

УДК 547.455.623'2:612.014.46

ОСОБЕННОСТИ МЕЖФАЗНОГО КАТАЛИТИЧЕСКОГО ГЛИКОЗИЛИРОВАНИЯ САЛИЦИЛОВОЙ КИСЛОТЫ

Чупахина Т.А., Гончаренко Ю.Н., Курьянов В.О., Астраханцева А.А.

*Таврический национальный университет им. В.И. Вернадского, Симферополь, Украина
E-mail: tachup@rambler.ru*

В условиях межфазного катализа в системе «твердый карбонат калия–ацетонитрил» с использованием катализатора 15-краун-5 изучена реакция 2-ацетамидо-3,4,6-три-*O*-ацетил-2-дезоксид- α -D-глюкозаминилхлорида с салициловой кислотой. Приведены условия получения моно- и бис-углеводных производных салициловой кислоты, строение которых доказано с помощью ^1H ЯМР спектроскопии.

Ключевые слова: межфазный катализ, краун-эфир, гликозилирование, гликозильный эфир.

ВВЕДЕНИЕ

Известно, что в живых системах углеводы являются субстратами специфических рецепторов в широком круге биологических процессов. Межклеточные взаимодействия, иммунный ответ, патогенез бактериальных и вирусных инфекций, рост и метастазирование опухолевых клеток реализуются вследствие связывания углеводных остатков с клеточной поверхностью посредством соответствующих рецепторов. Поскольку аффинитет единичного углеводного остатка к его рецептору обычно достаточно слаб, прочное связывание, наблюдающееся при этом распознавании, обусловлено одновременной координацией рецепторами, несущими ряд эквивалентных сайтов связывания – нескольких идентичных гликозидных остатков, находящихся на поверхности субстрата. Этот феномен назван мультивалентностью, или гликозидным кластерным эффектом и явился толчком к синтезу широкого круга полигликозилированных соединений – миметиков биологических лигандов и их функций. Избирательная модификация полифункциональных соединений создаёт предпосылки для молекулярного дизайна биологически активных веществ, несущих различное число углеводных остатков.

Важной разновидностью 1-*O*-производных сахаров являются гликозильные эфиры карбоновых кислот, представляющие определенный фармакологический интерес. Салициловая кислота, обладающая хорошо известным спектром биологической активности, выбрана нами как пример бифункционального соединения с целью получения веществ, содержащих различное количество остатков 2-ацетамидо-2-дезоксид-D-глюкозы, связанных с кором неуглеводной природы *O*-гликозидной и сложноэфирной связями.

В настоящем сообщении обсуждаются особенности синтеза моно- и бис-углеводных производных салициловой кислоты.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

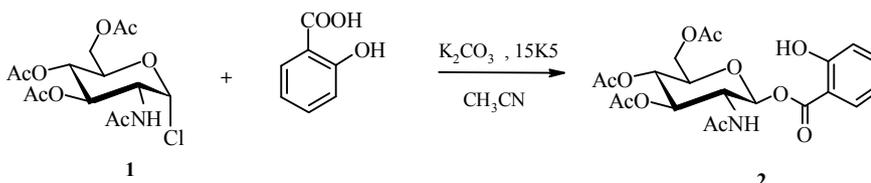
Температуры плавления определяли на приборе ПТП, оптическое вращение – при 20–25 °С на поляриметре Polamat-A ($\lambda = 546$ нм).

ТСХ проводили на пластинках Sorbfil-АФВ-УФ («Сорбполимер», Россия). Зоны веществ обнаруживали в УФ (254 нм), а также 5% раствором серной кислоты в этаноле с последующим нагреванием до 200–300 °С. Использовали хроматографическую систему растворителей: бензол–ацетон, 5:1 (А), бензол–изопропиловый спирт, 10:1 (Б), хлороформ–изопропиловый спирт, 15:1 (В). Колоночную хроматографию (КХ) проводили на силикагеле Merck 230–400 меш.

¹Н ЯМР спектры получены на спектрометрах Varian Mercury-400 (400 МГц), Varian Mercury-300 (300 МГц), внутренний стандарт – Me₄Si. Приведены химические сдвиги (ХС) (м.д., δ -шкала) и константы спин-спинового взаимодействия (КССВ, J , Гц).

