилирани 3-хидроксиалени със защитена и незащитена хидроксилна група.

Взаимодействието на алкохола **4** с диметилхлорофосфит в присъствие на триетиламин протича с междинно образуване на съответния пропаргил фосфит **B**, който търпи [2,3]-сигматропна прегрупировка и получаване на 4-(тетрахидро-2*H*-пиран-2-илокси)-бута-1,2-диенфосфоната **5** (Схема 2):

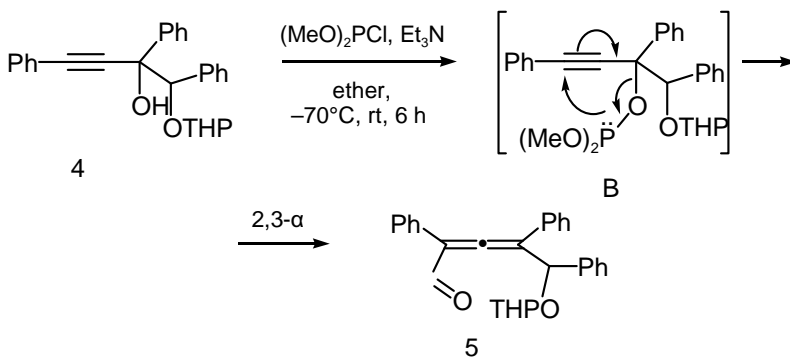
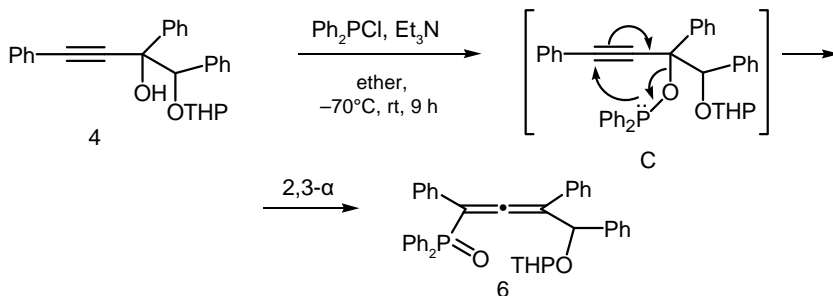


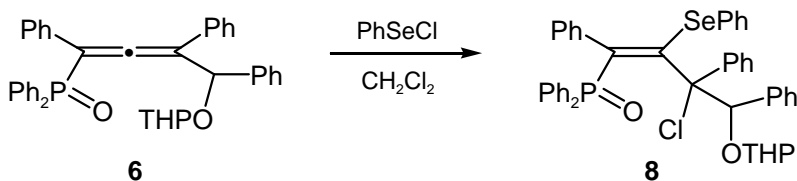
Схема 2

От друга страна, взаимодействието на дифенилхлорофосфин със заместения алкохол **4** в присъствие на база протича с междинно образуване на съответния пропаргил фосфинит **C**, който лесно при стайна температура търпи [2,3]-сигматропна прегрупировка и води до получаване на 2-(4-дифенилфосфиноил-бута-2,3-диенилокси)-тетрахидро-2*H*-пирана **6** (Схема 3):



Така получените фосфорилирани алени **5** и **6** по предложения метод използвахме като субстрати за по-нататъшно изследване на реакциите на електрофилна циклизация.

Нашите изследвания показаха, че бромването на аленфосфоната **5** протича с 5-*endo-trig* циклизация с анхимерното съдействие като вътрешен нуклеофил само на фосфонатната група и с получаване на 2,5-дихидро-1,2-оксафосфола **7** (Схема 4):



Взаимодействието на аленил фосфин оксида **6** с бензенселанил хлорид протича *региоселективно* с присъединяване на реагента по 2,3-двойната връзка на аленовата система с получаването на ациклическия – бут-(1*E*)-ен-1-ил фосфин оксид **8** (Схема 5):

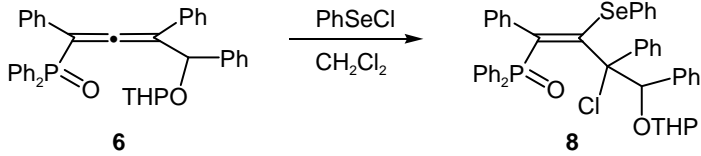


Схема 5

Следващата задача, която си поставихме, бе да изследваме реакциите на електрофилна циклизация на аленфосфоната **5** и фосфин оксида **6** след свалянето на защитата на хидроксилната група. Реакцията осъществихме в етанол в присъствие на каталитични количества на PPTS (пиридиниев *p*-толуен сулфонат) с получаване на очакваните 3-хидроксиметил-заместени аленфосфонат **9** и аленил фосфин оксид **10** (Схема 6):

