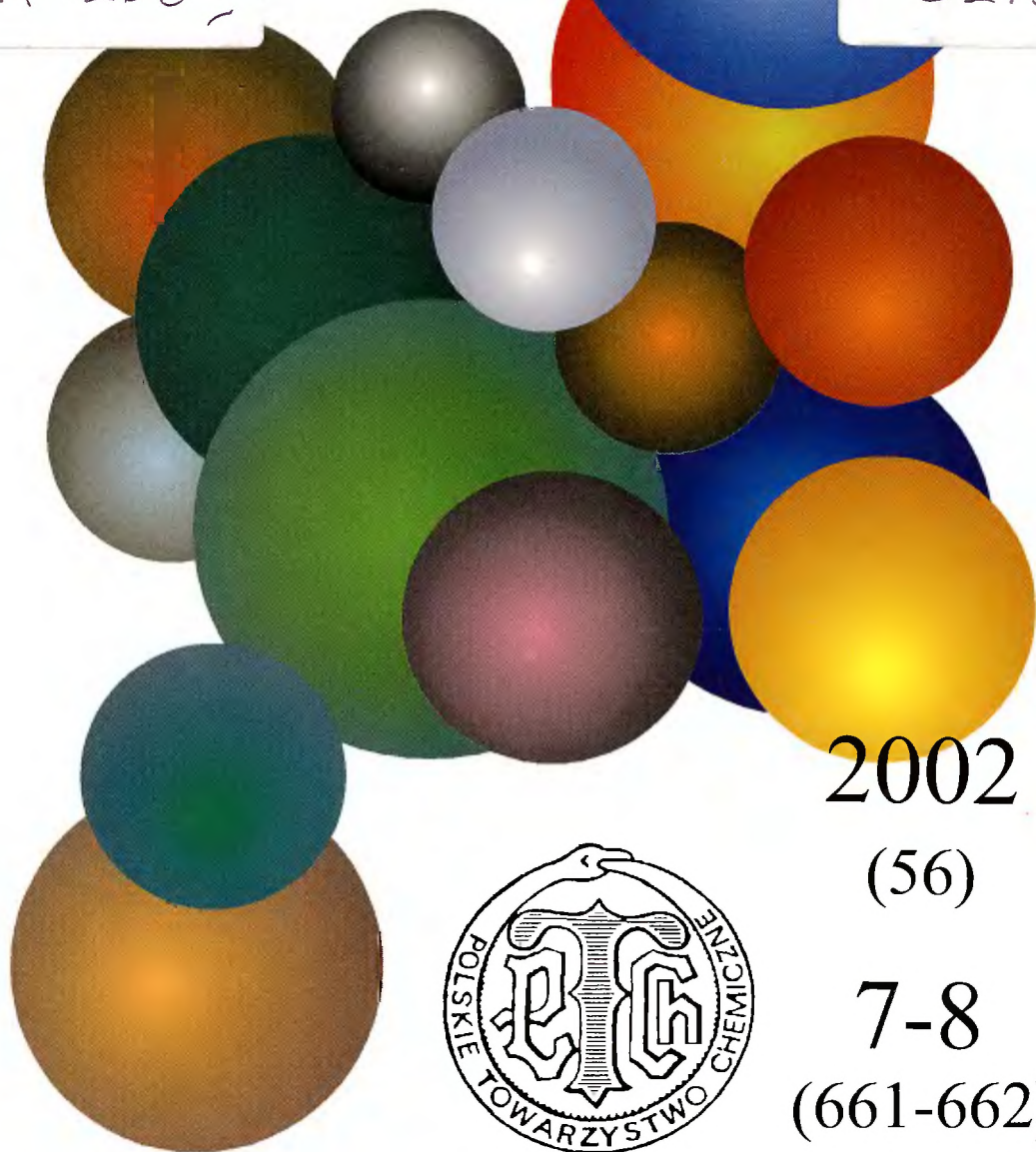


WIADOMOŚCI *chemiczne*

A 1263 II

DI.3



2002

(56)

7-8

(661-662)



CZASOPISMO POLSKIEGO TOWARZYSTWA CHEMICZNEGO

Publikacja dotowana przez KBN

RADA REDAKCYJNA

RYSZARD ADAMIAK, JERZY BŁAŻEJOWSKI, RYSZARD BODALSKI,
JACEK GAWROŃSKI, ZBIGNIEW HUBICKI, JERZY KONARSKI,
TADEUSZ M. KRYGOWSKI, JANUSZ LIPKOWSKI, JACEK MŁOCHOWSKI,
PIOTR PANETH, STANISŁAW SŁOMKOWSKI, ZOFIA STASICKA

Z REDAKCJĄ STALE WSPÓŁPRACUJĄ

HENRYK GALINA (Rzeszów), MAREK K. KALINOWSKI (Warszawa),
BENIAMIN LENARCIK (Bydgoszcz), ZOFIA LIBUŚ (Gdańsk), JAN MAŁYSZKO (Kielce),
BOGDAN MARCINIĘC (Poznań), ZOFIA MICHALSKA (Łódź),
ROMAN MIERZECKI (Warszawa), WŁADYSŁAW RUDZIŃSKI (Lublin),
ZOFIA STASICKA (Kraków), JAN SZYMANOWSKI (Poznań), JÓZEF ŚLIWIOK (Katowice)

KOMITET REDAKCYJNY

BOGDAN BURCZYK, JERZY P. HAWRANEK, ADAM JEZIERSKI, ADOLF KISZA,
LUDWIK KOMOROWSKI, ZDZISŁAW LATAJKA, PRZEMYSŁAW MASTALERZ,
IGNACY Z. SIEMION, MIROŚLAW SOROKA, MARIA SUSZYŃSKA

REDAKTOR NACZELNY

JÓZEF J. ZIÓŁKOWSKI

SEKRETARZ REDAKCJI

KRYSTYNA MARKSOWA

Korespondencję należy kierować pod adresem:

Redakcja „Wiadomości Chemicznych”
ul. F. Joliot-Curie 14, 50-383 Wrocław
tel. 35 73 89, tel./fax 322 14 06

INTERNET (English abstracts) <http://www.chem.uni.wroc.pl/wiadchem.htm>

© Copyright by Redakcja „Wiadomości Chemicznych”, Wrocław 2002

REDAKTOR WYDAWNICTWA
AGNIESZKA FLASIŃSKA

ISSN 0043-5104

Maszynopis niniejszego numeru przekazano Wydawcy w czerwcu 2002

Opracowanie edytorskie i typograficzne: Wydawnictwo Uniwersytetu Wrocławskiego Sp. z o.o.

Druk i oprawa: Wrocławska Drukarnia Naukowa PAN im. S. Kulczyńskiego Sp. z o.o.

Chemia i biologia węglowodanów



**SYNTEZY NATURALNYCH
I MODYFIKOWANYCH ANTYBIOTYKÓW
ANTRACYKLINOWYCH ZE WSPÓLNEGO
PREKURSORA: 3,4-DI-O-ACETYLO-L-RAMNALU**

SYNTHESSES OF NATURAL AND MODIFIED
ANTHRACYCLINE ANTIBIOTICS
FROM A COMMON PRECURSOR:
3,4-DI-O-ACETYL-L-RHAMNAL

**Grzegorz Grynkiewicz¹, Osman Achmatowicz¹,
Iza Fokt², Waldemar Priebe², Jan Ramza¹,
Barbara Szechner¹, Wiesław Szeja³**

¹ *Instytut Farmaceutyczny, Warszawa*

² *M.D. Anderson Cancer Center, Houston, TX, USA*

³ *Wydział Chemiczny Politechniki Śląskiej, Gliwice*

Abstract

Wstęp

1. Aminodeoksymonosacharydy naturalnych antracyklin
2. Modyfikowane antybiotyki antracyklinowe
3. Donory glikozyłowe i metody ich aktywacji
4. Syntony monosacharydowe w totalnych syntezach aglikonów antracyklinowych

Podsumowanie

Piśmiennictwo cytowane

Prof. dr hab. Grzegorz Gryniewicz jest kierownikiem działu w Instytucie Farmaceutycznym w Warszawie. Zajmuje się chemią związków naturalnych, syntezą związków biologicznie aktywnych, chemią medyczną.

Prof. dr hab. Osman Achmatowicz pracuje w Instytucie Farmaceutycznym w Warszawie. Jego główne kierunki działalności badawczej to synteza organiczna, chemia związków naturalnych i stereochemia.

Dr inż. Iza Fokt zajmuje się syntezą chemiczną, spektroskopią i farmakologią molekularną.

Prof. dr hab. Waldemar Priebe jest specjalistą w dziedzinie chemii medycznej. Jego zainteresowania badawcze koncentrują się na lekach przeciwnowotworowych i farmakologii molekularnej.

Dr inż. Jan Ramza jest kierownikiem zakładu w Instytucie Farmaceutycznym w Warszawie. Prowadzi badania w zakresie syntezy organicznej i chemii leków.

Dr inż. Barbara Szechner, kierownik pracowni w Instytucie Farmaceutycznym w Warszawie. Jej działalność badawcza obejmuje syntezę związków naturalnych i stereochemię.

Prof. dr hab. Wiesław Szeja jest kierownikiem Katedry Technologii Chemicznej Węgla i Ropy Naftowej Politechniki Śląskiej. Jego główne zainteresowania naukowe dotyczą chemii węglowodanów, a zwłaszcza badań nad syntezą związków modelowych do badań biologicznych.

ABSTRACT

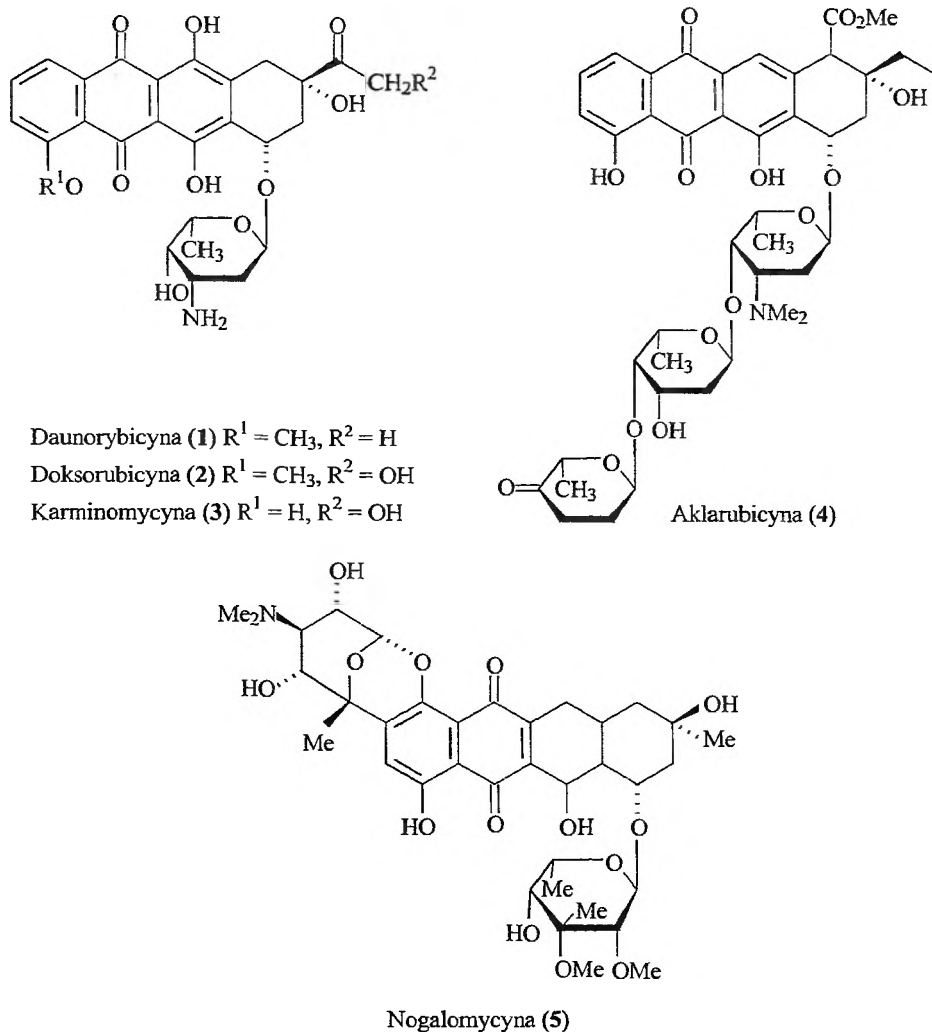
While natural anthracycline antibiotics retain their position of clinically important antitumor drugs despite their serious side effects, much effort is directed towards their improvement by rational structural changes.

Most of useful anthracycline antibiotics chemistry is done by disconnection-modification approach, followed by *de novo* glycosidic bond assembly. It is pointed out that 1,2- and 2,3-unsaturated pyranosides constitute an important class of intermediates, useful for synthesis of natural and modified antibiotic aminosugars. Glycals derived from 3-amino-2,3,6-trideoxypyranoses and their 1-*O*-silylated derivatives are useful glycosyl donors for a variety of alcohols. Also anthracycline antibiotics can be obtained from them in simple preparative procedures which are amenable for scale up and technical process development. Moreover, unsaturated pyranoses from 6-deoxy-L-configurational series are useful chiral precursors for anthracycline aglycons synthesis. Remarkably, various synthetic schemes comprising anthracycline antibiotic sugars, aglycons and new synthetic analogues can be traced down to the single common precursor: 3,4-di-*O*-acetyl-L-rhamnol (**24**), easily obtained from a commodity chemical (raw material in food industry) L-rhamnose.

WSTĘP

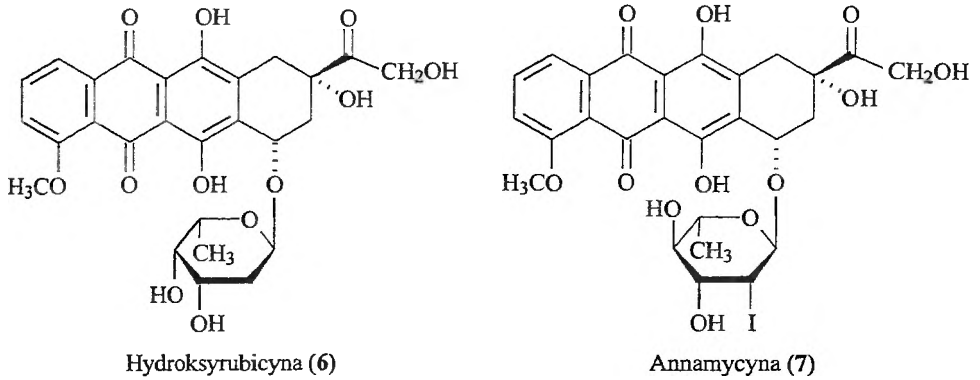
Wiele metabolitów wtórnych drobnoustrojów oraz roślin wyższych, które ze względu na specyficzną aktywność biologiczną znalazły zastosowania w farmacji i medycynie, ma budowę glikozydową. Dotyczy to różnych antybiotyków, w tym również antybiotyków antracyklinowych o aktywności przeciwnowotworowej. Choć glikozydowanie jest zwykle ostatnim etapem biosyntetycznej modyfikacji acetogeninowych aglikonów, powstających w wieloetapowych kaskadach reakcji angażujących wiele różnorodnych enzymów, to jego wynik decyduje o tak istotnych dla zastosowań medycznych właściwościach produktu naturalnego, jak biodostępność i charakterystyka farmakokinetyczna. W przypadku naturalnych antybiotyków antracyklinowych, które zawierają co najmniej jedną cząsteczkę monosacharydu (rys. 1), stwierdzono ponad wszelką wątpliwość, że charakterystyczna dla tych związków aktywność cytotoksyczna jest efektem specyficznych oddziaływań międzycząsteczkowych z DNA oraz topoizomerazami (enzymami regulującymi procesy zmian geometrii podwójnej helisy) całej cząsteczki antybiotyku, a nie tylko jego płaskiej części aromatycznej (aglikonowej), zdolnej do interkalacji. Stwierdzono, na podstawie analizy danych rentgenostrukturalnych i badań biochemicznych kompleksów antracyklin z różnymi oligonukleotydami, że udział części cukrowej (L-daunozaminy) w całkowitej energii wiązania z DNA wynosi ok. 40% [1]. Pierwotne przypuszczenie, że decydujące znaczenie deoksyaminocukru polega jedynie na oddziaływaniach między protonowanym centrum zasadowym antybiotyku a ujemnie naładowanymi resztami grup fosforanowych nukleotydu, nie wytrzymało weryfikacji doświadczalnej: niektóre z syntetycznych antracyklin, zawierające deoksymonosacharydy pozbawione grupy aminowej (hydroksyrubicyna (6), annamycyna (7, rys. 2)), są równie skutecznymi środkami przeciwnowotworowymi w modelach *in vitro*, a nawet w doświadczeniach klinicznych, jak naturalne antybiotyki [2]. Duża skuteczność kliniczna sprawiła, że doksorubicyna (2) jest jednym z najczęściej stosowanych leków przeciwnowotworowych, chociaż jest to lek daleki od doskonałości.

Oprócz typowych dla innych cytostatyków działań ubocznych, doksorubicyna charakteryzuje się potencjalnie zagrażającą życiu pacjenta kumulatywną kardiotoxycnością. Drugą poważną wadą tej substancji jest zdolność do indukowania w komórkach nowotworowych oporności wielolekowej (MDR). Jest więc zrozumiałe, że od ponad 30 lat, które upłynęły od wprowadzenia do onkologicznej praktyki klinicznej, towarzyszy jej pytanie: czy można uzyskać nową wersję doksorubicyny (2) – bezpieczniejszą i skuteczniejszą? Próby obejmują różne rodzaje działań: od modyfikacji chemicznej prototypowych antybiotyków, planowanie i syntezę nowych analogów, otrzymywanie proleków i adresowanych biokoniugatów, nowe systemy terapeutyczne wykorzystujące techniki selektywnego dostarczania i uwalniania substancji aktywnej aż do inżynierii genetycznej z zastosowaniem rekombinacji ekspresji enzymów biosyntezujących antracykliny.

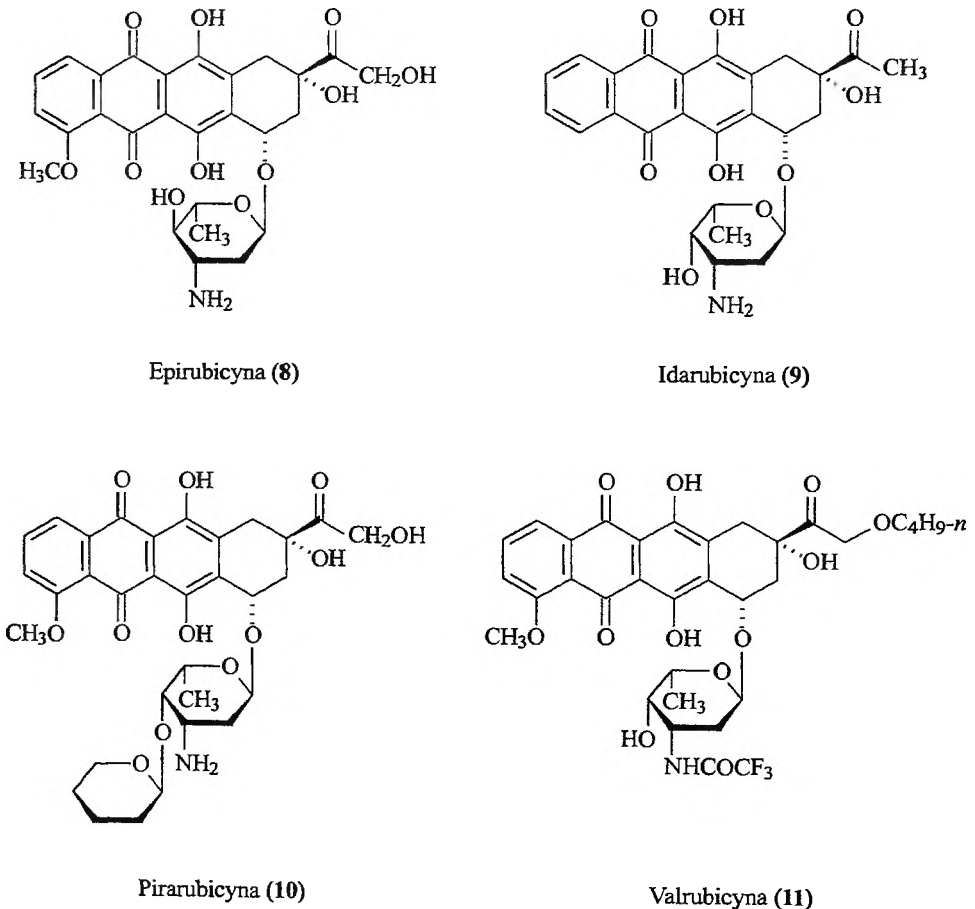


Rys. 1

Sądząc z nowych rejestracji w grupie antracyklin w ostatnim okresie oraz z przeglądu projektów znajdujących się w zaawansowanych badaniach klinicznych (SCRIP), decydujące znaczenie w pozyskiwaniu nowych substancji aktywnych mają metody syntezy chemicznej. Wydaje się ponadto, że wyraźnie zmienia się zakres, w jakim te metody są stosowane. Półsyntetyczne antracykliny drugiej generacji (epirubicyna (8), idarubicyna (9), pirarubicyna (10), valrubicyna (11), rys. 3) powstały w wyniku transformacji strukturalnych naturalnych antybiotyków. Natomiast nowe związki w badaniach klinicznych i w oczekiwaniu na rejestrację coraz częściej pochodzą z syntezy parcjalej (lub totalnej), której kluczowym etapem jest resynteza wiązania glikozydowego. Badania prowadzone



Rys. 2



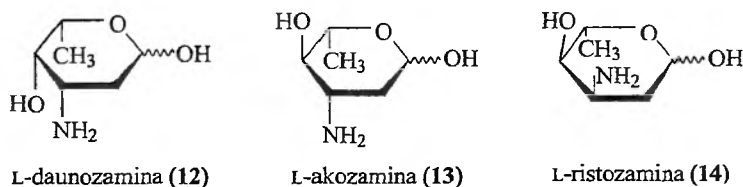
Rys. 3

w zespołach współautorów tej prezentacji są wyrazem takiej właśnie strategii. Kompleksowe podejście do chemii monosacharydów antybiotycznych w celu uzyskania zaplanowanej różnorodności strukturalnej oraz możliwości wytworzenia nowych analogów antybiotyków antracyklinowych w stereokontrolowanych warunkach na etapie glikozydowania przyniosło sukces zarówno w części poświęconej badaniom podstawowym, jak i w projektach aplikacyjnych zmierzających do technologii syntez substancji aktywnych leków generycznych lub nowych kandydatów na leki.

1. AMINODEOKSYMONOSACHARYDY NATURALNYCH ANTRACYKLIN

Antybiotyki antracyklinowe syntetyzowane przez promieniowce (*Streptomyceae*) zawierają reszty deoksypiranozyłowe szeregu konfiguracyjnego L-, niekiedy w postaci podstawnika oligosacharydowego [3]. Najczęściej bezpośrednio z aglikonem wiązaniem O-glikozydowym połączona jest 3-amino-2,3,6-trideoksy-L-piranoza. Z czterech możliwych cukrów o tej budowie występują w przyrodzie trzy, noszące zwyczajowe nazwy: daunozamina (12), akozamina (13) i ristożamina (14) (rys. 4). Pierwszy z nich ma nieporównanie większe znaczenie jako synton i surowiec farmaceutyczny niż pozostałe.

Naturalnym źródłem daunozaminy (12) jest antybiotyk daunomycyna (1), wytwarzany na skalę tonową metodą biotechnologiczną (fermentacja), najczęściej przy użyciu szczepu promieniowca *Streptomyces peucetius* [4].

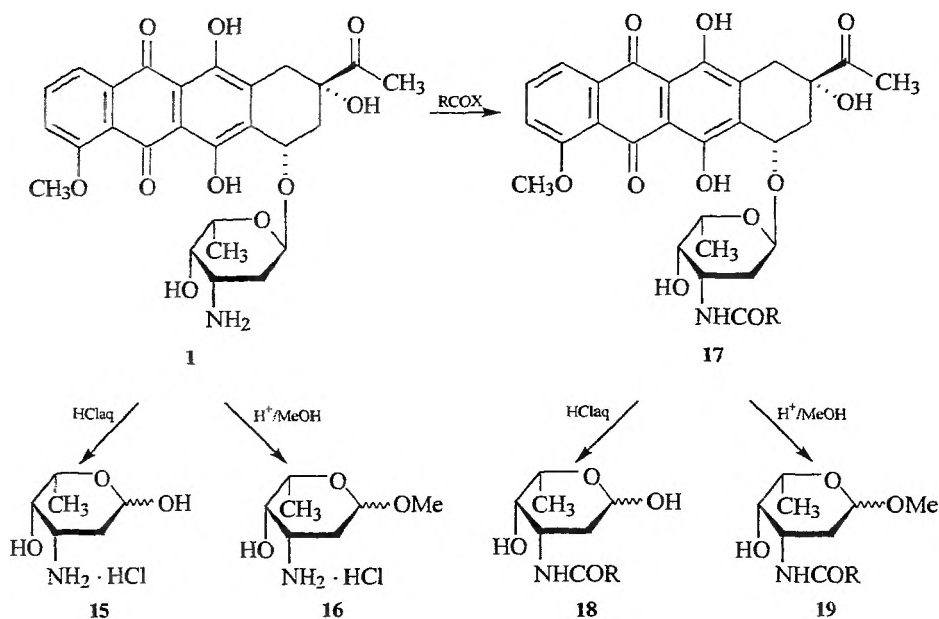


Rys. 4

Hydroliza daunorubicyny (1) przy użyciu kwasu mineralnego daje bezpośrednio sól monosacharydu antybiotycznego 15 (oraz aglikon – daunomycynon). Inną, użyteczną wersją rozszczepienia wiązania glikozydowego jest solwoliza, np. metanolem, wobec katalizatora kwasowego, prowadząca do mieszaniny glikozydów metylowych 16. Każda z tych reakcji może być poprzedzona wprowadzeniem grupy zabezpieczającej funkcję aminową antybiotyku, a hydroliza bądź metanoliza N-acylowanego związku 17 prowadzi odpowiednio do pochodnych 18 i 19 (schemat 1).

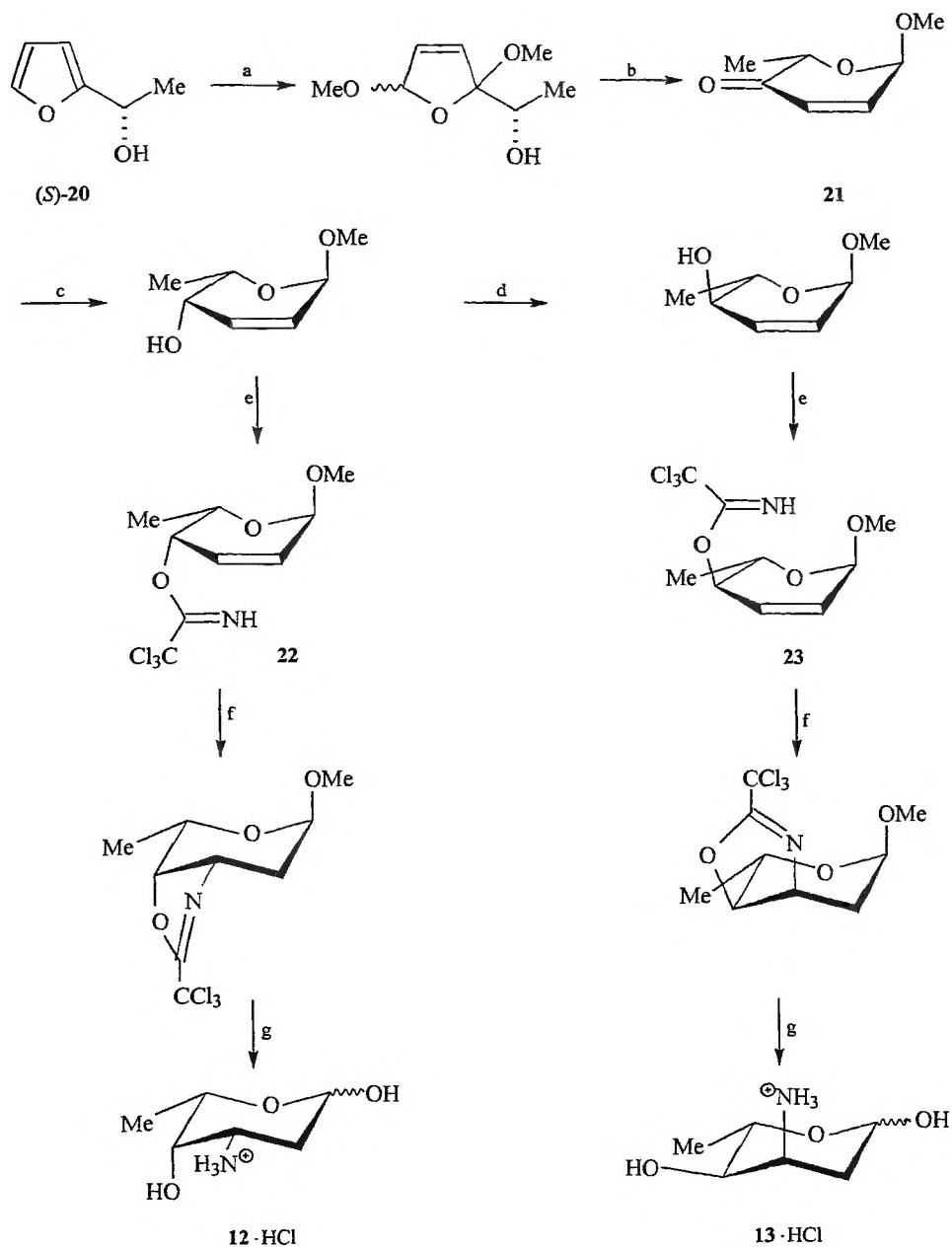
Mimo oczywistej prostoty takich procedur i działającej w skali przemysłowej produkcji surowca 1, L-daunozamina (12) nie jest oferowana ani jako od-

czynnik chemiczny, ani jako półprodukt farmaceutyczny. Być może dlatego cukier ten stał się jednym z popularniejszych celów syntezy. W ostatnich dziesięcioleciach opublikowano ponad sto prac na ten temat, które ze zrozumiałych względów skwitujemy jedynie wskazaniem doniesień z ostatniego okresu [5] i najpoważniejszych pozycji z literatury przeglądowej [6]. W naszych laboratoriach przedmiotem badań była zarówno synteza totalna, jak i preparacje oparte na koncepcji chiralnych prekursorów.



Schemat 1

W ramach kontynuacji totalnych syntez monosacharydów z furylokarbinoli, wykorzystując przegrupowanie Achmatowicza [7], otrzymano obydwa enancjomery daunosaminy (12) i ristozaminy (14) w cyklu stereoselektywnych przemian pokazanych na schemacie 2 [8]. Substratami w syntezie cukrów 12 i 14 szeregu L i D był, odpowiednio, (*S*)-1-(2-furylo)etanol ((*S*)-20) i (*R*)-1-(2-furylo)etanol. Oba chiralne związki wyjściowe otrzymano w wyniku kinetycznego rozszczepienia racematu w reakcji transestryfikacji *rac*-20 octanem winylu katalizowanej lipazą [9]. Kluczowy etap syntezy, wprowadzenie w pozycji C-3 funkcji aminowej w relacji *cis* do wicinalnej grupy hydroksylowej, osiągnęliśmy stosując procedurę [10] polegającą na wewnątrzcząsteczkowej addycji grupy iminowej do podwójnego wiązania, w otrzymanych metodą Overmana [11] imidanch 22 i 23, inicjowanej trifluoroocetanem rtęci(II) (schemat 2). Warto zaznaczyć, że związek pośredni: L-ulozyd 21 można otrzymać również w trzyetapowej syntezie z 2,3-di-*O*-acetylo-L-ramnalu (24).

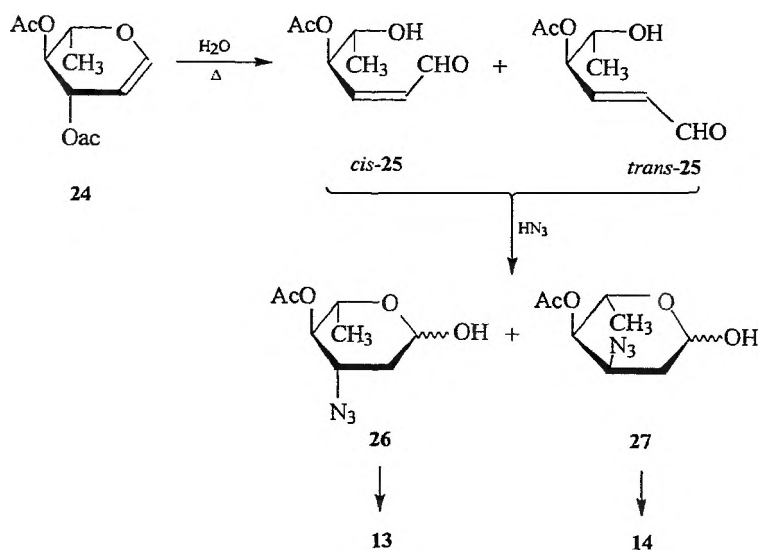


a. MeOH, c; b. 1. PPTS, $\text{CH}_3\text{COCH}_3\text{aq}$; 2. MeI, Ag_2O ; c. $\text{NaBH}_4\text{-CeCl}_3$; d. 1. MsCl, py, 2. EtCO_2Cs , 3. MeONa/MeOH ; e. $\text{Cl}_3\text{CC/N}$; f. $(\text{CF}_3\text{CO}_2)_2\text{Hg}$; g. 1. $\text{Ba(OH)}_2/\text{H}_2\text{O}$, 2. H_3O^+

Schemat 2⁽¹⁾

(¹) Schemat ilustruje przemiany tylko enancjomeru (S).

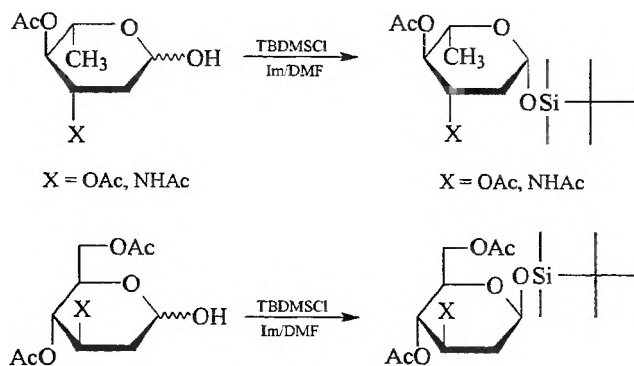
Spośród opublikowanych metod syntezy L-daunozaminy (**12**), wykorzystujących łatwo dostępne monosacharydy, w naszych poszukiwaniach metody produkcyjnej szczególną uwagę zwróciliśmy na transformacje ramnozy, która jest, podobnie jak cele naszych syntez, 6-deoksy-L-heksozą, a ponadto technicznym surowcem używanym w przemyśle spożywczym w skali wielkotonażowej. Pierwsza metoda otrzymywania kolejno: L-akozaminy (**13**) i L-daunozaminy (**12**), którą zaadaptowaliśmy do skali wielkolaboratoryjnej, wykorzystuje doniesienia C. Monnereta [12] dotyczące wydajnej addycji azydku wodoru do podwójnego wiązania nienasyconych aldehydów powstających w wyniku hydrolizy kwasowej heks-1-enitoli (glikali). W reakcji azydku wodoru, generowanego *in situ* z azydku sodu i kwasu octowego, z mieszaniną aldehydów *cis*-**25** i *trans*-**25**, powstającą w wyniku addycji cząsteczki wody do 3,4-di-O-acetylo-L-ramnału (**24**), otrzymujemy C-3 epimeryczne 3-azydopiranozy **26** i **27**, których katalityczna redukcja prowadzi do akozaminy (**13**) i ristożaminy (**14**). Zaletą tego podejścia jest prostota operacji jednostkowych oraz efektywność regioselektywnego wprowadzenia podstawnika w pozycji C-3 docelowego aminocukru. Za wady wypada uznać nikłe możliwości sterowania stereoselektywnością addycji HN_3 do podwójnego wiązania oraz konieczność rozdzielania składników mieszaniny poreakcyjnej, która zawiera anomery α oraz β dwóch epimerycznych monosacharydów redukujących (schemat 3).



Schemat 3

Problem rozdzielania mieszaniny prekursorów cukrów antybiotycznych udało się rozwiązać przez zastosowanie silylowych grup zabezpieczających, które w pozycji anomerycznej ujawniły całkiem nieoczekiwane właściwości. Zauważyliśmy mianowicie, że alkiłowanie 2-deoksypiranoz chlorkiem *tert*-butyloдимetylosililu

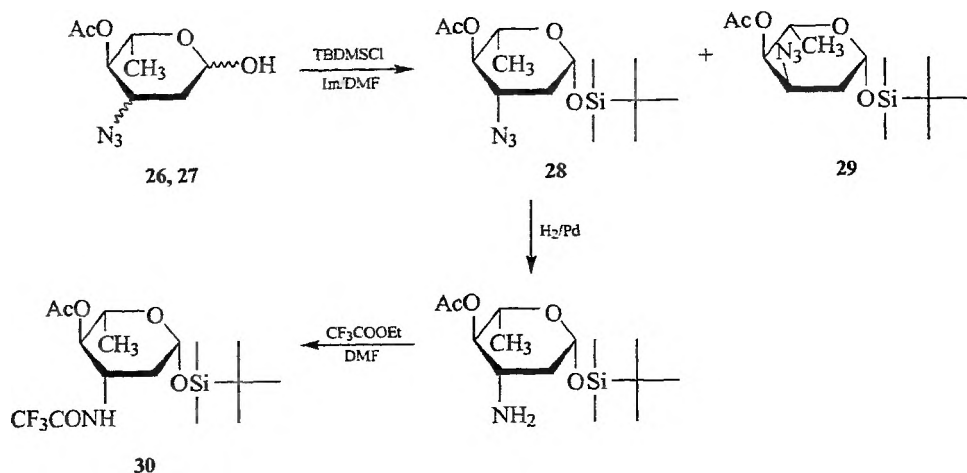
w warunkach zasadowych jest, niezależnie od charakteru grup funkcyjnych i konfiguracji aldozy, procesem wysoce stereoselektywnym, prowadzącym do 1-*O*-silylowych pochodnych (glikozydów silylowych) o konfiguracji β (schemat 4). Dalsze badania wykazały, że preferencja ta ma charakter kinetyczny, co zapewnia niezależny dostęp do obydwu anomerów (anomer α można otrzymać przez równowagowanie, np. wobec TMSOTf).



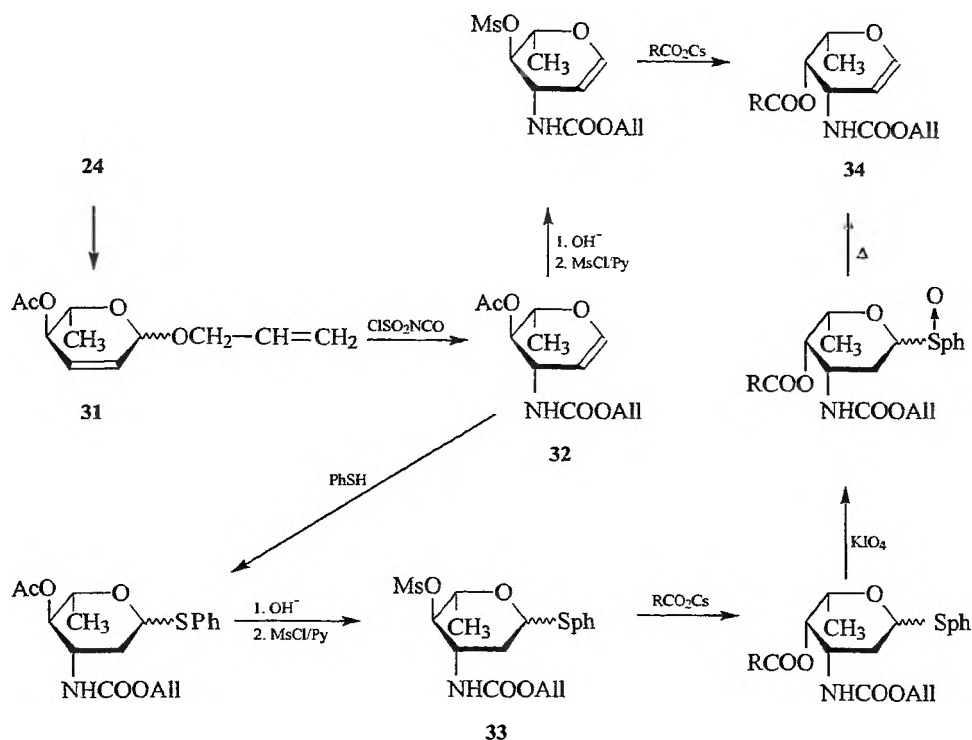
Schemat 4

W przypadku otrzymanej z 3,4-di-*O*-acetylo-*L*-ramnału (**24**) mieszaniny epimerycznych 3-azydocukrów **26** i **27**, silylowanie skutkuje zmniejszeniem liczby składników z czterech do dwóch (**28** i **29**) (schemat 5), co znacznie ułatwia ich rozdzielanie. Można je rozdzielić przez krystalizację lub chromatografię, a także kinetycznie kontrolowaną solwolizę, i to zarówno na etapie prekursora (azydocukru), jak i monosacharydu antybiotycznego w formie wolnej lub zabezpieczonej. Dodatkowe ułatwienie stanowi fakt, że pożądaný składnik **28** o konfiguracji *L-arabino* (tzn. prekursor akozaminy (**13**)) występuje w mieszaninie poreakcyjnej w znacznej przewadze. Z naszej praktyki technologicznej wynika, że najwygodniejszym półproduktem na tym etapie jest *N*-trifluoroacetylowa pochodna akozaminy (**30**), związek krystaliczny i trwały, lecz mający łatwo usuwalne grupy ochronne, które pozwalają na dalsze transformacje kluczowych funkcji (na C-1, C-3, C-4) (schemat 5).

Związek **30** może być kluczowym syntonem w preparacji epirubicyny (**8**), półsyntetycznego antybiotyku, który różni się od doksorubicyny (**2**) jedynie konfiguracją drugorzędowej grupy hydroksylowej reszty cukrowej (C-4'). W naszych syntezach wykorzystywany był zarówno jako bezpośredni czynnik glikozylujący, jak i prekursor innych typowych donorów glikozylowych: halogenków i estrów glikozylowych oraz glikali. Inna rola akozaminy (**30**) jako polifunkcyjnego syntonu polega na możliwości przekształcenia go w pochodną daunosaminy, przez inwersję konfiguracji na karbinolowym (C-4) atomie węgla. Zarówno teoretyczne, jak i praktyczne aspekty takiej transformacji były przedmiotem lic-



nych eksperymentów i szczegółowych dysput w literaturze oryginalnej. Dwa zasadnicze warianty inwersji to: sekwencja utlenienie–redukcja oraz nukleofilowe podstawienie estrów sulfonowych. Niestety, oba obciążone są ryzykiem niepożądaných reakcji ubocznych. W pierwszym przypadku grozi epimeryzacja (i to zarówno na C-3, jak i C-5) na etapie 4-uloży, a w drugim wewnątrzcząsteczkowe cyklizacje (do azyrydyny lub furanozy) wynikające z udziału sąsiadujących nukleofilowych heteroatomów w reakcji podstawienia grupy opuszczającej z C-4. Z naszej praktyki wynika, że najkorzystniejszy jest wariant inwersji polegający na podstawieniu reszty 4-*O*-trifluorometanosulfonowej solami kwasów karboksylowych w warunkach bezwodnych. W reakcjach takich można osiągnąć wydajności 60–70%. W miarę rozwoju technologii syntezy idarubicyny (9) przewagę techniczną uzyskało inne podejście do otrzymywania pochodnych daunosaminy. Chociaż podstawowym surowcem pozostaje *L*-ramnoza, a kluczowym półproduktem otrzymany z niej glikal **24**, radykalnej zmianie uległa koncepcja wprowadzenia grupy aminowej w pozycji C-3 oraz stosowanych grup zabezpieczających. Podstawę nowej technologii syntezy stanowi adaptacja opublikowanych przed niemal trzydziestu laty wyników [13] addycji izocyjanianu chlorosulfonylu do 2,3-nienasyconych piranozydów. W reakcji tej Hall i Jordaan zaobserwowali przeniesienie podstawnika anomerycznego do reszty karbaminowej przyłączającej się w pozycji C-3 z jednoczesną migracją wiązania podwójnego do położenia C-1–C-2. Reakcja charakteryzuje się pożądaną stereoselektywnością, natomiast o jej praktycznej użyteczności rozstrzyga wybór właściwych podstawników anomerycznych, co decyduje o charakterze przyszłej grupy zabezpieczającej funkcję aminową. Sedno uzyskanej przez nas innowacji polega na zastosowaniu glikozydu allilowego **31** na etapie addycji dipolarnej (schemat 6) oraz na opanowaniu warunków technicznych addycji i wydzielania jej produktu na skalę od laborato-



Schemat 6

ryjnej do multakilogramowej. Tym razem akozaminal 32 otrzymuje się z 3,4-di-O-acetylo-L-ramnalu (24) w zaledwie dwu etapach chemicznych, z sumaryczną wydajnością ok. 30% [14]. Podobnie jak w zarysowanej powyżej metodzie „azydkowej” mamy na tym etapie do czynienia z polifunkcyjnym syntonem, którego pierwotnym zastosowaniem może być synteza epirubicyny (8). Natomiast konwersja do pochodnej daunosaminy (12) łączy się z podobnymi do już opisanych trudnościami odwrócenia konfiguracji drugorzędowej grupy hydroksylowej. W przypadku akozaminalu 32 opracowano dwa warianty inwersji: bezpośrednio na glikalu oraz przez stadium 2-deoksypiranozydu. Pierwszy wariant jest trzyetapowy (sumaryczna wydajność ok. 25%), w drugim – czteroetapowym, o efektywności w znacznym stopniu decyduje rodzaj wprowadzonego podstawnika anomerycznego. W szczególnym przypadku, który był przedmiotem naszego opracowania, substratem w reakcji addycji do akozaminalu 32 jest tiofenol, a otrzymany tioglikozyd 33 może być bezpośrednim donorem glikozylowym (zarówno przed, jak i po inwersji konfiguracji), ale może też zostać po utlenieniu do sulfotlenku (lub sulfonu) wyeliminowany z odtworzeniem wiązania podwójnego. Stwierdziliśmy, że obie drogi otrzymywania daunosaminalu 34 dają porównywalne wydajności produktu (schemat 6).

Implementacja opracowanych metod syntezy zapewnia dostęp do całej gamy syntonów, pochodnych naturalnych monosacharydów antybiotycznych, niezależnie od procesów i źródeł biotechnologicznych, których produkty nie są przedmiotem powszechnego obrotu handlowego.

