دراسة تخليقية لبعض مشتقات فيتامين – C

عوده مزعل ياسر الزاملي

قسم الكيمياء– كلية العلوم– جامعة بابل

المقدمة

يعتبر فيتامين c-(L-Ascorbic acid) من المركبات التي تحتوي على Hydroxyenone -ᵡ والتي لها تاثير على الخلايا السرطانية كما مجرب خارج الخلايا ,الا انه وجد ان انزيمات Glucolase(I,II)[1] تعمل على تعطيل مفعول المركبات المضادة للخلايا السرطانية بتحويلها الى Hydroxyacid - ᵡ بعد اذ كانت تراكيبها Hydroxyaldehyde Or Ketone – ᵡ ان فيتامين –C ينشأ من التخليق البايولوجي في نبات التوت الفرنجي Strawberry plant[2] بتحويل D-Glucose وD-Galuctose الى فيتامين c .

فيتامين –c من المركبات الذائبة في الماء ويوجد في المحلول باربع صيغ كما في المخطط رقم (1).

وان الصيغة (١) هي الاكثر وجودا [4,3] من الاشكال الاخرى (enediol) لوجود الاصرة المزدوجة بين المجموعتين الهيدروكسيلية الكحولية, فان ذرة الهيدروجين في المجموعة الهيدروكسيلية عند الموقع (3) لها حامضية[6,5] تقدر بـ PKa= 4.71 وان ذرة الهيدروجين المرتبطة بمجموعة الهيدروكسيل في الموقع (2) لها حامضية تقدر بـ PKa= 11.57 ان هذا الفرق في الحامضية يبنى على اساس تاثير التبادل الالكتروني بين مجموعة الكاربونيل والاصرة المزدوجة [7]كما في المخطط الذي تبرز الظاهرة الايبولية هذه من خلال حزمة امتصاص الاشعة فوق البنفسجية (C = 2 gm per 1000 cc , ε = 7000 , 263nm) في الكحول المثيلي وهذا السلوك مشابة لسلوك Dehydro malic acid الذي يعطي حزمة امتصاص (U.V) عند (262 nm) بسبب الظاهرة الايبولية , وان هذا هو السبب في سرعة تاكسد فيتامين -c عند تعرضة للجو لفترة قصيرة , لذلك كان الاهتمام من قبل الباحثين في تحضير مشتقات متعددة (Acetylatoin[9,8], Benzoylation [10] , Methylation[11] , Tosylation[12] , Isopropylidene [13]) في المواقع الاربعة المختلفة ليصبح اكثر مقاومة للاكسدة الذاتية عند تعرضة للهواء.

المناقشة والنتائج

استخدمت طريقة Jakson [13] في تحضير 5,6-O-Isopropylidene vit. -c بزيادة كمية كلوريد الاسيتيل الى (٥ مل) واستخدام حرارة ٤٥ م° ولمدة ٤٨ ساعة ,لوحظ بعد مرور ٢٤ ساعة من التفاعل من خلال متابعة التفاعل بـ T.L.C التي صعدت بالمذيب (B) ظهور نقطتين نواتج تفاعل Rf (0.74) عزيت الى

2,3-O-Isopropylidene والثانية بقيمة Rf (0.6) عزيت الى 5,6-O-Isopropylidene vit-C . وباستمرار التفاعل لبلغ ٤٨ ساعة ظهرت بقطتي تفاعل جديد بقيم Rf (0.5) عزيت الى 2,3-O diacetyl vite.-C و Rf(0.41) عزيت الى 3-O Acetyl وبقاء جزء قليل غير متفاعل من فيتامين C- بقيمة Rf (0.17) ظهرت هذه النقاط برذاذ بينوف على هيئة بقع زرقاء تدل على بقاء بعض المجاميع الهيدروكسيلية حرة (غير معوضة) وهذا ما يظهره طيف (IR) لجميع النواتج بوجود حزمة امتصاص عند $3430\ cm^{-1}$ لمجموعة (OH) , كذلك تستجيب النواتج الى رذاذ البرمنكنات مكونة بقع صفراء وهذا يشير الى عدم تأثر الاصرة المزدوجة بكلوريد الهيدروجين ,المتكون اثناء التفاعل .