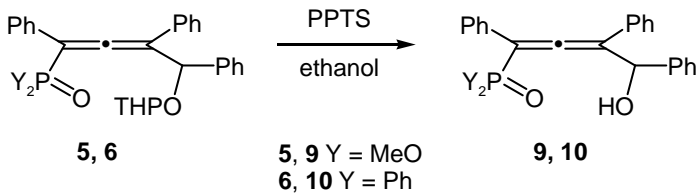


Схема 6

Трябва да отбележим, че реакцията на получените 3-хидроксиметил заместени аленфосфонат **9** и аленил фосфин оксид **10** с електрофилни реагенти протича по подобен на взаимодействието на съответните им фосфонат **5** и фосфин оксиди **6** със защитена хидроксилна група. С 5-*endo-trig* циклизация и получаване на 5-хидроксиметил-заместения 2,5-дихидро-1,2-оксафосфол **11**, при взаимодействие на аленфосфоната **9** с бензенселанил хлорид (Схема 7):

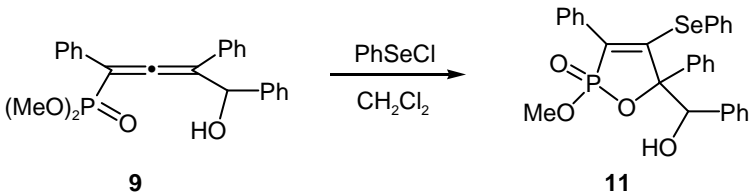
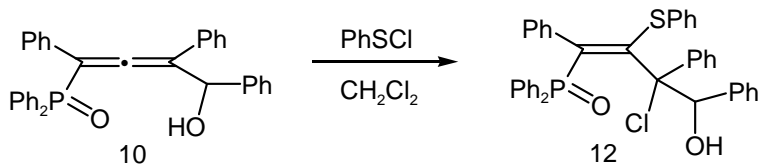
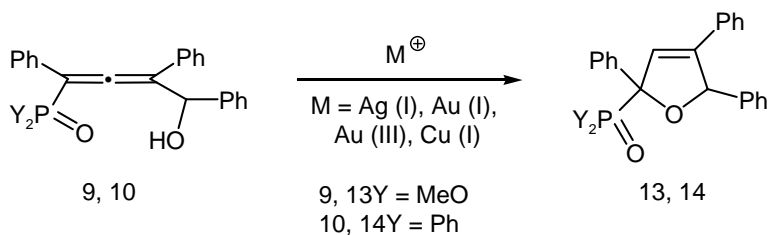


Схема 7

Реакцията на аленил фосфин оксида **10** с бензенсулфанил хлорид води до получаване на 4-(дифенилфосфиноил)-3-бутен-1-ола **12** (Схема 8):



Изследвахме и реакциите на 3-хидроксиметил-заместените аленил-фосфонат **9** и аленил фосфин оксид **10** с йони на т. нар. монетни метали, като установихме, че се извършва реакция на петчленна циклоизомеризация с участието на хидроксилната група и получаване на 2-фосфорил-заместените 2,5-дихидро-фурани **13** и **14** (Схема 9):



В експериментално отношение ходът на всички реакции е проследяван тънкослойно хроматографски и ИЧ-спектрално, получените продукти са изолирани и пречистени чрез колонна хроматография, а структурата на синтезираните съединения е установена чрез ИЧ-, ^1H -, ^{13}C - и ^{31}P -ЯМР-спектроскопия.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Създаден е метод за синтез на 4-хидрокси-1,3,4-трифенилаленил фосфонат и фосфин оксид, който е високо *регио*селективен и дава възможност за вариране на заместителите както в аленовата система, така и във функционалната група. Изследвани са реакциите на получените аленилфосфонати и аленил фосфин оксиди със защитена и незащитена хидроксилна група с електрофилни реагенти, като е установено, че протичат с получаване на разнообразни хетероциклени и ненаситени съединения. Установено е, че реакциите на циклоизомеризация проти-

чат с участието на хидроксилната група в циклизация с получаване на 2-фосфорил-заместени 2,5-дихидро-фурани.