2. MODYFIKOWANE ANTYBIOTYKI ANTRACYKLINOWE

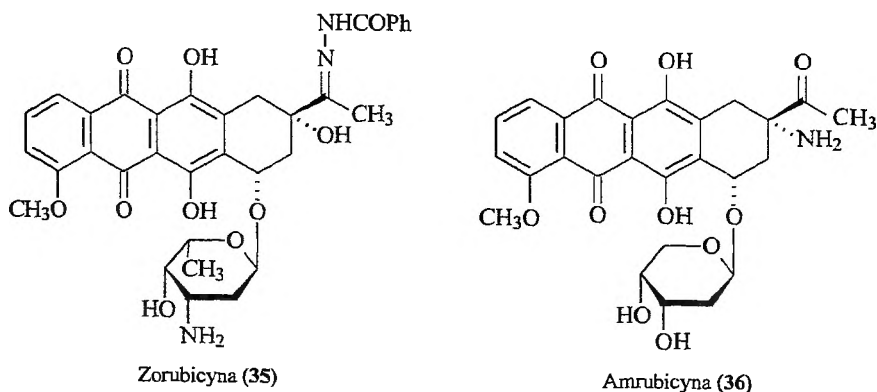
Liczbę syntetycznych analogów 1 i 2 (rys. 1), które przeszły ewaluację jako związki o potencjalnej aktywności przeciwnowotworowej, szacuje się na kilka tysięcy. Te nieliczne spośród nich, które dotarły do fazy rejestracyjnej i rynkowej, wraz z grupą kandydatów na lek (związki w zaawansowanych badaniach klinicznych), reprezentują następujące kierunki zmian strukturalnych [15]:

- i. eliminacja składnika cukrowego (mitoksantron, ametantron, menogaril),
- ii. zmiany w aglikonie (idarubicyna (9), zorubicyna (35)),
- iii. zmiany w części cukrowej (epirubicyna (8), pirarubicyna (10)),
- iv. zmiany w obu składnikach (annamycyna (7), valrubicyna (11), amrubicyna (36)).

Fakt znacznej liczbowo przewagi związków z kategorii iii. oraz iv. ilustrują przykładowe struktury pokazane na rys. 5 oraz wcześniej na rys. 2 i 3.

Założenia modyfikacji strukturalnych wypracowane w M.D. Anderson Cancer Center, weryfikowane przez coraz większe zbiory danych z obszaru biochemii i farmakologii molekularnej nowotworów [16], sprowadzają się do kontrolowania następujących czynników:

1. odporności wiązania glikozydowego na hydrolizę chemiczną i enzymatyczną,
2. obecności i położenia centrum zasadowego w części cukrowej,
3. wpływu na selektywność wiązania z DNA (*sequence specificity*),
4. wpływu na intensywność wiązania z określonymi sekwencjami DNA, przez powtórzenie farmakoforowego elementu struktury (bis-interkalatory).



Rys. 5

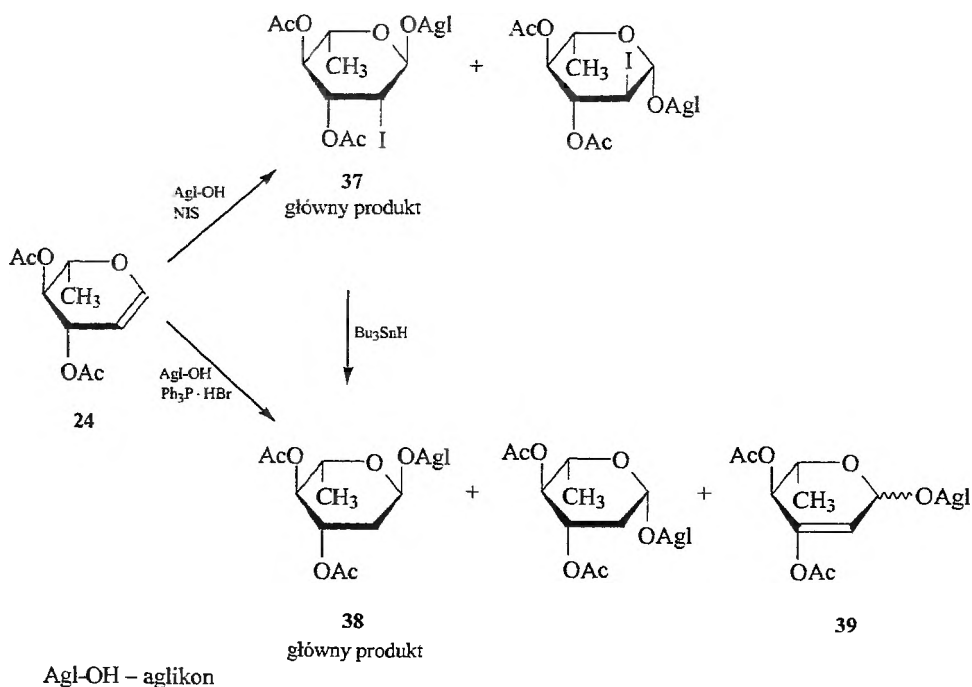
W pracach pochodzących z innych ośrodków badawczych także wyraźnie zaznaczają się tendencje wprowadzania zmian strukturalnych, których nośnikiem jest reszta sacharydowa antybiotyku. Do najczęściej powtarzanych motywów należy *N*-acyloaminowanie przy użyciu różnych oligopeptydów, zapoczątkowane pomyślną oceną *N*-L-leucylodoksorubicyny jako proleku [17]. Inne, syntetyczne pochodne antybiotyków zawierają jako element *N*-acylowego łącznika końcową resztę kwasu glukuronowego, której enzymatyczne odszczepienie powoduje uwolnienie cząsteczki antybiotyku dopiero w tkance nowotworowej (proleki typu ADEPT) [18]. Inna, powtarzająca się zmiana strukturalna to wprowadzenie atomu fluorowca w różne pozycje pierścienia piranozowego, zmiana pozycji grupy aminowej lub zamiana kolejności reszt sacharydowych (np. daunozamina jako końcowy fragment disacharydu w MEN-10755 (48)). W większości przypadków docelowe struktury modyfikowanych antybiotyków są dostępne wyłącznie w drodze łączenia syntonów: aglikonu i cukru, w etapie chemicznego glikozydowania.

3. DONORY GLIKOZYLOWE I METODY ICH AKTYWACJI

Chemiczne metody glikozydowania, a w szczególności ich efektywność i stereoselektywność w odniesieniu do złożonych substratów, stanowią jeden z probierzy postępu sprawności chemii jako działu wiedzy i techniki generującej nowe materiały określane jako „urządzenia molekularne”. W odróżnieniu od praktykowanej od dawna zautomatyzowanej syntezy biopolimerów liniowych (polipeptydy i polinukleotydy) z monomerów dwufunkcyjnych, łączenie sacharydów w polimery o założonej strukturze metodami chemicznymi jest zaledwie u progu planowanej od dawna robotyzacji i automatyzacji. Niestety, znaczna część problemów związanych z otrzymywaniem oligo- i polisacharydów manifestuje się także i w jednoetapowych reakcjach glikozydowania, zwłaszcza w przypadku akceptorów polifunkcyjnych lub policyklicznych.

Tradycyjne metody aktywowania pozycji anomerycznej, np. stosowanie halogenków alkilowych wobec soli metali ciężkich, ciągle są używane w praktyce laboratoryjnej, ale mają znikome szanse, aby stać się podstawą procesów technologicznych realizowanych w przemyśle farmaceutycznym w ramach zasad prawidłowej praktyki wytwórczej (GMP). Wiele antybiotyków antracyklinowych otrzymano w sekwencji: glikal → halogenek 2-deoksypiranozy → glikozyd 2-deoksypiranozy i antracyklinonu. Pojawia się tu notorycznie problem stereoselektywności [19], spowodowany brakiem podstawnika na C-2, który w przypadku regularnych (pełnych) heksoz w znacznym stopniu reguluje stereochemię glikozydowania. W połączeniu z problemem aktywacji halogenku sprawia to, że korzystną alternatywą staje się bezpośrednia addycja aglikonu do glikalu wobec *N*-jodoimidu kwasu bursztynowego (NIS), która nie wymaga katalizy metalami ciężkimi i jest dość stereoselektywna, co pozwala na otrzymanie 2-deoksypirano-

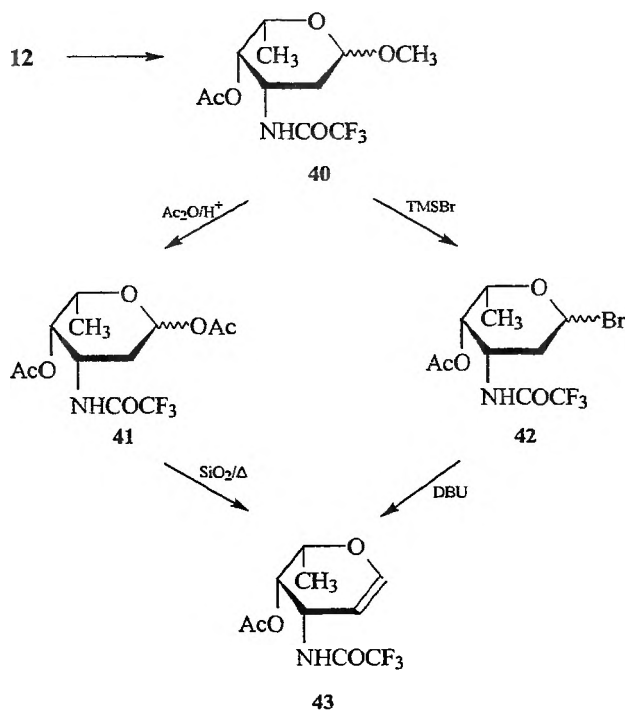
zydów **38** o konfiguracji α przez reduktywne usunięcie podstawnika z pozycji 2' w addukcie **37** (reakcja Thiema [20]). W ostatnich latach chemia glikali zanotowała znaczne postępy, a klasa ta stała się kolejną grupą efektywnych donorów glikozylowych (np. aktywacja dimetylo-dioksiranem wg Danishefskiego [21] lub difenylosulfotlenkiem i bezwodnikiem triflowym wg Gina [22]), z których otrzymuje się piranozydy **38** o konfiguracji 1,2-*trans*. Dla syntezy antracyklin szczególnie istotna jest zauważona przez Mioskowskiego [23] możliwość bezpośredniej, α -selektywnej addycji alkoholi do glikali pod wpływem katalizatorów o charakterze kwasów protonowych. Chociaż addycji 1,2- towarzyszy niejednokrotnie przegrupowanie Ferriera [25] (glikozyd **39**), nie dotyczy to pochodnych 3-aminoglikali, a więc nie obniża efektywności syntezy antybiotyków antracyklinowych (schemat 7).



Schemat 7

Jak łatwo zauważyć, w nowych syntezach antracyklin struktura heks-1-enitolu (glikalu) powtarza się dwukrotnie – jako półprodukt do otrzymywania 3-aminomonosacharydu (np. **24** na schemacie 3), a następnie jako donor glikozylowy (np. **32**, **34** lub **43**). Warto więc przypomnieć, że związki te, mimo daleko posuniętego podobieństwa budowy, otrzymywane są w zupełnie różny sposób. 3,4-Di-O-acetylo-L-ramnal (**24**) generowany jest z 1,2,3,4-tetra-O-acetylo-L-ramnozy w klasycznej reakcji Fischera, polegającej na reduktywnej eliminacji sąsiednich

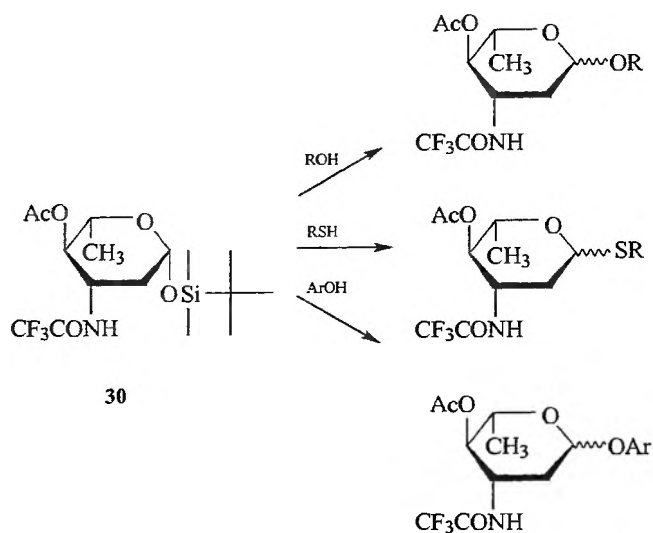
grup acetylowych. Natomiast jeżeli mamy do dyspozycji daunozaaminę (**12**), to przekształcenie jej w odpowiedni glikal polega formalnie na reakcji odwodnienia, w której bierze udział anomeryczna grupa hydroksylowa. Praktycznie, L-daunozaaminę **43** otrzymuje się z macierzystego cukru antybiotycznego, po zabezpieczeniu grupy aminowej i acylowaniu, w reakcji termicznej eliminacji wspomaganą udziałem powierzchni aktywnej (np. żelu krzemionkowego). Oczywiście reakcji eliminacji można poddać także odpowiedni halogenek glikozydowy w warunkach zasadowych, ale wybór konkretnego odczynnika może mieć decydujący wpływ na powodzenie takiej reakcji. W naszej praktyce laboratoryjnej łatwiej dostępnym materiałem wyjściowym był *O*-acetylo-*N*-trifluoroacetylo-L-daunozaaminid metylu (**40**) (w postaci mieszaniny anomerów). Po porównaniu dwu sekwencji: acetoliza (**41**) – eliminacja i konwersja glikozydu **40** w bromek **42** – eliminacja, okazuje się, że druga z nich góruje zarówno łatwością zwiększania skali, jak i wydajnością (schemat 8).



Schemat 8

Dzięki zastosowaniu grupy *tert*-butylodimetylosililowej do ochrony pozycji anomerycznej, zyskaliśmy narzędzie pozwalające na wykonywanie w dowolnym kierunku pełnych cykli przemian obejmujących glikozydy, glikale, halogenki glikozydowe, 2-deokypiranozy i glikozydy sililowe. W wielu przypadkach pozwo-

liło to na pełne scharakteryzowanie i przechowywanie, w postaci krystalicznych pochodnych, nietrwiałych monosacharydów redukujących i ich nienasyconych analogów. Anomeryczna grupa silylowa jest łatwo usuwalna pod wpływem słabych kwasów. Równie łatwo ulega acetolizie oraz wymianie na brom pod działaniem niewielkiego nadmiaru bromku trimetylosililu. Okazało się także, że możliwe jest efektywne glikozydowanie różnych klas nukleofilowych substratów działaniem 1-*O*-silylo-2-deoksypiranozy (np. 44) wobec bromku trimetylosililu (także w ilościach substechiometrycznych) i rozdrobnionego metalicznego cynku [25] (schemat 9).



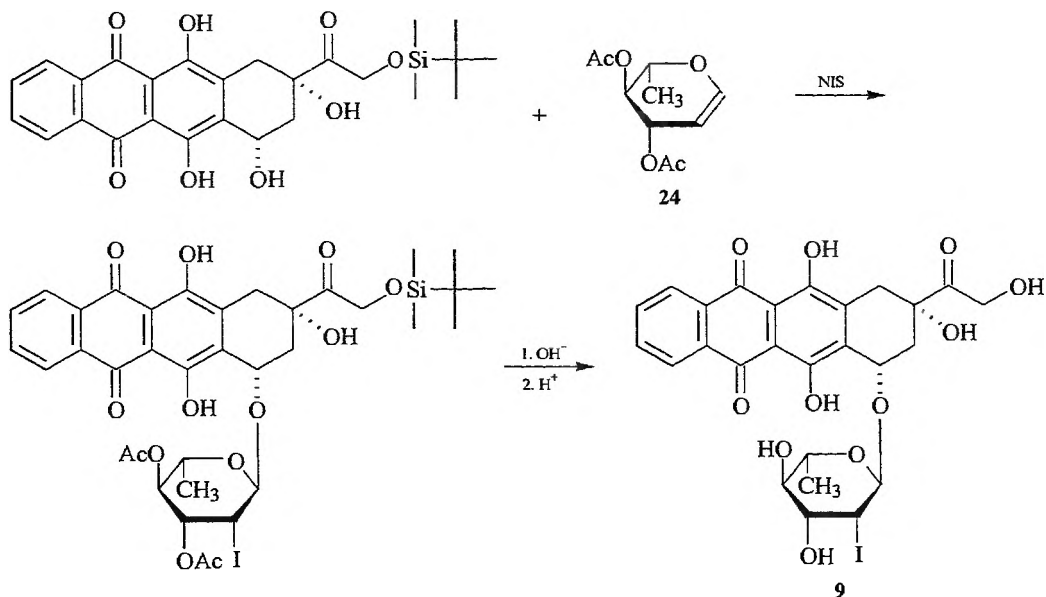
Schemat 9

Omówione powyżej metody syntezy chemicznej monosacharydów antybiotycznych, które w postaci odpowiednich pochodnych można zastosować jako reagenty glikozydujące do syntezy *de novo* antybiotyków antracyklinowych, nadają się również do otrzymywania nowych analogów, w dosyć znacznym zakresie zmian strukturalnych. Przypomnijmy, że w ramach podstawowych założeń farmakologii molekularnej ogólne cele modyfikacji części cukrowej antybiotyku zostały sformułowane jako:

- i. zmiana trwałości wiązania glikozydowego;
- ii. zmiana zasadowości;
- iii. zmiana lipofilowości, przy czym hipoteza robocza głosi, że obniżenie wskaźników wartości czynnika ii. jest korzystne, podobnie jak podwyższenie dwu pozostałych.

Obniżenie zasadowości można uzyskać różnymi sposobami, od radykalnego – usunięcia grupy aminowej, poprzez zmiany otoczenia (obecność sąsiadujących podstawników elektroujemnych) po derywatyzację, umożliwiającą niemal ciągłą

zmianę wartości pK_b otrzymywanych pochodnych. Istotny dla zrozumienia podstawowych zależności struktura–aktywność w grupie antybiotyków antracyklinowych okazał się kierunek badań pochodnych zawierających atom fluorowca w pozycji 2'. Modyfikacja taka wprowadza dwie korzystne zmiany – znacznie zwiększa trwałość wiązania glikozydowego i obniża zasadowość sąsiedniej grupy aminowej (natomiast wpływ na lipofilowość będzie diametralnie różny dla skrajnych przypadków: fluoru i jodu). Nieoczekiwanie okazało się jednak, że zasadniczą determinantą aktywności przy takiej zmianie strukturalnej jest stereochemia. Działanie przeciwnowotworowe zachowuje się tylko w przypadku *trans*-diaksjalnej relacji podstawników w pozycji C-1 i C-2. Natomiast dla spełniających ten warunek pochodnych antracyklin z 2'-aksjalnym podstawnikiem z grupy fluorowców obserwowano znacznie lepsze wskaźniki terapeutyczne w przypadku badań linii komórkowych lekoopornych (MDR) niż dla antybiotyków prototypowych, co stanowi dość wiarygodną weryfikację przedstawionych powyżej założeń. Sposób otrzymywania tak zmodyfikowanych związków wynika z możliwości generowania odpowiednich 1,2-dihalogenowych pochodnych piranozylowych, przez przyłączenie fluorowców do glikali, z następczym glikozyloaniem aglikonu. Stereoselektywność obydwu tych etapów jest dość ograniczona i konieczność stosowania chromatograficznych metod separacji nieuchronna, co w znacznym stopniu limituje dostępność pochodnych 2'-chloro i 2'-bromo. Natomiast podstawnik 2'-jodo można wprowadzić w etapie glikozydowania, przy zastosowaniu glikalu jako donora i *N*-jodoimidu kwasu bursztynowego jako promotora, jak to się dzieje w syntezie annamycyny (7) (schemat 10).

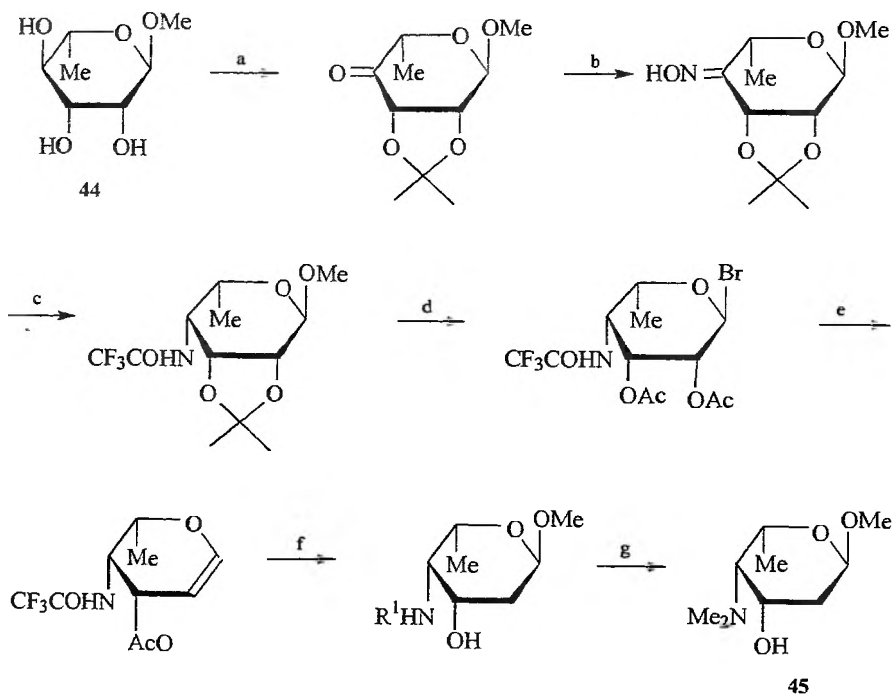


Schemat 10

Z dostępnych danych wynika, że pozycja C-4 fragmentu piranozowego antybiotyku antracyklinowego charakteryzuje się największą tolerancją na zmiany strukturalne nie powodujące utraty aktywności biologicznej. Dopuszczalne są obydwie orientacje stereochemiczne (por. doksorubicyna (2) i epirubicyna (8)), a podstawnik przy czwartym atomie węgla pierścienia piranozowego może być atomem wodoru, fluorowca, grupą zawierającą azot lub tlen (w tym łańcuch oligosacharydowy). Dostęp do 2,6-dideoksy-L-monosacharydów modyfikowanych w pozycji C-4 jest stosunkowo prosty. Dogodnym substratem jest L-ramnoza, którą łatwo przekształcić w odpowiednią 4-ulożę, po uprzedniej ketalizacji układu 2,3-*cis* diolu.

Jednakże przejście z 4-podstawionej heksozy do układu 2-deoksy, zwykle łatwo osiągalne za pośrednictwem odpowiedniego glikalu, nie zawsze jest możliwe.

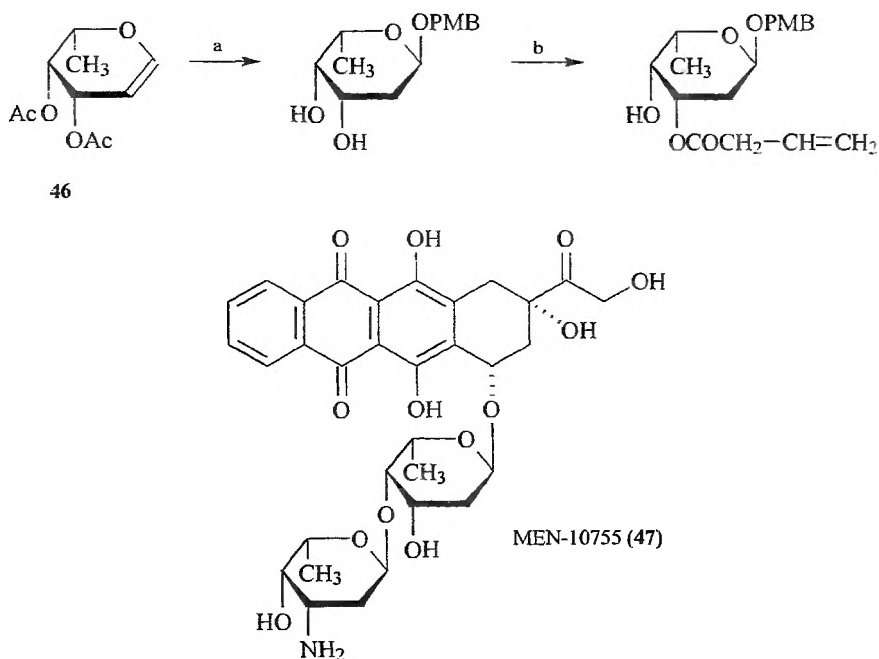
W przedstawionej na schemacie 11 syntezie glikozydu metylowego cukru antybiotycznego kedarozaminy (45), w której substratem był α -L-ramnozyd metylu (44), kolejność wprowadzania poszczególnych grup funkcyjnych okazała się decydująca dla osiągnięcia planowanego celu.



- a. 1. $(\text{CH}_3)_2\text{C}(\text{OMe})_2$, *p*-TsOH, 2. PDC or $\text{RuO}_2\text{-NaIO}_4$; b. NH_2OH ; c. 1. LiAlH_4 , 2. $(\text{CF}_3\text{CO})_2\text{O}$;
d. 1. $\text{CF}_3\text{CO}_2\text{H-H}_2\text{O}$, 2. $\text{Ac}_2\text{O-Py}$, 3. TMSBr-ZnBr_2 ; e. Zn-AcOH-AcONa ; f. 1. TPHB, MeOH ;
2. 1 M NaOH; g. $\text{HCHO-CH}_3\text{CN}$, NaBH_3CN

Schemat 11

Także glikale szeregu konfiguracyjnego L- (i to zarówno pochodne ramnozy oraz fukozy, jak i 3-amino monosacharydów antybiotycznych) stanowią bardzo wygodne substraty dla transformacji w pozycji C-4, przy jednoczesnym zachowaniu funkcji dogodnego donora glikozylowego. Motyw różnicowania grup hydroksylowych 3,4-di-*O*-acetylo-L-fukalu (46), przedstawiony na schemacie 12 prezentującym fragment syntezy modyfikowanego antybiotyku MEN-10775 (47), może być wykorzystany w różnorodnych wariantach obejmujących zarówno grupy zabezpieczające, jak i docelowe funkcjonalizacje.



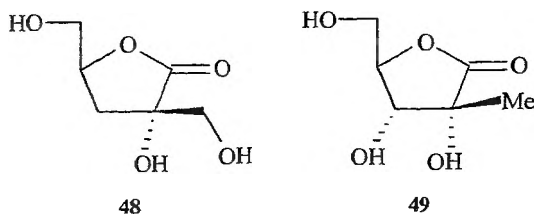
a. 1. PMBOH, $\text{Ph}_3\text{P}\cdot\text{HBr}$, 2. MeO^-/MeOH ; b. 1. $(\text{Bu}_2\text{Sn})_2\text{O}$, 2. $\text{ClCO}_2\text{CH}_2-\text{CH}=\text{CH}_2$

Schemat 12

4. SYNTONY MONOSACHARYDOWE W TOTALNYCH SYNTEZACH AGLIKONÓW ANTRACYKLINOWYCH

W syntezach totalnych zmierzających do enancjomerycznie czystych antracyklin właściwą konfiguracją absolutną centrów stereogenicznych (7*S*,9*S*), występujących w pierścieniu A antracyklinonu, uzyskiwano albo w wyniku rozszczepienia racemicznych związków pośrednich występujących na różnych etapach syntezy [26, 27], albo różnymi metodami syntezy asymetrycznej, z użyciem chiralnego pomocnika [28] lub katalizatora [29, 30].

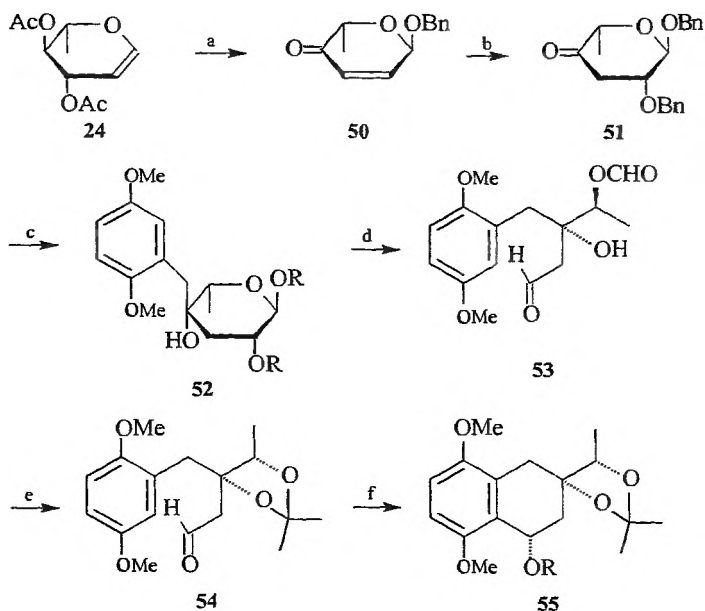
Odrębną grupę stanowią syntezy totalne oparte na chiralnym substracie pochodzenia naturalnego. Jako źródło chiralności wykorzystywano α -hydroksykwas [31a,b,c], α -aminokwas [32], a szczególnie dużo uwagi poświęcono opracowaniu metodologii wykorzystujących monosacharydy [33, 34]. Monneret i Florent [35], których udział w tych badaniach jest dominujący, do konstruowania pierścienia A bądź bloku pierścieni AB posługiwali się chironami otrzymanymi z α -D-izosacharyno-1,4-laktonu (**48**) i D-glukosacharyno-1,4-laktonu (**49**) (rys. 6).



Rys. 6

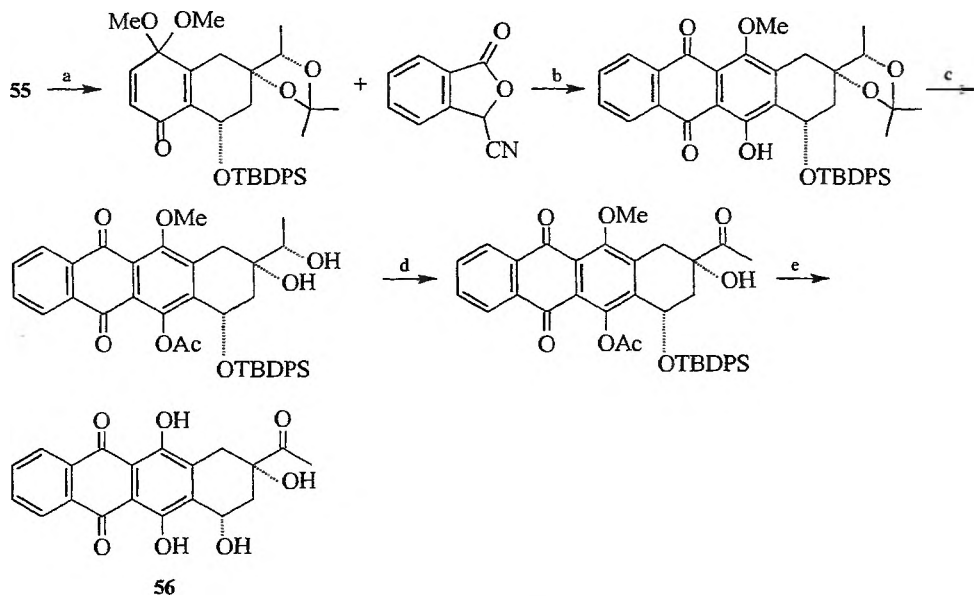
Użycie chiralnych substratów **48** i **49** nie doprowadziło jednak do otrzymania aglikonów występujących w naturalnych antracyklinach.

W zaprojektowanym i zrealizowanym przez nas nowym podejściu [36, 37] źródłem chiralności jest 3,4-di-*O*-acetylo-L-ramnal (**24**). Glikal **24** poddany przegrupowaniu Ferriera z alkoholem benzylovym, a następnie, po uwolnieniu grupy hydroksylowej, utlenianiu za pomocą dichromianu pirydynium (PDC) dał 2,3,6-trideoksy- α -L-*glicero*-heks-2-enopiranozyd-4-ulożę benzyłu (**50**). Addycja alkoholu benzylovego do układu enonu w piranozydulozie **50** zachodziła w pełni stereoselektywnie i zgodnie z oczekiwaniem powstawał keton **51**. Wprowadzenie grupy benzyloksylowej w pozycji C-2 spełniało trojaką funkcję. Zabezpieczało podwójne wiązanie przed możliwością addycji 1,4 odczynnika litoorganicznego w następnym etapie syntezy, dzięki zawadzie przestrzennej kierowało atak nukleofila na stronę α grupy karbonylowej, prowadząc do pożądanego konfiguracji na C-4, i wreszcie umożliwiało, na dalszym etapie syntezy, utleniające rozszczepienie wiązania C-1–C-2. W wyniku przeprowadzonych zgodnie z tym planem operacji syntetycznych: addycji 2,5-dimetoksybenzylolitu do ketonu **51**, usunięcia grup benzylovych i utleniającego rozszczepienia układu wicinalnego diolu w piranozie **52**, otrzymano dihydroksyaldehyd **53**. Dopiero zabezpieczenie grup hydroksylowych w postaci izopropylidenu pochodnej **54** umożliwiło przeprowadzenie wewnątrzcząsteczkowej reakcji Friedela–Craftsa z wysoką wydajnością i w pełni stereoselektywnie, dając bicykliczny związek **55**, będący nowym syntonem bloku pierścieni AB antracyklinonów, o stereochemii centrów stereogenicznych C-7 i C-9 zgodnej z konfiguracją naturalnych antybiotyków antracyklinowych (schemat 13).



a. 1. BnOH, $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$, 2. MeONa/MeOH, 3. PDC; b. BnOH, K_2CO_3 ; c. 1. 2,5-(OMe) $_2\text{C}_6\text{H}_3\text{CH}_2\text{Li}$, 2. $\text{H}_2/\text{Pd-C}$; d. NaIO_4 ; e. 1. NaBH_4 ; 2. $\text{Me}_2\text{C}(\text{OMe})_2$, *p*-TsOH, 3. IBX; f. 1. SnCl_4 , -70°C , 2. TBDPSCI

Schemat 13



a. 1. OH, MeOH, 2. H_3O^+ ; b. 1. *t*-BuOK, 2. H_3O^+ ; c. 1. Ac_2O , Py, 2. 80% AcOH; d. IBX; e. 1. BCl_3 , -70°C , 2. HCl/MeOH

Schemat 14

Enancjomerycznie czysty synton pierścieni AB **55** może być przekształcony w tetracykliczny układ antracyklinonów w sekwencji reakcji powszechnie stosowanych w syntezach antybiotyków antracyklinowych [38], uzupełnionej o selektywne utlenienie grupy hydroksylowej na C-13.

Przykładem wykorzystania związku **55** jest cykl jego przemian pokazany na schemacie 14, w których wyniku otrzymano z wysoką wydajnością idarubicynon (**56**), aglikon semisyntetycznego antybiotyku antracyklinowego, idarubicyny (**9**).

PODSUMOWANIE

Antybiotyki antracyklinowe stanowią jedną z wiodących kategorii leków w onkologicznej praktyce klinicznej, pomimo oczywistych wad polegających m.in. na groźnych działaniach ubocznych i tendencji do indukowania oporności wielolekowej. Poszukiwania skuteczniejszych leków w tej grupie mają charakter wielokierunkowy – np. uznane już substancje lecznicze wykorzystuje się przy użyciu nowych formułacji farmaceutycznych lub stosuje w postaci proleków zapewniających korzystniejszą biodystrybucję lub docelowe uwalnianie, nie ustają też poszukiwania nowych analogów strukturalnych o korzystniejszych parametrach terapeutycznych.

W niniejszym artykule omówiono innowacyjną strategię otrzymywania i zastosowania użytecznych wielofunkcyjnych syntonów do syntezy zarówno naturalnych, jak i modyfikowanych antybiotyków antracyklinowych, przez wytworzenie *de novo* wiązania glikozydowego, ze wspólnego, łatwo dostępnego półproduktu **24**. Opracowano kilka wariantów syntezy pochodnych L-daunozaminy (**12**) i L-akozaminy (**13**) z 3,4-di-O-acetylo-L-ramnalu (**24**) jako surowca, wykazano też, że związek ten jest dogodnym chiralnym prekursorem w totalnej syntezie 4-demetoksydaunomycynonu (**56**) – cennego półproduktu do otrzymywania idarubicyny (**9**).

Efektywne i stereoselektywne glikozydowanie złożonych i polifunkcyjnych substratów metodami chemicznymi ciągle stanowi, przynajmniej w skali technicznej (i szczególnie w serii 2-deoksypiranozydów), trudny problem metodyczny. W omawianych syntezach antybiotyków antracyklinowych autorzy wykorzystali, nadal aktualny, motyw selektywnej reaktywności glikali (heks-1-enitoli), stosując je z powodzeniem jako bezpośrednie donory reszty 2-deoksypiranozylowej.

Podziękowanie

Autorzy wyrażają podziękowanie instytucjom, które finansowały nasze badania w dziedzinie antybiotyków antracyklinowych: Komitetowi Badań Naukowych (projekty: 2 P303 026 04, 6 P206 016 06, 3 T09A 113 13, 3 T09B 083 10, 3 T09B 598 98 C/3013) oraz II Funduszowi M. Skłodowskiej-Curie (dotacje: MZ/HHS-95-226 i MZ/NIH-97-309).

PIŚMIENNICTWO CYTOWANE

- [1] J.B. Chaires, S. Satyanarayana, D. Suh, I. Fokt, T. Przewłoka, W. Priebe, *Biochemistry*, 1996, **35**, 2047.
- [2] a. Y. Zou, Y.-H. Ling, N.T. Van, W. Priebe, R. Perez-Solar, *Cancer Res.*, 1994, **54**, 1479;
b. W. Priebe, D. Booser, R. Perez-Soler, *Cell Mol. Biol. Lett.*, 1999, **4**, 247.
- [3] L.A. Otsomaa, M.P. Koskinen, *Progr. Nat. prod. Chem.*, 1977, **84**, 196.
- [4] F. Arcamone, [w:] *Topics in Antibiotic Chemistry* (P.G. Sammes, Ed.), Vol. 2, part C. 102, Ellis Horwood Ltd., Chichester 1978.
- [5] a. M.P. Sibi, J. Lu, J. Edwards, *J. Org. Chem.*, 1997, **62**, 5864 i literatura cytowana;
b. D. Socha, M. Jurczak, M. Chmielewski, *Tetrahedron*, 1997, **57**, 739;
c. L. Daley, P. Roger, C. Monneret, *J. Carbohydr. Chem.*, 1997, **16**, 25.
- [6] I.F. Pelvás, C. Monneret, P. Herczegh, *Synthetic Aspects of Aminodeoxysugars of Antibiotics*, Springer-Verlag, Berlin, 1988.
- [7] O. Achmatowicz, P. Bukowski, B. Szechner, Z. Zwierzchowska, A. Zamojski, *Tetrahedron*, 1971, **27**, 1973.
- [8] B. Szechner, O. Achmatowicz, K. Badowska-Rosłonek, *Polish J. Chem.*, 1999, **73**, 1133.
- [9] J. Kamińska, J. Góra, M. Sikora, O. Achmatowicz, B. Szechner, *Polish Patent Appl.*, P313607, 3.04.1996.
- [10] a. R.M. Giuliano, T.W. Deisenroth, *Carbohydr. Res.*, 1986, **158**, 249;
b. R.M. Giuliano, T.W. Deisenroth, W.C. Franck, *J. Org. Chem.*, 1986, **51**, 2304.
- [11] a. L.E. Overman, *J. Am. Chem. Soc.*, 1976, **98**, 2901;
b. Y. Yamamoto, H. Shimoda, I. Oda, Y. Inouye, *Bull. Chem. Soc. Jpn.* 1976, **49**, 3247.
- [12] C. Monneret, R. Gagnet, J.C. Florent, *J. Carbohydr. Chem.*, 1987, **6**, 221.
- [13] a. R.H. Hall, A. Jordaan, *J. Chem. Soc., Perkin I*, 1973, 38;
b. R.H. Hall, A. Jordaan, *J. Chem. Soc., Perkin I*, 1975, 626.
- [14] J. Ramza, E. Chojecka-Koryn, G. Gryniewicz, I. Malinowska, *Technologia chemiczna na przełomie wieków*, Wyd. Komitetu Kongresów Technologii Chemicznej, Gliwice 2000, s. 421-424.
- [15] C. Monneret, *Eur. J. Med. Chem.*, 2001, **36**, 483.
- [16] W. Priebe, P. Skibicki, O. Varela, N. Neamati, M. Sznajdman, K. Dziewiszek, G. Gryniewicz, D. Horton, Y. Zou, Y.-H. Ling, R. Perez-Soler, [w:] W. Priebe (Ed.), *Anthracycline Antibiotics; New Analogues, Methods of Delivery and Mechanisms of Action*, ACS, Washington DC, 1995.
- [17] S.R. Deumeade, A. Nagy, J. Gao, H. Lilja, A.V. Schally, J.T. Isaacs, *Cancer Res.*, 1998, **58**, 2537.
- [18] I. Niculescu-Duvaz, C.J. Springer, *Curr. Med. Chem.*, 1995, **2**, 687.
- [19] C.H. Marzabadi, R.H. Franck, *Tetrahedron*, 2000, **50**, 8385.
- [20] J. Thiem, W. Klaffke, *Topics Curr. Chem.*, 1990, **154**, 285.
- [21] P.H. Seeberger, M.T. Bilodeau, S.J. Danishefsky, *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.*, 1996, **35**, 1380.
- [22] V. Di Bussolo, Y.-J. Kim, D.Y. Gin, *J. Am. Chem. Soc.*, 1998, **120**, 13515.
- [23] V. Bolitt, C. Mioskowski, S.G. Lee, J.R. Falck, *J. Org. Chem.*, 1990, **55**, 5812.
- [24] R.J. Ferrier, *Adv. Carbohydr. Chem. Biochem.*, 1969, **24**, 199.
- [25] W. Priebe, G. Gryniewicz, T. Przewłoka, dane niepublikowane.
- [26] S. Laugrand, A. Guingant, *Tetrahedron Lett.*, 1992, **33**, 1289.
- [27] a. F. Arcamone, L. Bernardi, B. Patelli, P. Giardino, A. DiMarco, A.M. Casazza, C. Soranzo, G. Pratesi, *Experientia*, 1978, **34**, 1255;
b. M.J. Broadhurst, C.H. Hassall, G.J. Thomas, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, 1982, 158;
c. M.J. Broadhurst, C.H. Hassall, G.J. Thomas, *J. Chem. Soc., Perkin Trans I*, 1982, 2249;
d. M.J. Broadhurst, C.H. Hassall, G.J. Thomas, *Tetrahedron*, 1984, **40**, 4649;
e. J.S. Swenton, J.N. Freskos, G.W. Morrow, A.D. Serca, *Tetrahedron*, 1984, **40**, 4625;
f. K. Ishizumi, N. Ohashi, N. Tanno, *J. Org. Chem.*, 1987, **52**, 4477.
- [28] a. S. Tarashima, S. Jew, K. Koga, *Tetrahedron Lett.*, 1978, **19**, 4937;
b. S. Tarashima, S. Jew, K. Koga, *Chem. Pharm. Bull.*, 1979, **27**, 2351;

- c. R.A. Russel, P.S. Gee, R.W. Irwine, R.N. Warrener, *Austral. J. Chem.*, 1984, **37**, 1709;
d. M. Suzuki, Y. Kimura, S. Terashima, *Chem. Lett.*, 1985, 367;
e. M. Suzuki, Y. Kimura, S. Terashima, *Tetrahedron Lett.*, 1985, **26**, 6481;
f. M. Suzuki, Y. Kimura, S. Terashima, *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, 1986, **39**, 3559;
g. J.M. McNamara, Y. Kishi, *Tetrahedron*, 1984, **40**, 4685;
h. H. Sekizaki, M. Jung, J.M. McNamara, Y. Kishi, *J. Am. Chem. Soc.*, 1982, **104**, 7372;
i. Y. Tamura, H. Annoura, H. Yamamoto, H. Kondo, Y. Kita, H. Fujioka, *Tetrahedron Lett.*, 1987, **28**, 5709.
- [29] K. Mikami, M. Terada, Y. Motoyama, T. Nakai, *Tetrahedron Asymm.*, 1991, **2**, 643.
- [30] a. M. Ikeda, K.B. Sharpless, *J. Am. Chem. Soc.*, 1981, **103**, 6237;
b. R.A. Russel, A.S. Krauss, R.W. Irwine, R.N. Warrener, *Austral. J. Chem.*, 1985, **38**, 179;
c. A.V.R. Rao, J.S. Yadow, K.B. Reddy, A.R. Mahendale, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, 1984, 453;
d. A.V.R. Rao, J.S. Yadow, K.B. Reddy, A.R. Mahendale, *Tetrahedron*, 1984, **40**, 4643;
e. R.W. Irwine, R.A. Russel, R.N. Warrener, *Tetrahedron Lett.*, 1985, **26**, 6117;
f. N. Tanno, S. Tarashima, *Chem. Pharm. Bull.*, 1983, **31**, 821;
g. K. Tamato, S. Tarashima, *Tetrahedron Lett.*, 1982, **23**, 3715;
h. K. Tamato, S. Tarashima, *Chem. Pharm. Bull.*, 1984, **32**, 4328;
i. K. Tamoka, M. Nakajima, K. Koga, *J. Am. Chem. Soc.*, 1987, **109**, 6213;
j. E. Brosner, K. Krohn, K. Hinzer, V. Schurig, *Tetrahedron Lett.*, 1985 **26**, 6497.
- [31] a. K. Krohn, H. Rieger, *Liebigs Ann. Chem.*, 1987, 515;
b. K. Krohn, H. Rieger, E. Broser, P. Schiess, S. Chen, T. Strubin, *Liebigs Ann. Chem.*, 1988, 943;
c. K. Krohn, H. Muller, *Tetrahedron*, 1986, **42**.
- [32] K. Krohn, I. Hamann, *Liebigs Ann. Chem.*, 1988, 949.
- [33] B. Dequin, J.-C. Florent, C. Monneret, *J. Org. Chem.*, 1991, **56**, 411.
- [34] a. K. Krohn, E. Broser, H. Heins, *Carbohydr. Res.*, 1987, **164**, 59;
b. D.J. Mincher, G. Shaw, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, 1981, 508;
c. S. Quereshi, G. Shaw, *J. Chem. Soc., Perkin Trans I*, 1985, 875;
d. S. Quereshi, G. Shaw, G.J. Burges, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. I*, 1985, 1557;
e. F. Bennani, J.-C. Florent, M. Koch, C. Monneret, *Tetrahedron*, 1984, **40**, 4669;
f. A. Anne, F. Bennani, J.C. Florent, J. Moiroux, C. Monneret, *Tetrahedron Lett.*, 1985, **26**, 2641;
g. J.-C. Florent, A. Genot, C. Monneret, *Tetrahedron Lett.*, 1985, **26**, 5295;
h. A. Genet, J.-C. Florent, C. Monneret, *J. Org. Chem.*, 1987, **52**, 1057;
i. J.-C. Florent, J. Ughetto-Monfrin, C. Monneret, *J. Org. Chem.*, 1987, **52**, 1051;
j. A. Genet, J.-C. Florent, C. Monneret, *Tetrahedron Lett.*, 1989, **30**, 711;
k. R.C. Gupta, P.A. Harland, R.J. Stoodley, *Tetrahedron*, 1984, **40**, 4657;
l. R.J. Stoodley., *Second SCI/RSC Medical Chemistry Symposium, Spec. Publ. – R. Chem. Soc.*, 1984, 134;
m. R.C. Gupta, D.A. Jackson, R.J. Stoodley, D.J. Williams, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. I*, 1985, 525.
- [35] C. Monneret, J.-C. Florent, *Synlett.*, 1994, 305.
- [36] O. Achmatowicz, B. Szechner, *Zgłoszenia patentowe*, P-326743, 9.06.1998; P-334411, 15.07.1999.
- [37] O. Achmatowicz, B. Szechner, *Synthesis of Enantiopure Anthracycline Precursor*, 12th International Conference on Organic Synthesis, Wenecja, Włochy, 1998; O. Achmatowicz, B. Szechner, *Chiral Pool Synthesis of Anthracyclines*, 7th International Conference on Chemistry of Antibiotics and Related Microbial Products, Mierki, 2000.
- [38] K. Krohn, W.S. Ekkund, *Total Synthesis of Enantiomerically Pure Anthracyclines*, [w:] *Studies in Natural Products Chemistry*, H.E.J. Atta-ur-Rahman (Ed.), Elsevier, Amsterdam 1989.