لتقارب قيم RF بفرق (0.14) للمركبين (2,3-O -and 5,6-O-Isopropylidne vit.-C) وفرق (0.09) للمركبين 3-O- 2,3-O-di and (Acetylidene vit.-C) ولم ينجح فصلهما باستخدام Thiclayer chromato-graphy كذلك لم ينجح فصل مكونات الخليط باستخدام عمود من السليكاجيل نوع (70-230) .بنسب متعددة (عدد غرامات من التفاعل: عدد غرامات من السليكاجيل)حتى الوصول الى نسبة ١:350 باستخدام المذيب (A) .

تمت عملية الفصل بعد ان عبئ الكولوم بنوع من السليكاجيل (Feiner als <0.06mm 23OMesh ASTA باستخدام المذيب (B) وبنسبة 250:1 ودفعة بالهواء المضغوط في عمود قطره (3.1) سم ليصبح طول العمود (18.4) سم لفصل (0.5) غم من الخليط ,كانت سرعة انسياب المذيب ١مل /دقيقة تحققت نسب فصل جزئي للاجزاء (7,6,5 4,3,2,1) بنسبة (%10,%14,%10,%28,%8) على التوالي.

الجزء الاول: لـ Rf (0.74-) عزيت الى 2,3-O-Isopropylidene vitamin-C

الجزء الثالث: Rf (0.6) عزيت الى 5,6-O-Isopropylidene vit.-C

اظهر طيف الامتصاص U.V للجزء الاول Rf(0.74) زحف الطول الموجي من λ max 240.6nm المأخوذة لفيتامين-C الى طول موجي واطئ λmax*215nm يدل على اختفاء الظاهرة الاينولية يدفعنا الى الاعتقاد بحصول استبدال لذرتي هيدروجين مجموعة الهيدروكسيل في الموقعين (3,2) بمجموعة Isopropylidene كما يلاحظ من خلال طيف IR زحف حزمة امتصاص المجموعة الاينولية الى طاقة عالية من $1650cm^{-1}$ الى $1735cm^{-1}$ بينما يلاحظ في طيف امتصاص الـ U.V للجزء الثالث Rf (0.6) بقاء حزمة الامتصاص عند طول موجي λmax239nm بالمقارنة مع فيتامين - C وكذلك بقاء حزمة امتصاص المجموعة الاينولية في اطيف IR عند طول موجي $1650cm^{-1}$ وهذا يشير الى استبدال ذرتي الهيدروجين لمجموعتي الهيدروكسيل في الموقعين (5,6) كذلك يلاحظ من خلال طيف (H^1NMR) لكلا المركبين وجود حزمة تذبذب لستة بروتونات عزيت الى مجموعة Isopropydene تظهر عند ازاحة كيمياوية (1.8s ppm) مجال واطئ في المركب(-2,3-O) بسبب تاثير الـ longrange(15) للاصرة المزدوجة

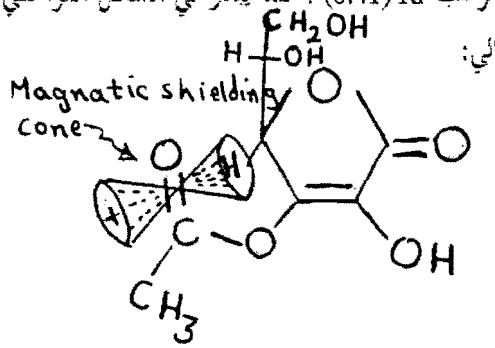
تظهر نفس الحزمة عند ازاحة (1.73 s ppm ~δ) مجال ثنائي في المركب 5,6-O- Isopropylidenevit-C- لبعد تأثير Longrange للاصرة المزدوجة.

الجزء الرابع: لـ Rf (0.5) عزيت الى 2,3-O- Isopropylidene vit.-C

الجزء السادس: لـRf (0.41) عزيت الى 3-O- Acetyl vit.-C

يظهر من خلال طيف (H^1NMR) ان الجزء ذي Rf (0.5) يعطي حزمة تذبذب لستة بروتونات عند ازاحة (2s ppm ~δ) باشارة منفردة عزيتالى بروتونات مجموعتي استيت (-$OCOCH_3$) بينما اظهر طيف H^1NMR للجزء السادس Rf(0.41) حزمة تذبذب لثلاثة بروتونات عند نفس موقع الازاحة باشارة مفردة تدل على وجود مجموعة استيت واحدة.