схема 1

Синтез 2-ацетамидо-3,4,6-три-*o*-ацетил-1-*o*-(2-гидроксибензоил)-2-дезоксиглюкопиранозы (2)



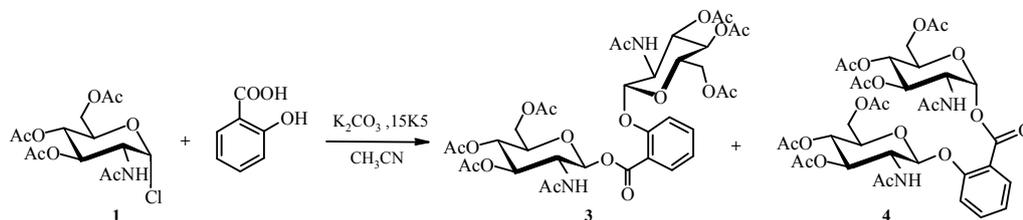
Способ 1. Смесь 400 мг (1,10 моль) α -хлорида **1**, 151 мг (1,10 моль) салициловой кислоты, 151 мг (1,1 моль) безводного карбоната калия и 48 мг (0,22 ммоль) 15K5 в 12 мл безводного ацетонитрила перемешивали при температуре 20–22 °С до полной конверсии гликозил-донора (ТСХ, система А). Твердую фазу отделяли фильтрованием, осадок промывали на фильтре ацетонитрилом (2×5 мл), растворитель удаляли досуха при пониженном давлении. Продукт реакции **2** выделяли с помощью колоночной хроматографии, элюируя системой бензол–изопропиловый спирт (100:1) → бензол–изопропиловый спирт (30:1). Выход 2-ацетамидо-3,4,6-три-*O*-ацетил-1-*O*-(2-гидроксибензоил)-2-дезоксиглюкопиранозы составил 355 мг (69%); т.пл. 142 °С, $[\alpha]_{546} -50^\circ$ (с 1,0; хлороформ).

¹Н ЯМР (DMSO-*d*₆, 300 МГц): 1,75с (3Н, NAc), 1,96с (3Н, OAc), 2,00с (6Н, 2OAc), 4,12м (4Н, Н-2, Н-5, Н-6а, Н-6б), 4,97дд (1Н, Н-4, $J_{4,5}$ 10,2 Гц), 5,27дд (1Н, Н-3, $J_{3,4}$ 10,8 Гц), 5,92д (1Н, Н-1, $J_{1,2}$ 8,4 Гц), 6,96дд, 7,01д, 7,55дд, 7,68д, (4Н, CH_{аром.}), 8,09д (1Н, NH, $J_{2,\text{NH}}$ 9,3 Гц), 10,19с (1Н, OH).

Способ 2. По способу 1 из 400 мг (1,1 моль) α -хлорида **1** в отсутствие межфазного катализатора получили целевой продукт реакции **2** с выходом 205 мг (40%) после очистки колоночной хроматографией.

Схема 2

Синтез (2-ацетидамо-3,4,6-три-*O*-ацетил-2-дезоксид-β-*D*-глюкопидранозил)-2-(2-ацетидамо-3,4,6-три-*O*-ацетил-2-дезоксид-β-*D*-глюкопидранозидилокси)бензоата (3) и (2-ацетидамо-3,4,6-три-*O*-ацетил-2-дезоксид-α-*D*-глюкопидранозил)-2-(2-ацетидамо-3,4,6-три-*O*-ацетил-2-дезоксид-β-*D*-глюкопидранозидилокси)бензоата (4)



Смесь 500 мг (1,37 ммоль) α-хлорида **1**, 94,4 мг (0,68 ммоль) салициловой кислоты, 517 мг (3,75 ммоль) безводного карбоната калия, 11 мг (0,05 ммоль) 15K5 в 15 мл безводного ацетонитрила перемешивали при температуре 20–22 °С до полной конверсии гликозил-донора (ТСХ, система Б). Выделение продуктов реакции **3** и **4** проводили по способу 1. Выход целевого продукт **3** после колоночной хроматографии (элюент: хлороформ–изопропиловый спирт 100:1 → хлороформ – изопропиловый спирт, 15:1) составил 45 мг (8%); т.пл. 134 °С, $[\alpha]_{546} -37,5^\circ$ (с 0,9; хлороформ).