**SYNTEZA POLIHYDROKSYINDOLIZYDYN
Z α,β -NIENASYCONYCH δ -LAKTONÓW***

**SYNTHESIS OF POLYHYDROXYINDOLIZIDINES
FROM α,β -UNSATURATED δ -LACTONES**

**Joanna Rabczko, Dariusz Socha, Margarita Jurczak,
Marek Chmielewski**

*Instytut Chemii Organicznej Polskiej Akademii Nauk
ul. M. Kasprzaka 44/52, 01-224 Warszawa*

Abstract

Wstęp

1. Reakcje addycji i cykloaddycji do nienasyconych δ -laktonów
2. Polihydroksyindolizydyny
3. Syntezy lentiginozyny
4. Synteza lentiginozyny i związków pokrewnych z nienasyconych δ -laktonów

Piśmiennictwo cytowane

* Prace własne przedstawione w niniejszej publikacji zaprezentowano w formie wykładu na Zjeździe Naukowym Polskiego Towarzystwa Chemicznego w Łodzi w dniach 10-15.09.2000, abstr. W-9.



Dr Joanna Rabczko ukończyła studia o specjalności chemia organiczna na Wydziale Matematyczno-Przyrodniczym Uniwersytetu Warszawskiego (Filia w Białymstoku) w 1995 r. Stopień doktora nauk chemicznych uzyskała w Instytucie Chemii Organicznej PAN w Warszawie w 2000 r. W latach 1997 i 1999 odbyła dwa krótkoterminowe staże naukowe na Uniwersytecie we Florencji.



Dr inż. Dariusz Socha ukończył studia na Wydziale Chemicznym Politechniki Warszawskiej w 1992 r. Stopień doktora chemii uzyskał w Instytucie Chemii Organicznej PAN w Warszawie w 1997 r., gdzie jest adiunktem w Zespole II. W latach 1998–1999 przebywał na stażu naukowym w M.D. Anderson Cancer Center, University of Texas (USA). Zainteresowania badawcze: chemia węglowodanów, szczególnie amino- i iminocukrów, synteza asymetryczna.



Dr Margarita Jurczak ukończyła studia na Wydziale Chemii Uniwersytetu Warszawskiego w 1972 r. Stopień doktora nauk chemicznych uzyskała w Instytucie Chemii Organicznej PAN w Warszawie za pracę dotyczącą syntezy analogów hormonów juvenilnych. W 1980 r. odbyła staż naukowy u prof. H. Viehe na Uniwersytecie w Louvain-la-Neuve w Belgii. Od 1992 r. zajmuje się chemią cukrów w zespole prof. M. Chmielewskiego w IChO PAN.



Prof. dr hab. Marek Chmielewski uzyskał dyplom mgra inż. na Politechnice Warszawskiej w 1965 r., 1972 – dr, Instytut Chemii Organicznej PAN w Warszawie, 1981 – dr hab., IChO PAN, 1991 – prof. Od 1987 r. jest zastępcą dyrektora IChO PAN; od 1994 r. zastępcą przewodniczącego Wydziału III PAN. Zainteresowania badawcze: chemia węglowodanów, synteza antybiotyków β -laktamowych, synteza asymetryczna.

ABSTRACT

The isolation, synthesis and biological properties of polyhydroxylated alkaloids (iminosugars) constitute a well-visible trend in organic chemistry nowadays. Due to their structural resemblance to sugars, iminosugars are recognized by glycosidases, the enzymes that catalyse the hydrolysis of glycosidic bonds in carbohydrates and glycoconjugates. Since glycosidases play a very important role in many biological systems, the iminosugars which inhibit them display interesting biological activities.

Indolizidines, represented by castanospermine, swainsonine and lentiginosine, are particularly interesting as they exhibit a variety of important biomedical properties.

The present paper is not a survey of the literature, but only deals with syntheses towards lentiginosine, with the aim of illustrating representative approaches in the syntheses of polyhydroxyindolizidines.

The high stereoselectivity of both the conjugate addition of hydrazine and the (1,3)-dipolar cycloaddition of nitrones to the α,β -unsaturated sugar δ -lactones, prompted us to use the adducts of both reactions as substrates for the syntheses of polyhydroxyindolizidines.

The conjugate addition offers a stereocontrolled entry to derivatives of both D- and L-2-pyrrolidineacetic acids which can be easily transformed into desired indolizidines. As an example, the synthesis of lentiginosine is demonstrated.

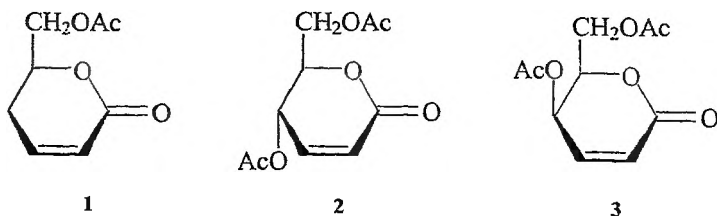
The (1,3)-dipolar cycloaddition of Brandi's nitrone to the title lactones proceeded with high stereoselectivity in the case of D- and L-glycero lactones, whereas there was a high kinetic resolution in the case of racemic D,L-glycero lactone. It was shown that adducts can be easily transformed into lentiginosine, 7-hydroxylentiginosine and 7,8-dihydroxylentiginosine.

WSTĘP

Wyodrębnianie, synteza i badanie właściwości polihydroksylowych alkaloidów są widocznym trendem działalności naukowej w chemii produktów naturalnych [1-3]; znajduje to odzwierciedlenie w ponad trzystu oryginalnych pracach dotyczących tej problematyki, opublikowanych w ciągu ostatnich pięciu lat. Tak wielką popularność związki te zawdzięczają silnej i specyficznej aktywności jako inhibitory glikozydaz, a w konsekwencji różnorodnym właściwościom terapeutycznym, takim jak antywirusowa, immunoregulacyjna, antynowotworowa, antydiabetyczna, antyhiperglutaminowa [1-3]. Mimo znacznych różnic w budowie, polihydroksylowe alkaloidy łączy wspólna cecha, są analogami strukturalnymi i konfiguracyjnymi monosacharydów, w których atom tlenu pierścienia został zastąpiony atomem azotu. Ze względu na to podobieństwo noszą nazwy iminocukrów lub, mniej poprawnie, azacukrów. Należą tu związki zarówno mono-, jak i bicykliczne, tworzące pierścienie cztero-, pięcio-, sześć- lub siedmioczłonowe, zawierające jeden lub więcej atomów azotu w cząsteczce [2]. Wśród układów bicyklicznych znajdują się pirolizydyny, indolizydyny, chinolizydyny, a także nieco rzadsze nortropany lub związki zawierające pierścień imidazolu lub tetrazolu [2]. Strukturalne podobieństwo do cukrów powoduje, że iminocukry są rozpoznawane przez glikozydazy lub inne proteiny identyfikujące cukry [2].

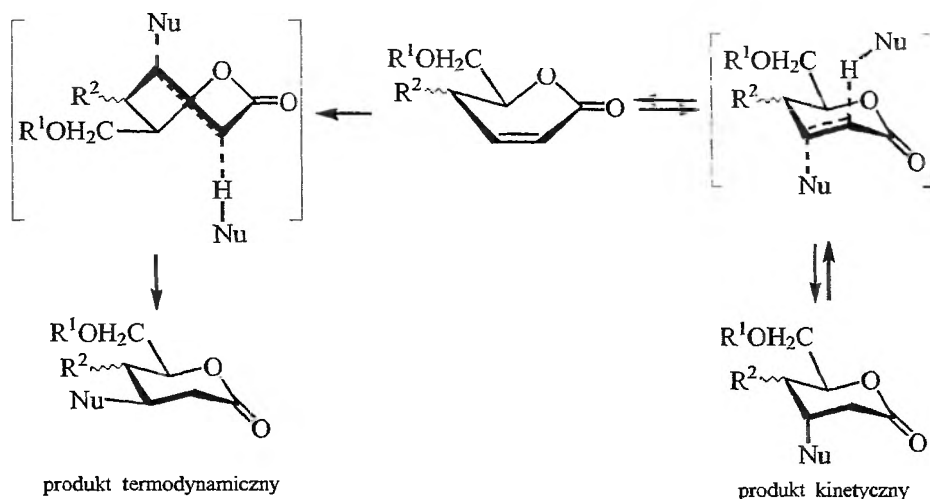
1. REAKCJE ADDYCJI I CYKLOADDYCJI DO NIENASYCONYCH δ -LAKTONÓW

Niedawno zademonstrowaliśmy, iż łatwo dostępne z glukozy i galaktozy α, β -nienasycone δ -laktony 1-3 [4, 5] stanowią atrakcyjny materiał wyjściowy w syntezie wybranych związków naturalnych [6-8]. O tej atrakcyjności decyduje przede wszystkim wysoka stereoselektywność addycji Michaela hydrazyny i pochodnych hydroksyloaminy, które przyłączają się prawie wyłącznie *anti* względem terminalnej grupy acetoksymetylowej; obecność podstawnika przy atomie C-4 i jego konfiguracja nie mają wpływu na kierunek addycji [9-11].



Aksjalne podejście czynników nukleofilowych do α, β -nienasyconych δ -laktonów jest dobrze udokumentowane w literaturze i było obserwowane również dla jonu azydowego [12], azyrydyny [13], jonu metoksyowego [13, 14] i związków

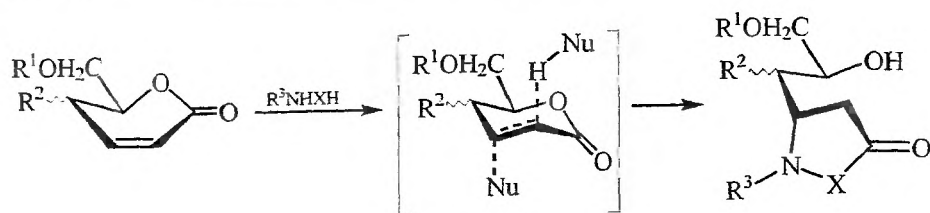
ków alkilomiedziowych [15]. Wysoka stereoselektywność 1,4-addycji nukleofili do laktonów 1–3 jest powodowana utworem konformacji pierścienia sześciocłonowego przez terminalny podstawnik oksyalkilowy oraz przez efekt stereoelektronowy związany z zachowaniem geometrii antiperiplanarnej stanu przejściowego. Zaproponowane przez Deslongchamps'a [16] wyjaśnienie preferowanego kierunku addycji przedstawia rys. 1. Stan przejściowy o konformacji krzesłowej jest korzystniejszy energetycznie. W konsekwencji, produkt *anti* addycji względem grupy oksymetylowej (podejście aksjalne) dominuje w mieszaninie poreakcyjnej. Niską energię aktywacji reakcji addycji odzwierciedla łatwość procesu *retro*. Niedawno zademonstrowaliśmy, iż wyższa temperatura i przedłużenie czasu reakcji prowadzą do utworzenia produktu *syn* addycji, który jest wynikiem kontroli termodynamicznej [9].



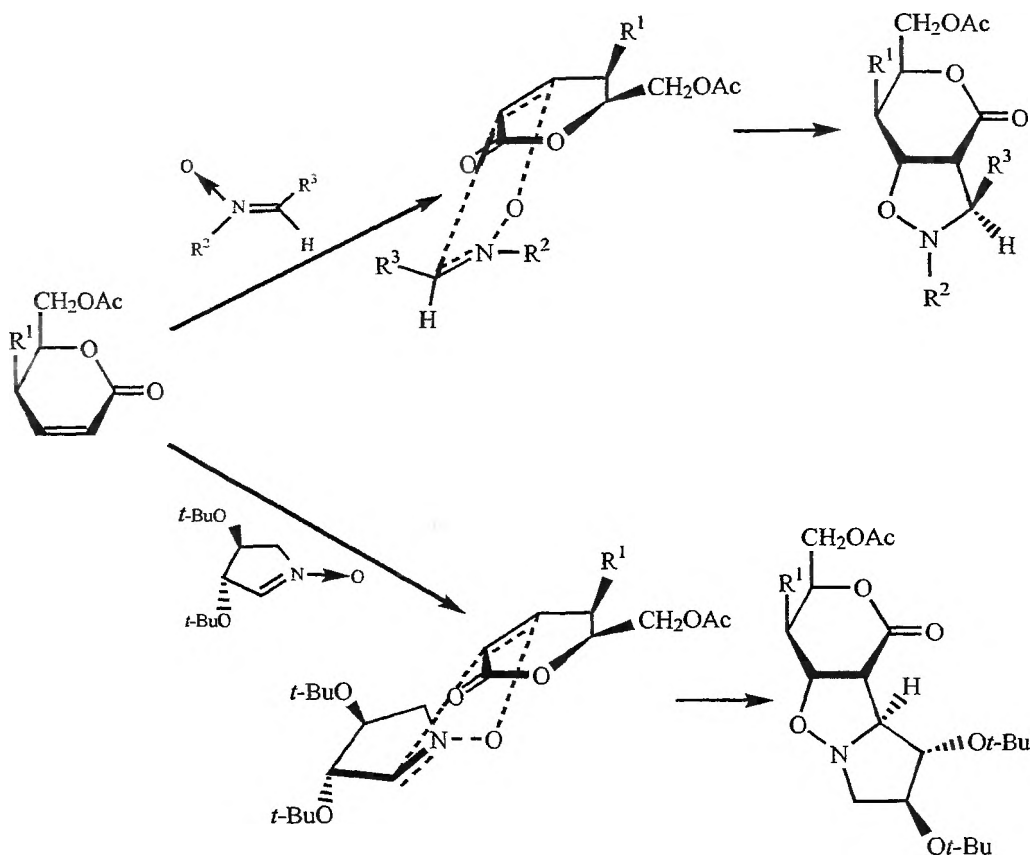
Rys. 1. $R^1 = Ac, Bn, \text{ silyl}$; $R^2 = H, OAc, OBn, OSilyl$; $Nu = N_3^-, H_2NOBn, RNHOH, RNHNH_2$

Addycja hydrazyny i *N*-podstawionych pochodnych hydroksyloamin do laktonów 1–3 nie jest reakcją odwracalną. Produkt *anti* addycji ulega szybkiemu przegrupowaniu, które polega na otwarciu pierścienia laktonu przez grupę *N*-hydroksyloową lub *N*-aminową i utworzeniu, odpowiednio, pierścienia izoksazolidyn-5-onu lub pirazolidyn-3-onu (rys. 2). Przegrupowanie takie jest możliwe dzięki aksjalnemu ułożeniu przyłączanej hydroksyloaminy [11] bądź hydrazyny [10].

Z równie wysoką *anti* stereoselektywnością przebiegają reakcje 1,3-dipolarnej cykloaddycji nitronów [17, 18] i tlenków nitryli [19] do laktonów 1 i 3. Nitrony łańcuchowe preferują addycję *anti-endo* [17], podczas gdy nitrony cykliczne addycję *anti-egzo* [18] (rys. 3). Na szczególne podkreślenie zasługują wyniki osiągnięte dla laktonu 1, ponieważ indukujące centrum stereogeniczne nie sąsiaduje z wiązaniem podwójnym.



Rys. 2. $R^1 = \text{Ac, Bn, silyl}$; $R^2 = \text{H, OR}^1$; $R^3 = \text{H, alkil}$; $X = \text{O, NH}$



Rys. 3. $R^1 = \text{H, OAc}$; $R^2 = \text{Bn, PMB, Ph}$; $R^3 = \text{Ar, Me, H}$

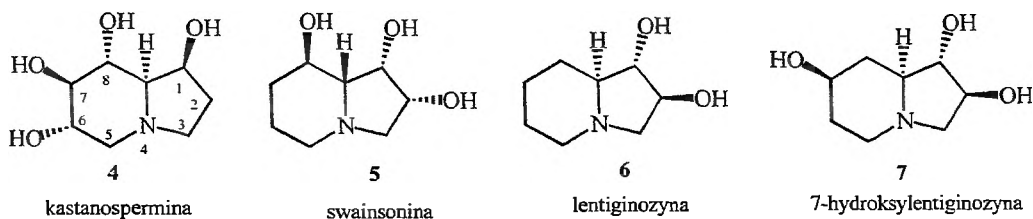
O stereochemii cykloaddycji decyduje przede wszystkim rozmiar podstawników nie leżących w płaszczyźnie laktomu i nitronu. Znaczną preferencję podejścia *anti* można tłumaczyć, tak jak w przypadku addycji do układu sprzężonego, aksjalnym atakiem nitronowego atomu tlenu [16] i większym zaawansowaniem w stanie przejściowym tworzenia się wiązania C—O niż wiązania C—C.

2. POLIHYDROKSYINDOLIZYDYN

Wysoka stereoselektywność reakcji addycji i cykloaddycji do laktonów 1-3, która umożliwia pełną kontrolę stereochemiczną przemiany centrum stereogenicznego przy atomie azotu, a także obecność w cząsteczce laktonu zabezpieczonych grup hydroksylowych umożliwiając wykorzystanie adduktów w syntezie iminocukrów. Szczególnie atrakcyjnie wyglądają możliwości tego rodzaju przemian, które prowadzą do iminocukrów z grupy indolizydyn. Do tej grupy należą tak ważne związki, jak kastanospermina (4) [20], swainsonina (5) [21] i lentiginozyna (6) [22].

Piśmiennictwo na temat syntezy indolizydyn jest wyjątkowo bogate. Z konieczności ograniczamy przegląd literatury do syntez lentiginozyny, która była również obiektem naszych prac. Jest to wprawdzie niewielki fragment całości, ale, naszym zdaniem, reprezentatywny dla rozwiązań metodologicznych stosowanych w syntezie iminocukrów.

Indolizydyny są alkaloidami dość rozpowszechnionymi w przyrodzie. Od dwudziestu lat ich synteza i właściwości cieszą się znacznym zainteresowaniem wielu laboratoriów [1-3]. Związki te zawierają w swej strukturze skondensowane pierścienie piperolidyny i piperidy. Spośród indolizydyn do najbardziej aktywnych inhibitorów glikozydaz należą, wymienione już wcześniej, kastanospermina (4) i swainsonina (5) oraz lentiginozyna (6) (rys. 4).



Rys. 4

Kastanospermina (4) [20], która wykazuje duże podobieństwo pierścienia piperydynowego do D-glukozy, jest bardzo silnym inhibitorem α - i β -glukozydazy. Po raz pierwszy wyizolowano ją w 1981 r. [20] z nasion australijskiej rośliny strączkowej *Castanospermum australe*. Później odnaleziono ją również w roślinach z rodzaju *Alexa* [22]. Poza właściwościami antyglukozydazowymi wykazuje ona wysoką aktywność w zwalczaniu cukrzycy [24], otyłości [25], nowotworów [26, 27] oraz infekcji wirusowych [28], w tym również HIV-1 [29, 30]. Właśnie ta ostatnia cecha kastanosperminy (4) wzbudza bardzo duże zainteresowanie, ze względu na możliwość zastosowania tego związku do zahamowania procesu namnażania wirusów powodujących AIDS. Niestety, toksyczność kastanosperminy (4) uniemożliwia bezpośrednie jej zastosowanie w terapii, ale obiecujące wyniki uzyskano w badaniach jej niektórych pochodnych acetylowych [31].

Wyzolowane z naturalnych źródeł izomery konfiguracyjne kastanosperminy, takie jak: 6-epikastanospermina [32] oraz 6,7-diepikastanospermina [33], wykazują zdolność blokowania glukozydaz podobną do aktywności **4**. Obie indolizydyny są inhibitorami amyloglukozydazy, przy czym pierwsza z nich wykazuje znacznie silniejszą aktywność.

Oczekiwania, że analogi i stereoizomery kastanosperminy będą miały również interesujące i użyteczne właściwości, wywołały niegasnącą falę zainteresowania tymi związkami. Świadczy o tym wyjątkowo duża liczba doniesień literaturowych, w których przedmiotem badań i celem syntetycznym jest kastanospermina (**4**) i jej pochodne [34]. Na przestrzeni ostatnich 4 lat opublikowano na ten temat ponad 170 prac oryginalnych oraz kilka opracowań przeglądowych [35–37].

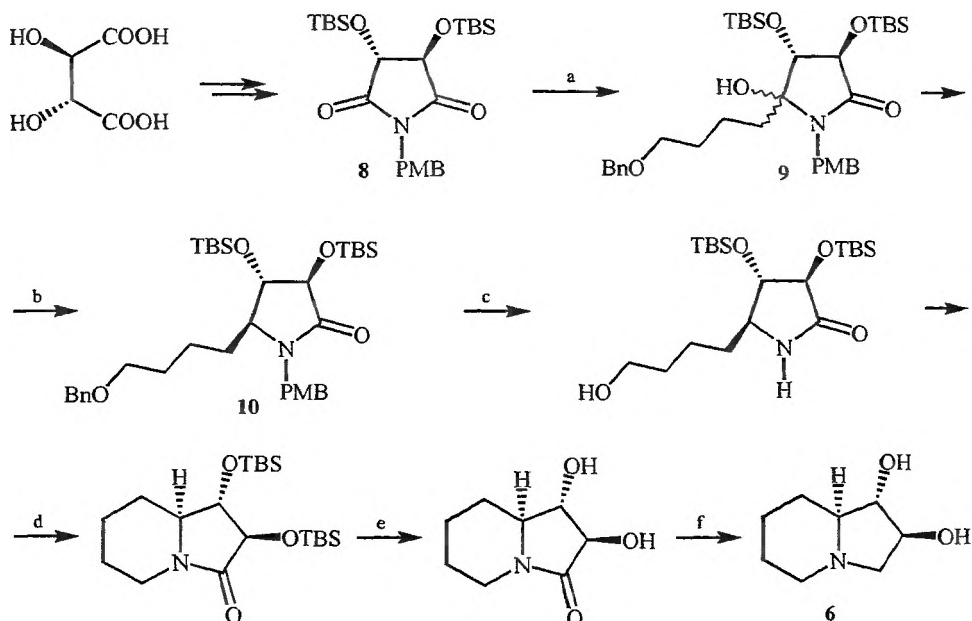
Swainsonina (**5**) (o konfiguracji odpowiadającej D-mannozie) od 1973 r., tj. od momentu, kiedy po raz pierwszy wyizolowano ją z grzybów *Rhizoctonia leguminicola* [21], stała się przedmiotem badań zarówno biologicznych, jak i syntetycznych. Alkaloid ten jest bardzo silnym i wysoce specyficznym inhibitorem α -D-mannozydazy, przetwarzającym zwłaszcza glikoproteiny enzymu mannozydazy II [38]. Być może dzięki tym właściwościom swainsonina wykazuje bardzo ważną immunoregulacyjną i antymetastatyczną aktywność [39]. Badania nad zastosowaniem swainsoniny (**5**) w terapii antynowotworowej weszły już w pierwszą fazę badań klinicznych [40]. Zadziwia fakt, że mimo zaangażowania znacznego potencjału badawczego wciąż nie opracowano ani efektywnej i opłacalnej metody wydzielenia swainsoniny ze źródeł naturalnych, ani atrakcyjnej metody jej syntezy [41]. Większość zrealizowanych dotychczas syntez wykorzystuje naturalne węglowodany, α -aminokwasy lub α -hydroksykwasy jako materiały wyjściowe w konstrukcji polihydroksylowej struktury indolizydyny [2, 3].

Lentiginozyna (**6**) jest *trans*-1,2-dihydroksyindolizydyną, alkaloidem po raz pierwszy wyizolowanym w 1990 r. [22] z rośliny *Astragalus lentiginosus*. Została ona zidentyfikowana jako pierwszy inhibitor grzybowej α -glukozydazy [22], który zawiera w swej strukturze tylko dwie grupy hydroksylowe. Pomimo tego okazała się inhibitorem amyloglukozydaz dwa razy silniejszym od kastanosperminy (**4**), co oznacza, że jest najsilniejszym inhibitorem tego typu. 7-Hydroksylentiginozyna (**7**) reprezentuje prawie taką samą aktywność co **6**, a ponadto ma pewne zdolności inhibitowania α -L-fukozydaz [43]. Absolutna konfiguracja (1*S*,2*S*,8*aS*) naturalnej (+)-lentiginozyny (**6**) została określona wstępnie przez Elbeina [22] i potwierdzona przez Brandiego [43] w 1995 r. Enancjomer naturalnej lentiginozyny o konfiguracji (1*R*,2*R*,8*aR*) okazał się 35-krotnie słabszym inhibitorem amyloglukozydaz od naturalnej prawoskrętnej indolizydyny **6**.

3. SYNTEZY LENTIGINOZYN

Pierwszej syntezy naturalnej (+)-lentiginozyny (**6**) dokonał w 1993 r. Yoda z zespołem [44]. Jako materiał wyjściowy posłużył kwas L-winowy, który stano-

wił substrat dla większości zaproponowanych później syntez tego iminocukru. Z wydajnością 53% otrzymano z niego symetryczny *N-p*-metoksybenzylomid **8**, który następnie poddano działaniu odczynnika Grignarda (rys. 5). Uzyskano nietrwały związek **9**, który pod wpływem Et_3SiH w obecności $\text{BF}_3\cdot\text{OEt}_2$ ulega reduktywnej deoksygenacji. Reakcja przeprowadzona w -78°C doprowadziła do powstania laktamu **10** o pożądanej konfiguracji (96,1 : 3,9) *trans* względem podstawnika przy C-4. W kolejnych standardowych przemianach dokonano cyklizacji, usunięcia zabezpieczeń i redukcji grupy karbonylowej.

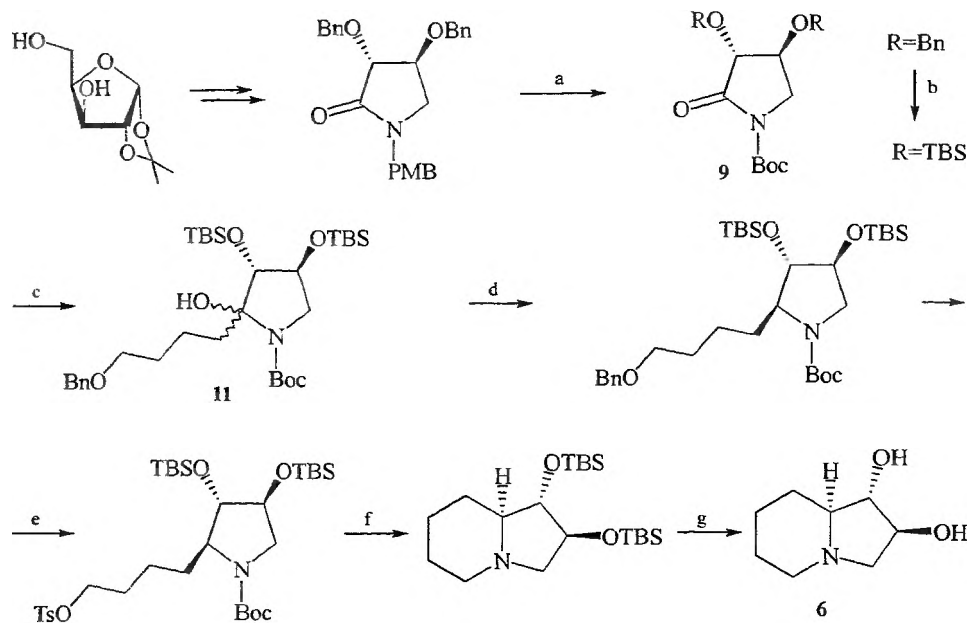


Rys. 5. a) $\text{BnO}(\text{CH}_2)_4\text{MgBr}$, THF, -78°C , 85%; b) Et_3SiH , $\text{BF}_3\cdot\text{OEt}_2$, CH_2Cl_2 , -78°C , 95%; c) 1. $\text{Ce}(\text{NH}_4)_2(\text{NO}_3)_6$, $\text{CH}_3\text{CN}-\text{H}_2\text{O}$, 0°C ; 2. Pd(czerń), HCOOH , *i*-PrOH, 27% (2 etapy); d) 1. MsCl , Et_3N , CH_2Cl_2 ; 2. NaH , THF, 90% (2 etapy); e) HCl , MeOH, 100%; f) LiAlH_4 , THF, t.w., 100%

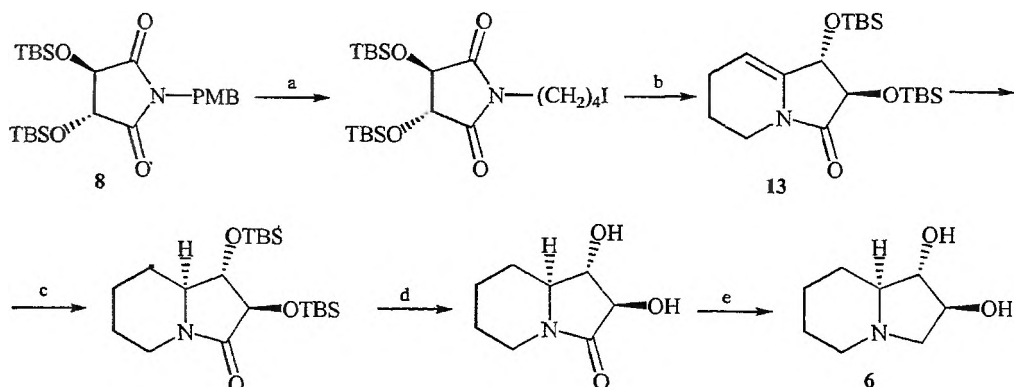
Pięć lat później ten sam zespół [45] zaproponował podobną syntezę (+)-lentiginosyny, przy czym tym razem jako materiał wyjściowy wybrano 1,2-*O*-izopropylideno- α -D-ksylofuranozę (rys. 6). Kluczowym etapem syntezy była reduktywna deoksygenacja hemiacetalu, która zachodzi z bardzo dobrą stereoselektywnością (98 : 2).

Niedawno opublikowano syntezę pirolizydyń i indolizydyń, w której wykorzystano diodek samaru w reakcji cyklizacji *N*- ω -jodoalkilimidów [46] (rys. 7). Reduktywna cyklizacja imidu **12** pod wpływem SmI_2 , w obecności katalitycznej ilości $\text{Fe}(\text{DBM})_3$ w THF, doprowadziła do utworzenia hydroksyindolizydydonu, który w czasie oczyszczania na kolumnie chromatograficznej ulegał powolnej de-

hydratacji do enamidu **13**. Stereoselektywna redukcja ugrupowania enaminy działaniem Et_3SiH w CF_3COOH , a następnie usunięcie grup silylowych i redukcja laktamu **14**, doprowadziły do (+)-lentiginozyny (**6**).

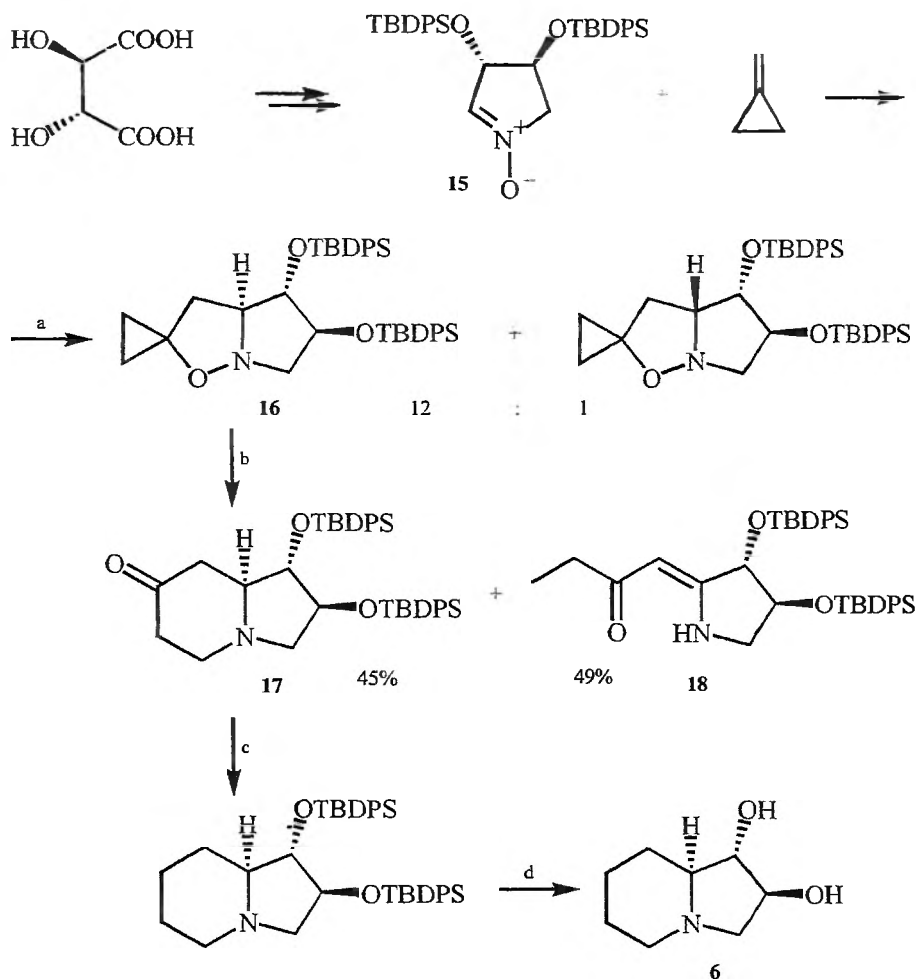


Rys. 6. a) 1. CAN , $\text{CH}_3\text{CN}-\text{H}_2\text{O}$, 81%; 2. $(\text{Boc})_2\text{O}$, Et_3N , DMAP, CH_2Cl_2 , 96%; b) 1. Pd (czerń), 4,4% $\text{HCOOH}-\text{CH}_3\text{OH}$, 40°C , 96%; 2. TBSCl , imidazol, DMF, 94%; c) $\text{BnO}(\text{CH}_2)_4\text{MgBr}$, THF, -78°C ; d) Et_3SiH , $\text{BF}_3\cdot\text{OEt}_2$, CH_2Cl_2 , -78°C , 55% (etapy c i d); e) 1. Pd (czerń), 4,4% $\text{HCOOH}-\text{CH}_3\text{OH}$, 40°C , 94%; 2. TsCl , Py, 70%; f) $\text{BF}_3\cdot\text{OEt}_2$, CH_2Cl_2 , -20 – 0°C ; g) KOH , CH_3OH , 74% (etapy f, g)



Rys. 7. a) 1. CAN , CH_3CN ; 2. $\text{I}-(\text{CH}_2)_4-\text{I}$, K_2CO_3 , 85%; b) SmI_2 , THF, $\text{Fe}(\text{DBM})_3$; c) CF_3COOH , Et_3SiH ; d) HCl , CH_3OH ; e) LiAlH_4 , THF

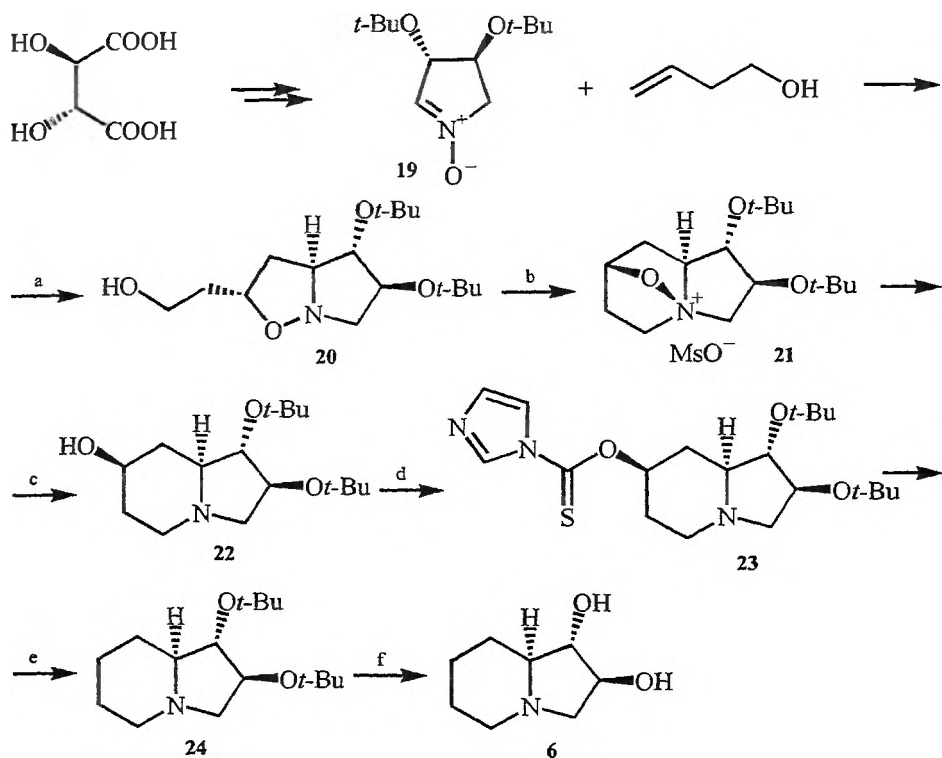
(1,3)-Dipolarna cykloaddycja alkenów do cyklicznych nitronów stanowi najbardziej popularną strategię syntezy (+)-lentiginozyny. Pierwszą taką syntezę zaproponował zespół Brandiego [47] w 1994 r. Rok później, postępując w ten sam sposób, oznaczono absolutną konfigurację naturalnej lentiginozyny oraz otrzymano oba jej enancjomery [43]. Prekursorem były kwasy L- i D-winowy, których diestry etylowe posłużyły do syntezy enancjomerycznych cyklicznych nitronów [48]. 1,3-Dipolarna cykloaddycja nitronu **15** do metylenocyklopropanu i termiczne przegrupowanie adduktu **16** były kluczowymi etapami syntezy (rys. 8).



Rys. 8. a) 35 °C, 8 dni, 94%; b) ksylen, 150 °C, 6 h, 45%; c) 1. TsNHNH₂, MeOH, 7 h; 2. NaBH₄, 0–60 °C, 3 h; 45%; d) 40% HF, CH₃CN, 85%

Cykloaddycja nitronu prowadzona z dużym nadmiarem metylenocyklopropanu w ciągu 8 dni, w temp. 35 °C, doprowadziła do powstania z dobrą wydaj-

nością i wysoką stereoselektywnością jednego diastereoizomeru **16**. W kolejnym etapie addukt **16**, ogrzewany do wrzenia w ksylenie, przegrupowuje się do indolizydynonu **17** z 45% wydajnością. Ostatnim etapem syntezy było usunięcie grupy ketonowej przez etap tosylohydrazonu i redukcja NaBH_4 . Ze względu na niską chemoselektywność przegrupowania izoksazolidyny **16**, której towarzyszył nienasycony enaminoketon **18**, zaproponowano zmodyfikowaną ścieżkę syntetyczną (rys. 9) [49].

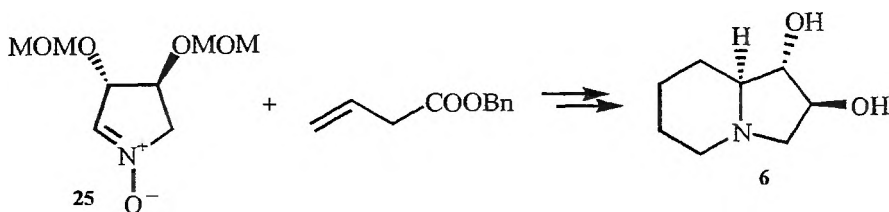


Rys. 9. a) 3-buten-1-ol, 60 °C, 2 dni, 79%; b) MsCl , NEt_3 , CH_2Cl_2 , 100%; c) H_2 , 50 psi, 10% Pd/C , CH_3OH , 24 h, 86%; d) $\text{Im}_2\text{C}=\text{S}$, THF, 68 °C, 2,5 h, 99%; e) $n\text{Bu}_3\text{SnH}$ (1,5 ekw.), toluen, 110 °C, 16 h, 68%; f) CF_3COOH , 16 h, 93%

Zamiast siliowanego nitronu **15** użyto di-*t*-butyloksynitronu **19**, a jako dipolarofil zastosowano 3-buten-1-ol [49]. Główny produkt cykloaddycji **20** wyizolowano z 79% wydajnością i poddano mesylowaniu, w wyniku którego doszło do wewnątrzcząsteczkowego alkilowania atomu azotu z utworzeniem soli **21**. Surową mieszaninę reakcyjną poddano wodorolizie pod zwiększonym ciśnieniem w obecności katalizatora palladowego. Otrzymaną z dobrą wydajnością pochodną 7-hydroksy-lentiginosyny **22** przekształcono w tiokarbonyloimidazolid **23**, który za pomocą tri-*n*-butylocyny w toluenie zredukowano do eteru di-*t*-butylowego lentiginosyny (**24**). Ostatnim etapem syntezy (+)-lentiginosyny (**6**) było

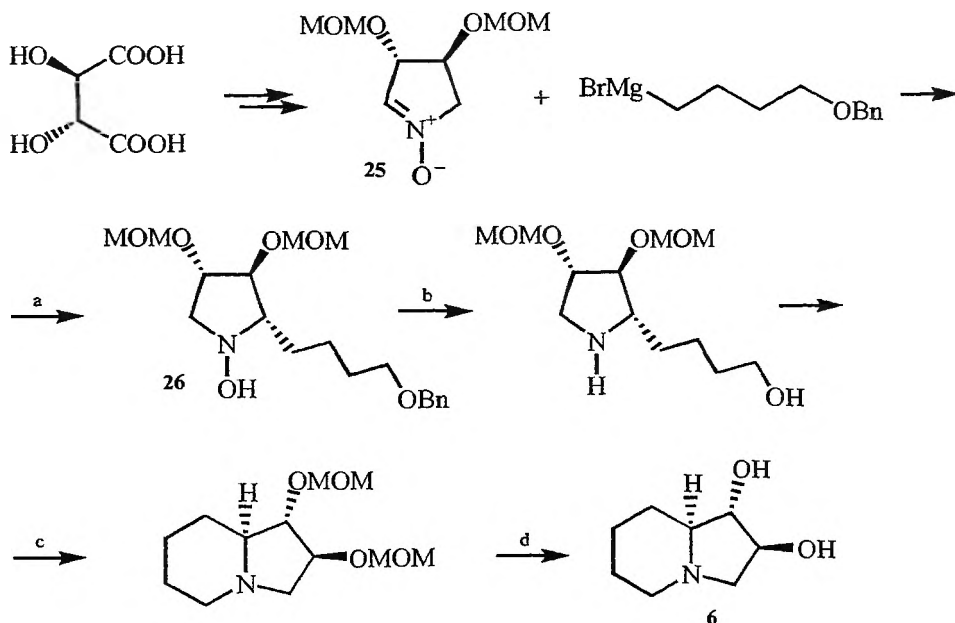
usunięcie kwasem trifluorooctowym zabezpieczeń *t*-butylowych [49]. Cała synteza dokonana została w 10 etapach z sumaryczną wydajnością 25%. Zespół Brandiego [49] opublikował również syntezy hydroksypochodnych (+)-lentiginozyny (6), w tym 7-hydroksylentiginozyny (7) [42, 50].

Strategię podobną do zmodyfikowanej syntezy Brandiego [49] zastosował zespół Wightmana [51]. Do reakcji cykloaddycji użyto ester benzylovu kwasu 3-butenowego i nitron 25, w którym grupy hydroksylowe zabezpieczono resztami metoksymetyłowymi (rys. 10). Synteza Wightmana zachodzi z 2,5-krotnie mniejszą wydajnością od tej uzyskanej przez włoskich badaczy [49].



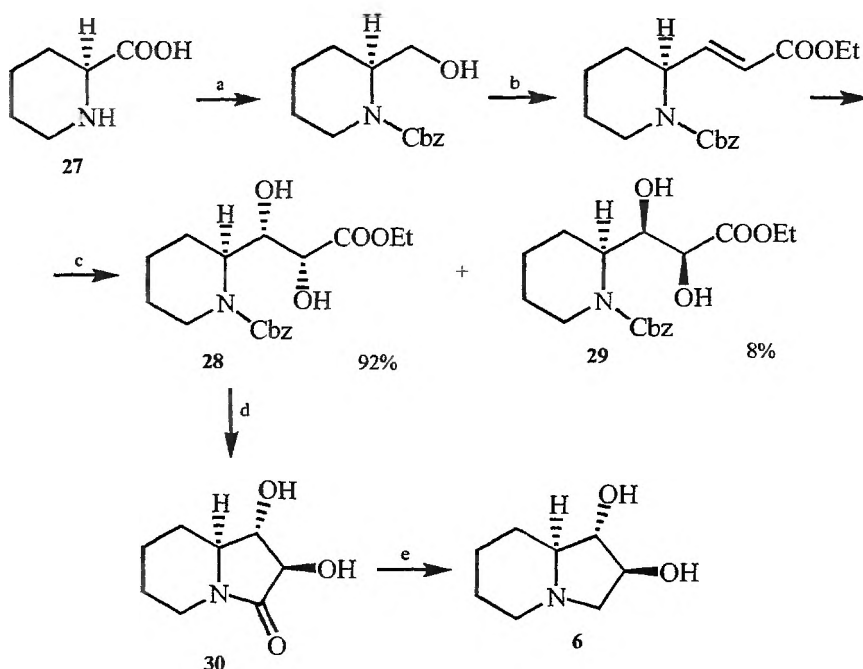
Rys. 10

Nitron Wightmana 25 posłużył do syntezy (+)-lentiginozyny drogą alkiłowania związkiem Grignarda (rys. 11) [52]. Liczne próby optymalizacji warunków reakcji doprowadziły do otrzymania z 82% wydajnością i 90% diastereoselektywnością pożądaną α -podstawioną hydroksyloaminę 26.