(ذكر في الادبيات[12] ان اشارة H^1 NMR للمركب Rf(0.5) ازيحت الى مجال واطئ للبروتونات (H-6,H-5,H-4) حيث يظهر طيف المركب RF (0.41) المعوض بمجموعة استيت واحدة , ازاحات (3.65, ~δ4.12, ~δ4.7 ~δ) على التوالي قد ازيحت الى مجال اوطأ في المركب Rf (0.5) ثنائي التعويض بمجموعتي استيت الى مواقع (5.2 ~δ , ~δ4.1, ~δ4.3)يدل على كبر تأثيرلـ Longrange لمجموعتي الاستيت) . لكن الملاحظ بالاضافة الى ما ذكر ,عند مقارنة ازاحة البروتون (H-4) في فيتامين C- حيث يظهر عند ازاحة (5ppm ~δ)مع ازاحة نفس البروتون في المركب Rf(0.41) يظهر عند ازاحة (4.7 ppm ~δ) مجال عالي يدل على وقوع البروتون المذكور ضمن تأثير الحجب المغناطيسية Magnatic shielding cone لكربونيل مجموعة الاستيت في الموقع (٣) للمركب Rf (0.41) . كما يبدو في الشكل الفراغي التالي:



بينما يتحرر نفس البروتون (H-4) في المركب Rf (0.5) من تأثير الحجب المغناطيسي لمجموعة الكاربونيل بسبب المضايقة الفراغية لمجموعتي الاستيت في الموقع (2) والتي تاخذ فية مجموعة الاستيت في الموقع (3) وضعا فراغيا جديدا باقل مضايقة يصبح فيها البروتون (H-4) خارج تأثير الحجب ولهذا يظهر بازاحة (5.2 ~δ) مجال واطئ كذلك يستبعد في المركب 5,6-O--diacetyl vit- Rf(0.5) من تداخل بين مجموعة الاستيت في الموقع (2) مع مجموعة الكاربونيل كما يلاحظ من طيف امتصاص الاشعة فوق البنفسجية عند طول موجي λ max 218nm للجزء الرابع Rf(0.5) تدل على زحف الامتصاص الى طاقة عالية (Blueshift) بالمقارنة مع امتصاص U.V لفيتامين C- الذي امتصاصية عند طول موجي λMAX 240.6nm تشير الى اختفاء الظاهرة الانولية في المركب ثنائي الاسيتيت كما يظهر في طيف IR. يزحف حزمة امتصاص المجموعة الانولية من cm^{-1} 1650 الى CM^{-1}1680 طاقة عالية يدل على استبدال لذرتي هيدروجين مجموعتي الهيدروكسيل[12] (OH) بمجموعتي استيل, كذلك يلاحظ انخفاض للظاهرة الانولية في المركب Rf(0.41)بارتفاع طاقة امتصاص IR بظهور حزمة الكاربونيل عند cm^{-1} 1670

كما يلاحظ انخفاض الطول الموجي الممتص في الـ U.V عند λ max 229nm يدل على استبدال لذرة الهيدروجين الحامضية لمجموعة الهيدروكسيل في الموقع (3) بمجموعة استيل.

طريقة العمل

١- (5 غم) (0.028) مول من فيتامين – C اضيفت الى خليط من (30 مل) اسيتون جاف و (5 مل) كلوريد الاسيتيل وربط جهاز الارجاع (Reflux) يترك التفاعل في (٤٥ م°) على هزاز مغناطيسي , بعد مرور نصف ساعة على التفاعل اخذت عينة على الصفيحة الكروماتوغرافيا , صعدت بالمذيب (B) لوحظ ظهور نقطتين:

الاولى بقيمة Rf (0.74) عزيت الى 2,3-O- Isopropylidene vitamin-C .

والثانية بقيمة Rf (0.6) عزيت الى 5,6–O Isopropyliedene

بقيت هذه النتيجة لمدة (24) ساعة ,وبعد مرور (48) ساعة على التفاعل ظهرت نقطتان * جديدتان, بقيمة Rf(0.5) عزيت الى مركب 2,3-O-dlActyl vit.-C و Rf عزيت الى 3-O-Acetyl بقيمة (0.41) vit.-C وبقاء جزء غير متفاعل من فيتامين –C بقيمة Rf (0.17) . بخر مزيج التفاعل تحت الضغط المخلخل عند درجة (40 ، م°) تاركا مادة زيتية.

