

УДК 547.459.5:547-316

НОВЫЕ ПОДХОДЫ К 4,6-О-БЕНЗИЛИДЕНИРОВАНИЮ N-АЦЕТИЛ-D-ГЛЮКОЗАМИНА В СРЕДЕ АПРОТОННЫХ РАСТВОРИТЕЛЕЙ

Гунчак С.А., Пертель С.С., Какаян Е.С., Чирва В.Я.

*Таврический национальный университет им. В.И. Вернадского, Симферополь, Украина
E-mail: orgchem@crimea.edu*

Предложены два новых метода получения вещества, широко используемого в синтетической химии углеводов – 2-ацетидамо-4,6-О-бензилиден-2-дезоксид-*D*-глюкопиранозы, на основе прямого бензилиденирования *N*-ацетил-*D*-глюкозамина в среде полярных апротонных растворителей с использованием диметилацетата бензальдегида в качестве бензилиденирующего агента в присутствии мягкого кислотного катализатора – перхлората пиридиния.

Ключевые слова: *N*-ацетил-*D*-глюкозамин, 4,6-О-бензилиденирование, 2-ацетидамо-4,6-О-бензилиден-2-дезоксид-*D*-глюкопираноза, диполярные апротонные растворители, аномерное соотношение.

ВВЕДЕНИЕ

2-ацетидамо-4,6-О-бензилиден-2-дезоксид-*D*-глюкопираноза **2** широко используется в химии углеводов в качестве промежуточного продукта в синтезе *O*-алкилированных [1, 2] и *O*-ацелированных [3] производных *N*-ацетил-*D*-глюкозамина, для получения *O*-гликозаминидов [1, 2], 4,6-О-бензилиденированных оксазолиновых производных *D*-глюкозамина [4, 5], гликозил-акцепторов [6, 7], *S*-гликозидов [8-13], а также как промежуточный продукт в синтезе производных нейраминной кислоты [14, 15]. Кроме того, соединение **2** может использоваться для синтеза гликозидов методом аномерного *O*-алкилирования и при помощи трихлорацетимидатного метода [16].

Бензилиденное производное **2** впервые было получено Масамунэ с сотр. [1], а также Ротом и Пигменом [2] при использовании в качестве бензилиденирующего агента бензальдегида в присутствии безводного хлорида цинка. Однако, необходимость применения большого избытка реагентов для смещения равновесия в сторону продуктов, при отсутствии легколетучего соразтворителя, затрудняет обработку реакционной смеси, а также выделение целевого вещества. Так, в оригинальной методике [2] предусматривается очистка 2-ацетидамо-4,6-О-бензилиден-2-дезоксид-*D*-глюкопиранозы **2** путем перекристаллизации 10,3 г сырого продукта из 5 л воды в течение длительного времени. Высокие выходы (92%), о которых сообщалось в работе [2], не воспроизводятся в работах других авторов, даже в условиях ультразвуковой обработки реакционной смеси, как показано Бонсом и др. [7]. Воспроизведение методики Рота и Пигмена в нашей лаборатории

привело к получению соединения **2** с тем же умеренным выходом (58%), что и в работе [7].

Обычно бензилиденирование производных углеводов проводится в среде этилацетата или ацетонитрила. Например, 4,6-О-бензилиденное производное N-ацетил-D-галактозамина синтезируют путем взаимодействия N-ацетил-D-галактозамина с диметилацеталем бензальдегида в кипящем ацетонитриле в присутствии каталитических количеств протонной кислоты [17]. В случае N-ацетил-D-глюкозамина такой подход не может быть использован, поскольку как исходное вещество, так и продукт реакции нерастворимы в указанных растворителях.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Для работы использовали реагенты реактивной чистоты производства компаний Aldrich и Fluka. ДМСО очищали вакуумной перегонкой над гидридом кальция. Диметилацеталь бензальдегида для очистки подвергали вакуумной перегонке над гидридом натрия. Перхлорат пиридиния синтезировали по методике [18] и хранили над P₂O₅. LiBr сушили при температуре 300 °С в течение 3 ч. Тонкослойная хроматография осуществлялась на пластинках Sorbfil с алюминиевой подложкой, покрытых силикагелем СТХ-1ВЭ (производитель – «Сорбполимер», Российская Федерация). Визуализация пятен углеводов осуществлялась путем выдерживания пластинок в парах хлорсульфоновой кислоты в течение 5 мин при комнатной температуре с последующим нагреванием до ~200 °С. Колоночная хроматография осуществлялась на силикагеле марки Silica Gel 60 (производитель – Fluka). ПМР-спектры записывались на спектрометре Varian Mercury 400 (рабочая частота 400,49 МГц). Химические сдвиги определялись относительно сигнала ТМС (δ_H 0.0). Отнесение сигналов ЯМР-спектра выполнено с помощью двумерной спектроскопии (COSY). Величины оптического вращения измерялись на поляриметре Polamat-S (Carl-Zeiss Jena).