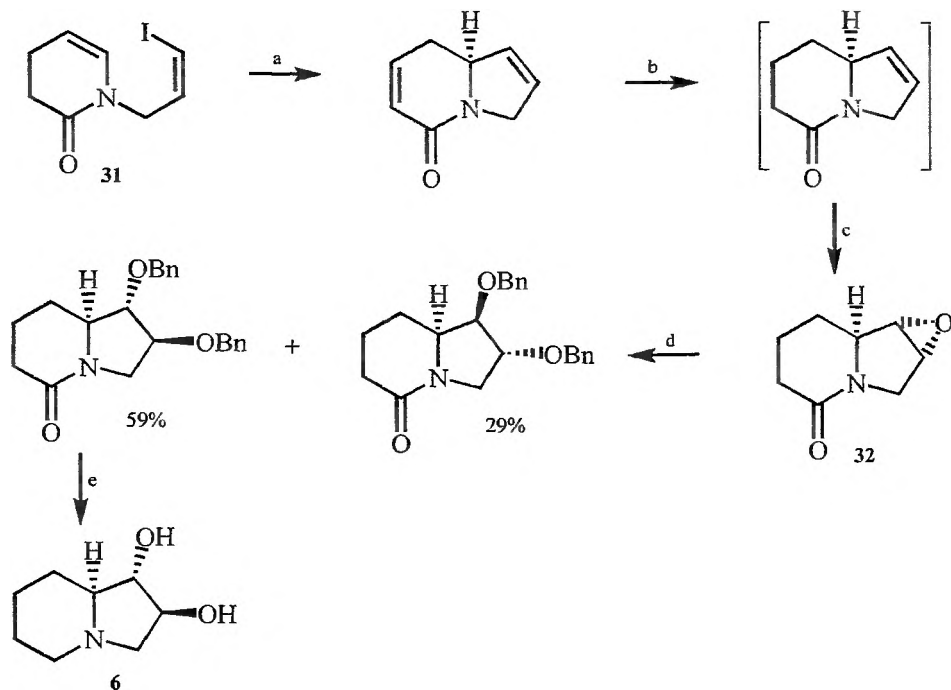
Rys. 11. a) THF, t.p., 82%, d.e. 90%; b) 1. H₂, Ni-Raney; 2. HCONH₄, Pd/C, 76%; c) PhP₃, CCl₄, Et₃N, DMF, 88%; d) HCl, MeOH, Δ, 91%

Inny chiralny prekursor **27** zastosowali naukowcy indyjscy [53] w jednej z pierwszych syntez (+)-lentiginozyny **6** (rys. 12). Otrzymali oni (+)-lentiginozynę **6** i jej (–)-enancjomer, używając jako matrycę chiralną, odpowiednio, kwas (*S*)- i (*R*)-piperkoliny (**27**, **27ent**). Kluczowym etapem syntezy była asymetryczna dihydroksylacja Sharplesa, w wyniku której powstała mieszanina dioli **28/29** w stosunku 92:8. Powstający w przewodzie związek **28** poddano redukcyjnej cyklizacji do układu indozylidynonu **30**, którego redukcja kompleksem $\text{BH}_3\text{-SMe}_2$ zamknęła syntezę (+)-lentiginozyny **6**. Wychodząc z **27ent** i postępując analogicznie otrzymano (–)-enancjomer. W tym samym opracowaniu, na podstawie błędnych wartości skręcalności, niewłaściwie przypisano konfigurację (1*R*,2*R*,8*aR*) naturalnej lentiginozynie [53].



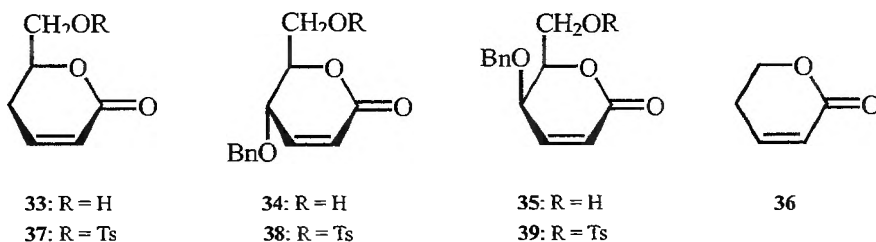
Rys. 12. a) 1. CbzCl , 4*N* NaOH , t.p., 6 h; 2. 2 *M* $\text{BH}_3\text{-SMe}_3$, THF, 0 °C – t.p., 10 h; b) 1. $\text{Py}:\text{SO}_3$, DMSO, 0 °C – t.p., 30 min; 2. $\text{Ph}_3\text{P}=\text{CHCOOEt}$, benzen, t.p., 10 h; c) AD-mix- β (1:1), *t*-BuOH- H_2O , t.p., 24 h; d) 10% Pd/C , NaOAc , MeOH, H_2 , 1 atm., 12 h; e) 2*M* $\text{BH}_3\text{-SMe}_3$, THF, t.p., 12 h

Jedyną strategię, w której zastosowano achiralny materiał wyjściowy **31**, zaproponowali japońscy naukowcy [54]. Związek **31** poddano asymetrycznej cyklizacji typu Hecka w obecności chiralnego katalizatora palladowego (rys. 13). Istotnymi etapami tej syntezy była również stereoselektywna epoksydacja i regioselektywne otwarcie epoksydu. Główny produkt otwarcia epoksydu miał konfigurację (+)-lentiginozyny **6**, a uboczny konfigurację 1,2-di-*epi*-lentiginozyny.

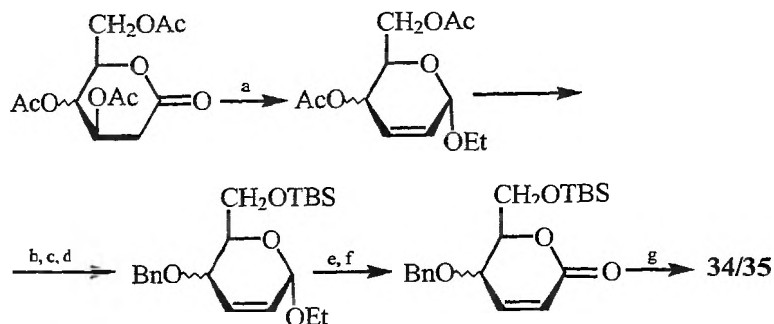


Rys. 13. a) Pd₂(dba)₃·CHCl₃, (*R*)-(*S*)-BPPFOH, Ag zeolit, ce. 86%; b) K-Selekurid, Et₂O, -78-0 °C; c) 1. NBS, THF-Et₂O-H₂O; 2. K₂CO₃, MeOH, 43% (3 etapy); d) 1. aceton-1% H₂SO₄ (1:1), 45 °C; 2. BnCl, Py, kat. DMAP, CH₂Cl₂; e) LiAlH₄, Et₂O, 98%

4. SYNTEZA LENTIGINOZYNY I ZWIĄZKÓW POKREWNYCH Z NIENASYCONYCH δ-LAKTONÓW



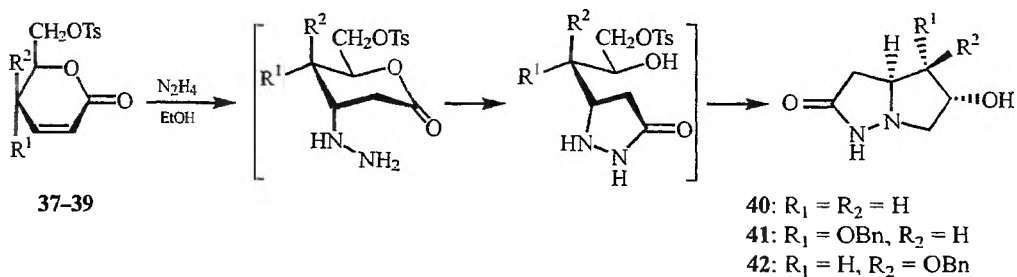
Substratami w prowadzonych w naszym laboratorium syntezach inhibitorów glikozydaz były laktony o konfiguracjach *D*-glicero 33, *D*-erytro 34, *D*-treo 35 i achiralny, handlowo dostępny związek 36. Lakton 33 i jego tosylowa pochodna 37 zostały otrzymane według znanej procedury [14, 55]. Laktony 34, 35, 38 i 39 uzyskano, odpowiednio, z tri-*O*-acetylo-*D*-glukalu i tri-*O*-acetylo-*D*-galaktalu stosując opracowaną przez nas sekwencję reakcji (rys. 14) [8, 9, 56].



Rys. 14. a) ZnCl_2 , EtOH; b) $\text{K}_2\text{CO}_3/\text{MeOH}$; c) TBSCl, imidazol, CH_2Cl_2 ; d) BnCl, KOH, Bu_4NBr ; e) H_2O_2 , MoO_3 ; f) Ac_2O , Py; g) Bu_4NF

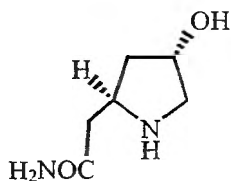
Laktony **35–39** poddane działaniu bezwodnej hydrazyny w alkoholu etylowym ulegają trzem następującym po sobie reakcjom. Proces zaczyna się od addycji Michaëla, po której następuje zamknięcie pierścienia pirazolidyn-3-onu z równoczesnym otwarciem pierścienia laktonowego. Wewnątrzcząsteczkowe alkilowanie aminowego atomu azotu kończy przemianę. Z wydajnościami, odpowiednio, 65, 60 i 55% tworzą się bicykliczne pirazolidynony **40–42** (rys. 15) [57].

Konfiguracje pirazolidynonów ustalono za pomocą eksperymentów NOE i potwierdzono metodą rentgenowskiej analizy strukturalnej dla *N*-acetylowej pochodnej pirazolidynonu **42**.

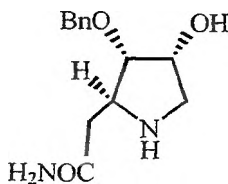


Rys. 15

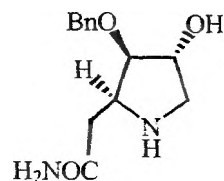
W celu otrzymania pochodnych kwasu D-pirolidynoocetowego (D-homoproliny), wiązanie N–N w związkach **40–42** poddano hydrogenolizie przy pomocy Niklu Raneya [57]. Dobre wydajności amidów **43–45** uzyskiwano prowadząc hydrogenolizę w wodzie, przy znacznym nadmiarze reduktora. Użycie metanolu lub etanolu jako rozpuszczalnika prowadziło do powstawania produktów, które są efektem powstawania w mieszaninie reakcyjnej, odpowiednio, aldehydu mrówkowego i octowego; niektóre z tych produktów **46–51** zidentyfikowano [57].



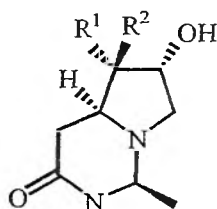
43



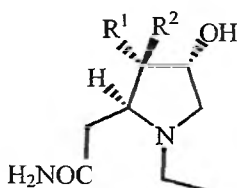
44



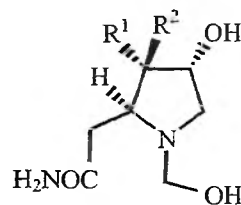
45



46: R¹ = OBn, R² = H
47: R¹ = H, R² = OBn



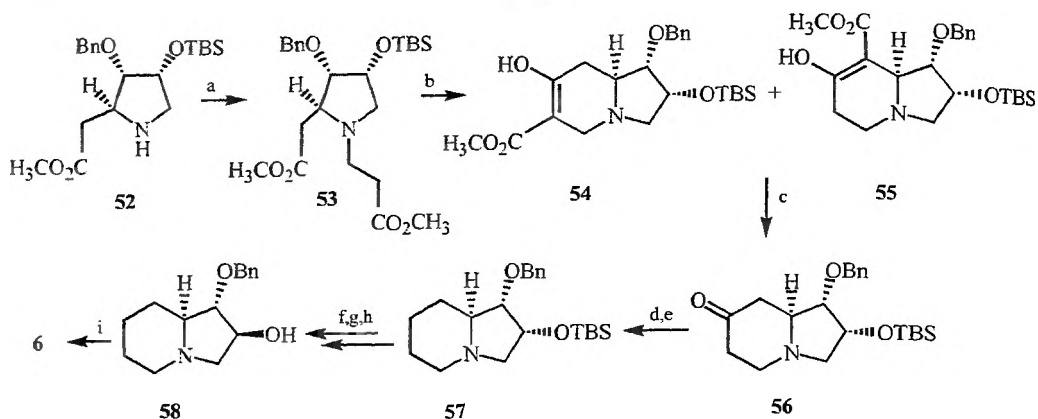
48: R¹ = OBn, R² = H
49: R¹ = H, R² = OBn



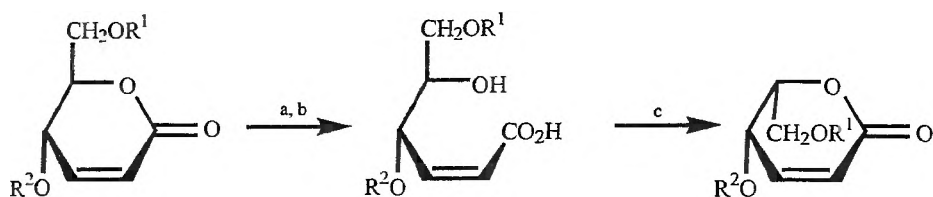
50: R¹ = OBn, R² = H
51: R¹ = H, R² = OBn

Przydatność związków 43–45 w syntezie iminocukrów zademonstrowano otrzymując lentiginozynę z amidu 44 [58]. W standardowej sekwencji reakcji dokonano metanolizy amidu i zabezpieczono grupę hydroksylową TBS. Kolejne dwa etapy to addycja Michaela związku 52 do akrylanu metylu i kondensacja Dieckmana, w której wyniku otrzymano dwa regioizomery 54 i 55 w proporcji 3:1. Rozpad ketonowy obu estrów prowadził do tego samego ketonu 56. Deoksygenacja grupy karbonylowej poprzez etap tosylohydrazonu doprowadziła do pochodnej 2-epilentiginozyny 57. Usunięcie zabezpieczenia silylowego oraz inwersja konfiguracji przy C-3 w warunkach reakcji Mitsunobu doprowadziły do krystalicznego eteru benzyłowego lentiginozyny 58. Strukturę związku 58 potwierdzono rentgenograficznie. Hydrogenoliza zabezpieczenia benzyłowego w 58 sodem w ciekłym amoniaku doprowadziła do wolnej lentiginozyny (6).

W konsekwencji D-konfiguracji laktonów 33–39 otrzymywane z nich pochodne homoproliny 43–45 należą do szeregu D. Związki o przeciwnej konfiguracji mogą być otrzymane z heksoz o konfiguracji L. Jedynie 6-deoksyheksozy, L-ramnoza i L-fukoza są handlowo dostępne. Brak terminalnej grupy hydroksymetylowej wyklucza, jednakże, zastosowanie obu tych cukrów w przedstawionej wyżej sekwencji reakcji. Laktony L-erytro i L-treo można otrzymać wykorzystując procedurę zaproponowaną przez zespół Valverde [59], która polega na otwarciu laktonu, a następnie zamknięciu w warunkach reakcji Mitsunobu (rys. 17). Próba powtórzenia tej sekwencji reakcji dla związków z terminalną grupą siloksymetylową, ze względu na migrację silylu, nie dała oczekiwanego produktu z akceptowalną wydajnością.

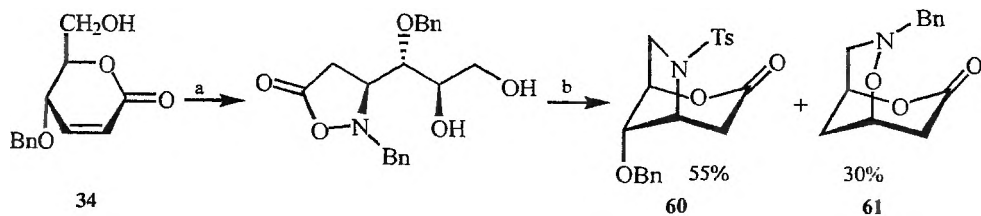


Rys. 16. a) $\text{CH}_2 = \text{CHCO}_2\text{Me}$, TEA, MeOH; b) LDA, THF, -78°C ; c) NaCl, H_2O , DMSO, 130°C ; d) TsNHNH_2 , TsOH, DMF; e) NaBH_3CN , 100°C ; f) TBAF, THF; g) PNBA, DEAD, TPP, THF; h) K_2CO_3 , MeOH; i) Na/NH_3



Rys. 17. a) LiOH; b) H^+ ; c) DEAD, TPP; $\text{R}^1 = \text{Bn}$, allyl; $\text{R}^2 = \text{Me}$, Bn

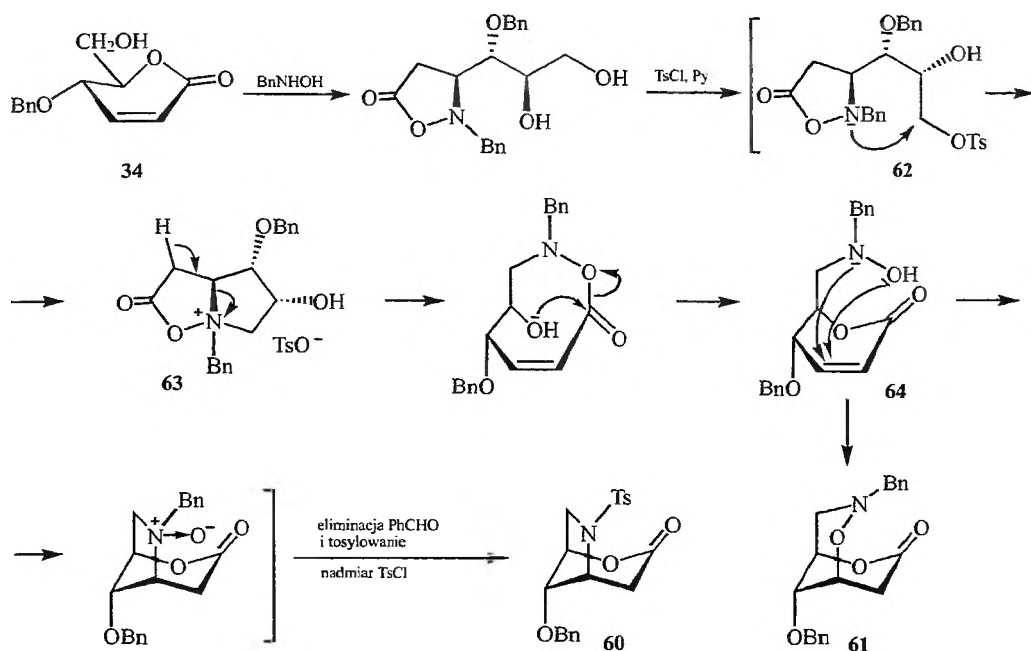
Niedawno, poszukując metody syntezy L-aminodeoksycukrów z laktonów 1–3 zauważyliśmy przegrupowanie, które doprowadziło do migracji atomu azotu od C-3 do C-6 z równoczesną inwersją konfiguracji przy C-3 (rys. 18) [60]. Wychodząc ze związku **34** otrzymano dwa bicykliczne laktony **60** i **61**.



Rys. 18. a) BnNHOH , EtOH; b) TsCl, Py

Propozycję wyjaśnienia przebiegu przegrupowania przedstawia rys. 19. Pierwotnie tworzący się tosyłan **62** ulega wewnątrzcząsteczkowej reakcji alkilowania atomu azotu, podobnej do tej, którą przedstawia rys. 15. Powstający w wyni-

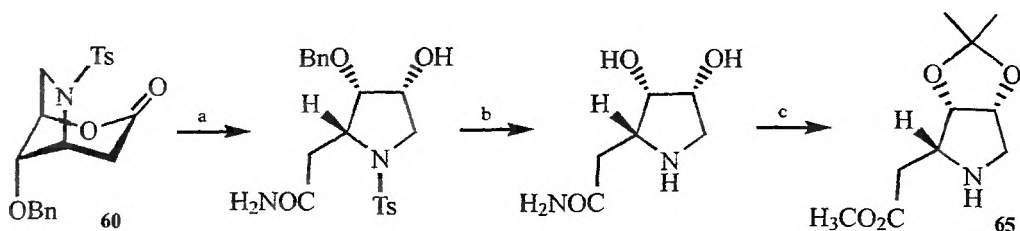
ku alkilowania nietrwały związek bicykliczny **63** ulega β -eliminacji, a następnie otwarciu pierścienia ośmioczłonowego i utworzeniu nienasyconego δ -laktonu **64**. Wewnątrzcząsteczkowa addycja Michaela grupy *N*-benzylohydroksylowej prowadzi do związku **61** lub do nietrwałego *N*-tlenku-*N*-benzyloaminy, który po eliminacji benzaldehydu, a następnie tosyłowaniu grupy aminowej zostaje przekształcony w główny produkt **60** (rys. 19) [60].



Rys. 19

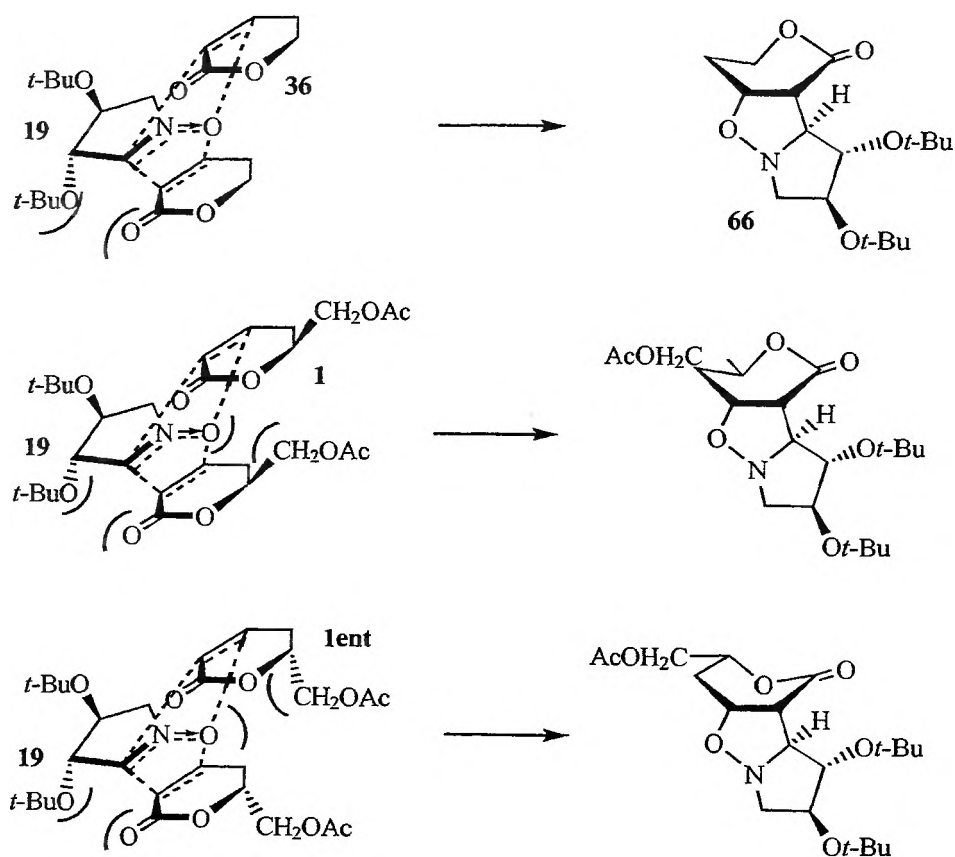
Amonoliza związku **60**, a następnie usunięcie grupy tosylowej i benzylowej działaniem sodu w ciekłym amoniaku doprowadziły do amidu *L*-homoproliny, który poddano metanolizacji w obecności dimetoksypropanu otrzymując ester **65** (rys. 20) [58]. Pomimo uzyskania produktu o pożądanej konfiguracji, sumaryczna wydajność całego procesu od laktonu **34** do homoproliny **65** jest zbyt mała, aby ten sposób postępowania mógł posłużyć do otrzymania iminocukrów z grupy swainsoniny.

Tricykliczne pochodne izoksazolidyny otrzymywane drogą 1,3-dipolarniej cykloaddycji pięcioczłonowego nitronu Brandiego **19** do laktonów 1-3 (rys. 3) otwierają atrakcyjne podejście do syntezy iminocukrów [61]. Strategia ta przypomina syntezy lentiginozyny zespołów Brandiego [49] i Wightmanna [51] (rys. 9 i 10). Jej zaletą jest możliwość wprowadzenia do cząsteczki indolizydyny dodatkowych grup hydroksylowych, które są obecne w laktonach 1-3.



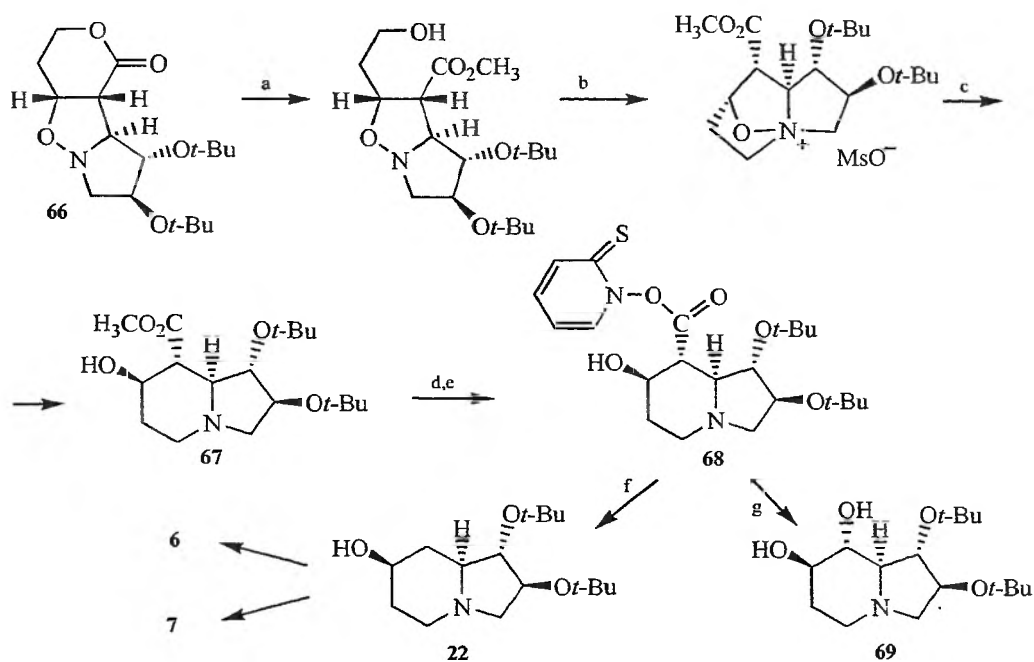
Rys. 20. a) 25% NH_3 aq, THF; b) Na/NH_3 , $-78\text{ }^\circ\text{C}$; c) $\text{HCl}/\text{MeOH}/\text{Me}_2\text{C}(\text{OMe})_2$


(1,3)-Dipolarna cykloaddycja nitronu **19** do laktonów: **36**, mieszaniny racemicznej **1/1ent** i *D*-glicero **1** przebiega z wysoką stereoselektywnością w przypadku **36** i **1** oraz znacznym kinetycznym rozdziałem w przypadku racematu **1/1ent** (rys. 21) [61].



Rys. 21

Addukt **66** poddano sekwencji przemian (rys. 22) [62] podobnej do tej, którą przedstawia rys. 9, otrzymując iminocukier **67**. Hydroliza estru, a następnie wolnorodnikowa dekarboksylacja przez ester *N*-hydroksytiopirydonowy **68** prowadzi do utworzenia pochodnej 7-hydroksylentiginozyny **22**, którą w przeszłości przekształcono w indolizydynę **6**, a także w jej 7-hydroksypochoďną **7** (rys. 22) [50]. Utleniająca dekarboksylacja związku **68**, która polega na wolnorodnikowym rozkładzie estru *N*-hydroksytiopirydonowego przy dostępie powietrza, powoduje utworzenie grupy hydroksylowej przyłączonej do atomu C-8. Operacja ta przebiega z retencją konfiguracji, w wyniku czego powstaje związek **69**, który jest izomerem strukturalnym kastanosperminy.



Rys. 22. a) K_2CO_3 , MeOH; b) CBr_4 , Ph_3P , Py; c) H_2 , $Pd(OH)_2/C$, MeOH; d) $LiOH \cdot H_2O$, THF, H_2O ; e) , DCC, DMAP, CH_3CN ; f) *t*-BuSH, CH_3CN , argon; g) *t*-BuSH, CH_3CN , powietrze

Niniejszy krótki przegląd otrzymywania lentiginozyny miał na celu zaprezentowanie sposobu podejścia do syntezy indolizydyn, a przede wszystkim do konstrukcji bicyklicznego szkieletu, wprowadzania bądź usuwania grup hydroksylowych oraz kontroli konfiguracji centrów chiralności. Równocześnie staraliśmy się zademonstrować, iż promowane przez nas nienasycone δ -laktony cukrowe stanowią interesujący materiał wyjściowy w syntezie indolizydyn, a zwłaszcza pochodnych lentiginozyny. O szczególnej atrakcyjności nienasyco-

nych δ -laktonów decyduje wysoka stereoselektywność zarówno addycji odczynników nukleofilowych do układu sprzężonego, jak i 1,3-dipolarnej cykloaddycji nitronów.

PIŚMIENNICTWO CYTOWANE

- [1] G.W.J. Fleet, L.E. Fellows, B. Winchester, [w:] *Bioactive Compounds from Plants*, Eds. P.J. Chadwick, J. March, J. Wiley&Sons, Chichester 1990, s. 112.
- [2] A.E. Stütz, *Iminosugars as Glycosidase Inhibitors*. J. Wiley-VCh, Weinheim 1999.
- [3] A. El Nemur, *Tetrahedron*, 2000, **56**, 8579.
- [4] J. Mieczkowski, J. Jurczak, M. Chmielewski, A. Zamojski, *Carbohydr. Res.*, 1977, **56**, 180.
- [5] F.W. Lichtenthaler, S. Röniger, P. Jarglis, *Liebigs Ann. Chem.*, 1989, 1153.
- [6] S. Maciejewski, I. Panfil, C. Bełzecki, M. Chmielewski, *Tetrahedron*, 1992, **48**, 10363.
- [7] D. Socha, M. Jurczak, M. Chmielewski, *Tetrahedron Lett.*, 1995, **36**, 135.
- [8] D. Socha, M. Jurczak, M. Chmielewski, *Tetrahedron*, 1997, **53**, 739.
- [9] M. Jurczak, D. Socha, M. Chmielewski, *Tetrahedron*, 1996, **52**, 1411.
- [10] I. Panfil, J. Krajewski, P. Gluziński, L. Stefaniak, M. Chmielewski, *Tetrahedron*, 1994, **50**, 7219.
- [11] I. Panfil, S. Maciejewski, C. Bełzecki, M. Chmielewski, *Tetrahedron Lett.*, 1989, **30**, 1527; S. Maciejewski, I. Panfil, C. Bełzecki, M. Chmielewski, *Tetrahedron*, 1992, **48**, 10363.
- [12] M. Chmielewski, J. Jurczak, A. Zamojski, *Tetrahedron*, 1978, **34**, 2977.
- [13] K. Torsel, M.P. Tyagi, *Acta Chem. Scand.*, 1997, **B31**, 237.
- [14] B.D. Roth, W.H. Roark, *Tetrahedron Lett.*, 1988, **29**, 1255.
- [15] S. Takano, Y. Shimazaki, M. Moriya, K. Ogasawara, *Chem. Lett.*, 1990, 1177; B. Herradon, R. Bao, E. Fenuda, S. Valverde, *J. Org. Chem.*, 1996, **61**, 1143.
- [16] P. Deslongchamps. *Stereoelectronic Effects in Organic Chemistry*. Pergamon Press, Oxford 1983.
- [17] I. Panfil, C. Bełzecki, Z. Urbańczyk-Lipkowska, M. Chmielewski, *Tetrahedron*, 1991, **47**, 10087.
- [18] M. Jurczak, J. Rabiczko, D. Socha, M. Chmielewski, F. Cardona, A. Goti, A. Brandi, *Tetrahedron: Asymmetry*, 2000, **11**, 2015.
- [19] H. Gnichtel, L. Autenrieth-Ansorge, J. Dachman, P. Luger, A. Duda, *J. Carbohydr. Chem.*, 1987, **6**, 673.
- [20] L.D. Hohenschutz, E.A. Bell, P.J. Jewess, D.P. Leworthy, R.J. Pryce, E. Arnold, J. Clardy, *Phytochemistry*, 1981, **20**, 811.
- [21] F.P. Guengerich, S.J. DiMari, H.P. Broquist, *J. Am. Chem. Soc.*, 1973, **95**, 2055.
- [22] I. Pastuszak, R.J. Molyneux, L.F. James, A.D. Elbein, *Biochemistry*, 1990, **29**, 1886.
- [23] R.J. Nash, L.E. Fellows, J.V. Dring, C.H. Stirton, D. Carter, M.P. Hegarty, E.A. Bell, *Phytochemistry*, 1988, **27**, 1403.
- [24] B.L. Reinhart, K.M. Robinson, A.J. Payne, M.E. Wheatley, J.L. Fisher, P.S. Liu, W. Chang, *Life Sci.*, 1987, **41**, 2325.
- [25] E. Truscheit, W. Frommer, L. Junge, L. Müller, D.D. Schmidt, W. Wingender, *Ang. Chem. Int. Ed.*, 1981, **20**, 744.
- [26] R. Pili, J. Chang, R.A. Partis, R.A. Mueller, F.J. Chrest, A. Passaniti, *Cancer Res.*, 1995, **55**, 2995.
- [27] M.A. Spearman, B.C. Ballon, J.M. Gerrard, A.H. Greenberg, J.A. Wright, *Cancer Lett.*, 1991, **60**, 185.
- [28] E.J. Nichols, R. Manger, S. Hakomori, A. Herscovics, L.R. Rohrschneider, *Mol. Cell. Biol.*, 1985, **5**, 3467.
- [29] R.M. Ruprecht, S. Mullaney, J. Anderson, R. Bronson, *J. Acquired Immune Defic. Syndr.*, 1989, **2**, 149.

- [30] B.D. Walker, M. Kowalski, W.C. Goh, K. Kozarsky, M. Krieger, C. Rosen, L.R. Rohrschneider, W.A. Haseltine, J. Sodroski, Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., 1987, **84**, 8120.
- [31] A. L. Margolin, D.L. Delinck, M.R. Whalon, J. Am. Chem. Soc., 1990, **112**, 2849.
- [32] R.J. Molyneux, J.N. Roitman, G. Dunnheim, T. Szumilo, A.D. Elbein, Arch. Biochem. Biophys., 1986, **251**, 450.
- [33] R.J. Molyneux, Y.T. Pan, J.E. Tropea, M. Benson, G.P. Kaushal, A.D. Elbein, Biochemistry, 1991, **30**, 9981.
- [34] a) V.M.D. Perez, M.I.G. Moreno, C.O. Mellet, J. Fuentes, J.C.D. Arribas, F.J. Canada, J.M.G. Fernandez, J. Org. Chem., 2000, **65**, 136; b) U.K. Pandit, H.S. Overkleeft, B.C. Borer, H. Bieraugel, Eur. J. Org. Chem., 1999, **5**, 959; c) E. Bartnicka, A. Zamojski, Tetrahedron, 1999, **55**, 2061; d) S.E. Denmark, E.A. Martinborough, J. Am. Chem. Soc., 1999, **121**, 3046; e) J. Izquierdo, M.T. Plaza, R. Robles, C. Rodriguez, A. Ramirez, A.J. Mota, Eur. J. Org. Chem., 1999, **6**, 1269.
- [35] K. Burgess, I. Henderson, Tetrahedron, 1992, **48**, 4045.
- [36] P. Herczeg, I. Kovács, F. Sztaricskai, [w:] *Recent Progress in the Chemical Synthesis of Antibiotics and Related Microbial Products*, Ed. G. Lukacs; Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg 1993, **2**, 751.
- [37] P.C. Tyler, B.G. Winchester, [w:] *Iminosugars as Glycosidase Inhibitors, Nojirimycin and Beyond*, Ed. A.E. Stütz, Wiley-VCH, Weinheim, 1999, s. 125.
- [38] D.R.P. Tulsiani, T.M. Harris, O. Touster, J. Biol. Chem., 1982, **257**, 7936.
- [39] P.E. Goss, M.A. Baker, J.P. Carver, J.W. Dennis, Clin. Cancer Res., 1995, **1**, 935.
- [40] P.E. Goss, C.L. Reid, D. Bailey, J.W. Dennis, Clin. Cancer Res., 1997, **3**, 1077.
- [41] Y. Nashimura, [w:] *Studies in Natural Products Chemistry*, Ed. Atta-ur-Rahman, Elsevier, Amsterdam 1992, **10**, 495.
- [42] A. Goti, F. Cardona, A. Brandi, S. Picasso, P. Vogel, Tetrahedron: Asymmetry, 1996, **7**, 1659.
- [43] A. Brandi, S. Cicchi, F.M. Cordero, R. Frignoli, A. Goti, S. Picasso, P. Vogel, J. Org. Chem., 1995, **60**, 6806.
- [44] H. Yoda, H. Kitayama, T. Katagiri, K. Takabe, Tetrahedron: Asymmetry, 1993, **4**, 1455.
- [45] H. Yoda, M. Kawauchi, K. Takabe, Synlett, 1998, 137.
- [46] D.-C. Ha, C.-S. Yun, Y. Lee, J. Org. Chem., 2000, **65**, 621.
- [47] F. Cordero, S. Cicchi, A. Goti, A. Brandi, Tetrahedron Lett., 1994, **35**, 949.
- [48] S. Cicchi, I. Höld, A. Brandi, J. Org. Chem., 1993, **58**, 5274.
- [49] A. Goti, F. Cardona, A. Brandi, Synlett, 1996, 761.
- [50] F. Cardona, A. Goti, S. Picasso, P. Vogel, A. Brandi, J. Carbohydr. Chem., 2000, **19**, 585.
- [51] A.E. McCaig, K.P. Meldrum, R.H. Wightman, Tetrahedron, 1998, **54**, 9429.
- [52] R. Giovannini, E. Marcantoni, M. Petrini, J. Org. Chem., 1995, **60**, 5706.
- [53] M.K. Gurjar, L. Ghosh, M. Syamala, V. Jayasree, Tetrahedron Lett., 1994, **35**, 8871.
- [54] S. Nukui, M. Sodeoka, H. Sasai, M. Shibasaki, J. Org. Chem., 1995, **60**, 398.
- [55] F.W. Lichtenthaler, F.D. Klingler, P. Jarglis, Carbohydr. Res., 1984, **132**, C-1.
- [56] M. Chmielewski, J. Jurczak, S. Maciejewski, Carbohydr. Res., 1987, **165**, 111.
- [57] J. Rabczko, M. Chmielewski, J. Org. Chem., 1999, **64**, 1347.
- [58] J. Rabczko, Z. Urbańczyk-Lipkowska, M. Chmielewski, Tetrahedron, 2002, **58**, 1433.
- [59] S. Valverde, S. Garcia-Ochoa, M. Martin-Lomas, J. Chem. Soc. Chem. Commun., 1987, 1714.
- [60] D. Socha, J. Rabczko, D. Koneru, Z. Urbańczyk-Lipkowska, M. Chmielewski, Carbohydr. Lett., 1997, **2**, 349.
- [61] M. Jurczak, J. Rabczko, J. Socha, M. Chmielewski, F. Cardona, A. Goti, A. Brandi, Tetrahedron: Asymmetry, 2000, **11**, 2015.
- [62] D. Socha, M. Jurczak, M. Chmielewski, Carbohydr. Res., 2001, **336**, 315.

**STRUKTURA CHEMICZNA,
SWOISTOŚĆ ANTYGENOWA I ZNACZENIE
W CHOROBOTWÓRCZOŚCI
LIPOPOLISACHARYDU (LPS, ENDOTOKSYNA)
NA PRZYKŁADZIE BAKTERII *PROTEUS VULGARIS***

CHEMICAL STRUCTURE, ANTIGENIC SPECIFICITY
AND THE ROLE IN THE PATHOGENICITY
OF LIPOPOLYSACCHARIDE (LPS, ENDOTOXIN)
ON *PROTEUS VULGARIS* BACTERIA'S EXAMPLE

**Antoni Różalski¹, Agnieszka Torzewska¹,
Beata Bartodziejska¹, Dorota Babicka¹, Iwona Kwil¹,
Andrei V. Perepelov², Anna N. Kondakova²,
Sof'ya N. Senchenkova², Yuriy A. Knirel²,
Evgeny V. Vinogradov³**

¹ Zakład Immunobiologii Bakterii, Instytut Mikrobiologii i Immunologii,
Uniwersytet Łódzki, ul. Banacha 12/16, 90-237 Łódź

² ND. Zelinski Institute of Organic Chemistry, Russian Academy of Sciences,
Leninsky Prospect 47, Moscow 117913, Russia

³ Institute of Biological Sciences, National Research Council,
100 Sussex Drive, Ottawa, Ont. Canada K1A 0R6

Abstract

Wstęp

1. Budowa lipopolisacharydu bakterii Gram-ujemnych
2. Struktura chemiczna antygeny O na przykładzie *Proteus vulgaris*
3. Znaczenie części O-swoistej LPS w praktyce diagnostycznej i chorobotwórczości bakterii
4. Struktura chemiczna oraz znaczenie biologiczne regionu rdzeniowego i lipidu A
5. Endotoksyna jako czynnik chorobotwórczości bakterii

Podsumowanie

Piśmiennictwo cytowane

Prof. dr hab. Antoni Różalski kieruje Zakładem Immunobiologii Bakterii UŁ. Główne zainteresowania badawcze: analiza struktury chemicznej i swoistości antygenowej lipopolisacharydu (LPS, endotoksyna) bakterii z rodzajów *Proteus* i *Providencia*; badania czynników chorobotwórczości tych bakterii, tj. adherencji, wytwarzania hemolizyn, proteaz i ureazy, inwazyjności oraz zjawiska rozpełzliwego wzrostu. Zajmuje się też badaniami swoistości epitopowej surowic poliklonalnych i przeciwciał monoklonalnych przeciwko endotoksynie. Autor lub współautor ponad 60 prac doświadczalnych, 25 artykułów przeglądowych i 1 skryptu.

Dr Agnieszka Torzewska, dr Beata Bartodziejska, dr Dorota Babicka (mikrobiolodzy – absolwentki UŁ) i **mgr Iwona Kwil** (absolwentka Oddziału Medycyny Laboratoryjnej AM w Łodzi) z Zakładu Immunobiologii Bakterii zajmują się badaniami serologicznymi LPS *Proteus* i *Providencia* oraz wyjaśnieniem roli biologicznej antygenów O i badaniami wybranych czynników wirulencji tych bakterii.

Prof. dr Yuriy A. Knirel wraz ze współpracownikami **dr. Andreiem V. Perepelovem, dr Sof'ją N. Senchenkovą i Anną N. Kondakovą** są chemikami pracującymi w Instytucie Chemii Organicznej ND. Zelinsky'ego Rosyjskiej Akademii Nauk w Moskwie. Specjalizują się w badaniach struktury chemicznej polisacharydów bakteryjnych, szczególnie części O-swoistej LPS. Celem ich badań prowadzonych we współpracy z ośrodkiem łódzkim jest poznanie na poziomie molekularnym podstaw klasyfikacji serologicznej bakterii, która oparta jest na różnicowaniu struktury chemicznej wytwarzanego przez nie lipopolisacharydu.

Dr Evgeny V. Vinogradov pracował w Instytucie Chemii Organicznej Rosyjskiej Akademii Nauk w Moskwie, interesując się strukturą chemiczną antygenów O bakterii, w tym z rodzaju *Proteus*. Obecnie przebywa na stażu naukowym w Institute of Biological Sciences, National Research Council w Ottawie w Kanadzie, gdzie ustala strukturę chemiczną regionu rdzeniowego bakterii, m.in. *Proteus* sp.

ABSTRACT

Gram-negative bacteria of the genus *Proteus* from the family *Enterobacteriaceae* are opportunistic pathogens which cause mainly wounds and urinary tract infections (UTI), the latter leading to severe complications, such as acute or chronic pyelonephritis and formation of bladder and kidney stones [6]. Virulence factors and properties of *Proteus* sp. mediating infectious process are swarming phenomenon, adherence due to the fimbriae or glycocalyx, flagella, invasiveness, urease, amino acids deaminases, proteases, hemolysins, capsular polysaccharide (CPS), and lipopolysaccharide (LPS) [8, 9]. LPS is an integral component of cell wall of bacteria. It also represents the endotoxin which, after being released from bacterial cells, causes a broad spectrum of pathological effects leading in severe cases to the septic shock. Lipopolysaccharide consists of three parts: O-specific chain (O-antigen), core and lipid A; all of them have been studied in *Proteus* LPS [14–16]. It has been documented that *Proteus* is an antigenically heterogeneous genus, principally because of structural differences in its O-specific polysaccharide chain of LPS. The serological classification of *P. mirabilis* and *P. vulgaris* shares 60 serogroups: 22 described for *P. vulgaris*, 33 characteristic for *P. mirabilis* and 5 common for both *P. mirabilis* and *P. vulgaris* [11, 20]. Serological classification of *Proteus penneri* still remains to be completed.

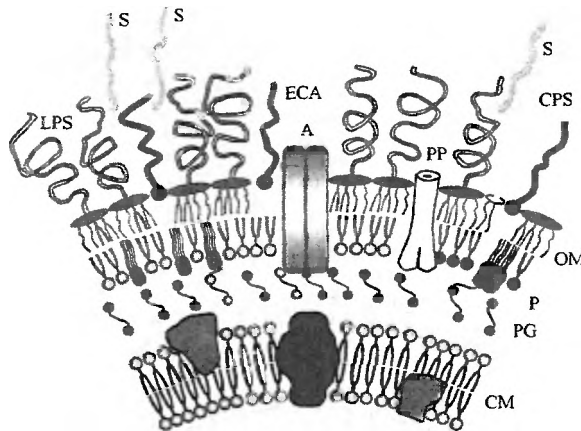
Proteus O-antigens are branched or linear polysaccharides, built up of oligosaccharide repeating units, varying from a trisaccharide to a hexasaccharide. Acidic O-specific polysaccharides represent the majority of *Proteus* O-antigens; it was found that 80% of *Proteus* O-antigens were acidic. Uronic acids and amino sugars usually determine the serological specificity of *Proteus* O-antigens. Amino sugars in *Proteus* O-antigens are usually *N*-acetylated. In many O-antigens, sugars constituents carry an *O*-acetyl groups. Hexuronic acids either have free carboxyl group or are amidated with the α -amino group of amino acids – lysine, serine, alanine or threonine [23]. Chemical and serological studies have been undertaken with the aim to understand on the molecular level the immunospecificity of *Proteus* LPS and its potential role during infection of bacteria. The O-antigens and O-antisera against *Proteus* with defined epitope specificity can be used for serodiagnosis and epidemiological studies. It was found that O-specific polysaccharide of *Proteus* bacteria is involved in creation of glycocalyx which allows bacteria to grow in microcolony or in biofilm. Biofilm protects bacteria against action of antimicrobial agents and leukocytes, and it is also a organic gel-like surrounding contributing to stone formation. LPS from the S form of bacteria, containing all three regions, also contributes to their resistance against bactericidal action of serum [10, 23]. The present review is mainly focused on the structure, specificity and biological function of *Proteus vulgaris* LPS.