٢. استخدام 0.5 (غم) من مزيج التفاعل للفصل في عمود الكروماتوغرافيا المعبأ** بمادة هلام السليكا بنسبة 250:1 (عدد غرامات الخليط: عدد غرامات السليكا) ليصبح طول العمود (18.3 سم) لذي قطرة (3.1سم) عبأ الكولوم بتعليق الهلام بالمذيب (B) وضغط بالهواء . ولصعوبة انسياب المذيب تم تسليط هواء مضغوط ونظم الضغط بحيث تكون سرعة انسياب المذيب (مل/دقيقة

اعطت افضل حالة فصل مكونات الخليط , جمعت الاجزاء المتشابهة وجففت تحت الضغط المخلخل , غسل العمود بعد انتهاء جمع الاجزاء بالكحول المثيلي.

الجزء الاول: Rf (0.74) عزيت الى 2,3-O- Isopropylidene vit-C مادة زيتية اعيدت بلورتها بمذيب (اسيتون – ن هكسان 7,4 V/V) تاركا بلورات عديمة اللون انصهارها 63-65 م وزنها (0.04) غم نسبة الفصل (8%).

Calculated for $C_9H_{12}O_6$: C50% ; H 5.56% found C50.12:H 5.43% U.V data in MeOH solvent:

Molar extenntion coefficent ε = 12000 liter^{-1} mol^{-1} cm^{-1} at λ max 215 nm

Absorbitivity A=0.6 at concetration c=5 ×10^{-5} M

.(IR) , data (γ) KBr disk)
(3425 cm^{-1} OH ,Broad, stretching) ; 2905 cm^{-1} (CH str.) .
1735 cm^{-1} (str.). ;1380cm^{-1} (str.).
.H´NMR data (90 MHZ) ,$(CD3)_2$ CO solvent, at δ(ppm)..
δ1.8 s (6x) : δ3.35 m (2x H-6) ; δ3.7m(H-5) ; δ4.4(H-4)

الجزء الثاني: خليط من Rf (0.6,0.74) مادة زيتية

القوام

U.V data

λmax (215 , 239) nm

---

*١ : ظهرت النقاط بواسطة رذاذ كاشف بينوف (١٥٪ مولبيدات الامونيوم يضاف اليها 4 قطرات من حامض الخليط الثلجي).

٢: كاشف البرمنكنات (١ غم من البرمنكنات يضاف اليها 70 مل من 10 ٪ بيكاربونات الصوديوم يخفق بـ 150 مل ماء).

**١ : خلطت ٥٠ غم من المادة الزيتية مع ٥٠ غم من مسحوق السليكا بالاثير ليتكون مسحوق ياخذ شكل منتظم باضافته الى العمود.

٢: Silicagel forchromatography< 0.063 mm (feiner als 230 Mesh ASTA)

الجزء الثالث: Rf (0.6) عزيت الى 5,6-O-Isopropylidene vit-C بلورات صفراء درجة انصهارها (217-220 م°) اعيدت بلوراتها (اسيتون – ن هكسان 4-7 V/V) كبلورات شفافة درجة انصهارها (٢١٧-٢١٨ م°)المنشورة(١٣) (217-223 م°) الوزن (0.14 غم) نسبة الفصل (٢٨٪) .

% Calculated for C9H12O6 :C 50% , H 5.56% found :C 50.2% H5.43 U.V data (MeOH solvent).

ε=36000;λmax 239nm;A=1.8 at c=$5x10^{-5}$ M.

الطول الموجي المنشور (١٢) λ max=248nm

IRdata(ν)KBr disk: 3420 cm^{-1} broad (OH str.)cm , 1740cm ,. (C=0 str.) 1650cm^{-1} enolic form str.), 1380 cm

H ′ NMR, (90 MHZ) $(CD3)_2$ CO at ∝(ppm): ∝1.37 s (6x).

∝3.2 m (2x H-6) ; ∝3.51 m (H-5); ∝4.2d (h-4).

الجزء الرابع : لـRf (0.5) عزيت الى 2,3-O-diacetyl vit.- C بلورات بيضاء درجة انصهارها (68-72م°) اعيدت البلورات بالمذيب (خلات الاثيل من هكسان 3:7 V/V,) درجة انصهارها (68-70 م°) المنشور(12)68-69 م° بوزن (0.05 غم) نسبة الفصل (10٪).

%calcuated for C10H12O8 :C46.15%;H 4.62% found C46.5 %;H 3.81٪U.V data (MeOH solvent) : ε=16000 at λmax 218; A=0.8 C=$5x10^{-5}$M

IR, (ν max):3430cm^{-1} (OH , str);2905 cm^{-1}(CH str.) 1685 cm (C=0 str.); 1740 cm^{-1}(AC atr.).