2-Ацетамидо-4,6-О-бензилиден-2-дезоксид-Д-глюкопираноза (**2**)

Метод А. К раствору N-ацетил-D-глюкозамина (3,000 г; 13,56 ммоль) в ДМСО (18 мл) добавили диметилацеталь бензальдегида (2,53 мл; 16,92 ммоль) и перхлорат пиридиния (360 мг; 2,16 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре (~ 24 °С) в течение 10 ч и периодически вакуумировали при давлении около 5 мм рт. ст. (6 раз в течение 15 мин с интервалом 1,5 ч). Через 24 ч после начала взаимодействия добавили новую порцию диметилацетала бензальдегида (5,08 мл; 33,84 ммоль), после чего продолжали перемешивание реакционной смеси и вакуумировали ее еще 6 раз в течение следующих 10 ч (по 15 мин при давлении около 5 мм рт. ст. с интервалом 1,5 ч). Ход реакции контролировался методом ТСХ (система хлороформ–метанол 10:1). После завершения реакции к полученному раствору добавили бензол (360 мл) и выдерживали смесь в течение 12 ч при комнатной температуре. Осадок отфильтровали и промыли бензолом. К полученному веществу добавили 5-процентный водный раствор гидрокарбоната натрия (60 мл) и перемешивали смесь в течение 2 ч, осадок отфильтровали, промыли водой и сушили около 5 ч при 25 °С до постоянной массы. Выделено 3320

мг соединения **2** в виде смеси аномеров 2:3 (α : β) (по данным ^1H -ЯМР), чистота которого была подтверждена методами ТСХ и ПМР. Бензольный маточный раствор и жидкость после промывания осадка упарили при пониженном давлении. Остаток соупарили с ксилолом для удаления ДМСО и непрореагировавшего диметилацеталя бензальдегида. Сухой остаток поделили на хроматографической колонке с силикагелем (градиентное элюирование в системе хлороформ \rightarrow хлороформ–этанол (100:8)) и получили дополнительно 270 мг соединения **2**. Общий выход **2** составил 3,590 г (86%).

Метод Б. Смесь N-ацетил-D-глюкозамина (1,000 г; 4,50 ммоль); диметилацеталя бензальдегида (1,36 мл; 9,10 ммоль), перхлората пиридиния (150 мг; 0,90 ммоль) и бромида лития (1,000 г; 11,51 ммоль) и ацетонитрила (15 мл) кипятили с обратным холодильником до растворения осадка (~ 35 мин). Ход реакции контролировался методом ТСХ (система хлороформ–метанол 10:1). После завершения реакции смесь упарили досуха при пониженном давлении и поделили сухой остаток на хроматографической колонке с силикагелем (градиентное элюирование в системе хлороформ \rightarrow хлороформ–этанол (100:8)). Выход продукта **2** составил 1,018 г (73%).

$[\alpha]_{546}^{25} +55.9^\circ$ (*c* 2, Ру, завершение мутаротации через 48 ч). Лит. [2]: $[\alpha]_{\text{D}} +38.2^\circ$ (*c* 1, Ру, завершение мутаротации через 24 ч).

^1H -ЯМР (ДМСО-*d*₆), α -аномер: δ 1.87 (s, 3 H, CH₃CO), 3.36-3.46 (m, 1 H, H-6a), 3.65-3.81 (m, 3 H, H-6b+H-3+H-2), 3.88 (ddd, 1 H, $J_{5,6a}$ 9.5 Hz, $J_{5,6b}$ 9.5 Hz, $J_{5,4}$ 5 Hz, H-5), 4.12 (dd, 1 H, $J_{4,3}$ 10 Hz, H-4), 4.87 (bd, 1 H, $J_{\text{OH},3}$ 5 Hz, OH-3), 4.98 (bt, 1 H, $J_{1,2}$ 3 Hz, H-1), 5.54 (s, 1 H, PhCH), 6.59 (bd, 1-H, $J_{\text{OH},1}$ 4 Hz, OH-1), 7.31-7.54 (m, 5 H, Ph), 7.61 (d, 1 H, $J_{\text{NH},2}$ 8 Hz, NH);