WSTĘP

Bakterie zaliczane do rodzaju *Proteus* należą do rodziny *Enterobacteriaceae* – Gram-ujemnych pałeczek. Rodzaj *Proteus* obejmuje pięć gatunków – *P. mirabilis*, *P. vulgaris*, *P. penneri*, *P. hauseri* i *P. myxofaciens*. Pierwsze cztery gatunki są chorobotwórcze dla ludzi, stanowiąc warunkowe patogeny, czyli drobnoustroje wywołujące zakażenia u osób starych i dzieci, u osób po zabiegach chirurgicznych, z obniżoną odpornością immunologiczną czy też z wadami anatomicznymi lub nieprawidłowościami fizjologicznymi w obrębie układu moczowego. *P. myxofaciens* nie ma znaczenia patogenego u ludzi; bakterie te zostały wyizolowane z larw ćmy brudnicy nieparki [1]. Bakterie *Proteus* wykrył i opisał Hauser w 1885 r. Ich nazwę *Proteus* – Odmieniec zapożyczył z mitologii greckiej od morskiego bóstwa Proteusa, mającego zdolność przekształcania się w różne postaci. Hauser chciał oddać w nazwie rzadką u innych bakterii cechę, typową dla *Proteus* sp. – zdolności do zmiany wielkości i kształtu komórek, a także zmian morfologii wzrostu na podłożach stałych. Naturę tego zjawiska określanego jako wzrost rozpełzliwy (*swarming growth*, *swarming phenomenon*), poznaliśmy dopiero niedawno, ponad 100 lat od wykrycia bakterii. Bakterie z rodzaju *Proteus* są mikroorganizmami dimorficznymi – morfologia ich komórek jest zależna od środowiska wzrostu, w którym przebywają. Rosnąc na podłożu płynnym, są krótkimi pałeczkami z 6–10 rzęskami (organelle ruchu) na komórce. Są to komórki pływające (*swimmer cells*). Przeniesione na podłoże stałe, przekształcają się w komórki długie – (komórki rozpełzliwe, *swarm cells*), zawierające zwielokrotnioną nawet do 20 liczbę nukleoidów (odpowiednik jądra komórkowego u bakterii), nieprzedzielonych przegrodami oraz kilkadziesiąt razy większą liczbę rzęsek [2]. Zespół takich komórek (populacja) na stałym podłożu wzrostu, np. płytce agarowej, przemieszcza się w sposób skoordynowany, a proces migracji trwa tak długo, aż bakterie rozejdą się na powierzchni płytki i znajdą się z dala od siebie. Wtedy te długie, pojedyncze komórki dzielą się na kilka krótkich pałeczek. Z czasem, kiedy liczba tych pałeczek zwiększy się na skutek podziałów, powstanie nowa populacja komórek, które z powrotem różnicują do *swarm cells*, rozpoczynających wędrówkę [3]. Zjawisko to ma charakter cykliczny, jak wykazano, zwiększona lepkość środowiska pobudza bakterie do pełzania. Wzrost rozpełzliwy ułatwia też obecność na komórkach kwaśny, powierzchniowy polisacharyd (rys. 1). Jego rola, prawdopodobnie, polega na obniżaniu „tarcia” przemieszczających się po powierzchni stałej komórek długich [4].

Bakterie z rodzaju *Proteus* występują w środowisku naturalnym w glebie, wodzie, nawozie naturalnym, wszędzie tam, gdzie jest dużo materii organicznej pochodzenia zwierzęcego. Dzięki swoim właściwościom proteolitycznym, czyli zdolności do rozkładu białek oraz możliwości hydrolizy mocznika do amoniaku i dwutlenku węgla, biorą udział w rozkładzie materii organicznej [5]. W określonych, sprzyjających warunkach bakterie te wywołują zakażenia, spośród których zakażenia dróg moczowych, określane także jako zakażenia układu moczowego,

w organizmie wyższym podczas zakażenia. Są to czynniki chorobotwórczości (wirulencji, patogenności), w ostatnich latach intensywnie badane na poziomie molekularnym [8–11]. Wymieniono je w tab. 1. Jednym z najważniejszych czynników chorobotwórczości tych bakterii jest endotoksyna, tj. lipopolisacharyd (LPS), składnik błony zewnętrznej ich ściany komórkowej, który po uwolnieniu z komórek przejawia wiele właściwości biologicznych o charakterze patologicznym (rys. 2) [12, 13].



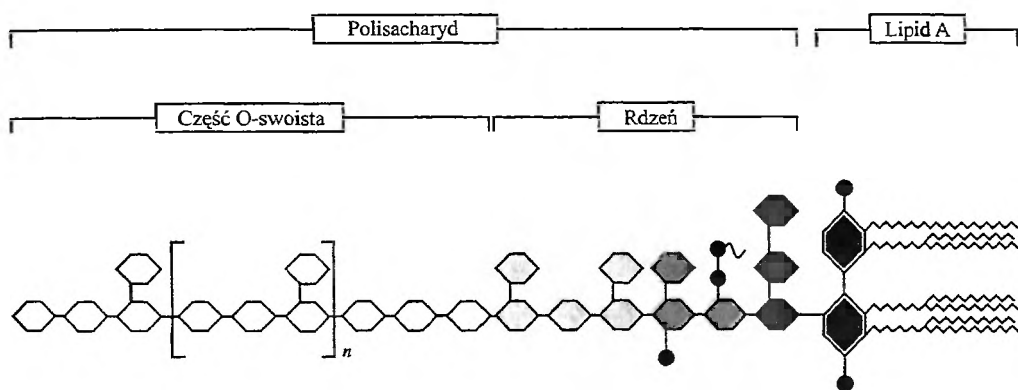
Rys. 2. Umieszczenie LPS w błonie zewnętrznej bakterii Gram-ujemnych [57]. CM – błona komórkowa, LPS – lipopolisacharyd, ECA – antygen wspólny *Enterobacteriaceae*, PG – peptydoglikan, P – przestrzeń peryplazmatyczna, OM – błona zewnętrzna, CPS – antygen odczkowy, A – białko główne błony zewnętrznej, PP – białka porynowe, S – śluz powierzchniowy

Tabela 1. Czynniki chorobotwórczości (patogenności) bakterii z rodzaju *Proteus*

Czynnik patogenności	Znaczenie w zakażeniu
Fimbrie, afimbriowe adhezyny (MR/P, MR/K, PMF, ATF, NAF, <i>P. mirabilis P-like fimbriae</i>)	Adherencja (adhezja) – przyleganie do tkanek gospodarza
Glikokaliks	Adherencja, udział w formowaniu kamieni moczowych
Rzęski (zjawisko rozpełzliwego wzrostu)	Przemieszczanie się bakterii w drogach moczowych (zakażenia wstępujące)
Inwazyjność	Penetracja komórek nabłonka przez bakterie (internalizacja bakterii przez komórki makroorganizmu)
Proteazy IgA/IgG	Rozkładanie przeciwciał, dopełniacza, innych białek
Deaminazy rozkładające aminokwasy	Wytwarzanie α -ketokwasów pełniących rolę sideroforów wiążących żelazo
Ureaza	Tworzenie kamieni moczowych
Hemolizyny (HpmA, HlyA)	Cytotoksyczność
CPS (polisacharyd odczkowy)	Tworzenie biofilmu, udział w powstawaniu kamieni moczowych, ułatwianie rozpełzliwego wzrostu
LPS (lipopolisacharyd, endotoksyna)	Oddziaływanie wielorakie toksyczne, oporność na działanie surowicy

1. BUDOWA LIPOPOLISACHARYDU BAKTERII GRAM-UJEMNYCH

LPS składa się z trzech regionów o różnym znaczeniu dla bakterii i roli biologicznej: części O-swoistej, wysuniętej daleko na zewnątrz komórki i warunkującej swoistość antygenową endotoksyny, regionu rdzeniowego, występującego bliżej komórki, oraz lipidu A tkwiącego w błonie zewnętrznej ściany komórkowej bakterii, odpowiedzialnego za aktywność biologiczną całego heteropolimeru (rys. 3) [12]. U bakterii gładkich część O-swoista LPS (antygen O) jest zbudowana z polisacharydu składającego się z powtarzających się podjednostek cukrowych. Liczba tych podjednostek w cząsteczce LPS wynosi od kilku do kilkudziesięciu. Polisacharyd O-swoisty, usytuowany na zewnątrz komórki, nadaje swoistość antygenową bakteriom gładkim, jest najbardziej zróżnicowaną pod względem strukturalnym częścią LPS. Stanowi to podstawę klasyfikacji serologicznej bakterii [14]. Region rdzeniowy tworzy oligosacharyd mniej zróżnicowany pod względem chemicznym w porównaniu do części O-swoistej. Wyróżniamy w nim najczęściej część heksozową, leżącą bliżej polisacharydu O-swoistego, część heptozową występującą głębiej i region Kdo (kwas 2-keto-3-deoksyoktonowy), łączący część cukrową endotoksyny z lipidem A [15, 16].



Rys. 3. Schemat struktury chemicznej lipopolisacharydu [58]. składniki części O-swoistej (heksozy, heksozaminy, kwasy uronowe), heksozy, LD/DD heptozy, fosforan, Kdo – kwas 2-keto-3-deoksyoktonowy, glukozyamina, 2-aminoetanol, kwasy tłuszczowe

Celem badań immunochemicznych, immunobiologicznych i serologicznych jest ustalenie struktury chemicznej poszczególnych regionów LPS bakterii z rodzaju *Proteus* i zidentyfikowanie epitopów, czyli takich fragmentów w jego obrębie, które wiązane są przez swoiste przeciwciała, a także wyjaśnienie roli poszczególnych regionów endotoksyny w jej aktywności biologicznej oraz znaczenia LPS jako czynnika chorobotwórczości bakterii.

2. STRUKTURA CHEMICZNA ANTYGENU O NA PRZYKŁADZIE *PROTEUS VULGARIS*

Zróznicowanie w strukturze chemicznej antygeny O (części O-swoistej LPS) form gładkich *P. mirabilis* i *P. vulgaris* oraz *P. penneri* jest podstawą ich klasyfikacji serologicznej. Poznanie podstaw tej klasyfikacji na poziomie molekularnym pozwala lepiej zrozumieć, dlaczego szczepy o określonej budowie antygeny O są odporne na fagocytozę, czy też niewrażliwe na działanie dopełniacza (dwie bardzo ważne bariery ochronne organizmu człowieka przed infekcją), a tym samym bardziej chorobotwórcze, a infekcje tymi szczepami mają charakter nawrotowy i przebiegają z komplikacjami, np. w postaci powstawania kamieni moczowych. Klasyczna, pierwotna wersja klasyfikacji serologicznej tych bakterii, opracowana przez Kauffmana i Percha, obejmowała 49 serogrup [17]. Na podstawie dalszych badań liczbę serogrup zwiększono do 60 (22 – *P. vulgaris*, 33 – *P. mirabilis* i 5 wspólnych dla obu gatunków) [18]. Dodatkowe serogrupy utworzono dla *P. penneri* na podstawie badań Sidorczyka i wsp. [19]. Szczepy zaliczane do serogrup O3, O10, O13, O24, O26, O28, O29 i O30 są najczęściej izolowane od pacjentów [20]. Trudno obecnie wyjaśnić przyczynę takiej zależności. Być może, określone składniki antygenów O warunkują w większym stopniu odporność bakterii na działanie wspomnianych wyżej czynników obronnych lub wspomagają adherencję, czyli przyleganie bakterii do komórek gospodarza, co ułatwia infekcję.

Antygen O u *Proteus* może być polisacharydem linearnym lub rozgałęzionym. Jedna podjednostka cukrowa jest tri- do heksasacharydem. Jak wykazano, wszystkie zbadane dotychczas antygeny O *Proteus* zawierały resztę aminocukru najczęściej GlcN, na drugim miejscu występuje GalN. Stwierdzono także, że grupy aminowe tych cukrów są najczęściej podstawione resztami acetylowymi. Cechą charakterystyczną części O-swoistej endotoksyny *Proteus* jest również występowanie kwasów uronowych: glukuronowego i galakturonowego z wolną grupą karboksylową lub częściej podstawionych aminokwasami. Aminokwasy – lizyna, alanina, seryna czy treonina – są przyłączone do grupy COOH kwasów uronowych tworząc odpowiednie amidy [21–23].

Występowanie kwasów uronowych w antygenach O pałeczek *Proteus* warunkuje ich kwaśny charakter. Niektóre z antygenów O tych bakterii mają kwaśny charakter także ze względu na obecność grup fosforanowych lub kwasów organicznych, takich jak mlekowy czy pirogronowy. Warto podkreślić, że kwaśny charakter części O-swoistej LPS to jeszcze jedna wspólna cecha tych bakterii – większość, bo 80% wszystkich zbadanych dotychczas antygenów O *P. mirabilis*, *P. vulgaris* i *P. penneri*, ma charakter kwaśny [23].

Należy dodać, że niektóre antygeny O bakterii z rodzaju *Proteus* zawierają rzadko spotykane w naturze składniki. W antygenach O *P. vulgaris* np. wykryto 5-deoksy-L-talozę [24], 2-amino-2,6-dideoksy-L-glukozę (L-QuiN, L-chinowozaмина) [25], 2-amino-2,6-dideoksy-L-galaktozę (L-FucN, L-fukozamina) [23],

3-amino-3,6-dideoksy-D-glukozę (Qui3N) [23], 3-amino-3,6-dideoksy-L-galaktozę (Fuc3N) [24], 4-amino-3,6-dideoksy-D-glukozę (Qui4N) [26], kwas 5,7-diamino-3,5,7,9-tetradeksoxy-L-glicero-L-manno-nonuzonolowy (Pse5Ac7Ac – kwas di-*N*-acetylo-pseudaminowy, od *Pseudomonas* – bakterii, u których po raz pierwszy go wykryto) [27], glicerolo-1-fosforan (składniki typowy dla kwasów teichojowych występujących w ścianie bakterii Gram-dodatnich) [28]. Jak wykazano, w antygenie O *P. vulgaris* O15 grupa aminowa fukozy-3-aminy jest podstawiona przez grupę (R)-3-hydroksymasłową (Fuc3NR3HOBu), [24]. W antygenie O *P. vulgaris* O44 wykryto epitop składający się z reszty kwasu glukuronowego podstawionego alaniną – D-GlcA-(L-Ala) [24]. W antygenie O *P. vulgaris* O4 stwierdzono obecność dotychczas nie wykrytego w naturze składnika 4-amino-4-deoksy-D-chinozy podstawionej resztą kwasu 3-hydroksymasłowego, do którego podstawiona jest reszta L-alaniny [Qui4N(HOBuAla)] [26]. Wiele antygenów O tych bakterii zawiera grupy O-acetylowe niestechiometrycznie podstawiające reszty cukrowe.

Rys. 4 przedstawia szczegółowe struktury chemiczne powtarzających się podjednostek O-swoistych *P. vulgaris*. Analizę struktury chemicznej antygenów O oparto przede wszystkim na technice NMR, stosując różne jej odmiany – CO-SY, TOCSY, ROESY i HMQC. Wykorzystano także chromatografię gazową i spektrometrię masową (GLC/MS). Polisacharydy o bardziej złożonej budowie poddawano selektywnej degradacji chemicznej w celu otrzymania oligosacharydów, monosacharydów lub pochodnych. W badaniach serologicznych stosowano poliklonalne surowice królicze anti-O otrzymane po szczepieniu zwierząt zabitymi bakteriami oraz testy serologiczne ilościowej precypitacji, hemolizy lub hemaglutynacji biernej, ELISA, inhibicji tych odczynów oraz technikę elektroforezy w żelu poliakrylamidowym i Western blot (DOC-PAGE/Western blot). Przy identyfikacji epitopów wiążących przeciwciał wykorzystano także antygeny syntetyczne odpowiadające fragmentom części O-swoistej LPS *Proteus* sp. oraz produkty częściowej degradacji chemicznej antygenów, najczęściej produkty otrzymane po hydrolizie kwaśnej (PS) i po degradacji Smitha.

Proteus vulgaris O1 (OX19) [23]

α-L-QuipNAc

1

↓

3

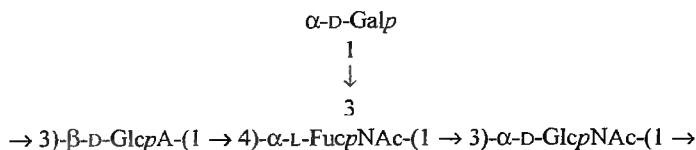
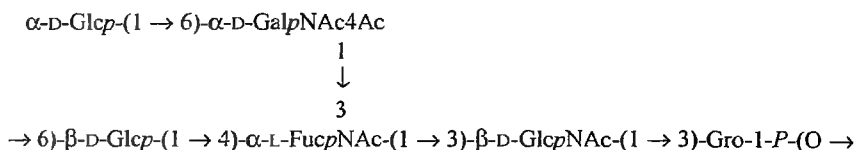
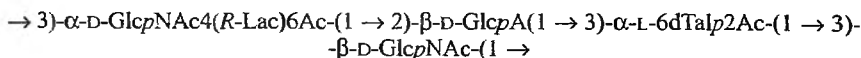
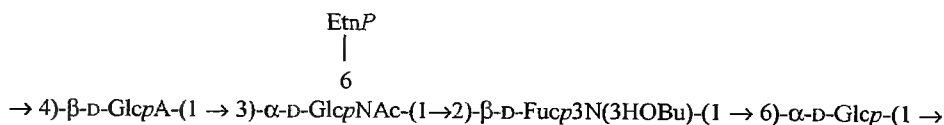
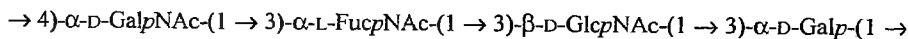
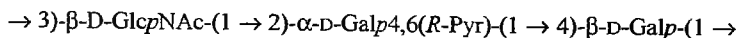
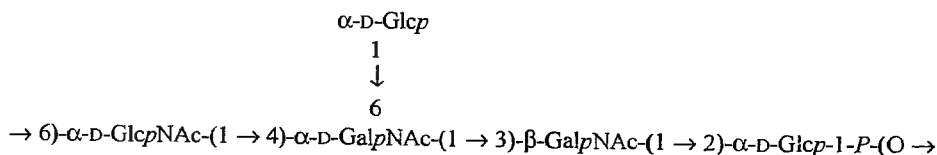
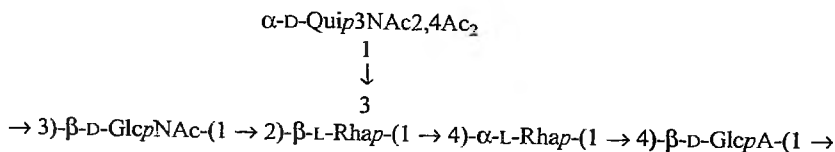
→ 4)-α-L-QuipNAc-(1 → 3)-β-D-GlcpNAc-(1 → 4)-α-D-GalpNAc-(1 → 4)-α-D-Galp-1-P-(O →

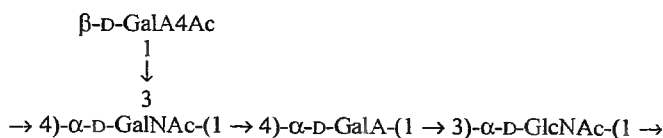
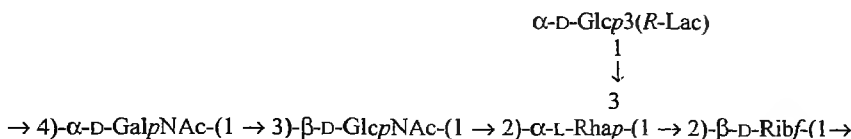
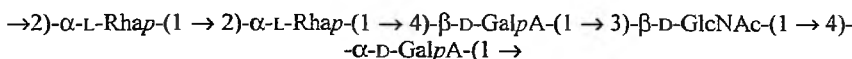
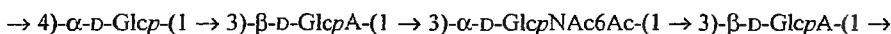
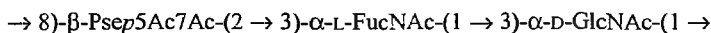
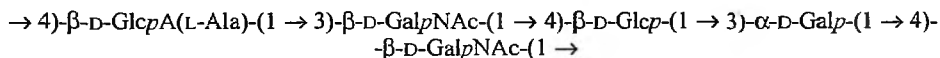
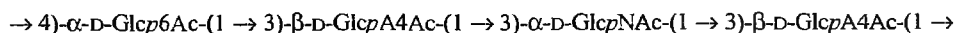
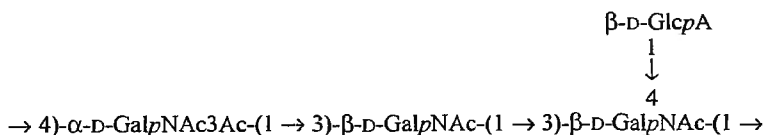
Proteus vulgaris O2 (OX2) [23]

→ 2)-β-D-Glcp-(1 → 6)-α-D-GlcpNAc-(1 → 3)-α-L-QuipNAc-(1 → 3)-β-D-GlcpNAc6Ac-(1 →

Proteus vulgaris O4 [26]

→ 4)-β-D-GlcpA-(1 → 3)-β-D-GlcpNAc-(1 → 2)-β-D-Quip4N[L-Ala(R-3HOBu)]-
-(1 → 3)-α-D-Galp-(1 →

Proteus vulgaris O8 [31]*Proteus vulgaris* O12 [28]*Proteus vulgaris* O15 [24]*Proteus vulgaris* O17 [24]*Proteus vulgaris* O19 [23]*Proteus vulgaris* O19 [59]*Proteus vulgaris* O21 [40]*Proteus vulgaris* O22 [36]

Proteus vulgaris O23 [60]*Proteus vulgaris* O25 [33]*Proteus vulgaris* O31 [24]*Proteus vulgaris* O32 [37]*Proteus vulgaris* O37 [42]*Proteus vulgaris* O39 [27]*Proteus vulgaris* O44 [24]*Proteus vulgaris* O46 [41]*Proteus vulgaris* O47 [24]

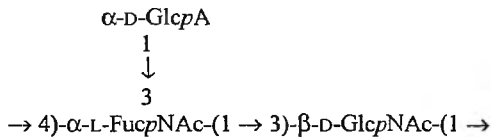
Rys. 4. Struktura chemiczna części O-swoistej lipopolisacharydów *P. vulgaris*. QuiN – 2-amino-2,6-dideoksyglukoza (chinowozamina), Qui3N – 3-amino-3,6-dideoksyglukoza, Qui4N[Ala(R-3HOBu)] – 4,6-dideoksy-4-{N-[(R)-3hydroksymaślan]-L-alanylo}amido-D-glukoza, FucN – 2-amino-2,6-dideoksygalaktoza (fukozamina), Fuc3N – 3-amino-3,6-dideoksygalaktoza, Gro – glicerol, 6dTal – 6-deoksytaloza, Lac – kwas mlekowy, 3HOBu – 3-hydroksymaślan, Pyr – kwas pirogromowy, Pse – kwas pseudaminowy, GlcA(Ala) – amid kwasu glukuronowego i alaniny, P – fosforan

W antygenie *P. vulgaris* O1 (OX19) zidentyfikowano jako epitop główny disacharyd α -D-Galp1-P-(O \rightarrow 4)- α -L-QuipNAc [25] oraz jako epitopy poboczne α -L-QuipNAc-(1 \rightarrow 3)- β -D-GlcNAc i β -D-GlcpNAc-(1 \rightarrow 4)- α -D-GalpNAc [29] (rys. 4). Przez epitop główny w tym przypadku rozumiemy taki fragment antygeny O, przeciwko któremu powstaje najwięcej przeciwciał w surowicy poliklonalnej. Z kolei epitopy poboczne są mniej immunogenne, co objawia się tym, iż frakcje przeciwciał rozpoznające je występują w surowicy w mniejszej ilości. Swoistość serologiczną antygeny *P. vulgaris* O2 (OX2) determinuje trisacharyd Glc-GlcNAc-QuiNAc (ryc. 4) [29, 30]. W antygenie *P. vulgaris* O4 swoistość serologiczną nadaje prawdopodobnie wspomniany wyżej unikatowy składnik Qui4N(HOBuAla) oraz disacharyd β -GlcpA-(1 \rightarrow 3)- β -D-GlcpNAc [26, 29]. Dowiedziano, iż immunodominującą rolę w determinancie antygenowej polisacharydu O-swoistego *P. vulgaris* O8 odgrywa reszta D-galaktozy stanowiąca odgałęzienie boczne głównego łańcucha cukrowego (rys. 4) [31, 32]. Badania serologiczne antygeny O *P. vulgaris* O25 wskazały na resztę 3-O-[(R)-1-karboksyetylo]-D-glukozy jako potencjalnie immunodominującego cukru (rys. 4) [33]. W swoistości antygenowej LPS *Proteus* często duże znaczenie mają pojedyncze, ujemnie naładowane składniki, najczęściej kwasy uronowe. Posługując się antygenami syntetycznymi resztami α -GalA i β -GalA skopolimerowanymi z akrylamidem, wykazano znaczenie w swoistości serologicznej antygeny O *P. vulgaris* O32 disacharydu β -D-GlcpNAc-(1 \rightarrow 4)- α -GalpA, w którym reszta α -GalA odgrywa rolę immunodominującą [23]. W antygenie O *P. vulgaris* O15 zidentyfikowano jako epitop wiązany przez swoiste przeciwciała disacharyd obejmujący resztę 6-deoksytalozy, do której przyłączona jest reszta kwasu β -glukuronowego [24]. Dominującą rolę w determinowaniu swoistości serologicznej antygeny O *P. vulgaris* O12 prawdopodobnie odgrywa glicerolofosforan połączony z glukozą [28, 32].

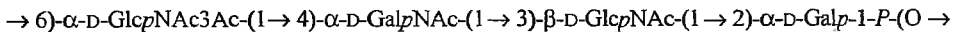
Jak wykazaliśmy w swoich badaniach serologicznych, wiele antygenów O *Proteus* sp. reprezentujących poszczególne serogrupy reaguje nie tylko w układzie homologicznym, czyli z odpowiadającymi im surowicami, ale także z surowicami otrzymanymi dla innych serogrup. Takie reakcje nazywamy reakcjami krzyżowymi lub w układach heterologicznych. Znając strukturę chemiczną antygenów O można zidentyfikować w nich epitopy odpowiedzialne za te reakcje. Wzajemne pokrewieństwo serologiczne stwierdzono w przypadku antygenów O1 i O2 *P. vulgaris*. Epitopem wspólnym wiązany w tym przypadku przez przeciwciała jest disacharyd obejmujący *N*-acetylochinosaminę i resztę *N*-acetyloglukozaminy (rys. 4) [29]. Podobną reaktywność krzyżową surowic anti-O oraz antygenów O wykazano w przypadku *P. vulgaris* O17 oraz *P. penneri* 16 i 18 (rys. 4 i 5). W tych antygenach O wspólnym fragmentem odpowiedzialnym za te reakcje jest fukozo-3-amina acylowana resztą kwasu 3-hydroksymasłowego [32, 34]. Podobieństwo serologiczne stwierdzono też w przypadku szczepów *P. vulgaris* O8 i *P. mirabilis* O6. Jak wykazano, disacharyd FucNAc-GlcNAc występujący w antygenach O obu tych szczepów warunkuje podobieństwo antygeno-

we widoczne w reakcjach krzyżowych tych antygenów z heterologicznymi surowicami. Determinanty antygenowe grupowo specyficzne stanowią odpowiednio resztę α -D-Gal (O8, rys. 4) oraz resztę α -D-GlcA (O6, rys. 5) przyłączoną do wspomnianego disacharydu [31, 35]. Dobrym przykładem takiego strukturalnego podobieństwa i serologicznego pokrewieństwa są antygeny O *P. vulgaris* O22 i O32. Pokrewieństwo to warunkuje trisacharyd obejmujący reszty Rha, GlcA i GlcNAc w antygenie O *P. vulgaris* O22 oraz Rha, GalA i GlcNAc w antygenie O *P. vulgaris* O32 (rys. 4) [36, 37]. Wspólne epitopy odpowiedzialne za reakcje krzyżowe stwierdzono też w trzech bardzo rozbudowanych pod względem struktury chemicznej antygenach O *P. vulgaris* O12, *P. penneri* 8 i *P. penneri* 63. Reaktywność krzyżową antygenów O *P. vulgaris* O12 i przeciwciał anti-*P. penne-*

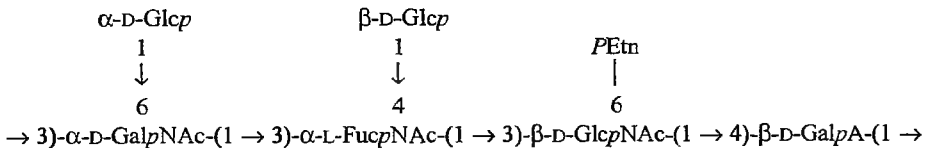
Proteus mirabilis O6 [35]



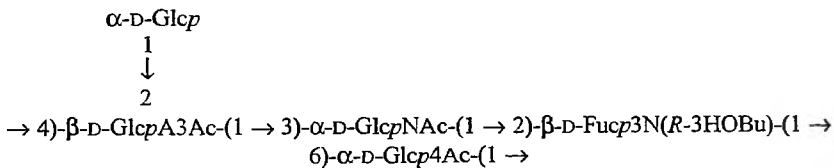
Proteus mirabilis O48 [40]



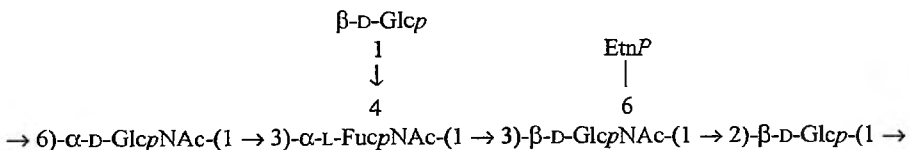
Proteus penneri 8 (O67) [38]



Proteus penneri 16 i 18 [34]



Proteus penneri 63 (O68) [39]



Rys. 5. Struktura chemiczna antygenów O *P. mirabilis* i *P. penneri* wykazujących silne pokrewieństwo serologiczne z antygenami O *P. vulgaris*. PEtn, fosfoetanolamina

ri 8 warunkuje wspólny dla tych antygenów trisacharyd GalNAc-FucNAc-GlcNAc, w którym reszty cukrowe są połączone wiązaniami $1 \rightarrow 3$. Z kolei za reaktywność krzyżową surowicy anti-*P. penneri* 63 z antygenem O *P. vulgaris* O12 odpowiada inny trisacharydowy fragment ich LPS, mianowicie Glc-FucNAc-GlcNAc (rys. 4 i 5) [28, 38, 39]. Podobieństwo serologiczne antygenów O *Proteus* ze względu na wspólną w dużym stopniu budowę łańcucha liniowego polisacharydu wykryto u *P. vulgaris* O21 i *P. mirabilis* O48 (rys. 4 i 5) [40]. Ostatni przykład pokazuje, jak dalece podobne mogą być antygeny O reprezentujące różne serogrupy – *P. vulgaris* O46 i O37. Zawierają one wspólny szkielet cukrowy, różnią się zaś, jeśli chodzi o podstawienie grupami acetylowymi. Ich silna reaktywność z surowicami heterologicznymi skłoniła nas do zaproponowania reklasyfikacji szczepu *P. vulgaris* O46 od serogrupy O37 i podziału jej na dwie podgrupy serologiczne: O37a,37b (uprzednio O37) i O37a,37c (uprzednio O46), gdzie czynnik 37a stanowi wspólny epitop w obu LPS, a czynniki 37b i 37c epitopy odmienne. Ich obecność wynika z odmiennego podstawienia obu liniowych polisacharydów grupami *O*-acetylowymi (rys. 4) [41, 42].

3. ZNACZENIE CZĘŚCI O-SWOISTEJ LPS W PRAKTYCE DIAGNOSTYCZNEJ I CHOROBOTWÓRCZOŚCI BAKTERII

Rolę polisacharydu O-swoistego LPS przedstawiono poniżej w punktach.

1. Polisacharyd O-swoisty tworzy glikokaliks bakteryjny, tj. zewnętrzną osłonę bakterii, dzięki której przylegają one do powierzchni tkanki lub rosną w postaci biofilmu, co w dużym stopniu warunkuje kolonizację nie tylko tkanek, ale np. cewników stosowanych u pacjentów [43].

2. Długołańcuchowe polisacharydy O-swoiste LPS odgrywają też rolę w powstawaniu kamieni moczowych. Kluczowe znaczenie w tym procesie ma ureaza – enzym, który katalizuje hydrolizę mocznika do amoniaku i dwutlenku węgla. Powoduje to alkalizację moczu, który u osób zdrowych jest lekko kwaśny. W tym kwaśnym środowisku, a więc u osób zdrowych, sole magnezu i wapnia są dobrze rozpuszczalne i ulegają łatwo wymywaniu z dróg moczowych. W środowisku alkalicznym dochodzi natomiast do krystalizacji wspomnianych soli do struwitu ($MgNH_4PO_4 \cdot 6H_2O$) oraz węglanu apatyty ($C_{10}(PO_4)_6 \cdot CO_3$), z których formują się kamienie moczowe [8–11]. Szczególną rolę w wytwarzaniu kamieni moczowych zdają się również odgrywać kwaśne polisacharydy powierzchniowe występujące jako mikrootoczka lub będące częścią O-swoistą LPS. Te ujemnie naładowane heteropolimery, zawierające kwasy uronowe, kwasy organiczne lub reszty fosforanowe, dzięki oddziaływaniom elektrostatycznym akumulują na powierzchni bakterii kationy wapnia i magnezu. Zjawisko to, jak niektórzy uważają, ułatwia, a nawet wzmaga proces tworzenia kamieni moczowych [44]. Ostatnie badania podjęte w naszym ośrodku skłaniają do rewizji tego poglądu. Jak wy-

kazano, szczep *P. vulgaris* O12, którego polisacharyd O-swoisty wiąże słabo kationy wapnia i magnezu, powoduje proces krystalizacji struwitu i węglanu apatytu w moczu *in vitro*, podczas gdy szczep *P. vulgaris* O47, silnie wiążący wspomniane kationy, nie wywołuje takiego zjawiska (strukturę antygenów O tych szczepów ilustruje rys. 4) [32]. Rozstrzygnięcie, na ile struktura części O-swoistej LPS *Proteus* sp. odgrywa rolę w powstawaniu kamieni moczowych, będzie możliwe po przeprowadzeniu badań *in vitro* na większej liczbie szczepów o różnej strukturze antygeny O, a także *in vivo* w hodowlach tkankowych nabłonka dróg moczowych w trakcie wzrostu bakterii w formie biofilmu. Badania te są w toku.

3. Łańcuch O-swoisty LPS ma zdolność oddziaływania z układem dopełniacza we krwi, stanowiącym jedną z istotnych barier obronnych układu immunologicznego człowieka. Składa się on z szeregu białek, które są aktywowane w określonej kolejności podczas infekcji. Jednym z czynników aktywujących dopełniacz jest LPS, który jednak także może chronić komórkę przed jego niszczącym działaniem broniąc dostępu tzw. kompleksu litycznego C5b-C9 (*membrane attack complex*) dopełniacza do błony zewnętrznej i błony komórkowej bakterii. Kompleks ten o silnie hydrofobowym charakterze wbudowuje się w podwójną warstwę lipidową błon, powodując powstawanie w niej kanałów i tym samym liżę bakterii. Obecność długiego hydrofilowego O-swoistego łańcucha cukrowego na powierzchni bakterii uniemożliwia dostęp wspomnianego hydrofobowego kompleksu litycznego do osłon błonowych bakterii Gram-ujemnych, powodując, iż są one odporne na działanie dopełniacza, a tym samym bardziej wirulentne [45]. Stwierdzono, iż w przypadku szczepów *P. vulgaris* ich wrażliwość/oporność na działanie dopełniacza nie ma związku ze strukturą wytwarzanego przez nie antygeny O [29].

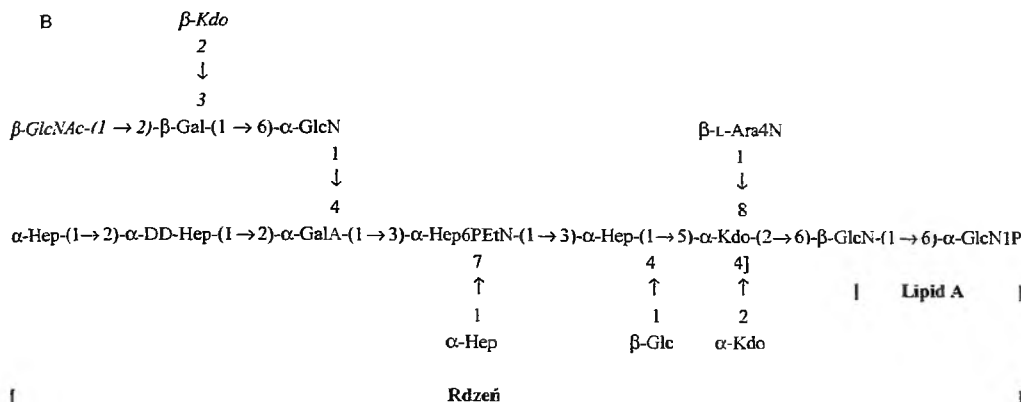
4. Od kilkudziesięciu lat w serodiagnostyce wykorzystuje się zjawisko nieswoistej aglutynacji, tj. zlepiania pałeczek *Proteus* należących do tzw. grupy OX przez przeciwciała występujące w surowicach zarażonych riketsjami (*Rickettsia* sp.), powodującymi dur plamisty i podobne schorzenia. Test ten, od odkrywców, nosi nazwę testu Weilla-Felixa. Do jego wykonania wykorzystuje się szczepy *P. vulgaris* OX19 (serogrupa O1) i OX2 (serogrupa O2) oraz *P. mirabilis* OXK (serogrupa O3). Jak wykazano, za te międzygatunkowe reakcje serologiczne odpowiedzialna jest część O-swoista LPS wymienionych serotypów bakterii *Proteus* [30, 46].

5. Jak wspomniano wcześniej, antygen O występuje na powierzchni komórki bakteryjnej, będąc dobrze wyeksponowany, co znajduje odzwierciedlenie w jego immunogenności. Po immunizacji zwierząt lub człowieka zabitymi bakteriami większość wytwarzanych przeciwciał skierowanych jest przeciwko temu antygenowi. Możemy więc powiedzieć, iż budowa łańcucha O-swoistego warunkuje serospecyficzność bakterii. Struktura powtarzającej się podjednostki cukrowej części O-swoistej LPS, tj. rodzaje cukrów, ich sekwencja, konformacja, typy wiązań, miejsca podstawienia i rodzaje podstawników niecukrowych wykazują

olbrzymie zróżnicowanie między serotypami w obrębie gatunku. Znajduje to odzwierciedlenie w swoistości wytwarzanych przeciwciał, co jest wykorzystane w serodiagnostyce zakażeń bakteriami Gram-ujemnymi. Określenie przynależności wyizolowanego od pacjenta szczepu bakterii do określonego serotypu jest jednym z etapów diagnostyki mikrobiologicznej. Postępowanie to pozwala na uzyskanie dodatkowych informacji o bakteriach, ich właściwościach i potencjalnych zdolnościach chorobotwórczych. Identyfikacja serologiczna opiera się najczęściej na sprawdzeniu reaktywności wzorcowych surowic anty-O ze świeżym izolatem. Dotychczas surowice takie najczęściej otrzymuje się po immunizacji zwierząt zabitymi przez ogrzanie bakteriami szczepów wzorcowych, tj. o ustalonej przynależności do serotypu. Zidentyfikowanie epitopów determinujących swoistość antygeny O odpowiadającego określonej serogrupie pozwala na odstępianie od tej metody i otrzymywanie wspomnianych surowic bez immunizacji zwierząt bakteriami. Zamiast nich stosuje się szczepionki koniugatowe, tj. wyizolowane fragmenty antygenów O odpowiadające za swoistość lub ich analogi syntetyczne przyłączone do nośników białkowych. Takie koniugaty są zdolne do wywołania odpowiedzi immunologicznej zwierząt, a otrzymane przeciw nim przeciwciała nie różnią się swoimi właściwościami od tych otrzymanych drogą konwencjonalną. Charakteryzują się m.in. właściwościami protekcyjnymi, mogą chronić organizm przed zakażeniem bakteriami danego serotypu. Zaletą szczepionek koniugatywnych jest to, iż nie zawierają nie tylko bakterii, ale i warunkującego toksyczność lipidu A z LPS, są więc bardziej bezpieczne niż wspomniane szczepionki z bakteriami. Koniugaty te mogą być też stosowane do produkcji przeciwciał monoklonalnych, a także, co jest bardzo ważne, jako antygeny w ELISA, ilościowym teście obecnie powszechnie wykorzystywanym w serodiagnostyce. Poznanie struktury chemicznej antygenów O olbrzymiej liczby szczepów referencyjnych różnych gatunków bakterii i identyfikacja determinant antygenowych nadających im swoistość przyczyniły się do wyjaśnienia molekularnych podstaw typowania serologicznego bakterii [12, 14, 23, 47]. Badania mające na celu ustalenie struktury chemicznej antygenów O reprezentujących wszystkie serogrupy *Proteus* sp. oraz identyfikacje epitopów nadających im swoistość serologiczną są kontynuowane. Sądzymy, iż doprowadzą do zaproponowania uzupełnionego o nowe serogrupy schematu klasyfikacji serologicznej *P. vulgaris*, *P. mirabilis*, *P. penneri* oraz *P. hauseri*.

4. STRUKTURA CHEMICZNA ORAZ ZNACZENIE BIOLOGICZNE REGIONU RDZENIOWEGO I LIPIDU A

Poznane zostały również region rdzeniowy i lipid A LPS *Proteus* [48–50]. Są one znacznie mniej zróżnicowane pod względem struktury chemicznej w porównaniu do części O-swoistej LPS. Ich strukturę przedstawiono na przykładzie *P. vulgaris* O25 (rys. 6) [51].



Rys. 6. Struktura chemiczna regionu rdzeniowego i lipidu A *P. vulgaris* O25 [51]. Podstawienie niekompletne zaznaczono czcionką pochyłą. Wszystkie cukry występują w formie piranozowej. Ara4N – 4-amino-deoksy-L-arabinoza, α -Hep – L-glycero- α -D-manno-heptoza, α -DD-Hep – D-glycero- α -D-manno-heptoza, Kdo – kwas 3-deoksy-D-manno-oktulozonowy, P – fosforan

Szczególnie miejsce w badaniach LPS, nie tylko *Proteus*, zajmuje region Kdo-lipid A (Kdo – kwas 2-keto-3-deoksyoktonowy). Region Kdo-lipid A jest wspólny, bardzo podobny pod względem budowy u różnych bakterii Gram-ujemnych [15]. Próbuje się to wykorzystać otrzymując przeciwciała anty-Kdo-lipid A o właściwościach ochronnych, reagujących krzyżowo z różnymi bakteriami oraz neutralizujących endotoksynę [52].

5. ENDOTOKSYNA JAKO CZYNNIK CHOROBTWÓRCZOŚCI BAKTERII

Lipopolisacharyd endotoksyna wykazuje swoje działanie u ludzi, ale dopiero po uwolnieniu się z komórek bakteryjnych do krwi. Następuje to podczas zakażenia uogólnionego (sepsy). We krwi endotoksyna tworzy kompleksy z białkami głównie z LBP (*Lipopolysaccharide Binding Protein*), wiązany następnie przez receptory CD₁₄ obecne na monocytach i makrofagach, indukując je do wydzielania mediatorów komórkowych: interleukin, TNF (*Tumor Necrosis Factor* – czynnik nekrotyzujący guzy nowotworowe), prostaglandyn, leukotrienów oraz wolnych rodników. Wielorakie działanie biologiczne tych mediatorów prowadzi do wstrząsu septycznego, objawiającego się m.in. wysoką gorączką, zaburzeniem oddychania, obniżeniem ciśnienia krwi i rozszanym wykrzepianiem wewnątrznaczyniowym. W efekcie dochodzi do uogólnionej, wielonarządowej niewydolności organizmu (MOSF – *Multiple Organ System Failure*) i śmierci organizmu [12, 53]. Ustalenie struktury chemicznej poszczególnych regionów LPS dało możliwości wyjaśnienia na poziomie molekularnym właściwości biologicznych endo-

toksyny. Jest to pierwszy niezbędny etap badań, który, należy mieć nadzieję, otworzy drogę do znalezienia skutecznych sposobów chronienia ludzi przed szkodliwym endotoksynnym lub neutralizacji jego skutków.

PODSUMOWANIE

Badania LPS mają znaczenie nie tylko czysto poznawcze, ale i praktyczne, kliniczne. Badania chemiczne – strukturalne i immunochemiczne – oraz badania immunobiologiczne *Proteus* pozwalają wyjaśnić z jednej strony budowę i funkcję LPS – integralnego składnika ściany komórkowej bakterii, z drugiej zaś – jego właściwości antygenowe i biologiczne oraz efekty patologiczne jako endotoksyny – ważnego czynnika chorobotwórczości tych bakterii. Dobra współpraca chemików z mikrobiologami w zakresie badań endotoksyny trwa już wiele lat. Opiera się ona na przeświadczeniu, iż pełne poznanie roli biologicznej określonego elementu komórki bakteryjnej lub jej produktu jest możliwe tylko wtedy, kiedy znana jest jego struktura chemiczna i konformacja. Takie podejście dotyczy także badań *Proteus* sp., co starano się przedstawić w artykule.

Praca częściowo finansowana z grantu Fundacji na rzecz Nauki Polskiej Program „Immuno” 18/99 oraz z grantu KBN 3 P05A 73 22.

PIŚMIENNICTWO CYTOWANE

- [1] C. Mohr O'Hara, F.W. Brenner, J.M. Miller., Clin. Microbiol Rev., 2000, 13, 534.
- [2] R. Belas, ASM News, 1992, 58, 1.
- [3] R. Belas, [w:] *Urinary Tract Infections, Molecular Pathogenesis and Clinical Management*, H.L.T. Mobley, J.W. Warren (Eds.), ASM Press, Washington DC 1996, s. 245.
- [4] D. Gygi, M. Mahbur Rahman, H.-Ch. Lai, R. Carlson, J. Guard-Peter, C. Hughes, Mol. Microbiol., 1995, 17, 1167.
- [5] J.L. Penner, [w:] *The Prokaryotes*, A. Balows, H.G. Trüper, W. Harder, K.H. Schleifer (Eds.), Springer Verlag, Berlin 1992, s. 2849.
- [6] J.W. Warren, [w:] *Urinary Tract Infections, Molecular Pathogenesis and Clinical Management*, H.L.T. Mobley, J.W. Warren (Eds.), ASM Press, Washington DC 1996, s. 2.
- [7] B.W. Senior, G.A. Anderson, K.D. Morley, M.A. Kerr, J. Infect., 1999, 38, 99.
- [8] H.L.T. Mobley, [w:] *Urinary Tract Infections, Molecular Pathogenesis and Clinical Management*, H.L.T. Mobley, J.W. Warren (Eds.), ASM Press, Washington DC 1996, s. 245.
- [9] A. Różalski, Z. Sidorczyk, K. Kotelko, Microbiol. Mol. Biol. Rev., 1997, 61, 65.
- [10] A. Różalski, I. Kwil, D. Babicka, A. Torzewska, M. Wykrota, B. Bartodziejska, Mikrobiologia Medycyna, 1999, 18, 3.
- [11] A. Różalski, Adv. Clin. Exp. Med., 2002, 11, 3.
- [12] A. Różalski, Post. Mikrobiol., 1995, 34, 289.
- [13] A. Różalski, *ibid.*, 1996, 35, 497.
- [14] P-E. Jansson, [w:] *Endotoxin in Health and Disease*, H. Brade, S.M. Opal, S.N. Vogel, D.C. Morrison (Eds.), Marcel Dekker Inc. NY. Basel 1999, s. 155.
- [15] O. Holst, *ibid.*, s. 115.