H ′ NMR (90MHZ) $CDCl_3$ solvent, ∝(ppm).

∝2 s (6x COCH3);∝4.1 d(2x H-6);∝4.3 m (H-5); ∝5.2 d (H-4)

الجزء الخامس: خليط لـRf (0.41 ,0.5)

مادة زيتية القوام λmax (229,218)nm ,U.V data.

Eluent	Composition	Volume/volume
A	MeOH/Benzene	4:6
B	Acetone/H_2 O/MeOH	10/1/1

الجزء السادس: لـRf(0.41)عزيت الى 3-O-Acetyl vit.-C

بلورات بيضاء درجة انصهارها (83-87 م°) اعيدت البلورات بالمذيب (خلات الاثيل – الايثر البترولي 7:3 V/V) درجة انصهارها (٨٣-٨٥ م°) وزنها (0.07 غم) نسبة الفصل (14٪)

calculated for C8H7O7 :C 44.65% , found C 44.51%); H 3.91%. U.V., data MeOH solvent: ε= 25000 at λ max 229nm; A=1.26 , c = 5x10 M

الطول الموجي المنشور(١٤) λ max 254 nm

IR,data (ν max): 3430cm^{-1} broad (OH str.) ,2905 cm^{-1} (CH str.)1585 cm^{-1} (c=c) , 1670 cm^{-1} (C=0 str.) , 1740 cm^{-1} (Ac str.).H′NMR (90 MHZ) Solvent CDC13 , ∝(ppm) ∝2 s(3x COCH3)∝3.65 m (2x H-6 ,∝4.12 m (H-5) ∝4.7 d (H-4).

الجزء السابع :Rf(0.17) عزيت الى الجزء الغير متفاعل من فيتامين C– بوزن (0.07غم) نسبة الفصل (10٪) بلورات مائلة الى الاصفرار 193-192 م° .

.U.V data, MeOH solvent ,λmax 240.6 nm

المنشور (7)(λmax 265nm) في وسط متعادل و (λmax 243nm) عند PH=2.

.IR (max): 3500-3200 cm^{-1} free(4 OHstr.), 2905 cm^{-1} (CH str.) 1740 cm (C =0 STR.), 1650 cm^{-1} enolic form str.)

H′NMR (90 MHZ) , CDCl3 solvent ; ∝(ppm) : ∝3075 dd (H-6),∝4.05 t (H-5), ∝4.9-5 d (H-4).

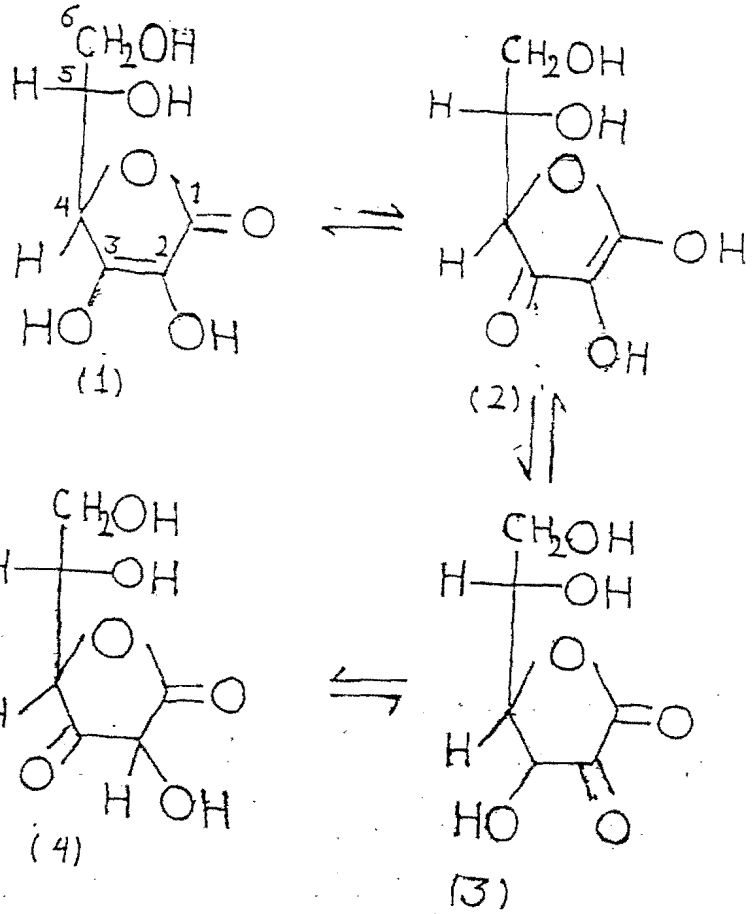
مطابق لما نشر في الادبيات.(4)

