

УДК 547.458

ОСОБЕННОСТИ КИСЛОТНОГО ГИДРОЛИЗА АМИДА КАРБОКСИЭТИЛАЛЬГИНОВОЙ КИСЛОТЫ

Т.И. Тарадейко^{1*}, М.В. Сидорова¹, С.Н. Галашева¹, А.А. Иозеп¹

Резюме. Изучен кислотный гидролиз амида карбоксиэтилальгиновой кислоты, который приводит к уменьшению амидных групп в полисахариде или к образованию незамещенной альгиновой кислоты. Определено влияние температуры реакции, характеристик исходного амида и наличия азотистой кислоты в реакционной массе на результаты реакции.

Ключевые слова: альгиновая кислота, амид карбоксиэтилальгиновой кислоты, карбоксиэтилальгиновая кислота, кислотный гидролиз, полимераналогичная реакция.

THE FEATURES OF ACID HYDROLYSIS OF AMIDE OF CARBOXYETHYL ALGINIC ACID

T.I. Taradeyko^{1*}, M.V. Sidorova¹, S.N. Galasheva¹, A.A. Iozep¹

Abstract. The acid hydrolysis of amide of carboxyethyl alginic acid was studied. The influence of reaction's temperature, characteristics of mother amide and presence of nitrous acid in the reacting mass to the results of the reaction.

Keywords: alginic acid, amide of carboxyethyl alginic acid, carboxyethyl alginic acid, acid hydrolysis, polymeranalogous reaction.

1 – ФГОУ ВО «Санкт-Петербургская химико-фармацевтическая академия» Минздрава России (ФГОУ ВО СПХФА Минздрава России), 197376, Россия, г. Санкт-Петербург, ул. Проф. Попова, д. 14, лит. А

1 – St. Petersburg Chemical-Pharmaceutical Academy of the Ministry of Health of Russia, 14 A, Prof. Popova str., St. Petersburg, 197376, Russia

* адресат для переписки:
E-mail: tania91@bk.ru

ВВЕДЕНИЕ

Конструирование полимерных лекарств позволяет совершенствовать уже известные лекарственные препараты и создавать новые средства пролонгированного действия с низкой токсичностью. В этих целях широко используются природные полисахариды, среди которых большой интерес представляют альгиновая кислота и её соли, проявляющие в той или иной мере иммуномодулирующую, противоопухолевую, противовирусную, антимикробную и другие виды биологической активности. Они также обладают способностью к набуханию и гелеобразованию, образованию вязких растворов, стабилизации водных и водно-жировых растворов. Благодаря своим ценным свойствам альгиновая кислота и её соли нашли применение в фармацевтической, медицинской, пищевой и других отраслях промышленности. Однако низкая растворимость альгиновой кислоты в воде и водных кислотах затрудняет синтез, стандартизацию и биологические испытания ее производных.

Введение карбоксильных групп в молекулу полисахарида повышает его растворимость в воде, а также влияет на физико-химические и биологические свойства. Например, на основе карбоксиметилальгиновой кислоты синтезированы растворимые в воде полимеры, обладающие биологической активностью [1]. Однако сведения

о карбоксиэтилированной альгиновой кислоте в литературе отсутствуют. Поэтому задачей нашего исследования была разработка методики получения карбоксиэтилальгиновой кислоты (КЭАК).

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В работе использовали альгиновую кислоту (CAS № 9005-32-7, Acrosorganics, США). Ранее методом гель-хроматографии на сефадексе G-200 было установлено [2], что она состоит из пяти полисахаридных фракций с молекулярной массой до 200000 Да, которые после алкилирования альгиновой кислоты в основном сохраняются, изменяя лишь скорость элюирования из колонки. Содержание карбоксильных групп после пересадки – 97%, а после очистки водной щелочью – 100%.

ИК-спектры регистрировали в таблетках с KBr с помощью ИК-фурье-спектрометра ФСМ-1201 (ЗАО «ЛОИП», Россия). Содержание азота определяли фотометрическим методом с реактивом Несслера (ч.д.а., ЗАО «Вектон», Россия). Оптическую плотность образцов определяли на фотоколориметре КФК-2 (Загорский оптико-механический завод, Россия). Для кондуктометрического титрования использовали лабораторный кондуктометр «АНИОН-4120» (сертификат Госстандарта RU.C.31.060.A № 25048, ООО НПП «Инфраспек-Аналит», Россия).