- [16] U. Zahringer, B. Lindner, E.Th. Rietschel. *ibid.*, s. 93.
- [17] F. Kaufmann, *The Bacteriology of Enterobacteriaceae*. The Williams and Wilkins, Baltimore 1996, s. 333.
- [18] J.L. Penner, J.N. Hennessy, *J. Clin. Microbiol.*, 1980, **12**, 77.
- [19] K. Zych, M. Kowalczyk, Y.A. Knirel, Z. Sidorczyk, *Adv. Exp. Med. Biol.*, 2000, **485**, 339.
- [20] P. Larsson, *Methods Microbiol.*, 1984, **14**, 187.
- [21] Y.A. Knirel., E.V. Vinogradov., A.S. Shashkov, Z. Sidorczyk, A. Różalski, J. Radziejewska-Lebrecht, W. Kaca, *J. Carbohydr. Chem.*, 1993, **12**, 379.
- [22] Z. Sidorczyk, *Post. Hig. Med. Dośw.*, 1996, **50**, 401.
- [23] Y.A. Knirel, W. Kaca, A. Różalski, Z. Sidorczyk, *Pol. J. Chem.*, 1999, **73**, 859.
- [24] Y.A. Knirel, A. Różalski i wsp., dane nieopublikowane.
- [25] A. Ziółkowski, A.S. Shashkov, A. Świerzko, S.N. Senchenkova, F.V. Toukach, M. Cedzyński, K.-I. Amano, W. Kaca, Y.A. Knirel. *FEBS Lett.*, 1997, **411**, 221.
- [26] A.V. Perepelov, S.N. Senchenkova, A.S. Shashkov, D. Babicka, H. Moll, A. Różalski, U. Zahringer, Y.A. Knirel, *Carbohydr. Res.*, 2001, **331**, 195.
- [27] A.N. Kondakova, A.V. Perepelov, B. Bartodziejska, A.S. Sahashkov, S.N. Senchenkova, M. Wykrota, Y.A. Knirel, A. Różalski, *ibid.*, 2001, **333**, 241.
- [28] A.V. Perepelov, A. Torzewska, A.S. Shashkov, S.N. Senchenkova, A. Różalski, Y.A. Knirel. *Eur. J. Biochem.*, 2000, **267**, 788.
- [29] D. Babicka, „Badania swoistości serologicznej antygenów O *Proteus vulgaris* O1, O2, O4 i O8 oraz wybranych właściwości biologicznych tego gatunku” (praca doktorska), Zakład Immunobiologii Bakterii, Uniwersytetu Łódzkiego, Łódź 2001.
- [30] M. Cedzyński, A. Ziółkowski, A. Świerzko, Y.A. Knirel, K.-L. Amano, A. Różalski, W. Kaca, [w:] J. Kazar, R. Toman. *Proc. Vth Intern. Symp. Rickettsiae and Rickettsial Diseases*. Veda, Bratislava 1996, s. 261.
- [31] V. Perepelov, D. Babicka, A.S. Shashkov, N.P. Arbatsky, S.N. Senchenkova, A. Różalski, Y.A. Knirel, *Carbohydr. Res.*, 1999, **318**, 186.
- [32] A. Torzewska, „Polisacharydy O-swoiste *Proteus vulgaris* – swoistość serologiczna i znaczenie w powstawaniu kamieni moczowych” (praca doktorska), Zakład Immunobiologii Bakterii Uniwersytetu Łódzkiego, Łódź 2001.
- [33] Y.A. Knirel, W. Kaca, N.A. Paramonov, M. Cedzyński, E.V. Vinogradov, A. Ziółkowski, A.S. Shashkov, A. Różalski, *Eur. J. Biochem.*, 1997, **247**, 951.
- [34] E.V. Vinogradov, Z. Sidorczyk, A. Świerzko, A. Różalski, E.D. Daeva, A.S. Shashkov, Y.A. Knirel, N.K. Kochetkov, *ibid.*, 1991, **197**, 93.
- [35] M. Cedzyński, A.S. Świerzko, A. Ziółkowski, A. Różalski, N.A. Paramonov, E.V. Vinogradov, Y.A. Knirel, W. Kaca, *Microbiol. Immunol.*, 1998, **42**, 7.
- [36] B. Bartodziejska, A.S. Shashkov, D. Babicka, A.A. Grachev, A. Torzewska, N.A. Paramonov, A.Y. Chernyak, A. Różalski, Y.A. Knirel. *Eur. J. Biochem.*, 1998, **256**, 488.
- [37] F.V. Toukach, B. Bartodziejska, S.N. Senchenkova, M. Wykrota, A.S. Shashkov, A. Różalski, Y.A. Knirel, *Carbohydr. Res.*, 1999, **318**, 146.
- [38] Y.A. Knirel, K. Zych, E.V. Vinogradov, A.S. Shashkov, Z. Sidorczyk, *Eur. J. Biochem.*, 2000, **267**, 815.
- [39] A.S. Shashkov, A.N. Kondakova, K. Zych, S.N. Senchenkova, F.V. Toukach, Z. Sidorczyk, Y.A. Knirel, *Eur. J. Biochem.*, 2000, **267**, 601.
- [40] B. Bartodziejska, F.V. Toukach, E.V. Vinogradov, S.N. Senchenkova, A.S. Shashkov, A. Ziółkowski, J. Czaja, M.B. Perry, Y.A. Knirel, A. Różalski, *ibid.*, 2000, **267**, 6888.
- [41] A.V. Perepelov, S.N. Senchenkova, A. Torzewska, B. Bartodziejska, A.S. Shashkov, A. Różalski, Y.A. Knirel, *Carbohydr. Res.*, 2000, **328**, 229.
- [42] A. Torzewska, A.N. Kondakova, A.V. Perepelov, S.N. Senchenkova, A.S. Shashkov, A. Różalski, Y.A. Knirel, *FEMS Immunol. Med. Microbiol.*, 2001, **31**, 227.

- [43] L. Clapham, R.J.C. McLean, J.C. Nickel, J. Downey, J.W. Costerton, *J. Crystal Growth.*, 1990, 104 475.
- [44] A.J. Dumanski, H. Hedelin, A. Edin-Liljegren, D. Beauchemin, R.J.C. McLean, *Infect. Immun.*, 1994, **62**, 2998.
- [45] W. Kaca, E. Ujazda, *Post Mikrobiol.*, 1998, **37**, 421.
- [46] W. Kaca, K.-I. Amano, A.Y. Chernyak, Y.A. Knirel, *Microbios.*, 2000, **103**, 151.
- [47] B. Bartodziejska, A. Torzewska, D. Babicka, M. Wykrota, A. Różalski, A.V. Perepelov, F.V. Toukach, A.A. Grachev, S.N. Senchenkova, A.S. Shashkov, Y.A. Knirel, *Adv. Exp. Med. Biol.*, 2000, **485**, 243.
- [48] E.V. Vinogradov, J. Radziejewska-Lebrecht, *Carbohydr. Res.*, 2000, **329**, 351.
- [49] Z. Sidorczyk, U. Zähringer, E.Th. Rietschel, *Eur. J. Biochem.*, 1983, **137**, 15.
- [50] E.V. Vinogradov, E.V., E. Thomas-Oates, H. Brade, O. Holst, *J. Endotoxin Res.*, 1994, **1**, 199.
- [51] E. Vinogradov, M. Cedzyński, A. Różalski, A. Ziółkowski, A. Świerzko, *Carbohydr. Res.*, 2000, **328**, 533.
- [52] A. Różalski, *Post. Mikrobiol.*, 1991, **30**, 301.
- [53] C. Ługowski, T. Niedziela, W. Jachymek, *Mikrobiologia Medycyna*, 1996, **4**, 28.
- [54] M. Mahbubur Rhaman, J. Guard-Petter, K. Asokan, C. Hughes, *J. Biol. Chem.*, 1999, **274**, 22293.
- [55] L.M. Beynon, D.J. Dumanski, R.J.C. McLean, L.L. MacLean, J.C. Richards, M.B. Perry, *J. Bacteriol.*, 1992, **174**, 2172.
- [56] M.M. Rahman, J. Guard-Petter, K. Asokan, R.W. Carlson, *Carbohydr. Res.*, 1997, **301**, 213.
- [57] E.Th. Rietschel, H. Brade, *Sci. Am.*, 1992, **239**, 26.
- [58] E.Th. Rietschel, T. Kirikae, U. Schade, A.J. Ulmer, O. Holst, H. Brade, G. Schmidt, U. Mamat, H.D. Grimmecke, S. Kusumoto, U. Zähringer, *Immunobiology*, 1993, **187**, 169.
- [59] M.B. Perry, L.L. MacLean, *Carbohydr. Res.*, 1994, **253**, 257.
- [60] A.V. Perepelov, A.S. Shashkov, D. Babicka, S.N. Senchenkova, B. Bartodziejska, A. Różalski, Y.A. Knirel, *Biochemistry (Moscow)*, 2000, **65**, 1247.

Praca wpłynęła do Redakcji 11 grudnia 2001

**GLIKOZYLACJA Z ZASTOSOWANIEM
POCHODNYCH 1-TIUCUKRÓW
JAKO SUBSTRATÓW**

DERIVATIVES OF 1-THIOSUGARS
AS SUBSTRATES IN GLYCOSYLATION REACTIONS

**Wiesław Szeja, Joanna Bugła, Aleksandra Niemiec,
Gabriela Pastuch, Anna Kasprzycka,
Anna Ślusarczyk, Ilona Wandzik, Tadeusz Bieg,
Bogdan Przybysz, Jadwiga Bogusiak¹**

*Wydział Chemiczny, Politechnika Śląska
ul. B. Krzywoustego 8, 44-100 Gliwice*

¹ *Wydział Farmacji, Śląska Akademia Medyczna
ul. Jagiellońska 4, 41-200 Sosnowiec*

Abstract

Wykaz i objaśnienie ważniejszych skrótów stosowanych w tekście

Wstęp

1. Tioglikozydy
2. Donory glikozyłowe, pochodne kwasu ditiokarbonowego i ditiokarbamowego
3. Donory glikozyłowe zawierające atom fosforu w grupie odchodzącej
4. Stereoselektywność reakcji glikozylacji
5. Strategia syntezy oligosacharydów
6. Synteza oligosacharydów na fazie stałej

Piśmiennictwo cytowane



Wiesław Szeja jest profesorem zwyczajnym i kierownikiem Katedry Technologii Chemicznej Węgla i Ropy Naftowej na Wydziale Chemicznym Politechniki Śląskiej w Gliwicach. Studia chemiczne ukończył na Politechnice Śląskiej w 1966 roku. Stopień doktora nauk technicznych i doktora habilitowanego uzyskał odpowiednio w 1973 i 1983 roku, a tytuł profesora zwyczajnego w 1992 roku. Był profesorem zaproszonym (visiting professor) w CERMAV, CNRS (Grenoble, Francja) w 1993 roku oraz w MD Anderson Cancer Center (University of Texas, Houston, USA) w 1994 roku.

Jego główne zainteresowania naukowe dotyczą chemii węglowodanów, a w szczególności badań nad syntezą związków modelowych do badań biologicznych. Obecnie prace grupy badawczej koncentrują się na syntezie kompleksowych glikozydów, związków do badań mechanizmów odpowiedzi immunologicznej.

Opublikował około 120 oryginalnych prac naukowych i wypromował sześciu doktorów.

Jest członkiem Polskiego Towarzystwa Chemicznego od 1966 roku, aktualnie przewodniczącym Sekcji Chemii Cukrów.

ABSTRACT

It was found that carbohydrate parts of complex glycosides may act as antigens or receptors for proteins, and these findings led to the discovery of the important role of carbohydrates in cell-cell recognition phenomena and cell differentiation.

At the same time the methods of glycosylation underwent rapid development. The present paper gives an overview of development of 1-thiosugar derivatives in oligosaccharide synthesis.

In the first part of this review, recent results of the use of thioglycosides, dithiocarbonates, dithiocarbamates and thiophosphates as glycosyl donors and acceptors are presented. A survey of important methods for the synthesis of thiosugars is presented, followed by discussion of methods converting anomeric substituent into a good leaving group (activation) in nucleophilic substitution reaction. The mechanism and procedures, which provide stereoselective formation of 1,2-*cis* and 1,2-*trans* glycoside bond, are discussed. The versatility of 1-thiosugar derivatives in synthetic carbohydrate chemistry is illustrated by selective activation strategies.

The most important synthetic methodologies of the synthesis of oligosaccharides like linear glycosylation strategy in step-by-step and multistep "one-pot" sequence, "armed-disarmed" glycosyl donor, "latent-active" glycosylation, orthogonal strategy are illustrated on several examples.

The last part is devoted to methods for solid support oligosaccharide synthesis.

Wykaz i objaśnienie ważniejszych skrótów stosowanych w tekście

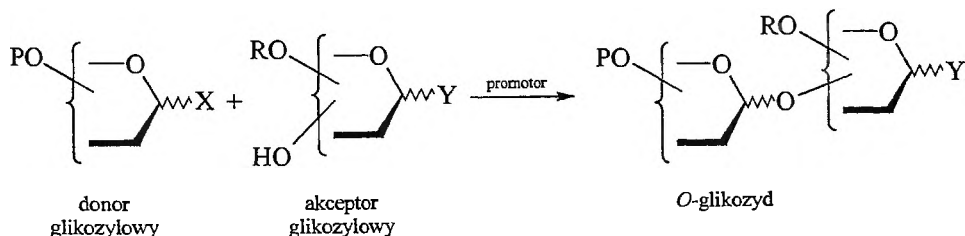
Ac	– acetyl
Bn	– benzyl
Bzl	– benzoil
CAN	– azotan cerowo-amonowy
Glp	– rodnik glukopiranozyłowy
IDCP	– nadchloran jodo bis(2,4,6-kolidyny)
NIS	– <i>N</i> -jodoimid kwasu bursztynowego
Ts	– <i>p</i> -toluenosulfonian
Tf	– trifluorometanosulfonian (triflan)
TBDS	– <i>t</i> -butyloдимetylosilil
TMS	– trimetylosilil

WSTĘP

Glikokoniugaty, połączenia zawierające oligo- i polisacharydy połączone wiązaniem glikozydowym z lipidami, białkami lub wielofunkcyjnymi związkami karbocyklicznymi czy heterocyklicznymi odgrywają kluczową rolę w procesach biologicznych jako nośniki informacji. Cukry jako fragmenty glikoprotein, glikolipidów i innych koniugatów biorą udział w procesach przekazywania sygnałów w obrębie komórek [1-7]. Dla przykładu niektóre białka wiążące węglowodany (np. selektyny) uczestniczą w przekazywaniu informacji o takich parametrach płynu ustrojowego, jak stężenie glukozy, pH, stężenie soli. Glikoproteiny, wiążąc się na powierzchni komórki z receptorami o strukturze glikokoniugatów, zapoczątkowują wiele procesów odpowiedzi immunologicznej na stany zapalne. Kolejna funkcja glikoprotein to wykrywanie i zapoczątkowanie procesów rozkładu wielu związków organicznych i mikroorganizmów. Transport pewnych hormonów w formie glikozydów do odpowiednich organów uwarunkowany jest obecnością połączenia cukrowego o określonej strukturze. Wiązanie wielu patogenów na powierzchni komórki w początkowym stadium procesu chorobotwórczego zależne jest od struktur cukrowych [4]. Molekularne mechanizmy procesu rozpoznawania nie są dobrze poznane. Ze względu na spodziewane efekty terapii w początkowych etapach procesu chorobotwórczego prowadzone są intensywne badania z wykorzystaniem połączeń mimetycznych, pochodnych cukrów o takiej konformacji cząsteczki, że układ grup funkcyjnych umożliwia oddziaływanie z receptorami, podobnie jak w natywnych glikokoniugatach [7].

Rosnące zainteresowanie syntezą biologicznie aktywnych pochodnych cukrów stymuluje poszukiwania nowych, bardziej efektywnych metod glikozylacji. O skali zainteresowania tym tematem świadczą liczne prace przeglądowe w ostatnim dziesięcioleciu [8-16].

Reakcja glikozylacji biegnie zwykle według mechanizmu substytucji nukleofilowej przy anomerycznym atomie węgla, w której substrat cukrowy zawierający grupę dobrze odchodzącą, połączoną z hemiacetalowym atomem węgla (donor glikozyłowy), reaguje z nukleofilem mającym grupę wodorotlenową (akceptor glikozyłowy) (schemat 1).



P, R: grupy zabezpieczające

Schemat 1

Przeprowadzenie podstawnika w pozycji anomerycznej w grupę opuszczającą odbywa się przy udziale dobranego odczynnika (promotora, aktywatora). Efektywny proces glikozylacji powinien spełniać wiele warunków. Ponieważ substraty to zwykle związki wielofunkcyjne, selektywnie zabezpieczone, synteza musi być prowadzona w łagodnych warunkach, tak aby grupy ochronne i wiązanie glikozyłowe nie ulegały transformacjom w czasie reakcji. Glikozylacja powinna zachodzić z dobrą wydajnością oraz powinna być w dużym stopniu stereoselektywna, gdyż wydzielenie oczekiwanego produktu ze złożonej mieszaniny zawierającej substraty, stereoizomeryczne glikozydy, jest pracochłonne i kosztowne, a w niektórych przypadkach wręcz niemożliwe. Ze względu na złożoność procesów glikozylacji nie opracowano dotychczas uniwersalnej metodologii syntezy kompleksowych glikozydów. Warunki reakcji są dobierane dla każdej projektowanej syntezy. Opisano szereg wariantów glikozylacji różniących się doбором grup ochronnych donora i akceptora, charakterem grupy opuszczającej, rodzajem promotora, parametrami reakcji. Szeroki jest zakres stosowania donorów i akceptorów glikozyłowych zawierających atom siarki w grupie odchodzącej.

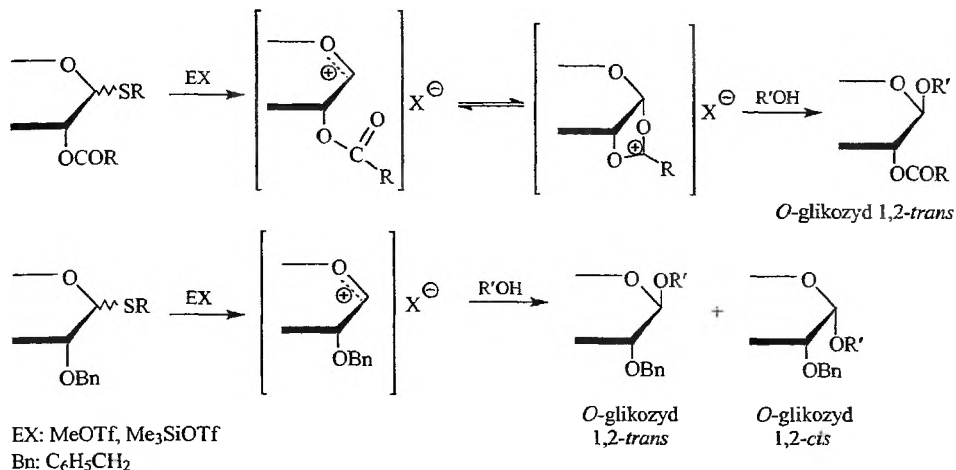
1. TIOGLIKOZYDY

Do najpopularniejszych substratów w reakcjach glikozylacji należą tioglikozydy [8–16]. Związki te są stosunkowo odporne na działanie kwasów i zasad, co umożliwia syntezę odpowiednio zabezpieczonych pochodnych, substratów do reakcji glikozylacji. Ze względu na różnice w reaktywności połączeń zawierających atomy siarki i tlenu, możliwe jest stosowanie promotorów, które przeprowadzają grupę sulfidową w grupę dobrze odchodzącą nie naruszając tlenowych połączeń. Atom siarki w tioglikozydach jest zgodnie z koncepcją Pearsona [17] „miękkim” centrum reakcji i łatwo ulega aktywacji działaniem „miękkich” reagentów tiofilowych. Możliwość bezpośredniej aktywacji tioglikozydów solami rtęci pokazał Ferrier [18] uzyskując działaniem związków wodorotlenowych z umiarkowaną wydajnością *O*-glikozydy.

Powszechne zastosowanie tioglikozydów jako donorów glikozyłowych datuje się od prac Lönna [19], który zastosował jako aktywator triflan metylowy. W wyniku alkilowania siarki powstaje przejściowa sól sulfoniowa, grupą opuszczającą jest sulfid, a powstający jon karboksioniowy reaguje z alkoholem (schemat 2). Gdy donor zawiera grupę acetylową w sąsiedztwie węgla anomerycznego, otrzymuje się z dobrą selektywnością 1,2-*trans* glikozydy. Jeżeli zastosować benzyłowe grupy ochronne, w przewodzie tworzą się 1,2-*cis* glikozydy.

Fügedi i Garegg [20] zastąpili toksyczny triflan metylowy przez triflan dime-tylo(metylotio)sulfoniowy. Zastosowano wiele innych promotorów aktywujących tioglikozydy w syntezie oligosacharydów, takich jak: tetrafluoroboran nitrozyłu [21], triflan fenylselenyłowy [22], triflan alkilosulfenyłowy [23], nadchloran

jodo bis(2,4,6-kolidyny) [24, 25]. Tioglikozydy w wyniku utlenienia przechodzą łatwo w sulfotlenki, aktywowane działaniem „twardych” reagentów elektrofilowych [26]. Tioglikozydy mogą być też w prosty sposób przekształcane w innego typu donory glikozytowe, takie jak halogenki czy imidoetery [12, 15, 16].



Schemat 2

Popularność tioglikozydów jako donorów glikozydowych wynika z prostoty metod otrzymywania tych związków, z użyciem tanich, handlowych substratów. Najstarsza i wciąż często stosowana metoda to opisana przez Fischera i Delbrücka reakcja halogenków glikozydowych z tiofenolem w obecności wodorotlenku sodowego [27]. Modyfikacje tej metody, takie jak: prowadzenie reakcji w katalitycznym układzie dwufazowym [28] lub w aprotycznych rozpuszczalnikach polarnych [29], poprawiły wydajność syntezy i rozszerzyły zakres jej stosowania. Arylotioglikozydy otrzymać można z pochodnych acylowych w reakcji kondensacji z tiolami katalizowanej przez mocne kwasy [30]. Nowe rozwiązania syntezy arylotioglikozydów [31] i hetarylotioglikozydów [32], zawierających w pierścieniu aromatycznym podstawniki elektronoakceptorowe, to reakcje aromatycznego podstawienia nukleofilowego fluorowca w pierścieniu tiocukrem w obecności zasady. Ogólna metoda syntezy pierwszo- i drugorzędowych alkilotioglikozydów to alkilowanie 1-tiocukrów [33]. Efektywną drogą otrzymywania tioglikopiranozydów i tioglikofuranozydów zawierających benzytowe grupy ochronne jest reakcja deoksygenacji sulfenianów glikozydowych wobec związków fosforu III [34, 35]. Synteza może być przeprowadzona w wariantcie jednoetapowym. Traktując cukier redukujący zabezpieczony grupami benzyłowymi kolejno chlorkiem arylosulfenylowym, trietyloaminą i fosfinianem triizopropylowym lub trialkilofosfiną otrzymuje się z bardzo dobrą wydajnością arylotioglikozydy.

2. DONORY GLIKOZYLOWE, POCHODNE KWASU DITIOKARBONOWEGO I DITIOKARBAMOWEGO

Poszukiwanie efektywnych donorów glikozylowych, substratów do syntezy złożonych oligosacharydów, jest jednym z bardzo aktualnych i ważnych zagadnień chemii cukrów. Wiele prac poświęcono zadaniu otrzymania donorów łatwo ulegających aktywacji w neutralnych warunkach reakcji glikozylacji. Doskonałymi donoramami spełniającymi takie kryteria okazały się *S*-glikozyłowe pochodne kwasu ditiokarbonowego oraz ditiokarbamowego (schemat 3).



S-glikozyłowy ditiokarbonian *O*-alkilowy

S-glikozyłowy ditiokarbaminian *N,N*-alkilowy

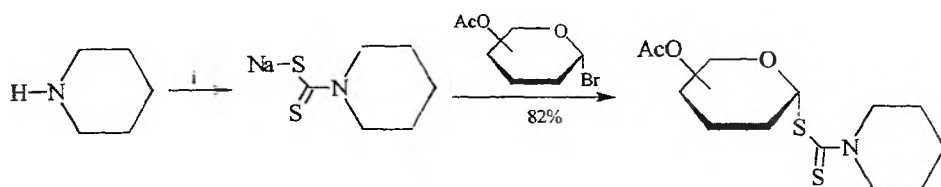
Schemat 3

Ditiokarboniany *S*-glikozyłowe od wielu lat były wykorzystywane w syntezie 1-tioglikozydów. W ostatnich latach badania nad tą grupą związków doprowadziły do odkrycia nowych możliwości wykorzystania tych pochodnych jako donorów glikozylowych w syntezie glikozydów i oligosacharydów. Omawiane donory siarkowe są stabilne w warunkach, w jakich usuwa się grupy zabezpieczające, łatwo ulegają glikozylacji z różnymi akceptorami w łagodnych warunkach, co umożliwia stosowanie nawet bardzo niestabilnych, złożonych aglikonów. Na ogół są to związki krystaliczne, niehigroskopijne, a zatem łatwe w przechowywaniu i transporcie. To powoduje, że wypierają one klasyczne, często nietrwałe donory glikozyłowe, jakimi są bromki i chlorki glikozyłowe.

Największe znaczenie praktyczne mają dwie metody syntezy tych połączeń: z halogenków glikozylowych oraz z monocukrów redukujących. Historycznie najstarszą metodą syntezy ditiokarbaminianów *S*-glikozylowych z bromków glikozylowych jest metoda opracowana przez Tejima i Ishiguro [36]. Czynnikiem nukleofilowym jest *N,N*-dialkiloditiokarbaminian sodu. Fügedi i wsp. [37] przedstawili metodę syntezy piperydynoditiokarbaminianów *S*-glikozylowych w wyniku reakcji per-*O*-acetylowych bromków pochodnych D-gluko, D-galacto i L-fukopiranoz z uprzednio przygotowanym roztworem reagenta siarkowego (schemat 4). Związki te są wydzielane przez krystalizację jako pochodne o konfiguracji α . Autorzy wykazali przydatność tych połączeń w syntezie glikozydów przy zastosowaniu triflanu metyloвого jako aktywatora.

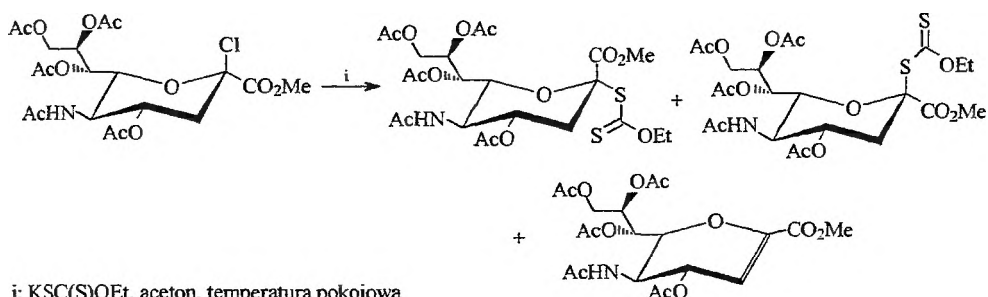
Innym przykładem zastosowania halogenków glikozylowych jako substratów jest synteza ditiokarbonianów, pochodnych kwasu sjałowego. Syntezowano je z chlorku sjałowego i *O*-etyloditiokarbonianu potasowego [38] (schemat 5).

Reakcja prowadzona w acetonie w temperaturze pokojowej prowadzi do mieszaniny α - oraz β -sjalowych ditiokarbonianów. α -Sjalowy produkt jest opisywany jako jedyny, gdy reakcja prowadzona jest w etanolu. Ditiokarboniany sjalowe są wykorzystywane jako donory glikozyłowe w syntezie α -sjaloglikozydów. Najbardziej efektywnymi promotorami reakcji są stosowane w ekwimolarnej ilości takie reagenty tiofilowe, jak: triflan dimetylo(metylotio)sulfoniowy i triflan metylosulfenyłowy.



i: CS_2 , NaH, dimetyloformamid, 0°C

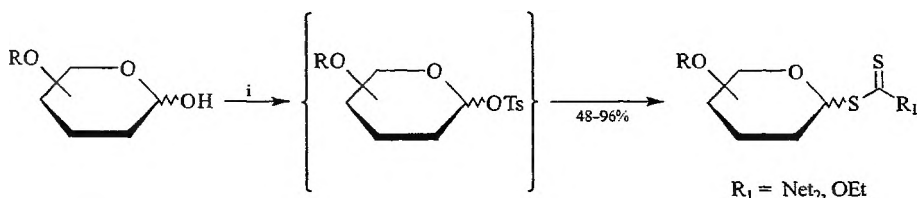
Schemat 4



i: KSC(S)OEt , aceton, temperatura pokojowa

Schemat 5

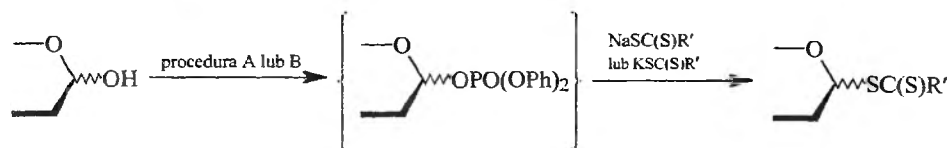
Druga z powszechnie stosowanych metod otrzymywania ditiokarbonianów i ditiokarbaminianów wykorzystuje zabezpieczone monocukry redukujące jako substraty. Syntezę *S*-glikozylo *N,N*-dietyloditiokarbaminianów i *O*-etyloditiokarbonianów z zabezpieczonych monocukrów redukujących w warunkach katalizy PTC przedstawili Bogusiak i Szeja [39, 40] (schemat 6).



i: TsCl , benzen/ $\text{Bu}_4\text{N}^+\text{Cl}^-/50\% \text{NaOH}$, NaSC(S)NEt_2 lub KSC(S)OEt , temperatura pokojowa, 1-2 h

Schemat 6

Ustalono, że w tych warunkach najpierw następuje estryfikacja cukru redukującego, a następnie wymiana grupy *p*-toluenosulfonowej w reakcji substytucji nukleofilowej z nukleofilem siarkowym. Stereoselektywność tej reakcji zależy od charakteru substratu. Tetra-*O*-benzylo-D-gluko- i D-galaktopiranoza tworzą tylko jeden produkt o konfiguracji β -D, natomiast per-*O*-benzylowe pochodne D-manno i D-ksylopiranozy dają mieszaniny anomerów. Interesującą modyfikacją tej metody było zastosowanie chlorku kwasu difenylofosforowego zamiast chlorku kwasu *p*-toluenosulfonowego w syntezie bardzo reaktywnych pochodnych furanoz [41] i 2-deoksypiranoz [42] (schemat 7, procedura A). Innym wariantem tej metody była synteza *S*-glikozylowych ditiokarbaminianów 2-deoksypiranoz w obecności wodoroku sodu w tetrahydrofuranie jako rozpuszczalniku [42] (schemat 7, procedura B).



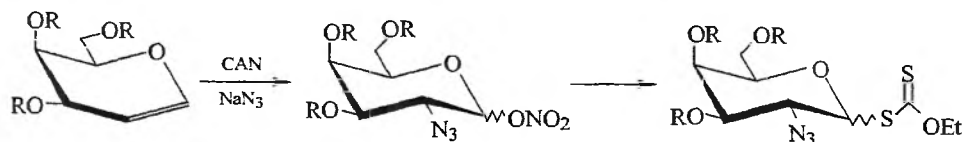
procedura A: PTC: toluen, 30% NaOH/Bu₃NBr, (PhO)₂POCl
procedura B: NaH, tetrahydrofuran, (PhO)₂POCl

R' = Net₂ lub OEt

Schemat 7

Promotorami glikozydacji odpowiednimi dla ditiokarbaminianów furanoz i 2-deoksypiranoz mogą być: triflan srebrowy [43, 44] *N*-jodoimid kwasu bursztynowego, nadchloran jodo bis(2,4,6-kolidyny) czy specjalnie przygotowana żywica kationowymienna Amberlyst 15 w formie soli srebra lub cynku [44].

Ciekawą grupą donorów glikozylowych, prekursorów 2-amino-2-deoksy cukrów są ditiokarbony 2-azydo-2-deoksy *S*-glikozyłowe. Sina# przeprowadził ich syntezę z azotanu glikozyłowego poprzez reakcję wymiany z ksantogenianem potasowym [45] (schemat 8). Głównym ograniczeniem tej metody jest jej niska stereoselektywność.



Schemat 8

3. DONORY GLIKOZYLOWE ZAWIERAJĄCE ATOM FOSFORU W GRUPIE ODCHODZĄCEJ

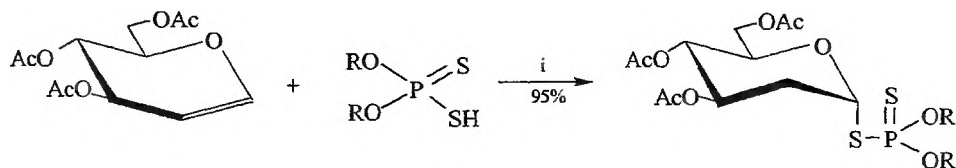
Poszukując reaktywnych donorów glikozylowych zwrócono uwagę na związki czterowiązalnego fosforu. Ponieważ połączenia fosforu mogą być łatwo modyfikowane, znanych jest wiele donorów różniących się strukturą grupy od-

chodzącej i warunkami glikozylacji. Pionierskie prace na tym polu zrealizowała Michalska ze wsp. [46]. W późniejszych pracach zaproponowano glikozyłowe pochodne diamidoimidotiofosforowe ($\text{Glp}-\text{S}-\text{P}=\text{NPh}(\text{NMe}_2)_2$) jako selektywne substraty w syntezie wiązania 1,2-*cis* glikozydowego [47]. Z kolei Inazu i wsp. [48] stosowali pochodne kwasu dimetylotiofosfinowego ($\text{Glp}-\text{O}-\text{P}=\text{S}(\text{Me})_2$) jako stabilne donory glikozyłowe, ulegające łatwo aktywacji nadchloranem srebra lub układem I_2 /nadchloran tritylu [49].

O,O-dietyloditiofosforany D-rybo-, D-ksylo-, L-arabinofuranozyłowe zastoso-
wano z powodzeniem do otrzymywania glikofuranozydów [50]. Estry te moż-
na aktywować triflanem srebra. Reakcja biegnie w łagodnych warunkach, gliko-
zydy o konfiguracji 1,2-*trans* otrzymuje się z dobrą wydajnością i selektyw-
nością. Przez dodatek stechiometrycznych ilości polarnych związków organicznych
zmienia się stereochemia reakcji i głównymi produktami są glikozydy o konfigu-
racji 1,2-*cis* [51b].

Opracowano kilka wariantów syntezy fosforowych pochodnych glikozyło-
wych. Najstarsza z nich to reakcja pochodnych kwasu fosforowego z cukrami za-
wierającymi grupę dobrze odchodzącą w pozycji anomerycznej. Substratami są
zwykle per-*O*-acetylowane halogenki glikozyłowe [52]. Otrzymywanie glikozy-
łowych estrów w reakcji estryfikacji pochodnych cukrów zawierających wolną
anomeryczną grupę wodorotlenową chlorkami kwasowymi zaproponowali bada-
cze japońscy [47, 48]. Tiofosforany *O*-glikozyłowe mogą być z dobrą wydajno-
ścią otrzymane z pochodnych cukrów redukujących przy udziale chlorku kwasu
p-toluenosulfonowego i soli amoniowej kwasu tiofosforowego w katalitycznym
układzie dwufazowym [53].

W przypadku pochodnych 2-deoksy cukrów bardzo skuteczną drogą otrzy-
mywania ditiofosforanów glikozyłowych jest addycja kwasów *O,O*-dialkiloditio-
fosforowych do per-*O*-acetylowanych glikali [54, 55]. Reakcja przebiega ilości-
owo i regiospecyficznie w bardzo łagodnych warunkach (schemat 9).



i: benzen, temperatura pokojowa, 48 godzin

Schemat 9

Stwierdzono, że stereoselektywność addycji zależy od rodzaju podstawników
przy atomie fosforu. Addycja kwasu *O,O*-dimetyloditiofosforowego przebiega ste-
reoselektywnie, dominują produkty o konfiguracji α . Proces jest kontrolowany
kinetycznie, podwyższenie temperatury prowadzi do mieszaniny anomerów.
Ditiofosforany *S*-glikozyłowe stosowano w reakcjach glikozydacji z różnymi
akceptorami. I tak, Thiem i wsp. [56] przekształcali je w disacharydy i trisachary-

dy w obecności nadchloranu jodo bis(2,4,6-kolidyny) lub *N*-jodoimidu kwasu bursztynowego. Obserwowano przewagę produktów o konfiguracji α . Podobne rezultaty w przypadku zastosowania akceptorów cukrowych osiągnęła Michalska stosując fluorek srebra jako aktywator [57]. Natomiast z całkowitą inwersją konfiguracji na węglu anomerycznym uzyskano alkilowe 2-deoksy- β -D-glikozydy [55].

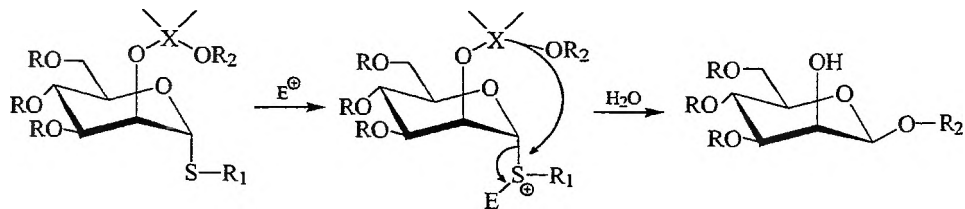
4. STEREOSELEKTYWNOŚĆ REAKCJI GLIKOZYLACJI

Stereoselektywność reakcji tworzenia wiązania glikozydowego w dużym stopniu zależy od konfiguracji cukru i charakteru podstawników związanych z anomerycznym i sąsiednim atomem węgla. Jeżeli w pobliżu węgla anomerycznego znajduje się grupa uczestnicząca (estrowa, amidowa), to produktem jest glikozyd o konfiguracji 1,2-*trans*. Reakcja przebiega według mechanizmu podstawienia nukleofilowego z utworzeniem jonu karboksoniowego stabilizującego się poprzez utworzenie cyklicznego jonu 1,3-dioksoleniowego [8]. Atak nukleofila na anomeryczny atom węgla następuje od strony przeciwnej do podstawnika przy C-2 (schemat 2).

Znacznie trudniejsze jest utworzenie wiązania glikozydowego o konfiguracji 1,2-*cis*. Do najczęściej spotykanych rozwiązań należy wprowadzenie w pozycję C-2 grupy nieuczestniczącej, zwykle grupy benzylowej. Na końcowy skład mieszaniny reakcyjnej mają wpływ zarówno cechy strukturalne donora oraz akceptora (rodzaj grupy opuszczającej, konfiguracja, zawada przestrzenna), jak i warunki reakcji (promotor, rozpuszczalnik, temperatura).

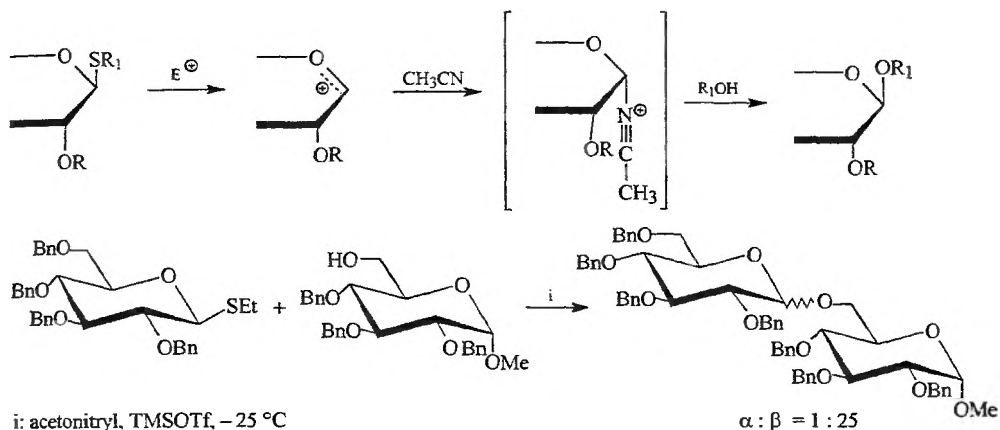
Jednym z najtrudniejszych zadań syntetycznych jest utworzenie wiązania β -mannozydowego. Skuteczną i elegancką metodę otrzymywania 1,2-*cis* mannozydów zaproponowali Barresi i Hindsgaul [58] oraz Stork i Kim [59]. Połączenie akceptora glikozydowego poprzez łącznik X z atomem C-2 donora lokuje go w sąsiedztwie tioaglikonu, po stronie β płaszczyzny pierścienia cukrowego. Pod wpływem promotora tioalkilowa grupa staje się dobrze odchodząca i wewnątrzcząsteczkowa substytucja nukleofilowa zachodzi z inwersją konfiguracji przy anomerycznym atomie węgla (schemat 10).

Zmianę stereochemii reakcji glikozylacji można uzyskać przez prowadzenie jej w odpowiednim rozpuszczalniku [60]. W reakcji tioetylo tetra-*O*-benzylo- β -D-glukopiranozydu z metylo- α -D-glukopiranozydem selektywnie podstawionym grupami benzyłowymi i wolną pierwszorzędową grupą wodorotlenową, prowa-



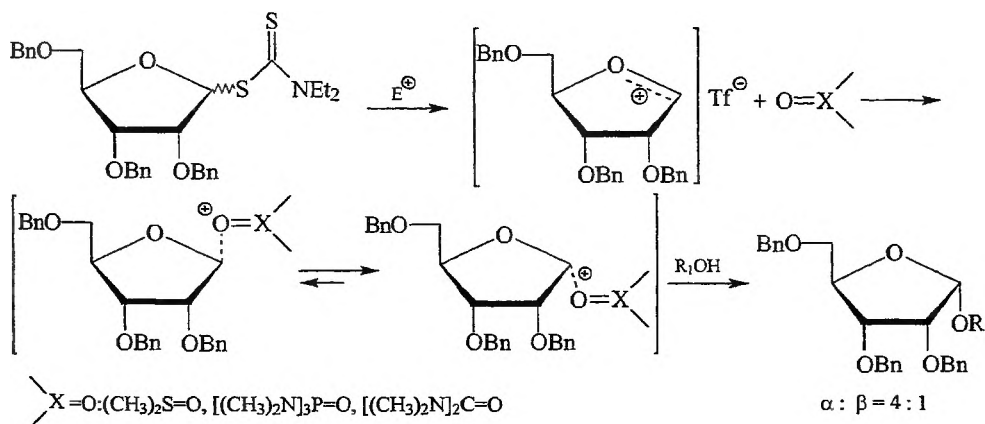
Schemat 10

dzonej w acetonitrylu, otrzymano jako główny produkt disacharyd o konfiguracji 1,2-*trans* [61]. Zgodnie z powszechnie przyjętym mechanizmem tworzący się pośrednio jon karboksoniowy w reakcji z nitylem przekształca się w jon nityliowy o konfiguracji 1,2-*cis* podstawników, ulegający substytucji nukleofilowej z inwersją konfiguracji (schemat 11). Reakcja w niepolarnym rozpuszczalniku prowadzi do produktu o konfiguracji 1,2-*cis* [8].



Schemat 11

Prowadząc badania nad otrzymywaniem glikofuranozydów wykazano, że zmianę stereochemii reakcji można uzyskać, prowadząc glikozydację wobec katalitycznych ilości dodatków, zawierających silnie spolaryzowane wiązanie C=O, S=O, P=O, jak dimetylosulfotlenek, heksametylotriamid kwasu fosforowego, tetrametylomocznik. W warunkach reakcji następuje alkilowanie atomu tlenu modyfikatora, a powstający jon oksoniowy ma preferencyjnie orientację 1,2-*trans*. Substytucja nukleofilowa przebiega z inwersją konfiguracji i powstaje w przewodzie glikozyd o konfiguracji 1,2-*cis* [51] (schemat 12).



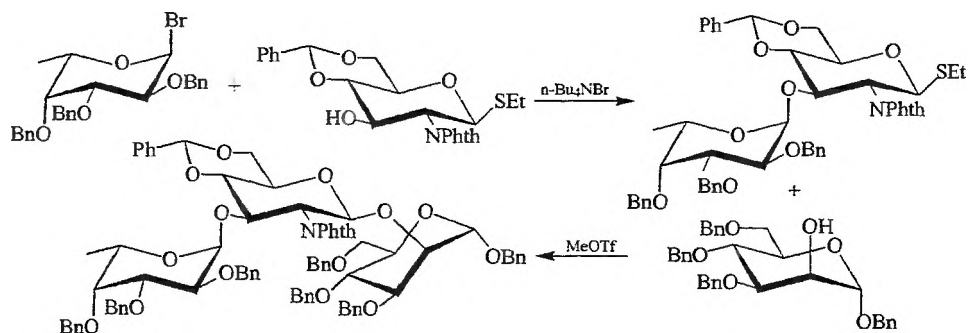
Schemat 12

5. STRATEGIA SYNTEZY OLIGOSACHARYDÓW

Prace nad syntezą glikozydów, począwszy od czasów Fischera, mieszczą się w głównym nurcie badań syntetycznej chemii węglowodanów. Konwencjonalne metody otrzymywania oligosacharydów wymagają wielu pracochłonnych syntetycznych transformacji obejmujących selektywne wprowadzanie i usuwanie grup ochronnych, separację stereoizomerycznych produktów na każdym etapie syntezy, dobór i syntezę odpowiednich donorów i akceptorów glikozylowych. Z tych powodów docelowy związek otrzymuje się drogą wieloetapową z niewielką wydajnością. Intensywne prace prowadzone w wielu laboratoriach koncentrowały się na poprawie stereoselektywności oraz uproszczeniu dróg syntezy. W strategii syntezy wielocukrów można wyróżnić kilka koncepcji, które już na dobre weszły do praktyki laboratoryjnej.