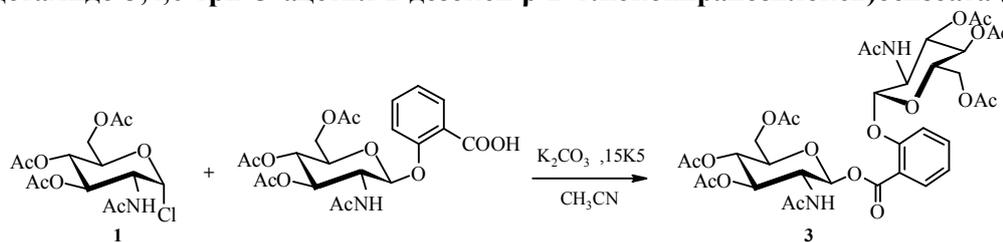
¹Н ЯМР (DMSO-*d*₆, 400 МГц) соединения **3**: 1,76с, 1,78с (6Н, NAc), 1,97с, 1,98с, 2,01с, 2,02с (12Н, 4OAc), 2,00с (6Н, 3OAc), 4,11м (8Н, 2 Н-2, 2 Н-5, 2 Н-6а, 2 Н-6б), 4,93дд, 4,96дд (2Н, 2 Н-4, *J*_{4,5} 9,6 Гц, *J*_{4,5} 10,0 Гц), 5,28 дд, 5,25дд (2Н, 2 Н-3 *J*_{3,4} 9,6 Гц), 5,54д, 5,92д (2Н, 2 Н-1, *J*_{1,2} 8,8 Гц), 7,13т, 7,28д, 7,59дд, 7,74д (4Н, СН_{аром.}), 7,95д, 8,06д (2Н, 2 NH, *J*_{2,NH} 8,0 Гц, *J*_{2,NH} 9,6 Гц).

Выход целевого продукт **4** после колоночной хроматографии при градиентном элюировании системой хлороформ–изопропиловый спирт (100:1) → хлороформ–изопропиловый спирт (30:1) составил 38 мг (7%); т.пл. 211 °С, $[\alpha]_{546} -34^\circ$ (с 1,0; хлороформ).

¹Н ЯМР (DMSO-*d*₆, 400 МГц) соединения **4**: 1,72с, 1,81с (6Н, 2NAc), 1,96с (9Н, 3OAc), 1,99с, 2,01с, 2,02с (9Н, 3OAc), 4,18м (8Н, 2Н-2, 2Н-5, 2Н-6а, 2Н-6б), 4,97дд, 5,04дд (2Н, 2Н-4, *J*_{4,5} 9,6 Гц), 5,28дд (2Н, 2Н-3, *J*_{3,4} 9,6 Гц), 5,59д, 6,17д (2Н, 2Н-1, *J*_{1,2} 3,2 Гц, *J*_{1,2} 8,4 Гц), 7,22т, 7,39д, 7,64т, 7,89д (4Н, СН_{аром.}), 8,00д, 8,02д (2Н, 2NH, *J*_{2,NH} 8,0 Гц, *J*_{2,NH} 8,4 Гц).

Схема 3

Синтез (2-ацетидамо-3,4,6-три-*O*-ацетил-2-дезоксид-β-*D*-глюкопидранозил)-2-(2-ацетидамо-3,4,6-три-*O*-ацетил-2-дезоксид-β-*D*-глюкопидранозидилокси)бензоата (3)

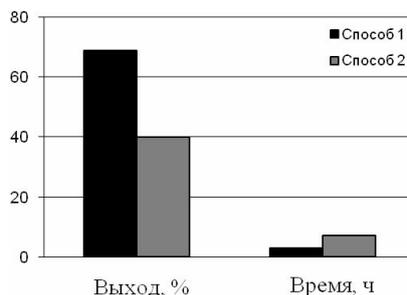


Смесь 200 мг (0,55 ммоль) α -хлорида **1**, 256 мг (0,55 ммоль) *o*-карбоксифенил-2-ацетиамидо-3,4,6-три-*O*-ацетил-2-дезоксид- β -D-глюкопиранозид, 76 мг (0,55 ммоль) безводного карбоната калия, 24 мг (0,11 ммоль) 15K5 в 6 мл безводного ацетонитрила перемешивали при температуре 20–22 °С до полной конверсии гликозил-донора (ТСХ, система Б). Продукт реакции **3** выделяли по способу 1, используя для колоночной хроматографии элюент хлороформ–изопропиловый спирт (100:1) → хлороформ–изопропиловый спирт (25:1). Выход производного **3** составил 255 мг (58%); т.пл. 133 °С, $[\alpha]_{546} -53^\circ$ (с 1,0; хлороформ).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