β -аномер: δ 1.87 (s, 3 H, CH₃CO), 3.32 (ddd, 1 H, $J_{5,6a}$ 9 Hz, $J_{5,6b}$ 9 Hz, $J_{5,4}$ 5 Hz, H-5), 3.36-3.46 (m, 2 H, H-2+H-6a), 3.60 (ddd, 1 H, $J_{3,2}$ 9 Hz, $J_{3,\text{OH}}$ 5 Hz, H-3), 3.65-3.81 (m, 1 H, H-6b), 4.19 (dd, 1 H, $J_{4,3}$ 10 Hz, H-4), 4.60 (dd, 1 H, $J_{1,2}$ 8 Hz, H-1), 5.06 (bd, 1 H, OH-3), 5.54 (s, 1 H, PhCH), 6.57 (bd, 1-H, $J_{\text{OH},1}$ 7 Hz, OH-1), 7.31-7.54 (m, 5 H, Ph), 7.81 (d, 1 H, $J_{\text{NH},2}$ 8 Hz, NH).

Данные ЯМР для соединения **2** были также опубликованы в работе [7].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Известно, что N-ацетил-D-глюкозамин растворяется в некоторых высокополярных апротонных растворителях, таких как ДМСО. Кроме того, в присутствии солей лития, способных образовывать устойчивые комплексы со спиртовыми гидроксильными сахарами [19], возможно растворение этого соединения и в менее полярных средах, таких как ацетонитрил. Мы предположили, что применение таких сред позволит осуществить бензилиденирование N-ацетил-D-глюкозамина в растворе. С другой стороны, использование более реакционноспособного по сравнению с бензальдегидом бензилиденирующего агента, например, диметилацеталя бензальдегида, дает возможность провести реакцию в присутствии меньшего количества менее кислотного катализатора.

Экспериментальная проверка сделанных предположений привела к разработке двух новых методик синтеза соединения **2** в среде полярных апротонных растворителей (ДМСО и CH_3CN) с использованием диметилацетала бензальдегида в качестве бензилиденирующего агента, в присутствии мягкого кислотного катализатора – перхлората пиридиния. Схема реакций представлена на рис. 1. При использовании ДМСО, для увеличения выхода целевого циклического ацетала равновесие смещали в сторону продуктов, удаляя образующийся метанол путем периодического вакуумирования реакционной среды. Следует отметить, что необходимо контролировать общую продолжительность вакуумирования, поскольку углубление реакции на высоких степенях завершенности приводит к образованию ряда побочных продуктов. Производное **2** удалось изолировать из реакционной среды без отгонки труднолетучего ДМСО и хроматографической очистки сырого продукта, путем кристаллизации из смеси ДМСО–бензол с последующей обработкой водным раствором гидрокарбоната натрия. В этих условиях бензилиденное производное **2**, чистота которого была подтверждена данными ТСХ и ^1H -ЯМР, было выделено с выходом 83%. Дополнительная хроматографическая очистка остатка, полученного упариванием маточного раствора, увеличивает выход **2** до 86%. Как оказалось, кристаллизация бензилиденного производного **2** из смеси ДМСО–бензол дает целевой продукт с аномерным соотношением 2:3 (α : β), в то время как хроматографирование вещества **2** на колонке с силикагелем в системе хлороформ \rightarrow хлороформ–этанол (100:8) позволяет получить чистый α -аномер.

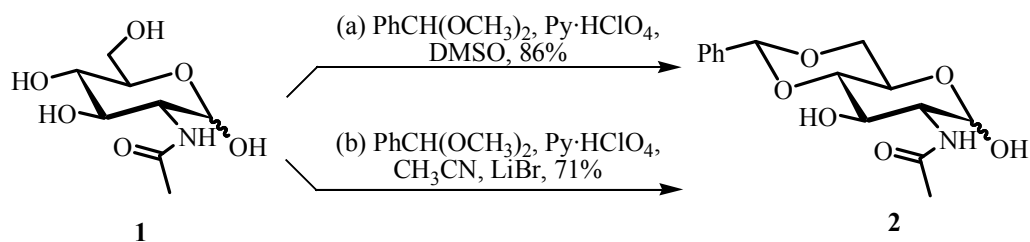


Рис. 1. 4,6-О-бензилиденирование N-ацетил-D-глюкозамина диметилацеталем бензальдегида в среде полярных апротонных растворителей.

В среде ацетонитрил–бромид лития производное **2** удалось синтезировать с выходом 71%. Как оказалось, исходный N-ацетил-D-глюкозамин легко растворяется в ацетонитриле в присутствии 2,6 экв LiBr и быстро взаимодействует (30 мин) с бензилиденирующим агентом в присутствии каталитических количеств перхлората пиридиния при нагревании до температуры кипения растворителя. Определенным недостатком этого метода является необходимость хроматографической очистки продукта реакции для отделения целевого вещества от бромида лития, образующего с ним довольно прочный комплекс.