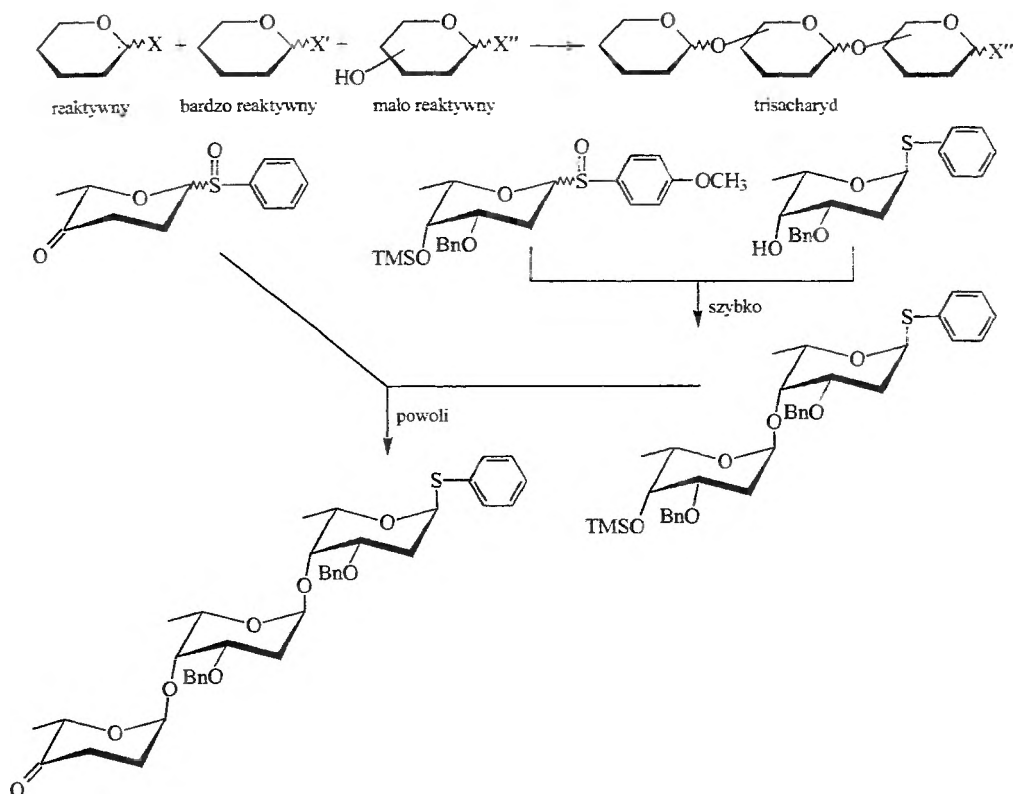
Koncepcja sekwencyjnej, liniowej syntezy oligosacharydów polega na wykorzystaniu jako substratów pochodnych monosacharydów różniących się znacznie reaktywnością, na tyle stabilnych, że można przeprowadzić reakcje selektywnego blokowania grup funkcyjnych, bez naruszenia grupy ochronnej przy węglu anomerycznym, przy czym mniej reaktywna grupa w pozycji anomerycznej w wyniku prostej transformacji lub działania odpowiedniego promotora staje się grupą opuszczającą w reakcji substytucji nukleofilowej.

Przykładem liniowej glikozylacji z użyciem tiocukrów może być synteza przedstawiona przez Lönna [19]. W pierwszym etapie syntezy donorem jest bromek fukopiranozylowy. W warunkach glikozylacji tioglikozyd selektywnie podstawiony reaguje jako akceptor. Otrzymany disacharyd aktywowany triflanem metylowym kondensuje z pochodną mannozy i uzyskuje się z dobrą wydajnością trisacharyd (schemat 13).



Schemat 13

W wersji sekwencyjnej, jednoetapowej (*one-pot*) przez dobór grup ochronnych w pierścieniu cukrowym oraz struktury grupy w pozycji anomerycznej można na tyle zróżnicować reaktywność jednostek cukrowych, że uzyskuje się z dobrą wydajnością oligosacharydy o zaplanowanej strukturze. Przykładem eleganckiej syntezy oligosacharydów w jednym procesie są prace Kahne i wsp. [62] (schemat 14).

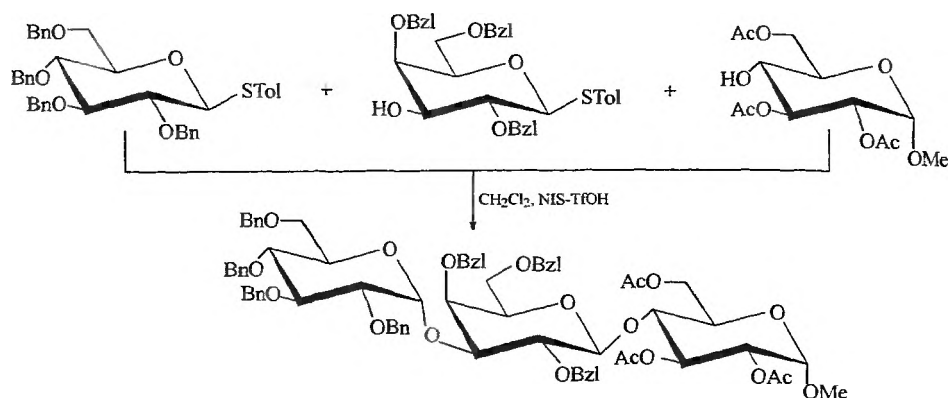


Schemat 14

Substratami są sulfotlenki glikozylowoarylowe, a aktywatorami pochodne kwasu triflowego. Badania mechanizmu wskazują, że stadium limitującym szybkość procesu jest reakcja sulfotlenku z elektrofilem, wobec tego reaktywność donora glikozylowego będzie zależna od charakteru podstawników w pozycji *para* pierścienia aryloвого. Wprowadzenie grupy metyloksyowej wykazującej efekt elektronodonorowy na tyle zwiększa reaktywność sulfotlenku *p*-metoksyfenylowego, że jest on donorem w reakcji z sulfotlenkiem fenylowym (schemat 15). W kolejnym etapie otrzymany disacharyd reaguje z najmniej reaktywnym sulfotlenkiem fenylowym. Traktując mieszaninę sulfotlenków kwasem triflowym otrzymano w jednym procesie trisacharyd z wydajnością 25%.

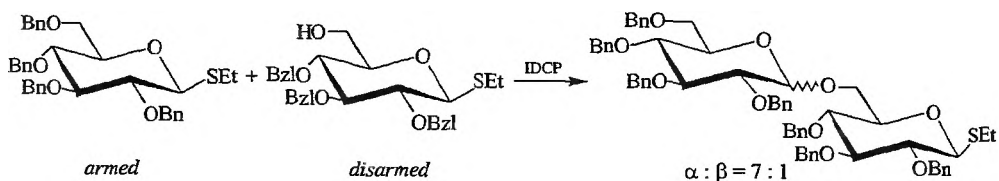
Rozszerzeniem tej koncepcji są prace Wonga i wsp. [63]. Autorzy przyjęli założenie, że możliwe jest opracowanie ogólnej drogi syntezy dowolnego oligosacharydu (*one-pot*) przez programowany dobór jednostek cukrowych, donorów-akceptorów glikozylowych różniących się znacznie reaktywnością. W pierwszym etapie realizacji tej idei opracowano ogólną procedurę ilościowej oceny względnej reaktywności kilkudziesięciu donorów i akceptorów glikozylowych. Następnie opracowano program komputerowy, który pozwolił na określenie optymalnej kombinacji substratów do uzyskania docelowego oligosacharydu. Przyjmując, że

w reakcji oligomeryzacji korzystna jest kombinacja, w której substraty najbardziej różnią się reaktywnością, otrzymano z dobrą wydajnością trisacharyd przedstawiony na schemacie 15. Najbardziej reaktywny donor zawierający benzylowe grupy ochronne (względna reaktywność $1,7 \cdot 10^4$) reaguje z grupą wodorotlenową monosacharydu z benzoilowymi grupami ochronnymi (względna reaktywność 28,9). Powstający disacharyd, w kolejnym, najwolniejszym etapie reaguje z najmniej reaktywnym akceptorem dając trisacharyd.



Schemat 15

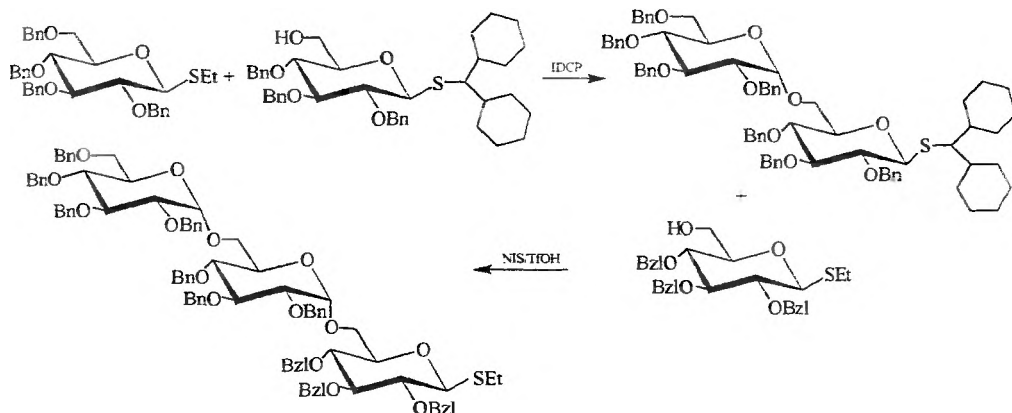
Prace wielu grup koncentrowały się na modelowaniu reaktywności donorów glikozylowych poprzez zmianę rodzaju grup ochronnych w jednostce cukrowej, tak aby zachowując podstawnik przy węglu anomerycznym uzyskać znaczne zróżnicowanie reaktywności. Jedno z bardziej efektywnych rozwiązań to zróżnicowanie grup ochronnych w sąsiedztwie węgla anomerycznego (koncepcja *armed-disarmed*) [64, 65]. Elektronoakceptorowa grupa acylowa (*disarmed*) zmniejsza na tyle reaktywność tioglikozydów w porównaniu z elektronodonorową grupą alkilową (*armed*), że w toku glikozylacji donorem jest eterowo zabezpieczony tioglikozyd (schemat 16).



Schemat 16

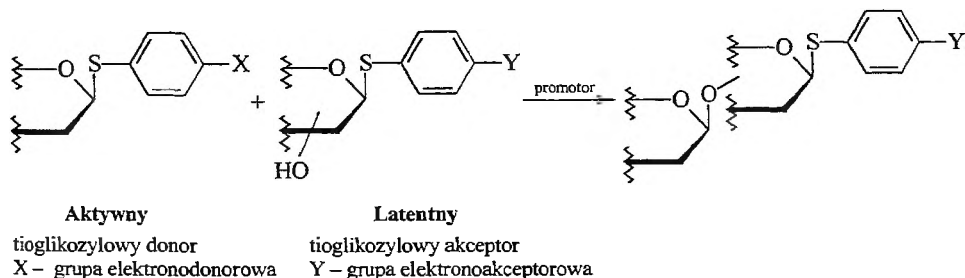
Inny kierunek modelowania reaktywności tioglikozydów to zmiana reaktywności aglikonu przez zróżnicowanie wielkości podstawników związanych z atomem siarki [66]. Zamysł taki przedstawiony jest na schemacie 17. Tioglikozyd

etylowy jest znacznie reaktywniejszy i pełni funkcję donora glikozyłowego. Otrzymany disacharyd może być donorem w kolejnym etapie glikozyłacji, gdy zastosować jako promotor układ NIS/TfOH.



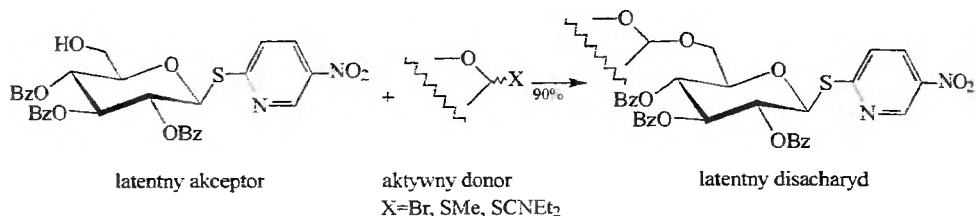
Schemat 17

W syntezie złożonych bloków oligosacharydowych z powodzeniem wykorzystano strategię „aktywnych i latentnych” tioglikozydów [67] (schemat 18). Polega ona na tym, że „latentne” tioglikozyłowe pochodne mające jedną wolną grupę hydroksylową i odpowiednio „przejściowo nieaktywną” grupę zabezpieczającą centrum anomeryczne (np. grupa tioarylowa z podstawnikiem elektroakceptorowym) służą jako glikozyłowe akceptory. Następnie „latentne” tioglikozydy mogą być aktywowane przez transformację elektroakceptorowego tioarylowego podstawnika w grupę elektronodonorową. Jest to sposób na zwiększenie podatności atomu siarki na atak elektrofilowych promotorów stosowanych w reakcjach glikozyłacji. I tak np. po wykorzystaniu nieaktywnego 4-nitrofenyloвого tioglikozydu jako akceptora, można go przekształcić w aktywny 4-acetamidofenyłowy tioglikozyd, który może być zastosowany w kolejnej reakcji glikozyłacji z *S*-nitrofenyłotioglikozyłowym akceptorem.



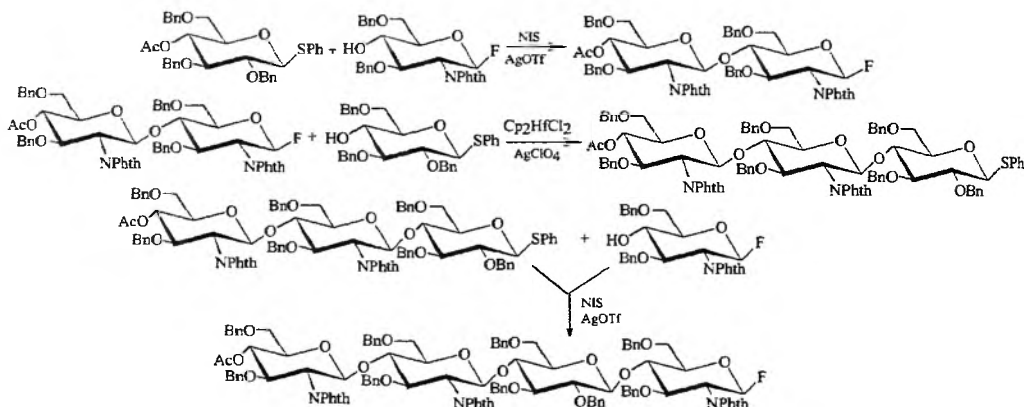
Schemat 18

Innym przykładem omawianej strategii jest zastosowanie (5-nitro-2-pirydylo) 1-tioglukozydu jako „latentnego” akceptora w syntezie tiodisacharydów pochodnych 2-deokspiranoz [68] oraz furanoz [69] (schemat 19).



Schemat 19

Tak zwaną „ortogonalną strategię glikozydacji” zaproponował Ogawa [70]. W tej wersji jednostki cukrowe różnią się charakterem podstawnika w pozycji anomerycznej. Przez dobór odpowiedniego promotora można aktywować jeden z cukrów (schemat 20).

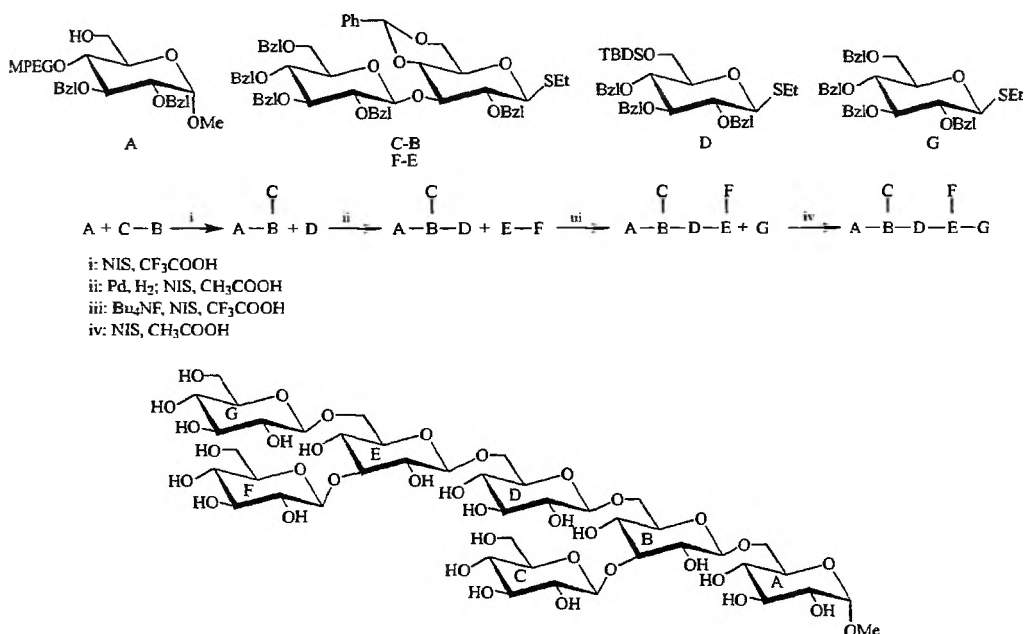


Schemat 20

6. SYNTEZA OLIGOSACHARYDÓW NA FAZIE STAŁEJ

Synteza oligopeptydów i oligonukleotydów na fazie stałej jest konwencjonalnym sposobem otrzymywania związków modelowych. Główne zalety tej metody to łatwość oczyszczenia półproduktów i docelowego produktu, minimalizacja reakcji ubocznych, eliminacja pracochłonnych chromatograficznych technik oczyszczania produktów pośrednich i końcowych. Biorąc to pod uwagę, przeprowadzono wiele prób zastosowania tej metodyki w syntezie oligosacharydów [71]. Pierwsze doświadczenia pokazały, że stosując typowe dla chemii białek stałe nośniki uzyskuje się oligosacharydy z niewielką wydajnością w postaci miesza-

ny anomerów. Skuteczny wariant syntezy na fazie stałej opracowali Krepinsky i wsp. [72]. Akceptor glikozyłowy połączono z polimerem, uzyskując związek rozpuszczalny w wielu powszechnie stosowanych w reakcji glikozydacji rozpuszczalnikach. Reakcja glikozyłacji zachodzi w zasadzie w roztworze, a produkt wydziela się, wykorzystując bardzo małą rozpuszczalność nośnika, eteru metylowego glikolu polietylenowego w eterze dietylowym. Akceptor za pośrednictwem łącznika połączony jest z polimerem przez pierwszorzędową grupę wodorotlenową. W reakcji z donorem stosowanym w nadmiarze uzyskuje się produkty glikozyłacji związane z nośnikiem. Po dodaniu eteru oddziela się system polimer-półprodukt, przemywa eterem usuwając nadmiar donora i produkty hydrolizy. Po selektywnym usunięciu przejściowej grupy ochronnej uzyskuje się akceptor glikozyłowy związany z politlenkiem i powtarza się cykl syntezy glikozydu. Przykładem szerokiego zakresu stosowania tej metody może być otrzymanie heptasacharydu [73]. Jako donory glikozyłowe zastosowano pochodne etylo- β -D-tioglukopiranozydu. Wysoką stereoselektywność reakcji uzyskano wprowadzając benzoilowe grupy w sąsiedztwie węgla anomerycznego. Aktywację donora przeprowadzono stosując bardzo aktywny układ *N*-jodoimid kwasu bursztynowego/kwas trifluoroctowy. Jako przejściowe grupy ochronne wprowadzono zabezpieczenia silylowe, usuwane działaniem fluorku tetrabutylamonionowego, lub pochodne benzylidenowe ulegające łatwo hydrogenolizie wodorem na katalizatorze palladowym (schemat 21).



Schemat 21

PIŚMIENNICTWO CYTOWANE

- [1] H. Lis, N. Sharon, *Eur. J. Biochem.*, 1993, **218**, 1.
- [2] A. Varki, *Glycobiology*, 1993, **3**, 97.
- [3] P. Sears, C.-H. Wong, *Cell. Mol. Life Sci.*, 1998, **54**, 223.
- [4] P. Roussel, G. Lamblin, [w:] *Glycoproteins and Diseases*, J. Montreuil, J.F.G. Vliegenthart, H. Schacter (red.), Elsevier, Amsterdam 1966, 351-493.
- [5] R.C. Hughes, *Membrane Glycoproteins*, Butterworths, London 1976.
- [6] J. Montreuil, *Adv. Carbohydr. Chem. Biochem.*, 1980, **37**, 157.
- [7] P. Sears, C.-H. Wong, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, 1999, **38**, 2300.
- [8] P.J. Garegg, *Adv. Carbohydr. Chem. Biochem.*, 1997, **52**, 179.
- [9] H. Paulsen, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, 1990, **29**, 823.
- [10] R. R. Schmidt, W. Kinzy, *Adv. Carbohydr. Chem. Biochem.*, 1994, **50**, 21.
- [11] S. Danishefsky, M.T. Bilodeau, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, 1996, **35**, 1380.
- [12] S. Hannessian, *Preparative Carbohydrate Chemistry*, Marcel Dekker, New York 1997.
- [13] G.-J. Boons, *Tetrahedron*, 1996, **52**, 1095.
- [14] K. Toshima, K. Tatsuta, *Chem. Rev.*, 1993, **93**, 1503.
- [15] S.H. Khan, R.A. O'Neill, *Modern Methods in Carbohydrate Synthesis*, Harwood Academic Publishers, 1996.
- [16] H. Driguez, J. Thiem, *Glycoscience*, Springer Verlag, Berlin 1999.
- [17] R.G. Pearson, *J. Am. Chem. Soc.*, 1963, **85**, 3533; *Science*, 1966, **151**, 172.
- [18] R.J. Ferrier, R.W. Hay, N. Vethaviaser, *Carbohydr. Res.*, 1973, **27**, 545.
- [19] H. Lönn, *Carbohydr. Res.*, 1985, **139**, 115.
- [20] P. Fügedi, P.J. Garegg, *Carbohydr. Res.*, 1986, **149**, C9.
- [21] V. Pozsgay, H.J. Jennings, *J. Org. Chem.*, 1987, **52**, 4635.
- [22] Y. Ito, T. Ogawa, *Tetrahedron Lett.*, 1988, **29**, 1061.
- [23] F. Dasgupta, P.J. Garegg, *Carbohydr. Res.*, 1988, **177**, C13.
- [24] G.H. Veenerman, S.H. Van Leeuwen, J.H. Van Boom, *Tetrahedron Lett.*, 1990, **31**, 1331.
- [25] H.M. Zuurmond, G.A. van der Marel, J.H. van Boom, *Recl. Trav. Pays-Bas*, 1993, **112**, 507.
- [26] S.H. Kim, D. Augeri, D. Yang, D. Kahne, *J. Am. Chem. Soc.*, 1994, **116**, 1766.
- [27] E. Fischer, K. Delbrück, *Chem. Ber.*, 1909, **42**, 1476.
- [28] J. Bogusiak, W. Szeja, *Polish J. Chem.*, 1985, **59**, 293.
- [29] M. Apparu, M. Blanc-Muesser, J. Defaye, H. Driguez, *Can. J. Chem.*, 1981, **59**, 314.
- [30] T. Norberg, [w:] *Modern Methods in Carbohydrate Synthesis*, S.H. Khan, R.A. O'Neill (red.), Harwood Academic Publishers, 1996, 86 i literatura cytowana.
- [31] H. Driguez, W. Szeja, *Synthesis*, 1994, 1413.
- [32] a) G. Pastuch, W. Szeja, *Carbohydr. Lett.*, 1997, **2**, 281; b) B. Przybysz, W. Szeja, K. Walczak, J. Suwiński, *Polish J. Chem.*, 1997, **71**, 1421.
- [33] M. Černý, J. Pacak, *Chem. Listy* 1958, **52**, 2090.
- [34] I. Fokt, W. Szeja, *Carbohydr. Res.*, 1992, **232**, 169.
- [35] I. Fokt, J. Bogusiak, W. Szeja, *Carbohydrate Letters* 1998, **3**, 191.
- [36] S. Teijima, S. Ishiguro, *Chem. Pharm. Bull.*, 1967, **15**, 255.
- [37] P. Fügedi, J. Garegg, S. Oscarson, *Carbohydr. Res.*, 1991, **211**, 157.
- [38] A. Marra, P. Sinaş, *Carbohydr. Res.*, 1989, **187**, 35.
- [39] W. Szeja, J. Bogusiak, *Synthesis*, 1988, 224.
- [40] W. Szeja, J. Bogusiak, *Carbohydr. Res.*, 1987, **170**, 235.
- [41] J. Bogusiak, I. Wandzik, W. Szeja, *Carbohydr. Lett.*, 1996, **1**, 411.
- [42] I. Wandzik, W. Szeja, *Polish J. Chem.*, 1998, **72**, 703.
- [43] J. Bogusiak, W. Szeja, *Carbohydr. Res.*, 1996, **295**, 235.
- [44] I. Wandzik, W. Szeja, *Polish J. Chem.*, 1999, **73**, 1163.

- [45] A. Marra, F. Gauffeny, P. Sinaŷ, *Tetrahedron*, 1991, **47**, 5149.
- [46] M. Michalska, J. Michalski, I. Orlich, *Tetrahedron*, 1978, **34**, 617.
- [47] S. Hashimoto, T. Honda, S. Ikegami, *Tetrahedron Lett.*, 1990, **31**, 4769.
- [48] T. Inazu, H. Hosokawa, Y. Satoh, *Chem. Lett.*, 1985, 297.
- [49] a) T. Inazu, T. Yamanoi, *Chem. Lett.*, 1989, 69; b) T. Yamanoi, T. Inazu, *Chem. Lett.*, 1990, 849.
- [50] J. Bogusiak, *Polish J. Chem.*, 1999, **73**, 619.
- [51] a) J. Bogusiak, W. Szeja, *Synlett.*, 1997, **6**, 661; b) J. Bogusiak, W. Szeja, *Carbohydr. Res.*, 2001, **330**, 141.
- [52] M. Chmielewski, J.N. BeMiller, *Carbohydr. Res.*, 1981, **96**, 73.
- [53] J. Bogusiak, W. Szeja, *J. Carbohydr. Chem.*, 1991, **10**, 47.
- [54] J. Borowiecka, P. Lipka, M. Michalska, *Tetrahedron*, 1988, **44**, 2067.
- [55] M. Michalska, J. Borowiecka, *J. Carbohydr. Chem.*, 1983, **2**, 99.
- [56] L. Laupichler, H. Sajus, J. Thiem, *Synthesis*, 1992, 1133.
- [57] H. Bielawska, M. Michalska, *J. Carbohydr. Chem.*, 1991, **10**, 107.
- [58] a) F. Barresi, O. Hindsgaul, *J. Am. Chem. Soc.*, 1991, **113**, 9376; b) F. Barresi, O. Hindsgaul, *Can. J. Chem.*, 1994, **72**, 1447.
- [59] G. Stork, G. Kim, *J. Am. Chem. Soc.*, 1992, **114**, 1087.
- [60] P. Sinaŷ, J.-M. Mallet, [w:] *Modern Methods in Carbohydrate Synthesis*, S.H. Khan, R.A. O'Neill (red.), Harwood Academic Publishers, 1996, 130 i literatura cytowana.
- [61] A. Marra, J.-M. Mallet, C. Amatore, P. Sinaŷ, *Synlett.*, 1990, 572.
- [62] D. Kahne, S. Walker, Y. Cheng, D. Van Engen, *J. Am. Chem. Soc.*, 1989, **111**, 6881; S. Raghavan, D. Kahne, *J. Am. Chem. Soc.*, 1993, **115**, 1580.
- [63] a) Z. Zhang, I.R. Ollmann, X.-S. Ye, R. Wischant, T. Baasov, C.-H. Wong, *J. Am. Chem. Soc.*, 1999, **121**, 734; b) P. Sears, C.-H. Wong, *Science*, 2001, **291**, 2344.
- [64] a) G.H. Veeneman, S.H. van Leeuwen, J.H. van Boom, *Tetrahedron Lett.*, 1990, **31**, 1331; b) G.H. Veeneman, J.H. van Boom, *Tetrahedron Lett.*, 1990, **31**, 275.
- [65] P. Konradson, U.E. Udodong, B. Fraiser-Reid, *Tetrahedron Lett.*, 1990, **31**, 4313.
- [66] G.J. Boons, P. Geurtsen, D. Holmes, *Tetrahedron Lett.*, 1995, **34**, 6325.
- [67] R. Roy, F.O. Andersson, M. Letellier, *Tetrahedron Lett.*, 1992, **33**, 6053.
- [68] G. Pastuch, I. Wandzik, W. Szeja, *Tetrahedron Lett.*, 2000, **41**, 9923.
- [69] J. Bogusiak, W. Szeja, *Tetrahedron Lett.*, 2001, **42**, 2221.
- [70] O. Kanic, Y. Ito, T. Ogawa, *J. Am. Chem. Soc.*, 1994, **116**, 12073.
- [71] J.J. Krepinsky, [w:] *Modern Methods in Carbohydrate Synthesis*, S.H. Khan, R.A. O'Neill (red.), Harwood Academic Publishers, 1996, 194 i literatura cytowana.
- [72] S.P. Douglas, D.M. Whitfield, J.J. Krepinsky, *J. Am. Chem. Soc.*, 1991, **113**, 5095.
- [73] R. Verduyn, P.A.M. van der Klein, M. Douwes, G.A. van der Marel, J.H. van Boom, *Recl. Trav. Chim. Pays-Bas*, 1993, **112**, 464.

SYNTEZA GLIKOZYDÓW, DISACHARYDÓW I PSEUDODISACHARYDÓW W REAKCJACH Z UDZIAŁEM ZWIĄZKÓW PALLADU

PALLADIUM-CATALYZED SYNTHESIS OF GLYCOSIDES AND DISACCHARIDES

Bogusław Kryczka, Stanisław Porwański

*Zakład Związków Heteroorganicznych Uniwersytetu Łódzkiego
ul. Narutowicza 68, 90-136 Łódź*

Abstract

Wstęp

Tworzenie wiązania glikozydowego

Reakcje tworzenia wiązań glikozydowych w warunkach katalizy kompleksami palladu

Reakcje glikozydowania w warunkach reakcji Hecka

Reakcja Trosta-Tsuji w syntezie glikozydów, di- i oligosacharydów oraz eterowych połączeń disacharydów

Synteza alkenylowych *N*- i *S*-glikozydów oraz *N*- i *S*-pochodnych sacharydów w reakcjach katalizowanych kompleksami palladu(0)

Piśmiennictwo cytowane



Bogusław Kryczka jest profesorem nadzwyczajnym w Katedrze Chemii Organicznej i Stosowanej Instytutu Chemii Uniwersytetu Łódzkiego. Studia chemiczne ukończył na Wydziale Matematyki, Fizyki i Chemii i od 1967 r. zatrudniony jest w Katedrze Chemii Organicznej macierzystej uczelni. Stopień doktora uzyskał w 1975 r. za pracę wykonaną pod opieką profesora Witolda Hahna. Habilitował się w 1994 r., a w 1998 r. został mianowany na stanowisko profesora nadzwyczajnego Uniwersytetu Łódzkiego.

Odbywał staże naukowe w ośrodkach zagranicznych, głównie we Francji w laboratoriach profesorów: A. Laurenta, G. Descotesa'a i D. Sinou. W latach 1983–1985 pracował w laboratorium profesora J.M.J. Frecheta w University of Ottawa w Kanadzie, a w 2001 r. na zaproszenie profesora A. Marsury w Université Poincaré w Nancy, najpierw jako *visiting professeur* i później jako *directeur de recherches* w CNRS w Nancy.

Jego zainteresowania badawcze obejmowały chemię małych naprężonych pierścieni heterocyklicznych, syntezę i badania fotochemicznych przemian poliwęglanów i polimerów z aktywną grupą węglanową, a także niektóre aspekty chemii węglowodanów. Obecnie ukierunkowany jest na badania zastosowań związków palladu jako katalizatorów, głównie w syntezie glikozydów i polisacharydów.



Dr Stanisław Porwański, adiunkt w Instytucie Chemii Uniwersytetu Łódzkiego, ukończył studia chemiczne na Uniwersytecie Łódzkim w 1987 r. W czasie studiów został zatrudniony na stanowisku technika chemika, a po ich ukończeniu na stanowisku asystenta. W latach 1996–1997 odbywał staż w Laboratorium Syntezy Asymetrycznej Uniwersytetu w Lyonie pod opieką profesora D. Sinou, gdzie zajmował się reakcjami węglanów allilowych z sacharydami, katalizowanymi kompleksami palladu(0). Pracę doktorską wykonał pod opieką profesora B. Kryczki i obronił w 1997 r. W tym też roku w ramach

konkursu został zatrudniony na stanowisku adiunkta w Katedrze Chemii Organicznej i Stosowanej UŁ. W ramach stażu podoktorskiego w Laboratorium Beghin-Say w Lyonie, kierowanym przez profesorów G. Descotes'a i Y. Queneau, w latach 1998–1999 zajmował się selektywnym zabezpieczaniem sacharozy przy udziale stałych katalizatorów, którymi były głównie związki lantanowców. Obecnie na zaproszenie Wydziału Farmacji Uniwersytetu w Nancy przebywa w laboratorium profesora A. Marsury, gdzie prowadzi badania w dziedzinie chemii supramolekularnej.

ABSTRACT

Carbohydrates are found in nature in variety of forms, in chemical association with a vast number of compounds, including other sugars, and in materials which perform a range of functions varying from structural to specifically functional in many biochemical ways [1]. The attachment of monosaccharide units to other molecules proceeds usually through the anomeric centre by *O*-, *N*-, *S*- or *C*-glycosidic bond.

Most synthetically useful glycosylation reaction is nucleophilic displacement at the anomeric centre. It occurs through glycosyl cations, usually from activated leaving groups in suitable glycosyl derivatives, most frequently halides [8] and imidate esters [9].

There are so many variables involved in glycoside and disaccharide synthesis that each target compound requires a particular strategy. That is why so many procedures have been developed to provide the regio- and stereocontrol in the glycosylation step [1]. However, these methods have been known for many years, and still modified, the selective synthesis of glycosides still determines the main challenge in the chemistry of carbohydrates.

The aim of this paper is to present the role of palladium-catalyzed methodology in glycosylation reactions.

The Heck reaction has been applied first by Daves [24] and Czernecki [25–27] to *C*-glycosidic synthesis (scheme 1).

Reaction of glycals with various reagents offering nucleophilic carbon centres in the presence of palladium-catalyst, affords important means of access to 2,3-unsaturated *C*-glycosides (scheme 4) [38–41]. The popularity of this methodology started to flourish when it was found that it was able to control the selectivity by using certain reaction procedures to give fairly predictable results [113].

Allylic carbonates are well-known compounds that undergo a variety of palladium-catalyzed reactions [11, 49]. This methodology [65, 66] has been applied to synthesis of many alkenyl glycosides [77, 78, 80], (schemes 11–13). The reaction proceeds under neutral and very mild conditions and usually gives only one anomer.

The same methodology was extended to the preparation of *C*-, *N*- and *S*-glycosides as well as unsaturated di- and trisaccharides (scheme 31) [86, 93]. These products are obtained in good yields by alkylation of ethyl α -*O*- Δ^2 -glycosides, having a leaving group at C-4, with *C*-, *N*-, *S*-nucleophiles, with various carbohydrates or with thiocarbohydrates.

The reaction is regio- and stereoselective for the α -*erythro* enoside, and only stereoselective for α -*threo* enoside.

WSTĘP

Wyniki badań ostatnich kilku dziesięcioleci wykazały rolę i znaczenie węglowodanów w wielu złożonych procesach biologicznych. Publikacje wielu grup badawczych, których intensywność zaznaczyła się szczególnie od początku lat 70. ubiegłego wieku, udowodniły, że węglowodany to nie tylko źródło energii i ważny element struktury materii w świecie ożywionym, ale także bardzo istotny czynnik kontroli skomplikowanych funkcji biologicznych żywych organizmów [1].

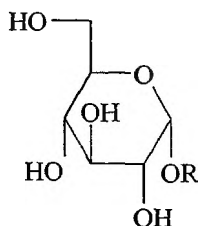
Aktywność poszczególnych węglowodanów i ich rola w specyficznych procesach biologicznych wyznaczona jest ich strukturą, od której zależą wzajemne oddziaływania cząsteczek tych węglowodanów, a także oddziaływania z innymi związkami – najczęściej peptydami [1]. Przyroda posługuje się około 20 monosacharydami, połączonymi w różnej wielkości oligosacharydy, jako źródłem informacji biologicznej, na równi z oligopeptydami, z którymi najczęściej oligosacharydy tworzą glikokoniugaty.

Poznanie budowy cukrowych fragmentów glikokoniugatów i opracowanie metod ich syntezy stanowi dzisiaj wyzwanie dla wielu grup badawczych chemików, biochemików i mikrobiologów. Wyniki tych badań będą miały decydujące znaczenie, m.in. dla poznania przyczyn powstawania wielu chorób i możliwości ich leczenia.

Jednym z bardzo istotnych elementów budowy glikozydów, oligosacharydów i glikokoniugatów jest wiązanie glikozydowe. Zasadniczą część budowy takich ważnych substancji, jak: antybiotyki [2], leki przeciwnowotworowe [3] i glikozydy nasercowe [4] stanowią fragmenty węglowodanowe połączone wiązaniem glikozydowym z pozostałą częścią wymienionych leków. Z tych też względów badania dotyczące reakcji glikozylowania stanowią jeden z centralnych problemów badawczych chemii węglowodanów.

Zgodnie z zalecaną nomenklaturą [5] *glikozydy są mieszanymi acetalami formalnie powstającymi przez eliminację wody z hemiacetalowej/hemiketalowej grupy hydroksylowej cukru i grupy hydroksylowej drugiego związku. Wiązanie między dwoma składnikami nazywa się wiązaniem glikozydowym.*

Powyższa definicja nie obejmuje wiązań S-, N- i C-glikozydowych wiążących reszty mono- i polisacharydowe z pozostałymi fragmentami glikoprotein [6].



jeżeli R = Me, to związek ten nazwiemy: α -D-glukopiranozydem metylu, jeżeli R = reszta cukru, to związek będzie disacharydem.

TWORZENIE WIĄZANIA GLIKOZYDOWEGO

Wiązanie *O*-glikozydowe powstaje w wyniku reakcji dwóch związków, z których jeden jest donorem glikozyłu, a drugi akceptorem glikozyłu.

Akceptorem glikozyłu, dla którego stosowana jest również nazwa „aglikon”, jest najczęściej związek mający wolną grupę hydroksylową. Jeżeli celem reakcji glikozylowania jest uzyskanie prostego glikozydu, to akceptorem glikozyłu jest alkohol lub fenol. Reaktywność akceptora wzrasta wraz ze wzrostem jego nukleofilowości i dla prostych glikozydów, jak np. metylu lub etylu, odpowiedni alkohol, stosowany w nadmiarze, jest jednocześnie rozpuszczalnikiem reakcji. Reakcja zachodzi w obecności kwasowego katalizatora i proces taki nazywa się glikozydowaniem Fischera [7]. Jeżeli celem reakcji jest uzyskanie odpowiedniego di- lub oligosacharydu, to akceptorem glikozyłu musi być mono- lub oligosacharyd z co najmniej jedną wolną grupą hydroksylową. Wymagania reakcji w tym przypadku są zdecydowanie wyższe i dotyczą głównie zwiększonej aktywności donora, doboru odpowiednich katalizatorów, promotorów reakcji jak również właściwego rozpuszczalnika.

Jeżeli celem reakcji glikozylowania jest uzyskanie odpowiedniego *S*-glikozydu lub związku *N*- lub *C*-glikozydowego, to akceptorem glikozyłu będzie odpowiedni reagent zdolny do utworzenia wiązania C—S, C—N lub C—C z anomerycznym atomem węgla donora glikozyłu.

Donorami glikozyłu są związki z aktywnym centrum anomerycznym, zdolnym do utworzenia wiązania glikozydowego, a więc takie, które mają łatwo odchodzącą grupę w tej pozycji. Najczęściej stosowanymi donorami glikozyłu są: halogenki i trichloroacetoimidany glikopiranozyłu, a także tioglikozydy, glikozydy pentenylu, ortoestry i 1,2-oksazolowe pochodne cukrów. Pozostałe grupy hydroksylowe donora są zwykle zabezpieczone osłonami eterowymi lub estrowymi.

W reakcji glikozydowania stosowane są ponadto katalizatory i promotory przyspieszające reakcję i umożliwiające odejście grupy opuszczającej.

Reakcja glikozydowania musi spełniać wiele wymagań, do których należą głównie: wysoka wydajność chemiczna oraz stereo- i regioselektywny jej przebieg w łagodnych warunkach. Proces jest trudny do kontrolowania ze względu na wiele czynników, które mają wpływ na jego przebieg, jak np. rodzaj grupy funkcyjnej przy anomerycznym atomie węgla, ekwatorialne czy aksjalne położenie tej grupy, rodzaj grup osłonowych, przestrzenna orientacja i miejsce położenia wolnej grupy hydroksylowej w cząsteczce akceptora, a także warunki prowadzenia reakcji.

W ciągu ubiegłego wieku opracowano bardzo wiele metod syntezy glikozydowej, poczynając od najstarszych: Fischera [7] i Koenigsa Knorra [8], poprzez wiele innych aż do jednej z najnowszych i ostatnio najczęściej stosowanej metody Schmidta [9]. Żadna jednak z opisanych metod tworzenia wiązania glikozydowego nie może być uznana za metodę uniwersalną, nadającą się do stosowania do wszystkich typów reagentów procesu glikozydowania. Trwają więc nadal

poszukiwania nowych, lepszych metod prowadzenia tej bardzo ważnej reakcji w chemii cukrów i dlatego synteza glikozydowa stanowi główny temat badawczy wielu chemików.

Szybki rozwój katalitycznych metod syntezy organicznej, jaki dokonuje się w ostatnich latach, nie mógł być pominięty także w badaniach nad metodami glikozylowania. Największe nadzieje na spełnienie wymagań stawianych reakcji glikozydowania dają reakcje katalizowane kompleksami palladu, gdyż mogą być prowadzone w łagodnych, neutralnych warunkach i charakteryzują się dużym stopniem regio- i stereoselektywności.

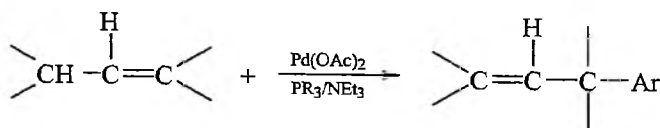
REAKCJE TWORZENIA WIĄZAŃ GLIKOZYDOWYCH W WARUNKACH KATALIZY KOMPLEKSAMI PALLADU

Reakcje katalizowane kompleksami metali przejściowych stosowane są na dużą skalę w wielkotonażowej syntezie organicznej [10] i w wieloetapowych syntezach związków o skomplikowanych strukturach chemicznych. Syntezy takie prowadzone są zwykle w homogenicznym środowisku i charakteryzują się wysokimi wydajnościami. Związki palladu(0) i palladu(II) zajmują bardzo ważne miejsce jako katalizatory lub promotory omawianych reakcji, a największe zastosowanie znalazły w reakcjach: Hecka [11], Suzuki [11a], Stille [11b] i Trosta-Tsuji [11, 12]. Reakcje te otworzyły nowe możliwości syntezy licznych związków organicznych o różnorodnej budowie, w tym także pochodnych cukrów trudnych do uzyskania innymi metodami.

REAKCJE GLIKOZYDOWANIA W WARUNKACH REAKCJI HECKA

Arylowanie i alkilowanie olefin organicznymi związkami palladu nazwano reakcją Hecka [13]. Od 1968 r., kiedy Heck opisał arylowanie związków olefinowych w obecności związków palladu [14], opublikowano wiele modyfikacji tej reakcji [15–19, 19a, b]. Wprowadzane modyfikacje dotyczyły głównie zastosowania innej pochodnej arylowej lub alkilowej, a także użycia innego związku palladu koniecznego do utworzenia pośredniego arylo- lub alkilopalladu.

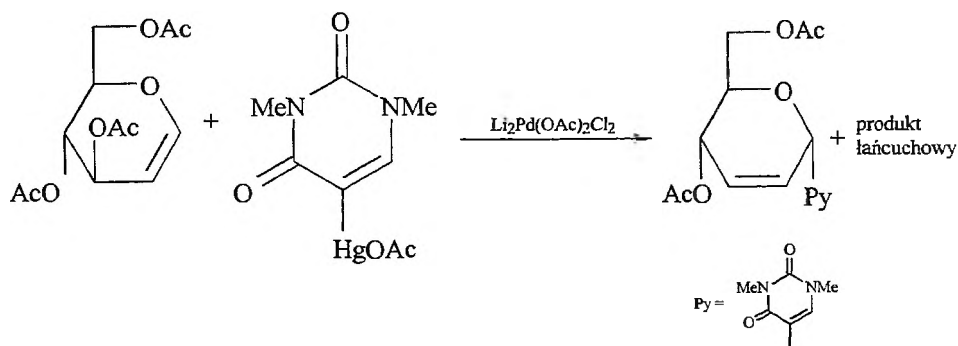
W reakcji opisanej przez Hecka wymagane są: stechiometryczna ilość octanu palladu(II), obecność zasady, koniecznej do związania wydzielającego się kwasu, oraz fosfiny, która pełni funkcję liganda i redukuje pallad(II) do palladu(0). Ogólny przebieg reakcji przedstawia poniższy schemat.



Według ogólnie uznanego mechanizmu reakcji Hecka cały proces można podzielić na cztery etapy: (1) utworzenie związku arylopalladu [zwykle w utleniającej addycji Pd(0) do halogenku aryłu, lub przez transmetalowanie pochodnej metaloaryłu palladu(II)], (2) tworzenie π -kompleksu arylopalladu z wiązaniem podwójnym olefiny, (3) przemiana π -kompleksu w addukt σ -palladoorganiczny i (4) rozkład σ -adduktu z eliminacją palladu i utworzeniem końcowego produktu [20]. Mimo wydzielenia i pełnej charakteryzacji kompleksu σ trzeciego etapu, wiele szczegółów mechanizmu tej reakcji pozostaje nadal do wyjaśnienia [21–23].

Od czasu kiedy ta dogodna metoda alkilowania i arylowania związków olefinowych została poznana, zsyntezowano bardzo wiele związków wg tego sposobu. Najczęściej stosowanymi odczynnikami alkilującymi czy aryłującymi, oprócz odpowiednich bromków i jodków, były związki rtęcioorganiczne [19].