References:

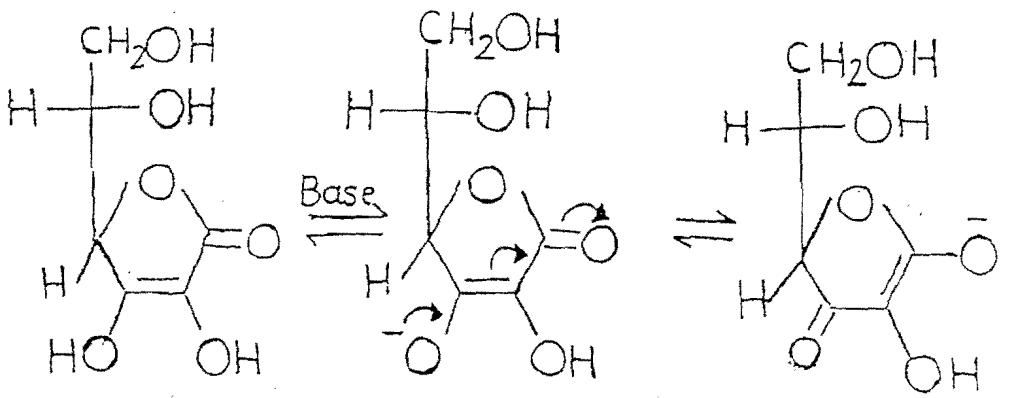
1-T. Douglas and i. Nadvi , Febs letters , Vol., 106, No, 2,(1979), 393-396.

2- R.J. Ferrier and P.M. Collins , Monosacchride chemistry, Advisory

مخطط رقم (١)



مخطط رقم (2)



13- K.Jackson. Candian of chemistry , vol., 47, (1969), 2498- 2501.

14- L.Lohman , Nolfgang, Pagel, D. Penka ,Volker (inst. biophys. Uni. Glessen), chem. Abstr . vol.,100, (1984) 81562 t.

15- Phinzbach H. and E. Druckrey, Tetrahys. letter (1965) 2959.

16- Martin R.H.,N .Defay and F.Greet-Evarard ,Tetrahydron , 20 ,(1964), 1505.

Study Synthesis of Som Vitamine - C Drivatives

ODA MIZIL YASSER AL- ZAMELY

Abstract

The present Work include the novel sythesis of 2,3-0-isopropylidene vitamin-c, from the reaction of dry acetone with vitamin-c in excess of acetylchloride , the reaction completed afeter(48) hr . and shows a four products 2, 3 -0 -Isopropylidene , 5 , 6 - 0 -Isopropylidene and2,3 -0-diacetryl and 3-0 -acetyl vitamin-c.

These four products were separted by uisng column chromantotograhy type (silicagel chromatography <0.06 mm).

The compounds were indentified by absorption spectrum analysis of (U.Vand IR) in addition to (H^1NMR).

editor V.S. Griffiths printed in Great Britain by William and clowes and Sons (1972) , p. 171.

3- K. Heynes , Adv. carbohydr ,.chem. Academic press. vol., 17 (1962), 169-171.

4- Saskatchewen and Saskaton , J. chem Edu., 66(4) (1989), 344-345.

5- C. Vestling and M. Rebstock , J Biol .chem. vol., 161, (1945). 285 -291.

6- E.Ball , .J.Biol .Chem . vol. 118 (1937), 219-239

7- Chen H. Lee, paul A. Seib,yun T. liang , Russel C.Hoseney and charles W. Deyoe , Carbohydr.Res., 76(1978),127-138.

8- B.Rolf,Journal of pharmance atical science science, vol.,64,no. 8(1975), 1300-1305.

9- C. Vestling and M. R ebstock, T. Biol. chem., vol., 52,(1944), 585-591.

10- N. Philipsawyer, Freeman leon ,D.U.S. 329, 290, chem. Abstr., vol.,97,(1982) 110340W.

11- N. Haworth, E. Hirst, J.chem. soc., (1934), 122-123.

12- Wadad S.Al-Fayath ,M.Sc. Thesis, University of Basrah (1986).