ВЫВОДЫ

1. Предложены два новых метода получения 4,6-О-бензилиденового производного N-ацетил-D-глюкозамина в среде полярных апротонных растворителей, с использованием в качестве ацетилирующего агента диметилацетала бензальдегида в присутствии мягкого кислотного катализатора – перхлората пиридиния.
2. Показано, что высокий выход целевого продукта может быть достигнут за счет смещения равновесия реакции бензилиденирования, осуществляемой в среде ДМСО, путем многократного вакуумирования реакционной смеси.
3. Установлено, что бензилиденовое производное 2 может быть получено в чистом виде путем перекристаллизации из смеси ДМСО–бензол без применения хроматографической очистки сырого продукта.
4. Показано, что проведение реакции в среде ацетонитрил–бромид лития позволяет получить целевой продукт с хорошим выходом, при сокращении времени взаимодействия до 30 мин.

Список литературы

1. Masamune H. Biochemical Studies on Carbohydrates. CCXVIII. N-Acetyl-4,6-benzylidene-glucosamine / H. Masamune, T. Okuyama, H. Sinohara // *Tohoku J. Exptl. Med.* – 1958. – V. 68, N. 2. – P. 181-184.
2. Roth W. Glycosides of 2-Acetamido-2-deoxy-D-glucosamine and Benzylidene Derivatives / W. Roth, W. Pigman // *J. Am. Chem. Soc.* – 1960. – V. 82. – P. 4608-4611.
3. Hung Sh.-Ch. Regioselective and Stereoselective Benzoylation of 2-N-Protected 4,6-O-Ketal Derivatives of D-glucosamines with 1-(Benzoyloxy)benzotriazole / Sh.-Ch. Hung, S.R. Thopate, Ch.-Ch. Wang // *Carbohydr. Res.* – 2001. – V. 330. – P. 177-182.
4. Abdel-Malik M.M. Reactions on Phenyl Chlorosulfate at OH-1, -4, and -6 of Aldohexopyranose Derivatives. Formation of 1,2-Oxazoline and 4,6-Cyclic Sulfate Rings / M.M. Abdel-Malik, A.S. Perlin // *Carbohydr. Res.* – 1989. – V. 189. – P. 123-133.
5. Palladium-Catalyzed Asymmetric Allylic Substitution Reactions Using New Chiral Phosphinite – Oxazoline Ligands Derived from D-Glucosamine / K. Yonehara, T.Hashizume, K. Mori [et al.] // *J. Org. Chem.* – 1999. – V. 64. – P. 9374-9380.
6. Dasgupta F. 1,3,4,6-Tetra-O-acetyl-2-chloroacetamido-2-deoxy-β-D-glucopyranose as a Glycosyl Donor in Syntheses of Oligosaccharides / F. Dasgupta, L. Anderson // *Carbohydr. Res.* – 1990. – V. 202. – P. 239-255.
7. Synthesis and Biological Evaluation of a Lipid A Derivative That Contains an Aminogluconate Moiety / B. Santhanam, M.A. Wolfert, J.N. Moore [et al.] // *Chem. Eur. J.* – 2004. – V. 10. – P. 4798-4807.
8. C-Glycosidic Analogs of Lipid A and Lipid X: Synthesis and Biological Activities / H. Vyplel, D. Scholz, I. Macher [et al.] // *J. Med. Chem.* – 1991. – V. 34. – P. 2759-2767.
9. Stereospecific Synthesis of C-(2-amino-2-deoxy-β-D-glucosyl) Compounds by Wittig-type Olefination of D-glucosamine Derivatives / A. Mbongo, C. Frechou, D. Beaupere [et al.] // *Carbohydr. Res.* – 1993. – V. 246. – P. 361-370.
10. Stereospecific Synthesis of Ethyl (2-Acetamido-2-deoxy-α-D-glucopyranosyl)-acetate / F. Nicotra, G. Russo, F. Ronchetti [et al.] // *Carbohydr. Res.* – 1983. – V. 124. – P. C5-C7.
11. Desoxy-nitrozucker. 13. Mitteilung. Herstellung ungeschützter und partiell geschützter 1-Desoxy-1-nitro-D-aldosen sowie Röntgenstrukturanalysen einiger ihrer Vertreter / D. Beer, J.H. Bieri, I. Macher [et al.] // *Helv. Chim. Acta.* – 1986. – V. 69. – P. 1172-1190.
12. Werner R.M. The C-Glycosyl Analog of an N-linked Glycoamino Acid / R.M. Werner, L.M. Williams, J.T. Davis // *Tetrahedron Lett.* – 1998. – V. 39. – P. 9135-9138.