С целью расширения круга объектов межфазного каталитического гликозилирования [1–5], нами изучено взаимодействие 2-ацетиамидо-3,4,6-три-*O*-ацетил-2-дезоксид- α -D-глюкозаминилхлорида с бифункциональным *O*-нуклеофилом – салициловой кислотой. Гликозильный эфир **2** получили межфазной реакцией стехиометрических количеств α -хлорида **1**, салициловой кислоты, безводного карбоната калия и 20% (мольн.) 15K5 при комнатной температуре, в среде сухого ацетонитрила. Реакция заканчивалась в течение 3 ч (ТСХ). Выход производного **2**, выделенного колоночной хроматографией, составил 69%.

В отсутствие межфазного катализатора процесс шел медленнее, и полная конверсия глюкозаминилхлорида **1** в продукт реакции **2** завершалась за 6 ч с выходом 40%. Таким образом, использование 15K5 сокращало время реакции глюкозаминилирования и повышало выход целевого продукта, сравнительно с процессом, протекающим в отсутствие МФ-катализатора (рис. 1).



Способ 1:

Хлорид **1**: **2** : K_2CO_3 : 15K5 = 1:1:1:0,2

Способ 2:

Хлорид **1**: **2** : K_2CO_3 = 1:1:0,2

Рис. 1. Зависимость времени реакции и выхода продукта **2** от условий реакции.

Строение целевого продукта **2** доказано ПМР-спектроскопией. Об образовании гликозильного эфира свидетельствует наличие в 1H ЯМР спектре дублета аномерного протона с ХС 5,9 м.д. и синглета хелатированной фенольной гидроксильной группы с ХС 10,2 м.д. 1,2-*транс*-Диаксиальное расположение протонов в остатке *N*-ацетилглюкозамина подтверждается величиной КССВ 8,4 Гц. В спектре также идентифицированы сигналы скелетных протонов, протонов *O*- и *N*-

ацетильных защитных групп углеводного остатка, а также сигналов ароматических протонов агликона с ХС 6,95, 6,99, 7,55 и 7,69 м.д.

Для введения второго остатка *N*-ацетилглюкозамина по фенольной гидроксильной группе салициловой кислоты межфазную реакцию проводили по способу 1 с использованием избытка основания. Гликозилгалогенид **1** конвертировался с образованием *бис*-производных **3** и **4** за 3–4 ч. Невысокие выходы соединений **3** и **4** – 8% и 7%, соответственно, связаны с протеканием побочных реакций образования ацетатов **5** и **6** (рис. 2). Образование продукта реакции **4** с α -конфигурацией сложноэфирной связи, скорее всего, связано с аномеризацией.

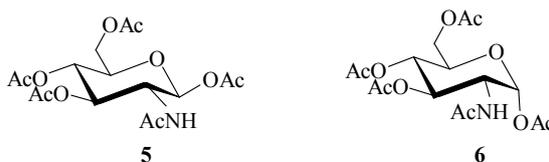


Рис. 2. Структуры 1-*O*-ацетилглюкопираноз **5** и **6**.

Строение *бис*-глюкозаминидов **3** и **4** доказано ^1H ЯМР спектроскопией. Характерной особенностью ПМР-спектров является отсутствие сигналов протона фенольной гидроксильной группы и удвоение сигналов скелетных протонов углеводного остатка относительно сигналов протонов агликона. Образование димеров с различной конфигурацией гликозильной связи подтверждается дублетом аномерного протона с ХС 6,2 м.д. и КССВ 3,2 Гц, свидетельствующей об α -конфигурации ацилгликозидной связи *бис*-производного **4**. 1,2-*транс*-Диаксиальное расположение протонов в остатке *N*-ацетилглюкозамина *бис*-производного **3** подтверждается присутствием в его ПМР-спектре дублета аномерного протона с ХС 5,9 м.д. и КССВ 8,8 Гц. Химические сдвиги ароматических протонов в остатке салициловой кислоты продуктов реакции **3** и **4** соответствуют химическим сдвигам ароматических протонов гликозильного эфира **2**.