Алкилирование альгиновой кислоты в водном растворе щелочи

2 г альгиновой кислоты **1** (рисунок 1) растворяли в водном растворе гидроксида натрия с концентрацией 3–7%. К раствору добавляли от 4,8 до 8,0 г акриламида (6–10 молей в расчете на 1 моль-звено полисахарида). Реакционную массу перемешивали при 40 °С в течение 4 ч. Далее реакционную массу подкисляли уксусной кислотой до pH 8, продукт реакции **2** осаждали 5–7-кратным объемным избытком этанола. Осадок растирали в этиловом спирте, фильтровали, промывали спиртом и сушили в вакууме (20–25 мм рт. ст.) при 61 °С в течение 2 ч. Выход составил 73–84% от теоретического.

Алкилирование альгиновой кислоты в диоксиде

2 г альгиновой кислоты **1** (рисунок 1) суспендировали в диоксиде и термостатировали при 40 °С. Затем к полученной суспензии добавляли 20% раствор тетраметиламмония гидроксида и воду. Смесь перемешивали в течение 10–15 мин при 40 °С до полной гомогенизации. Затем прибавляли 4,8–8,0 г акриламида (6–10 молей в расчете на 1 моль-звено полисахарида) и реакционную массу перемешивали в течение 5 ч. По окончании выдержки реакционную массу подщелачивали 1 н. раствором гидроксида натрия до pH 12. Продукт реакции осаждали этанолом и отстаивали. Спирт декантировали, осадок промывали этанолом, затем растворяли в дистиллированной воде, отфильтровывали от частиц нерастворенного вещества и пропускали через колонку с катионитом КУ-2-8 для получения H⁺-формы аминокарбоксиэтилальгиновой кислоты. Полученный элюат упаривали досуха, остаток растирали и сушили в вакууме при 61 °С в течение 2 ч. Полученную кислоту растворяли в 0,1 н. растворе гидроксида натрия до pH 12, осаждали этанолом и отстаивали. Спирт декантировали, осадок соли **3** промывали этанолом, центрифугировали, затем сушили в вакууме при 61 °С в течение 2 ч.

Кислотный гидролиз амидов карбоксиэтилальгиновой кислоты

100 мг амида карбоксиэтилальгиновой кислоты **2**, **3** (рисунок 1) гидролизовали в 0,5 мл 2,5 н. водного раствора трихлоруксусной (ТХУ) кислоты с добавлением

2,3 мл 0,5 н. водного раствора нитрита натрия при 0 °С 30 мин, затем для завершения реакции смесь нагревали 10 мин при 40–90 °С. Реакционную массу охлаждали до комнатной температуры, нейтрализовали щелочью до pH 8–9 и продукт **4** осаждали этанолом. Осадок промывали этанолом, центрифугировали, затем сушили в вакууме при 61 °С в течение 2 ч. Вместо минеральной кислоты использовали трихлоруксусную, так как образующийся трихлорацетат натрия при осаждении поликислоты спиртом не выпадает в осадок. Для более полного гидролиза амидных групп описанную операцию проводили несколько раз без выделения продукта.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Природные карбоновые кислоты часто синтезируют гидролизом их нитрилов, амидов, сложных эфиров. Единственным известным производным карбоксиэтилальгиновой кислоты является амид, который достаточно легко получается алкилированием альгиновой кислоты (АК) акриламидом в воде и в среде диоксида [3], поэтому мы использовали его для синтеза кислоты (рисунок 1).

Образцы амидов, полученные в воде и в среде диоксида, отличаются не только по содержанию аминокарбоксиэтильных и карбоксиэтильных групп, но и по некоторым физико-химическим свойствам, поэтому при гидролизе амидов КЭАК мы обращали внимание на особенности их поведения в ходе реакции.