13. Wen X. Concise and Stereocontrolled Syntheses of Phosphonate C-Glycoside Analogues of β -D-ManNAc and β -D-GlcNAc 1-O-Phosphates / X. Wen, Ph.G. Hultin // *Tetrahedron Lett.* – 2004. – V. 45. – P. 1773-1775.
14. Kuhn R. Aminozucker-Synthesen, XXV. Synthese der Lactaminsäure / R. Kuhn, G. Baschang // *Liebigs Ann. Chem.* – 1962. – V. 659. – P. 156-163.
15. Wesemann W. Synthesen von N-Acyl-neuraminsäuren, I. Rezeptoren der Neurotransmitter / W. Wesemann, F. Zilliken // *Liebigs Ann. Chem.* – 1966. – V. 695. – P. 209-216.
16. Schmidt R.R. The Anomeric O-Alkylation and the Trichloroacetimidate Method - Versatile Strategies for Glycoside Bond Formation / R.R. Schmidt // *Modern Methods in Carbohydrate Chemistry* / eds. S.H. Khan, R.A. O'Neill. – Amsterdam : Harwood Academic Publishers, 1996. – P. 20-54.
17. Dowlut M. Investigation of Nonspecific Effects of Different Dyes in the Screening of Labeled Carbohydrates against Immobilized Proteins / M. Dowlut, D.G. Hall, O. Hindsgaul // *J. Org. Chem.* – 2005. – V. 70. – P. 9809-9813.
18. Wong C.L. Metal Hydrides as Electron Donors. The Mechanism of Oxidative Cleavage with Tris(phenanthroline) Complexes of Iron (III) / C.L. Wong, R.J. Klingler, J.K. Kochi // *Inorg. Chem.* – 1980. – V. 19. – P. 423-430.
19. A One-step β -Selective Glycosylation of N-Acetyl Glucosamine and Recombinant Chitoooligosaccharides / B. Vauzeilles, B. Dausse, S. Palmier [et al.] // *Tetrahedron Lett.* – 2001. – V. 42. – P. 7567-7570.

Гунчак С.О. Нові підходи до 4,6-О-бензиліденування N-ацетил-D-глюкозаміну в середовищі апротонних розчинників / С.О. Гунчак, С.С. Пертель, О.С. Какаян, В.Я. Чирва // *Вчені записки Таврійського національного університету ім. В.І. Вернадського. Серія „Біологія, хімія”*. – 2010. – Т. 23 (62), № 4. – С. 276-281.

Запропоновано два нових методи отримання сполуки, що широко застосовується в хімії вуглеводів – 2-ацетамідо-4,6-О-бензиліден-2-дезоксид-*D*-глюкопіранози, за допомогою прямого бензиліденування N-ацетил-*D*-глюкозаміну в середовищі полярних апротонних розчинників з використанням диметилацеталу бензальдегіду в якості бензиліденуючого агента у присутності м'якого кислотного каталізатора – перхлорату піридинію.

Ключові слова: N-ацетил-*D*-глюкозамін, 4,6-О-бензиліденування, 2-ацетамідо-4,6-О-бензиліден-2-дезоксид-*D*-глюкопіраноза, дипольні апротонні розчинники, аномерне співвідношення.

Gunchak S.A. New approaches to 4,6-O-benzylidenation of N-acetyl-D-glucosamine in aprotic solvent media / S.A. Gunchak, S.S. Pertel, E.S. Kakayan, V.Ya. Chirva // *Scientific Notes of Taurida V. Vernadsky National University*. – Series: Biology, chemistry. – 2010. – Vol. 23 (62), No. 4. – P. 276-281.

Two new methods of preparation of 2-acetamido-4,6-O-benzylidene-2-deoxy-*D*-glucopyranose, which is widely used in synthetic carbohydrate chemistry, are proposed. The methods are based on direct benzylidenation of N-acetyl-*D*-glucosamine in polar aprotic solvent media using benzaldehyde dimethyl acetal as benzylidenating agent in the presence of mild acidic catalyst – pyridinium perchlorate.

Keywords: N-acetyl-*D*-glucosamine, 4,6-O-benzylidenation, 2-acetamido-4,6-O-benzylidene-2-deoxy-*D*-glucopyranose, dipolar aprotic solvents, anomeric ratio.

Поступила в редакцію 17.11.2010 г.