БЛАГОДАРНОСТИ

Настоящата работа е част от научноизследователския проект № РД-08-208/2014 г., който се финансира от фонд „Научни изследвания“ на ШУ „Еп. Константин Преславски“.

ЛИТЕРАТУРА

1. (a) Patai, S., Ed. *The Chemistry of Ketenes, Allenes and Related Compounds*; John Wiley & Sons: New York, **1980**; (b) Landor, S. R. Ed. *The Chemistry of the Allenes*; Academic Press: London, **1982**, Vol. 1 – 3; (c) Pasto, D. J. *Tetrahedron* **1984**, *40*, 2805 – 2827; (d) Schuster, H. F.; Coppola, G. M. *Allenenes in Organic Synthesis*; John Wiley & Sons: New York, **1988**; (e) Zimmer, R. *Synthesis* **1993**, 165 – 178; (f) Elsevier, C. J. *Methods of Organic Chemistry* (Houben-Weyl); Vol. E21a, Helmchen, R.W.; Mulzer, J.; Schaumann, E., Eds., Thieme: Stuttgart, **1995**, 537 – 566; (g) Krause, N.; Hashmi, A. S. K., Eds. *Modern Allene Chemistry*; Wiley-VCH: Weinheim, **2004**, Vol. 1 & 2; (h) Brummond, K. M.; DeForest, J. E. *Synthesis* **2007**, 795 – 818.
2. (a) Pudovik, A. N.; Aladjeva, I. M. *J. Gen. Chem.* **1963**, *33*, 700-706; (b) Macomber, R. S. *J. Am. Chem. Soc.* **1977**, *99*, 3072 – 3075; (c) Denmark, S. E.; Marlin, J. E. *J. Org. Chem.* **1991**, *56*, 1003 – 1013; (d) Cai, B.; Blackburn, G. M. *Synth. Commun.* **1997**, *27*, 3943-3949; (e) Saalfrank, R. W. Haubner, M. Deutscher, C. Bauer, U. *Eur. J. Org. Chem.* **1999**, 2367 – 2372.
3. (a) Nicolaou, K. C.; Maligres, P.; Shin, J.; de Leon, E.; Rideout, D. *J. Am. Chem. Soc.* **1990**, *112*, 7825 – 7826; (b) Curfin, M. L.; Okamura, W. H. *J. Org. Chem.* **1990**, *55*, 5278 – 5287; (c) Grissom, J. W.; Huang, D. *Angew. Chem. Int. Ed.* **1995**, *34*, 2037 – 2039; (d) Darcel, C.; Bruneau, C.; Dixneuf, P. H. *Synthesis* **1996**, 711 – 714; (e) de Frutos, O.; Echavarren, A. M. *Tetrahedron Lett.* **1997**, *38*, 7941 – 7943; (f) Schmittel, M.; Steffen, J.-P.; Maywald, M.; Engels, B.; Helten, H.; Musch, P. *J. Chem. Soc. Perkin Trans 2* **2001**, 1331 – 1342.

4. (a) Angelov, C. M. *Phosphorus Sulfur* **1983**, *15*, 177–193; (b) Khusainova, N. G.; Pudovik, A. N. *Russ Chem Rev* **1987**, *56*, 564–578; (c) Alabugin, I. V.; Brel, V. K. *Russ Chem Rev* **1997**, *66*, 205–224; (d) Brel, V. K.; *Heteroatom Chem.* **2006**, *17*, 547–556; (e) Guo, H.; Qian, R.; Guo, Y.; Ma, S. *J. Org. Chem.* **2008**, *73*, 7934–7938; (f) He, G.; Fu, C.; Ma, S. *Tetrahedron* **2009**, *65*, 8035–8042; (g) He, G.; Guo, H.; Qian, R.; Guo, Y.; Fu, C.; Ma, S. *Tetrahedron* **2009**, *65*, 4877–4889; (h) Yuan, J.; Ruan, X.; Yang, Y.; Huang, X. *Synlett* **2007**, 2871–2874.

НАУЧНИ ТРУДОВЕ
том 39, кн. 5, 2014

Химия

Коректор: Гергана Иванова
Предпечатна подготовка: Цветелина Сотирова
Печат и подвързия: УИ „Паисий Хилендарски“

ISSN 0204–5346