Применение альтернативного подхода – синтез соединения **3** исходя из *o*-карбокисфенил-2-ацетамидо-3,4,6-три-*O*-ацетил-2-дезоксид- β -D-глюкопиранозиды завершалось образованием единственного продукта **3** с β -конфигурацией аномерного центра в обоих углеводных остатках (сравнение с заведомыми образцами) с выходом 58%.

ВЫВОДЫ

1. Показана возможность применения межфазной системы «твердый K_2CO_3 – безводный CH_3CN » с использованием катализатора 15K5 для реакции глюкозаминирования бифункционального соединения – салициловой кислоты.
2. В обсуждаемом межфазном процессе 15K5, являющийся катализатором межфазного переноса, в сравнении с процессом без катализатора обеспечивает

сокращение времени реакции и повышение выхода 1-*O*-ацильного производного салициловой кислоты.

3. Подобраны условия получения моно- и *bis*-производных салициловой кислоты.

Список литературы

1. Glycosylation of mycotoxins / S. Grabley., M. Garies, W. Böckers, J. Thiem // *Synthesis*. – 1992. – Vol. 27, № 11. – P. 1078–1080.
2. Bliard C. Glycosylation of acids under phase transfer conditions. Partial synthesis of saponins / C. Bliard, G. Massiot, S. Nazabadioko // *Tetrahedron Lett.* – 1994. – Vol. 35, № 33. – P. 6107–6108.
3. Loganathan D. Phase-transfer catalysed glycosylation. Synthesis of 1-*O*-(*p*-methoxycinnamoyl)-2,3,4,6-*tera-O*-acetyl- β -D-glycopyranose / D. Loganathan, A. Amonkar, G. Trivedi // *Indian J. Chem.* – 1983. – Vol. 22, № 4. – P. 400–401.
4. Катализируемый краун-соединениями синтез β -арилгликозидов N-ацетилглюкозамина / В.О. Курьянов, Т.А. Чупахина, А.Е. Земляков, С.А. Котляр [и др.] // *Биоорг. химия* – 2001. – Т. 27, № 6. – С. 434–438.
5. Курьянов В.О. Межфазный катализ: синтез гликозильных эфиров N-ацетилглюкозамина / В.О. Курьянов, Т.А. Чупахина, В.Я. Чирва // *Журн. орг. та фарм. хімії* – 2009. – Т. 7, № 3. – С. 57–63.

Чупахіна Т.О. Особливості міжфазної каталітичних глікозилювання салицилової кислоти / Т.О. Чупахіна, Ю.М. Гончаренко, В.О. Кур'янов, Г.О. Астраханцева // *Вчені записки Таврійського національного університету ім. В.І. Вернадського. Серія „Біологія, хімія”*. – 2011. – Т. 24 (63), № 2. – С. 396–401.

В умовах міжфазного каталізу у системі «твердий карбонат калію–ацетонітрил» з використанням катализатора 15-краун-5 досліджена реакція 2-ацетамідо-3,4,6-три-*O*-ацетил-2-дезоксид- α -D-глюкозамінілхлориду з салицилової кислотою. Приведені умови отримання моно- і *bis*-вуглеводних похідних салицилової кислоти, будову яких доведено за допомогою ^1H ЯМР спектроскопії.

Ключові слова: міжфазний катализ, краун-етер, глікозилювання, глікозильний естер.

Chupakhina T.A. Features of the phase transfer glycosilation of salicylic acid / T.A. Chupakhina, U.N. Goncharenko, V.O. Kuryanov, A.A. Astrakhanseva // *Scientific Notes of Taurida V.Vernadsky National University*. – Series: Biology, chemistry. – 2011. – Vol. 24 (63), No. 2. – P. 396–401.

In the phase transfer system "solid potassium carbonate–acetonitrile" in presence of catalytic amounts of 15-crown-5 reaction of peracetate α -D-glucosaminilchloride with salicylic acid was studied. Conditions for obtaining mono- and *bis*-carbohydrate derivatives of salicylic acid whose structure was proved by ^1H NMR spectroscopy were proved.

Keywords: phase transfer catalysis, crown-ether, glycosilation, glycosyl ether.

Поступила в редакцію 15.05.2011 г.