Омыление амидов до карбоновых кислот происходит в присутствии как кислотных, так и основных катализаторов. Так, в синтезе карбоксиэтилдекстрана авторы [4] выдерживали соответствующий амид в 0,5–4 н. водном растворе NaOH в течение 5–7 суток при 17–20 °С. Кроме этого, они предложили получать карбоксиэтилдекстран алкилированием декстрана акриламидом в водных растворах NaOH (6–10%), увеличивая время реакции до полного исчезновения амидных групп в продукте. Однако первый метод очень длительный и сопровождается существенной степенью отщепления заместителей от полисахарида, а при использовании второго образуется продукт с низким содержанием карбоксиэтильных групп. Вследствие этого была разработана методика кислотного гидролиза амидов карбоксиэтилдекстрана в присутствии азоти-

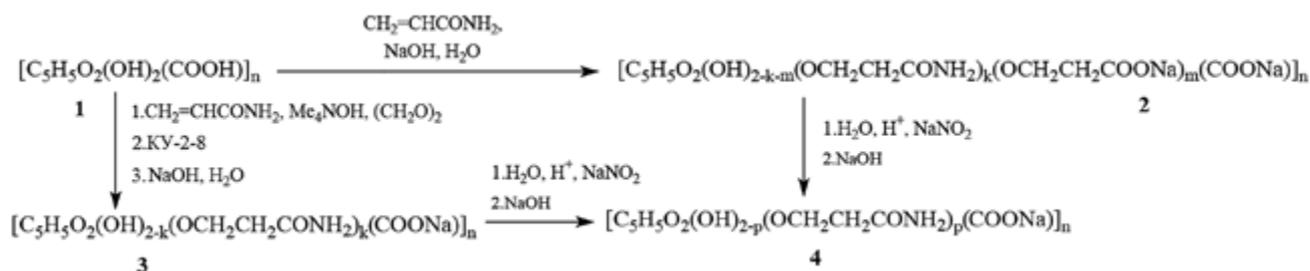


Рисунок 1. Схема химической модификации альгиновой кислоты

стой кислоты [5], которая значительно сократила время реакции.

Полиуроновые кислоты значительно более устойчивы в водных растворах кислот, чем нейтральные полисахариды, поэтому для синтеза карбоксиэтилальгиновой кислоты мы в первую очередь изучили кислотный гидролиз амида КЭАК по методике, предложенной для амида карбоксиэтилдекстрана [5].

В ИК-спектрах полученных образцов модифицированной альгиновой кислоты **4** наблюдаются полосы поглощения при 1580 и 1618–1620 см⁻¹, что соответствует ν (COO⁻) карбоксиэтильной группы и уоновых кислот соответственно, а также полосы поглощения при 1660–1670 см⁻¹, характерные для валентных колебаний ν (C=O) «амид I». При этом, как и ожидалось, интенсивность полос поглощения «амид I» уменьшается, однако полосы поглощения карбоксиэтильной группы по сравнению с ИК-спектрами исходного амида неожиданно также уменьшаются до полного исчезновения.

Число амидных групп в полисахаридных образцах рассчитывали по количеству азота, определенного методом с использованием реактива Несслера [6], а карбоксильных групп – по результатам кондуктометрического титрования.

Полученные образцы характеризовали степенью аминокарбонилэтилирования C_{акэ}, карбоксиэтилирования C_{кэ} (число амидных групп и карбоксиэтильных групп соответственно, приходящихся на мономерное звено полисахарида) и общей степенью замещения (C_{общ}=C_{акэ}+C_{кэ}), а процесс гидролиза – степенью элиминирования (отщепления) (C_Е, %) заместителей в полисахариде, которую рассчитывали по формуле C_Е=(C₃₀ – C_{общ})/C₃₀ · 100, где C₃₀ – степень замещения исходного образца амида.

Таблица 1.

Результаты гидролиза амида карбоксиэтилальгиновой кислоты (C_{акэ}=0,85, C_{кэ}=0,55, C₃₀=1,40) смесью трихлоруксусной и азотистой кислот

Температура нагрева	Количество операций	Характеристика продукта			
		C _{акэ} моль/моль	C _{кэ} моль/моль	C _{общ} моль/моль	C _Е %
90	1	0,07	0,40	0,47	66,4
	3	-	0,08	0,08	94,3
40	1	0,25	0,27	0,52	62,9
	2	0,17	0,35	0,52	62,9
	3	0,16	0,23	0,39	72,1

Уже однократная обработка амида КМАК азотистой кислотой в кислой среде с нагреванием реакционной массы до 90 °С снижает количество амидных групп

в полимере до 8% от первоначального содержания, а последующие позволяют их полностью удалить. Однако при этом, оказалось, что отщепляются и карбоксиэтильные группы, их число уменьшается после первой обработки почти на 30%, а после третьей отщепляются практически все заместители альгиновой кислоты (C_Е=94%) (таблица 1).

Как оказалось, в кислой среде элиминирование заместителей (аминокарбонилэтильных и карбоксиэтильных групп) в альгиновой кислоте идет легче, чем в декстране. В одинаковых условиях степень элиминирования их в альгиновой кислоте достигает 94%, а в декстране не превышает 8% [5].

В связи с этим температура нагрева реакционной массы была снижена до 40 °С. При этом после третьей обработки в образце остается 19% амидных групп (степень элиминирования 72%), а число карбоксиэтильных групп в альгиновой кислоте по сравнению с содержанием их в исходном амиде снизилось примерно на 60%.

Для дальнейшего уменьшения степени элиминирования реакцию проводили при 0 °С в течение 2,5 ч без последующего нагревания. Как оказалось, и в таких условиях количество амидных групп снижается на 45–78%, но карбоксиэтильные группы в продуктах гидролиза не обнаружены.

Рассматривая динамику процесса, можно предположить, что в продуктах алкилирования АК акрил-амидом имеются разные по реакционной способности заместители (таблица 2). В условиях кислотного гидролиза наиболее активные из них реагируют за 30 мин и общее содержание амидных групп уменьшается на 65% в образцах, полученных в водной щелочи, и на 44% – в диоксане. В обоих случаях содержание амидных групп в полисахариде уменьшается примерно до 0,4 моль на мономерное звено. При этом идет как гидролиз амидов до карбоновых кислот, и это подтверждается появлением карбоксильных групп в образцах, не содержащих их, так и отщепление. В дальнейшем активность оставшихся аминокарбонилэтильных групп в полимере резко понижается и число их уменьшается примерно на 20% в час в полисахаридных образцах, полученных в водной щелочи, и с значительно меньшей скоростью – в образцах, полученных в диоксане. Можно также предположить, что в кислых средах отщепление акриловой кислоты от полиуронида идет быстрее, чем гидролиз акриламида, так как через 60–90 мин выдержки карбоксиэтильные группы в АК не обнаруживаются.

Для доказательства разной реакционной способности заместителей альгиновой кислоты мы удалили активные аминокарбонилэтильные группы частичным гидролизом (смесь ТХУ- и азотистой кислот, 1 ч, 0 °С), выделили и проанализировали продукт и провели повторную обработку полученного образца (C_{акэ}=0,39, C_{кэ}=0) смесью ТХУ- и азотистой кислот при

0 °С. Как и предполагалось, в этих условиях амиды практически не реагировали на действие кислот, и полисахаридные образцы сохраняли свои характеристики 1,5 ч.

Таблица 2.

Влияние времени гидролиза амида карбоксиэтилальгиновой кислоты смесью ТХУ- и азотистой кислоты на характеристику продуктов реакции

Время, мин	*С _{акэ} , в		С _{кэ} , моль/моль	С _{общ} , моль/моль	С _Е , %
	моль/моль	% от исходного значения			
амидв					
0	1,15	–	0,32	1,47	–
30	0,40	34,8(65)	0,18	0,58	60,5
60	0,36	31,3(10)	0	0,36	75,5
90	0,33	28,7(10)	0	0,33	77,6
120	0,29	25,2(12)	0	0,29	80,3
150	0,25	21,7(14)	0	0,25	83,0
амидд					
0	0,71	–	0	0,71	–
30	0,40	56,3(44)	0,19	0,59	16,9
60	0,38	53,5(5)	0,15	0,53	25,4
90	0,37	52,1(3)	0	0,36	49,3
120	0,37	52,1 (0)	0	0,36	49,3
150	0,37	52,1(0)	0	0,39	45,1

Примечание: *в скобках указано уменьшение С_{акэ} в % по сравнению с предыдущим значением С_{акэ}.

Для определения роли азотистой кислоты в кислотном гидролизе амида КЭАК мы изучили влияние времени выдержки его в растворе ТХУ-кислоты на характеристику продуктов реакции (таблица 3). Оказалось, что результаты гидролиза в присутствии азотистой кислоты и без нее похожи, за одним исключением. Как и в присутствии азотистой кислоты, аминокарбонилэтильные группы АК делятся на активные и малоактивные. При этом скорость отщепления акриловой кислоты при отсутствии азотистой значительно ниже, и карбоксиэтильные группы сохраняются в полисахариде более 2 ч, при этом их количество в АК сначала увеличивается (при гидролизе активных амидов), а затем постепенно уменьшается.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, при гидролизе амида карбоксиэтилальгиновой кислоты в кислой среде акриловая кислота легче отщепляется от АК, чем акриламид, поэтому происходит в основном уменьшение амидных групп в полисахариде или образование незамещен-

ной альгиновой кислоты. Азотистая кислота ускоряет кислотный гидролиз амида карбоксиэтилальгиновой кислоты, а также отщепление акриловой кислоты от полисахарида.

Амиды КЭАК, независимо от метода синтеза имеют разные по реакционной способности заместители. В кислой среде часть аминокарбонилэтильных и карбоксиэтильных групп отщепляется от полисахарида в 3–5 и более раз быстрее, чем остальные заместители.

Таблица 3.

Влияние времени гидролиза амида карбоксиэтилальгиновой кислоты раствором ТХУ-кислоты на характеристику продуктов реакции

Время, мин	*С _{акэ} , в		С _{кэ} , моль/моль	С _{общ} , моль/моль	С _Е , %
	моль/моль	% от исходного значения			
амидв					
0	1,15	–	0,32	1,47	–
30	0,50	43,5(56)	0,62	1,12	23,8
60	0,44	38,3(12)	0,53	0,97	34,0
90	0,39	33,9(11)	0,28	0,67	54,4
120	0,35	30,4(10)	0,24	0,59	59,9
амидд					
0	0,71	–	0	0,71	–
30	0,46	64,8(35)	0,20	0,66	7,0
60	0,44	62,0 (4)	0,14	0,58	18,3
90	0,39	54,9(11)	0,11	0,50	29,6
120	0,36	50,7 (8)	0,10	0,46	35,2

Примечание: *в скобках указано уменьшение С_{акэ} в % по сравнению с предыдущим значением С_{акэ}.

ЛИТЕРАТУРА

1. Е.С. Серебренникова, В.Л. Давыдова, С.В. Гурина, А.А. Иозеп. Изучение антимикробной активности некоторых производных альгиновой кислоты // Проблемы медицинской микологии. 2013. Т. 15. № 4. С. 60–62.
2. Е.С. Серебренникова, М.С. Мороз, А.И. Черёмушкин, А.А. Иозеп. Реакции карбоксиметилальгиновой кислоты с некоторыми N-нуклеофилами // Бултеровск. сообщ. 2012. Т. 31. № 7. С. 18–23.
3. Т.И. Тарадейко, Т.М. Седёлкина, Т.А. Тарасова, А.А. Иозеп. Алкилирование альгиновой кислоты акриламидом // ЖОХ. 2016. Т. 86. Вып. 6. С. 1345–1349.
4. А.А. Иозеп, Н.К. Бессонова, Б.В. Пассет. Синтез карбоксиэтилдекстрана // Ж. прикл. химии. 1998. Т. 71. № 2. С. 320–323.
5. А.А. Иозеп, Д.В. Соколенко. Химическая модификация микробных полисахаридов, или гликанов. – СПб.: Менделеев, 2004. 72 с.
6. С. Сиггя, Г.Дж. Ханна. Количественный органический анализ по функциональным группам. – М.: Химия, 1983. 672 с.