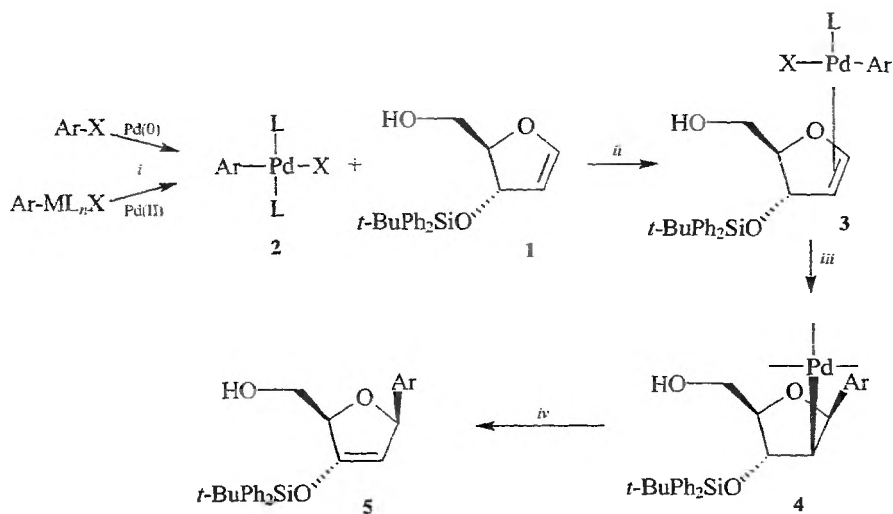
Jednym z pierwszych, który zastosował związki palladu w syntezie pochodnych cukrów, był Daves [24]. Autor ten wraz ze współpracownikami otrzymał szereg C-nukleozydów w warunkach reakcji Hecka, poddając 1,2-nienasycone monosacharydy działaniu rtęciooctanu 1,3-dimetylo-2,4-dioksy-1,2,3,4-tetrahydropyrimidyno-5-ylu. Reakcja była prowadzona w obecności równomolowych ilości octanu palladu i dwukrotnego nadmiaru chlorku litu w acetonitrylu. Odpowiednie C-glikozydy uzyskali autorzy z wydajnością 20–66%, a reakcja w każdym przypadku prowadziła do utworzenia wiązania α -C-glikozydowego. Jednym



z wymienianych tam przykładów jest C-glikozydowanie 3,4,6-tri-O-acetylo-D-glukalu. Kolejne prace grupy Davesa, a także Czerneckiego [25–27] wykazały szersze możliwości syntezy C-glikozydów metodą homogenicznej katalizy kompleksami palladu i pozwoliły wyjaśnić wiele istotnych uwarunkowań dotyczących regio- i stereochemii tego procesu. Regio- i stereoselektywność tworzenia C-glikozydów badano głównie na przykładzie C-glikozydowania glikalu furanowego **1** [28].

Stereochemię reakcji wyznacza drugi etap, w którym pochodna palladu **2** tworzy kompleks angażując elektrony π eteru enolowego glikalu **1**. Łączenie takie zachodzi od strony mniej zastąpionej pięciocłonowego pierścienia [20]. Na-

tomiast regioselektywność tworzenia kompleksu 4 zależy głównie od polarności wiązania π prowadząc do utworzenia wiązania C-glikozydowego [29, 30]. Rozpad tego kompleksu w czwartym etapie, przez eliminację *syn* palladu i wodoru z pozycji β , daje końcowy C-glikozyd 5.



Schemat 1. L – ligand (najczęściej fosfina), *i* – tworzenie związku arylopalladu, *ii* – tworzenie kompleksu π , *iii* – tworzenie kompleksu σ , *iv* – rozpad kompleksu σ

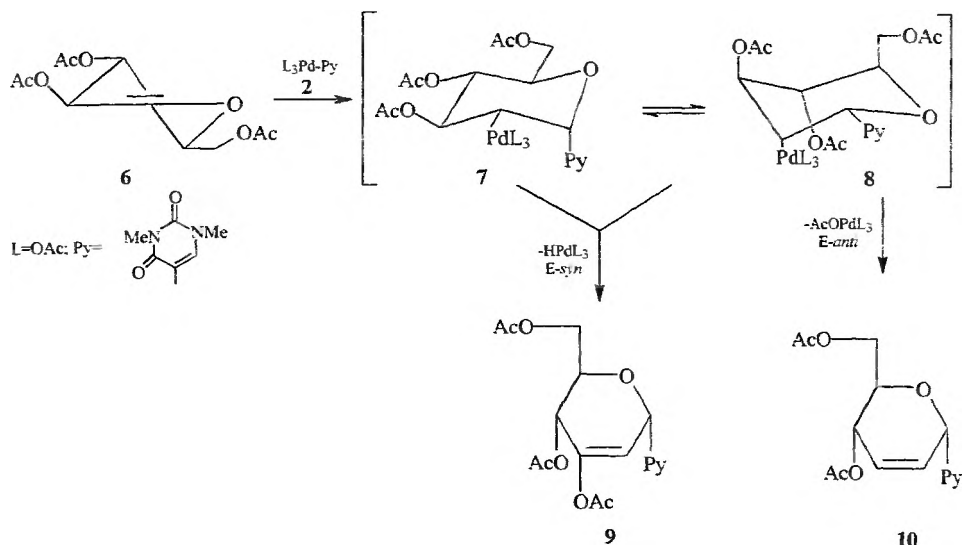
Podobne obserwacje dotyczące regio- i stereochemii reakcji C-glikozydowania w obecności związków palladu odnoszą się także do piranozowej serii glikali [28–31]. Wyizolowanie kompleksu σ 7 i analiza jego struktury metodą NMR [23] pozwoliły ustalić, że pallad i arylowa część związku przejściowego 2 łączą się z podwójnym wiązaniem glikalu 6 wg mechanizmu *syn*, gdyż w utworzonym addukcie σ pallad zajmuje położenie ekwatorialne, a część aglikonowa aksjalne [24, 31].

Mimo że reakcja jest regio- i stereoselektywna, to jej użyteczność syntetyczną znacząco pomniejsza możliwość tworzenia się mieszaniny produktów 9 i 10. Dynamiczna równowaga dwóch krzesłowych form kompleksu σ 7 daje możliwość rozpadu tego kompleksu zarówno drogą eliminacji *syn*, jak i drogą eliminacji *anti*.

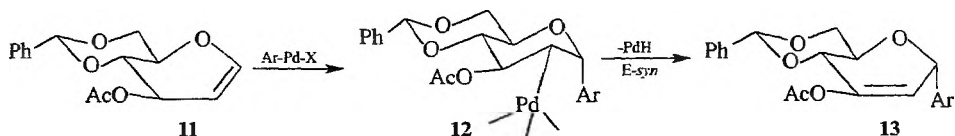
Eliminacja *anti* jest możliwa tylko w przypadku, kiedy pallad i grupa acetylowa w pozycji β mają ułożenie *trans*-diaksjalne [21, 32]. Kontrolę rozpadu kompleksu σ i zapobieżenie tworzenia się mieszaniny produktów zapewnia użycie cukru z ustaloną konformacją poprzez odpowiednie blokady jak dla glukalu 11 [33].

Kontrolę rozpadu kompleksu σ można również uzyskać przez zmianę charakteru grupy zabezpieczającej w pozycji 3 glikalu. Dobra grupa opuszczająca

w pozycji 3, jak np. OAc, prowadzi do eliminacji typu *anti*, natomiast słabe grupy opuszczające, jak np. triizopropylsilylowa [20], powodują eliminację *syn* wodoru i palladu [24, 34].

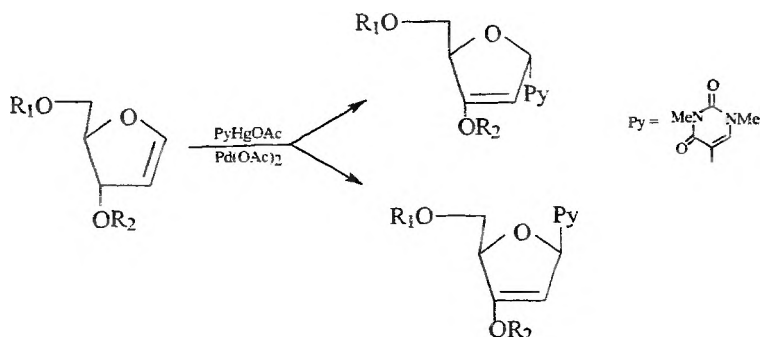


W pewnych przypadkach, jak np. łączenia związków rtęcioorganicznych z dihydropiraniem w obecności związków palladu, wydzielano także izomery głównego produktu, będące efektem migracji wiązania podwójnego [24].



Wpływ różnych czynników na regiochemię syntezy glikozydów badał głównie Czarniecki ze wsp. [35, 36]. Obiektem badań była reakcja arylowania glikali i enonowych układów monosacharydów z podwójnym wiązaniem w pozycji 1,2 i tlenem ketonowym przy węglu C-3. Wybór takich reagentów był podyktowany znanym faktem, że reakcje, w których stosowany jest pallad, zachodzą głównie z wiązaniem podwójnym o zmniejszonej gęstości elektronowej [37].

W literaturze chemicznej można także znaleźć wiele przykładów stosowania reakcji Hecka w syntezie glikozydów cukrów furanozowych [38–41]. Przebieg reakcji zależy od wielu czynników i może prowadzić zarówno do α , jak i β C-glikozydów.

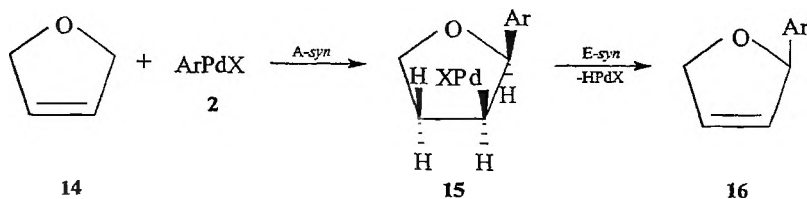


Schemat 4

Przeprowadzone badania wykazały, że w przypadku glikali furanozowych przestrzenny przebieg reakcji zależy od podstawników zarówno w pozycji 3 (tak jak w serii piranozowej), jak i w pozycji 5. Stereoselektywność reakcji zależy od sposobu ataku organicznego kompleksu palladu na podwójne wiązanie glikalu:

- jeżeli żadna z grup hydroksylowych nie jest podstawiona, to atak kompleksu zachodzi zarówno z jednej, jak i z drugiej strony pierścienia furanozowego i tworzy się mieszanina glikozydów α oraz β ,
- jeżeli jedna z grup OH w pozycji 3 lub 5 jest podstawiona, to atak kompleksu palladu zachodzi od przeciwnej strony większego przestrzennie podstawnika,
- jeżeli obie grupy OH są podstawione, to atak zachodzi od przeciwnej strony podstawnika przy atomie węgla C-3, który znajduje się bliżej wiązania podwójnego i ma zatem większy wpływ na stereochemię reakcji [39].

Podobnie jak w przypadku cukrów piranozowych, najlepszym czynnikiem decydującym o stereoselektywności reakcji jest możliwość kontrolowania rozpadu kompleksu σ przez wprowadzanie odpowiednich grup w pozycję 3 wyjściowych glikali. Sposób ten ma jednak spore ograniczenie w serii furanozowej, gdyż łatwo opuszczający podstawnik w pozycji 3 powoduje znaczące obniżenie trwałości glikalu przez eliminację prowadzącą do furanu. Dihydrofuran **14** z atomami wodoru w pozycji 3 i 4 w reakcji z organicznym związkiem palladu **2** przez *syn* eliminację palladu i wodoru β z kompleksu σ **15** daje tylko jeden końcowy produkt **16** [29, 42].

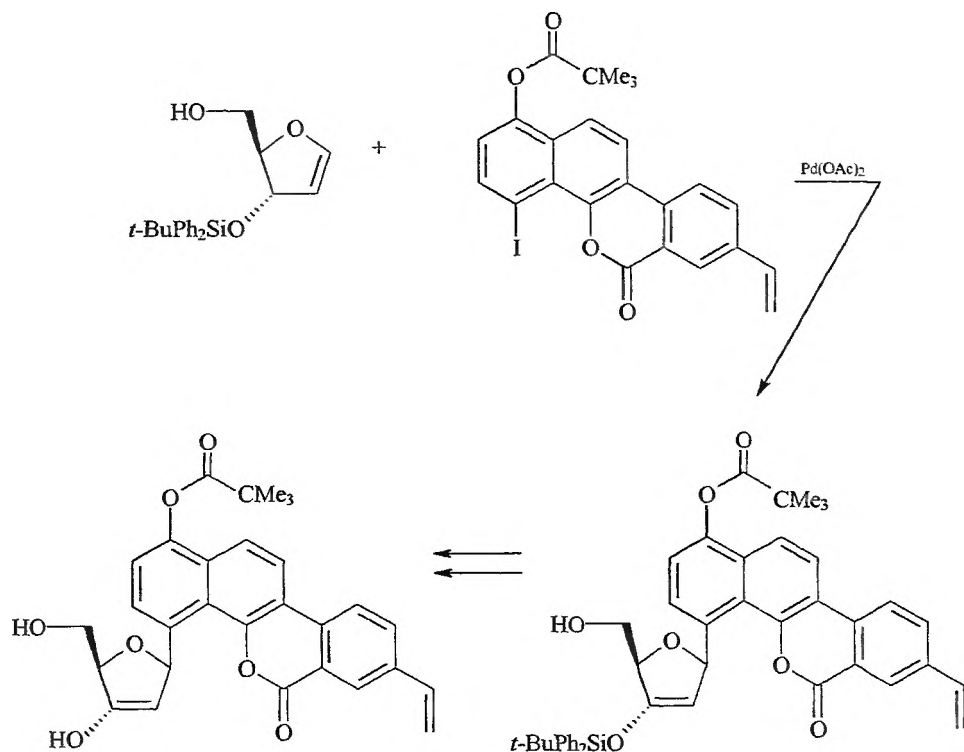


Schemat 5

Przykłady zastosowań reakcji Hecka w syntezie C-glikozydów pochodzenia naturalnego

Omawiana metoda tworzenia wiązania C-glikozydowego stanowi w wielu przypadkach kluczowy etap syntezy analogów C-glikozydów naturalnych, które stosowane są w leczeniu jako antybiotyki. Metoda ta wykorzystywana jest także powszechnie w syntezie syntonów pozwalających uzyskiwać produkty naturalne o skomplikowanych strukturach [25, 42–45].

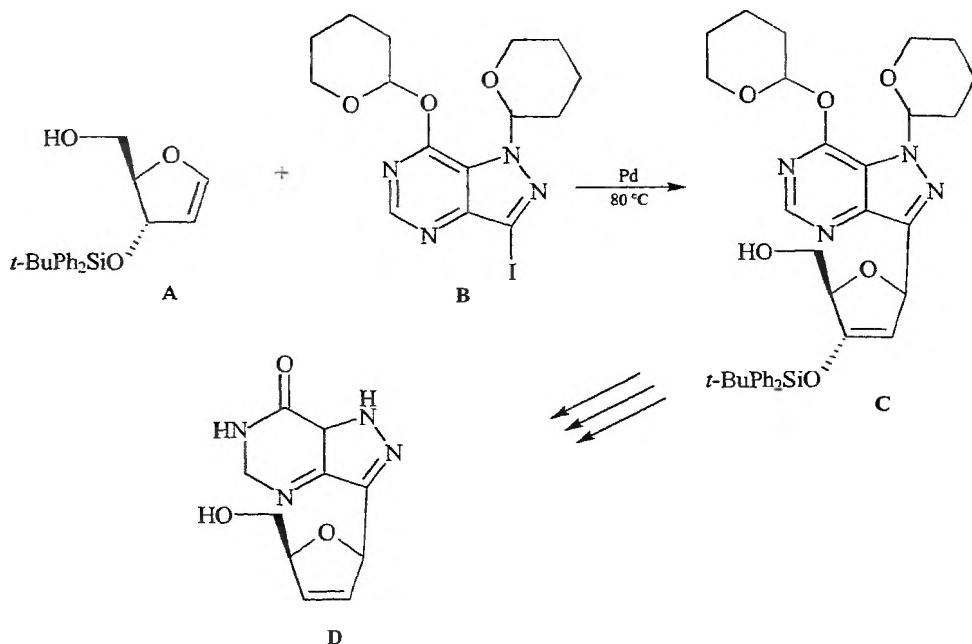
Jednym z takich przykładów jest synteza C-glikozydów z grupy antracyklin, jak na schemacie 6:



Schemat 6

C-nukleozydy, analogi odpowiednich N-nukleozydów, stanowią ważną grupę związków w poszukiwaniach leków do walki z wirusem HIV. W syntezie jednego z takich potencjalnych leków, związku D, który jest analogiem formycyny w głównym etapie łączenia dwóch fragmentów cząsteczki wiązaniem glikozydowym wykorzystana jest reakcja Hecka [46]. Reakcja łączenia glikalu z jodkiem pirazolo[4,3-d]pirymidyny poprzez kompleks palladu prowadzona jest w obecności tryfenylofosfiny [23, 47] i daje β C-nukleozyd C z wydajnością

61%. Dalsze etapy reakcji, w których zdejmowane są zabezpieczenia grup hydroksylowych, prowadzą do końcowego produktu 2',3'-dideoksyformycyny B (D) [48] (schemat 7).



Schemat 7

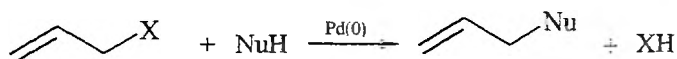
Kilka pokazanych przykładów (z bardzo wielu, które znaleźć można w literaturze) zastosowań reakcji Hecka do łączenia glikali furanozowych i piranozowych z pochodnymi aryłowymi o różnej budowie potwierdza, że jest to dogodna i skuteczna metoda syntezy C-glikozydów. Dobór odpowiednich reagentów i warunków reakcji pozwalają na kontrolowanie regio- i stereochemii procesu, który przebiega w łagodnych warunkach i z doskonałymi zazwyczaj wydajnościami.

REAKCJA TROSTA-TSUJI W SYNTEZIE GLIKOZYDÓW, DI- I OLIGOSACHARYDÓW ORAZ ETERYCZYCH POŁĄCZEŃ DISACHARYDÓW

Regio- i stereoselektywność reakcji

Reakcja Hecka, omawiana w poprzednim rozdziale, dała nowe możliwości syntezy połączeń cukrowych o bardzo interesujących aktywnościach biologicznych. Ograniczeniem tej reakcji w chemii cukrów jest fakt, że stosowana jest do tworzenia wiązań C—C, a więc głównie w reakcjach C-glikozydowania.

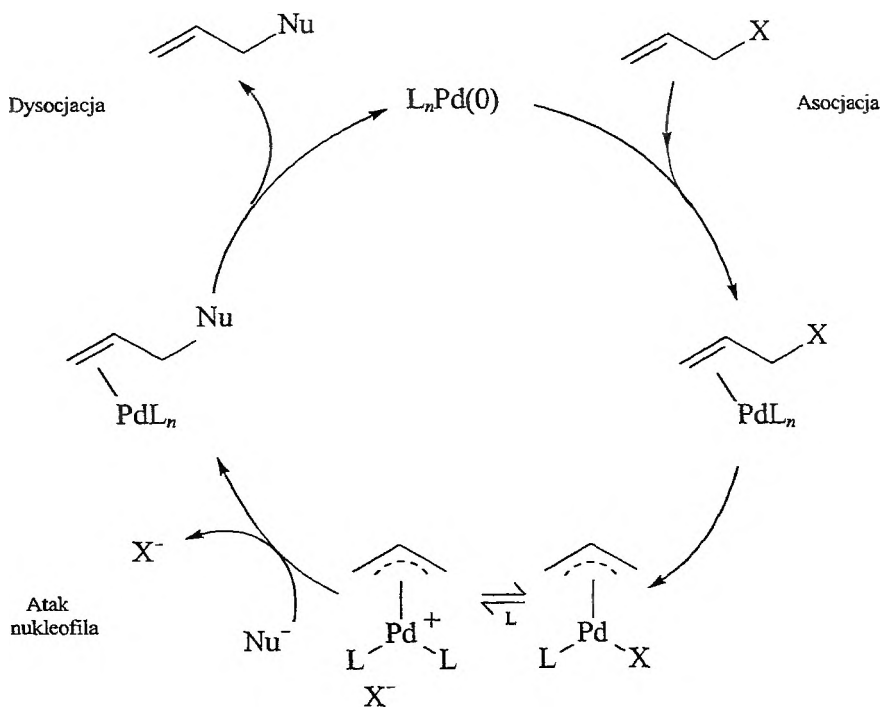
Reakcja Trosta-Tsujii [11, 49] daje natomiast możliwości tworzenia wiązań C-, O-, N- i S-glikozydowych. Reakcja ta jest procesem allilowego alkilowania nukleofilów (węglowych, tlenowych, azotowych, siarkowych) w obecności kompleksów palladu(0). Ogólny zapis reakcji przedstawiono na schemacie 8.



Schemat 8. X – grupa odchodząca

Związek palladu(0), stosowany jako katalizator w tej reakcji, tworzy kompleks π -(allilo-palladu), który następnie reaguje z odpowiednim nukleofilem dając jego alkenylową pochodną.

Ogólnie uznawany mechanizm tej katalitycznej reakcji zakłada tworzenie się kompleksów π -(allilo-palladu) w utleniającej addycji związków palladu(0) z różnymi pochodnymi allilu (prekursory π kompleksów). Następną reakcją utworzonego kompleksu z nukleofilem prowadzi do jego alkenylowania [50, 51]. W kolejnym etapie reakcji odtwarzany jest początkowy związek palladu(0), który ponownie bierze udział w utleniającej addycji ze związkiem allilowym.



Schemat 9

Przydatność reakcji Trosta-Tsuji w syntezach pochodnych węglowodanów wyznaczona jest głównie regio- i stereoselektywnością tego procesu, a także możliwością jego prowadzenia w łagodnych i neutralnych warunkach.

Regiochemia ataku nukleofila na kompleks π -(allilo-palladu) zależy głównie od czynników sterycznych związanych z budową pochodnej allilu, ale także od charakteru nukleofila i stosowanych w reakcji ligandów [52, 53]. Atak nukleofila następuje na pozycję najmniej osłanianą kompleksu, chociaż znane są przykłady reakcji nukleofila od bardziej zatłoczonej strony [54].

Stereochemia reakcji związków allilowych z różnymi nukleofilami była intensywnie badana głównie przez Trosta [56, 57], ale także przez Akermarka [58, 59] i innych [60, 61]. Trost w swoich początkowych pracach dotyczących tej tematyki dawał przykłady, że ta allilowa substytucja typu S_N2 przebiega w 100% z retencją konfiguracji. Tworzenie się tylko jednego izomeru trudno pogodzić ze znanym faktem izomeryzacji kompleksów π -(allilo-palladu).



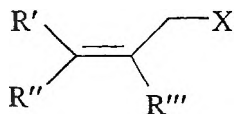
Dobrze udokumentowane wyniki powyższych badań wskazują, że reakcja allilowego alkilowania przebiega ze znacznie większą szybkością niż izomeryzacja, a cały proces kontrolowany jest kinetycznie [53].

Dalsze prace (także Trosta) [57, 58], w których stosowano różne nukleofile w badaniach reakcji Trosta, pokazały, że stereochemia tego procesu zależy głównie od typu stosowanego nukleofila. Nukleofile miękkie atakują bezpośrednio jeden z atomów węgla układu π -allilu (pozycja miękka) i reakcja zachodzi z retencją konfiguracji (jako wynik dwóch kolejnych inwersji).

Nukleofile twarde atakują pozycję twardą układu π -(allilo-palladu), czyli atom palladu. Atak na atom węgla odbywa się więc ze sfery koordynacji metalu, a więc od strony przeciwnej grupy opuszczającej, prowadząc do inwersji konfiguracji [58, 62].

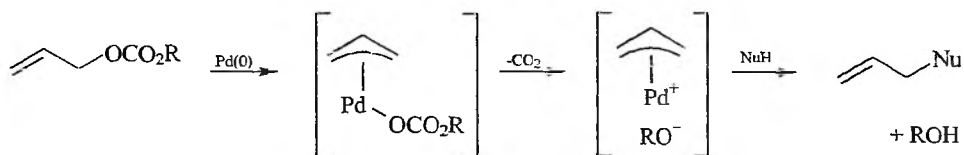
Związki allilowe stosowane jako prekursorzy układu π -(allilo-palladu)

Aktywnymi prekursorami kompleksu π -(allilo-palladu) w reakcjach alkenylowania nukleofili katalizowanych związkami palladu(0) są pochodne olefin z dobrą grupą odchodzącą w pozycji allilowej. Najczęściej stosowanymi związkami w tych reakcjach są: chlorki i octany allilu, ale także odpowiednie alkohole, eter, sulfony, aminy, sole amoniowe i węglany [63, 64].



$R', R'', R''' = \text{H, alkil, aryl}$
 $X = \text{Cl, OAc, OH, OR, SO}_2\text{R, NH}_2, \text{OCO}_2\text{R}$

Węglany allilu [65, 66] zajmują szczególne miejsce wśród wymienionych prekursorów kompleksów π -(allilo-palladu), gdyż reakcja z ich udziałem nie wymaga obecności zasady (tak jak w przypadku np. octanów czy chlorków) i proces może być prowadzony w neutralnym środowisku. Jest to szczególnie istotne w reakcjach z udziałem cukrów, które w środowisku zasadowym ulegają łatwo przemianom prowadząc do tworzenia produktów ubocznych. Reakcje z karbamiinami allilu [67], eterami arylo-allilowymi i odpowiednimi epoksydami [68, 69] także nie wymagają obecności zasad, ale nie uzyskały takiego znaczenia jak węglany. Przewaga węglanów nad innymi prekursorami wynika również z faktu, że w reakcjach z ich udziałem wydzielający się CO_2 przesuwa równowagę reakcji w stronę końcowego produktu, uaktywniając proces i upraszczając jednocześnie wydzielanie i oczyszczanie produktów.



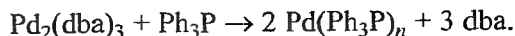
Schemat 10

Katalizatory palladowe

W syntezie organicznej, z zastosowaniem homogenicznej katalizy związkami palladu, używane są głównie dwa rodzaje pochodnych palladu: sole Pd(II) i kompleksy Pd(0). Związki Pd(II) stosowane są głównie jako reagenty stechiometryczne, ale także jako katalizatory, natomiast kompleksy Pd(0) tylko jako katalizatory. Chlorek i octan palladu(II) (PdCl_2 i $\text{Pd}(\text{OAc})_2$) są produktami handlowymi, stosowanymi także jako specyficzne utleniacze. Niektóre sole Pd(II) używane jako źródło związków Pd(0), jak np. $\text{PdCl}_2(\text{Ph}_3\text{P})_2$, który w obecności $i\text{-Bu}_2\text{AlH}$, BuLi ulega redukcji do $\text{Pd}(\text{Ph}_3\text{P})_n$ [70, 71]. Octan palladu(II) bardzo często stosowany jest w reakcjach katalizowanych kompleksami palladu(0). Związek ten łatwo ulega redukcji do Pd(0) wodorkami metali (NaBH_4 , LiAlH_4), tlenkiem węgla lub alkoholami w obecności ligandów fosfinowych lub bezpośrednio samymi fosfinami już w środowisku reakcji katalizowanej kompleksami Pd(0) [72].

Dwa związki palladu(0) są dostępne w handlu: tetrakis(trifenylfosfino)pallad [$\text{Pd}(\text{Ph}_3\text{P})_4$] i tri(dibenzylidenoacetonodipallad [$\text{Pd}_2(\text{dba})_3$]. $\text{Pd}_2(\text{dba})_3$ jest

w wielu reakcjach aktywnym katalizatorem, ale najczęściej stosowany jest jako źródło Pd(0) do przygotowania kompleksów (PdL_n) z innymi ligandami (L jest zazwyczaj ligandem fosfinowym), które bardziej skutecznie katalizują alkenylo-
wanie nukleofili.



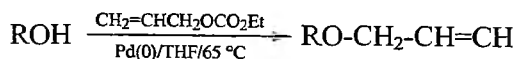
Najczęściej stosowanym ligandem w kompleksach palladu(0) jest trifenylofosfina, wśród wielu dostępnych i także stosowanych innych związków fosfinowych. Wybór odpowiedniej fosfiny dyktowany jest zazwyczaj oczekiwaniami stawianymi syntezie (wydajność reakcji, regioselektywność, stereoselektywność), a także budową i właściwościami reagentów (nukleofili i związków allilowych). Elektronodonorowe alkilofosfiny, takie jak tri(2,4,6-trimetoksyfenylo)fosfina (TTMPP) i tri(2,6-dimetoksyfenylo)fosfina (TDMPP) wpływają na znaczące przyspieszenie etapu utleniającej addycji.

Tri(*m*-sulfofenylo)fosfina (TMSPP) i difenylo(*m*-sulfofenylo)fosfina (DPM-SPP) są związkami rozpuszczalnymi w wodzie i w związku z tym są stosowane w reakcjach katalizowanych w środowisku wodnym [73, 74]. Bidentne fosfiny, takie jak 1,4-bis(difenylofosfino)etan (dppe) i 1,4-bis(difenylofosfino)butan (dppb) są bardzo często stosowane, gdyż reakcje z ich udziałem charakteryzują się zwykle zwiększonym stopniem stereoselektywności.

W asymetrycznej indukcji metodą katalitycznego allilowego alkilowania stosowane są głównie chiralne fosfiny, jak np. 2,3-*O*-izopropylideno-2,3-dihydroksy-1,4-bis(difenylofosfino)butan (DIOP), 1,2-bis(*O*-anizylofenylofosfino)etan (DIPAMP), 1,2,2-trimetylo-*cis*-1,3-bis(difenylofosfino)metylocyklopentan (CAMPHOS). W tej grupie ligandów stosowane są także fosfinowe pochodne ferrocenu (dppf), binaftyłu (BINAP) i wiele innych [75, 19b, 75a], a także ligandy osadzone na polimerach [75b].

Synteza *O*-glikozydów i *O*-alkenylowych pochodnych sacharydów w reakcjach katalizowanych kompleksami palladu(0)

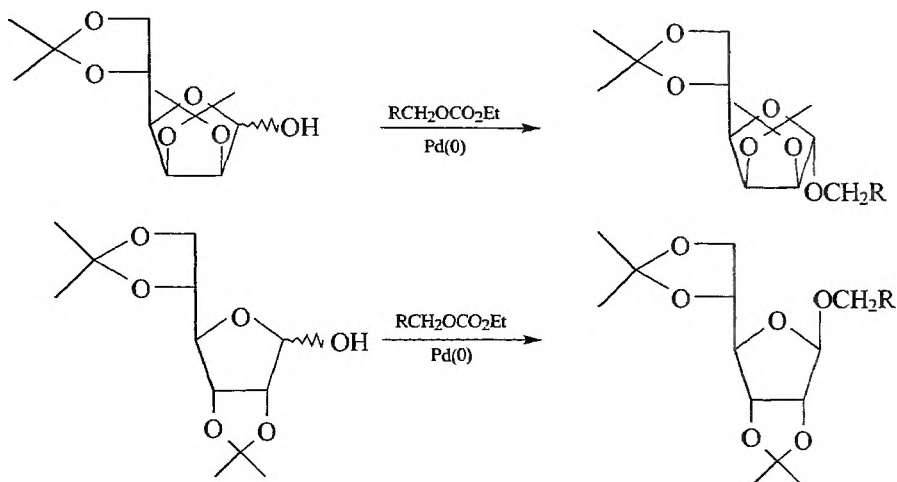
Guibe [65] i później Tsuji [66] opisali sposób przekształcania węglanów allilu w odpowiednie etery w łagodnych warunkach katalizy kompleksami palladu(0). Na podstawie tej metody Sinou ze wsp. [76] zaproponował bardzo wygodny sposób syntezy eterów allilowych, bezpośrednio z odpowiedniego alkoholu i prostego węglanu allilu.



Wybrany alkohol poddaje się reakcji z łatwo dostępnym węglanem metylu lub etylu w obecności katalitycznych ilości przygotowanego *in situ* kompleksu palladu(0) w tetrahydrofuranie w obojętnym środowisku. Metoda ta była wyko-

rzystana między innymi do blokowania grup hydroksylowych sacharydów osłoniętymi alkiloksykarbonyłowymi [77], ale głównie do otrzymywania szeregu glikozydów allilu [78].

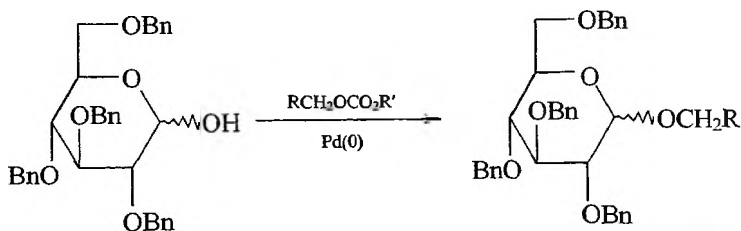
Różne pochodne węglanów allilu z cukrami mającymi wolne grupy hydroksylowe w położeniu anomerycznym prowadzą do odpowiednich alkenylowych *O*-glikozydów z bardzo dobrymi wydajnościami [79].



Schemat 11. R: $\text{CH}_2=\text{CH}-$; $\text{C}_6\text{H}_5-\text{CH}=\text{CH}-$; $\text{CH}_2=\text{C}(\text{C}_6\text{H}_5)-$

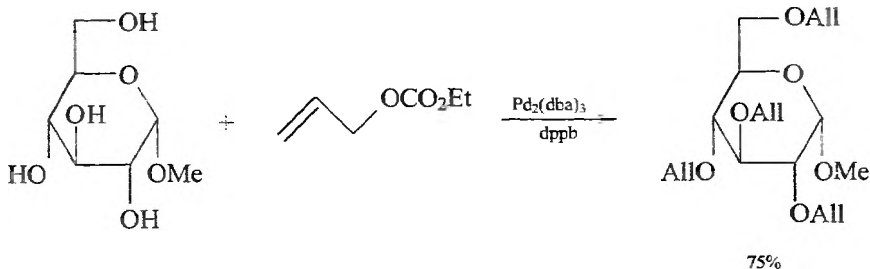
Manno- i rybofuranozy z jedną tylko wolną grupą hydroksylową w położeniu anomerycznym dawały w tych warunkach tylko jeden, α lub β , anomer z bardzo dobrą wydajnością chemiczną.

Stereoselektywność reakcji w przypadku glukopiranozy była znacznie niższa i w zależności od stosowanych warunków uzyskiwano w przewadze α albo β izomer. Jeśli alkilowaniu poddawany jest cukier z więcej niż jedną grupą hydroksylową, to reakcja preferencyjnie zachodzi w położeniu anomerycznym. Dobierając odpowiednie warunki można przeprowadzić alkenylowanie wszystkich grup hydroksylowych w sacharydach posiadających większą liczbę niezabezpieczonych grup OH [77, 80].



Schemat 12. R: $\text{CH}_2=\text{CH}-$; $\text{C}_6\text{H}_5-\text{CH}=\text{CH}-$; $\text{CH}_2=\text{C}(\text{C}_6\text{H}_5)-$. R': Et; *t*-Pr; *t*-Bu

Tę katalityczną metodę alkenylowania nukleofili tlenowych zastosowano ostatnio do syntezy bis-alliloksyarenów. Trudno dostępne na innej drodze alliloksyareny uzyskuje się z bardzo dobrymi wydajnościami i w łagodnych warunkach [81, 82].



Schemat 13

**SYNTEZA ALKENYLOWYCH *N*- I *S*-GLIKOZYDÓW
ORAZ *N*- I *S*-POCHODNYCH SACHARYDÓW
W REAKCJACH KATALIZOWANYCH KOMPLEKSAMI PALLADU(0)**

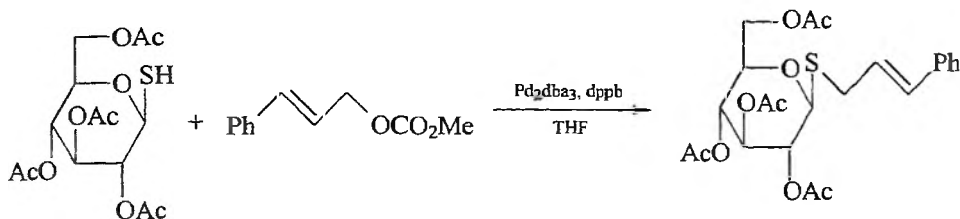
Azotowe i siarkowe pochodne cukrów stanowią bardzo ważną grupę związków zarówno ze względu na ich znaczenie w przyrodzie, gdzie występują w różnych połączeniach jako produkty naturalne [1, 83, 84], jak i na ich rolę w wielu syntezach pochodnych węglowodanów [85]. Wiązanie *N*-glikozydowe wiąże poszczególne fragmenty wielu cząsteczek pochodzenia naturalnego o kapitalnym znaczeniu dla procesów życiowych. Jednym z przykładów znaczenia związków zawierających wiązanie *S*-glikozydowe może być linkomycyna – antybiotyk stosowany w leczeniu infekcji wywołanej Gram-dodatnimi bakteriami [84].

Zaproponowanie nowej metody syntezy glikozydów *N*- i *S*-alkenylu w reakcji realizowanej w łagodnych neutralnych warunkach ma więc uzasadnienie.

Reakcja *N*-alkilowania glikozyloamin stwarza zwykle więcej problemów niż reakcja *O*-glikozydowania, głównie ze względu na udział iminowej formy łańcuchowej aminocukru w mieszaninie reakcyjnej. Sądzymy, że była to przyczyna niepowodzeń w próbach uzyskania *N*-alkenylowej pochodnej glukozyloaminy w reakcjach tego cukru z węglanami allilu w obecności kompleksów palladu(0) [86]. *N*-glikozydy i inne *N*-pochodne sacharydów można jednak łatwo uzyskać w reakcjach katalizowanych kompleksami palladu(0) stosując odwróconą procedurę, w której dawcą atomu azotu jest aglikon [86].

Pierwsze próby zastosowania homogenicznej katalizy do syntezy prostych tioeterów alkilowo-allilowych zostały podjęte jednocześnie w zespołach Moreno-Manasa [87, 88] i Sinou [89, 90]. Pozytywne wyniki tych prób zachęcały do sprawdzenia tej metody w syntezach tioglikozydów i *S*-alkenylowych pochodnych sacharydów.

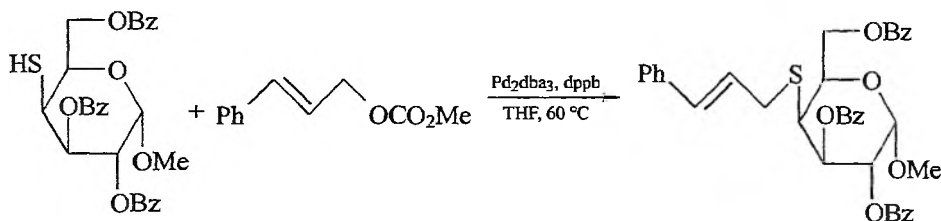
Tetra-*O*-acetylo-1-tio- β -*D*-glukopiranoza w reakcji z węglanem cynamylu-metylu w obecności katalizatora Pd(0) z ilościową wydajnością daje β -tioglikozyd [91, 92]



Schemat 14

Reakcja prowadzona jest w temperaturze pokojowej dając tylko anomer β . Reakcja jest także regioselektywna, gdyż wydzielony β -tioglikozyd cynamylu jest produktem ataku nukleofila na pozycję najbardziej oddaloną od podstawnika fenylowego w pośrednim kompleksie π -(allilo-palladu).

Wysokie wydajności uzyskano także w reakcji alkenylowania pochodnej 4-tio- α -*D*-galaktopiranozydu metylu [86, 93].



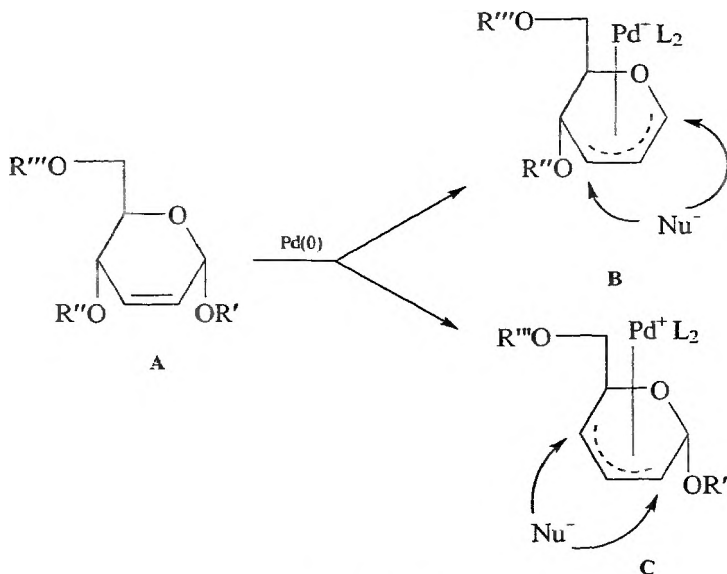
Schemat 14a

Reakcja prowadzona w temperaturze pokojowej dała 4-*S*-cynamylo-4-tio- α -*D*-galaktopiranozyd metylu z 79% wydajnością, a w temperaturze 60 °C z wydajnością 82%. Pierwszorzędowa grupa tiolowa w pozycji 6, 1,2:3,4-di-*O*-izopropylideno-6-tio- α -*D*-galaktopiranozy okazała się zdecydowanie mniej reaktywna i w reakcji z węglanem cynamylu-metylu w takich samych warunkach, uzyskano odpowiednią 6-*S*-cynamylo pochodną z wydajnością 7%.

2,3-nienasycone monosacharydy jako prekursorzy kompleksów π -(allilo-palladu) w reakcjach syntezy glikozydów, związków glikozytowych, disacharydów i pseudodisacharydów

Nienasycone monosacharydy z wiązaniem podwójnym w położeniu 1,2 (glikale, omówione w poprzednich rozdziałach) były pierwszymi pochodnymi cukrów, które zastosowano w syntezach katalizowanych kompleksami palladu(II)

i palladu(0) [24]. Rozwój katalitycznych metod syntezy wzorowanych na reakcji Hecka [14], a także dalsze odkrycia Trosta i Tsuji [11] i coraz szersze stosowanie tych metod w chemii cukrów doprowadziły do koncepcji wykorzystania 2,3-nienasyconych sacharydów jako prekursorów układu π -(allilo-palladu).



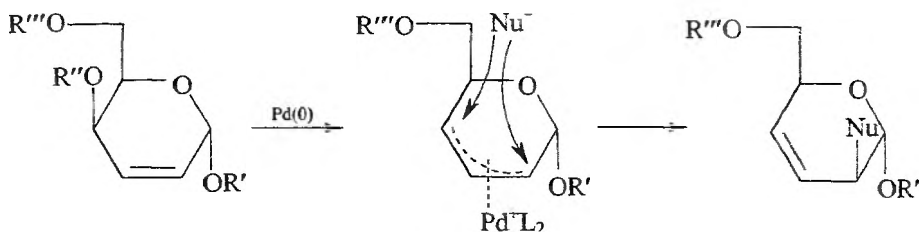
Schemat 15

Pokazana na powyższym schemacie pochodna 2,3-di-deoksy- α -D-erytro-heks-2-enopiranozy jako przykład prekursora kompleksu π -(allilo-palladu) daje bardzo szerokie możliwości syntezy różnych pochodnych sacharydów, wliczając glikozydy, di- i oligosacharydy, a także pseudodisacharydy (wiązaną eterową łączy inne niż anomeryczne atomy węgla cząsteczek monosacharydów). Jeżeli w położeniu C-1 znajduje się dobra grupa odchodząca, to w warunkach reakcji katalizowanej związkami palladu(0) tworzy się pośredni kompleks B i nukleofilowy reagent będzie atakował albo pozycję anomeryczną, prowadząc do odpowiedniego glikozydu, albo pozycję C-3 dając 3-pochodną 1,2-nienasyconego sacharydu.

Reakcja jest zazwyczaj regioselektywna i uzyskuje się odpowiedni glikozyd 2,3-nienasyconego sacharydu. Zastosowanie w tej reakcji mono- lub disacharydu z co najmniej jedną wolną grupą hydroksylową jako odczynnika nukleofilowego prowadzi do odpowiednich di- lub trisacharydów. Reakcja jest także stereoselektywna i zachodzi z retencją (tak jak w przypadku pochodnej A) lub z inwersją konfiguracji w zależności od budowy nienasyconego monosacharydu i od warunków, w jakich jest prowadzona [94].

Jeżeli natomiast pochodna A ma dobrą grupę odchodzącą w położeniu C-4, to w warunkach katalizy tworzy się pośredni kompleks C i nukleofilowy reagent

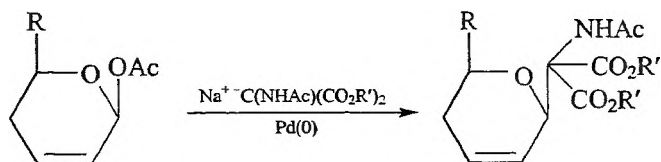
atakuję atom węgla C-4 lub C-2. Dla pochodnej A (schemat 15) uzyskuje się tylko produkty podstawienia w pozycji C-4 z retencją konfiguracji [95, 96]. Pochodne C-2 można uzyskać z dobrymi wydajnościami głównie wtedy, gdy w wyjściowym 2,3-nienasyconym sacharydzie grupa odchodząca przy węglu C-4 zajmuje położenie o odwróconej konfiguracji w stosunku do A [91, 96].



Schemat 16

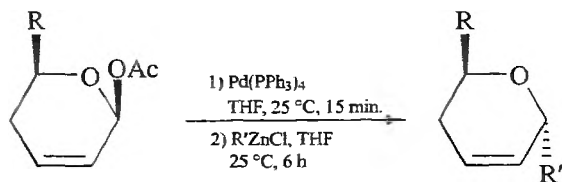
Przykłady syntezy związków C-glikozylowych

Jednym z pierwszych, którzy zastosowali 2,3-nienasycone heksopiranozy w reakcjach katalizowanych kompleksami palladu(0), był Dunkerton [97, 98]. Działaniu C-nukleofili poddany został β-heks-2-enopiranozyd acetylu i w zależności od charakteru nukleofila otrzymano odpowiednie związki C-glikozyłowe albo o konfiguracji α, albo o konfiguracji β. Autorzy wykazali, że miękkie nukleofile dają izomery β jako produkty procesu zachodzącego z retencją konfiguracji (wynik podwójnej inwersji).

Schemat 17. R = OEt, CH₂OMe; R' = Me, Et

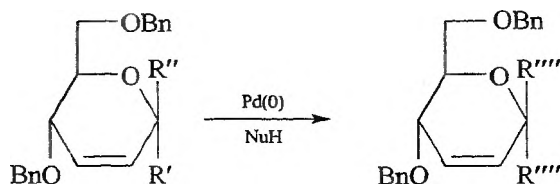
Nukleofile twarde (w cytowanej pracy stosowano organiczne związki cynku) z tym samym prekursorem dają natomiast C-glikozyłowe pochodne o konfiguracji α. W tym przypadku reakcja zachodzi z inwersją konfiguracji. Twardy nukleofil łączy się początkowo ze sferą koordynacji twardego centrum, czyli palladu, i dopiero w następnym etapie atakuje anomeryczny atom węgla już od strony palladu [99].

Reakcja zachodzi z bardzo dobrą wydajnością i doskonałą stereoselektywnością w obecności katalitycznych ilości Pd(0), jeżeli substrat nie ma podstawnika w pozycji 4. Jeżeli natomiast przy węglu C-4 znajduje się grupa metylowa lub metoksyłowa, to wydajność nie przekracza 30%.



Schemat 18. R = OEt, CH₂OMe; R' = Ph, *p*-MeC₆H₄, 2-naftył

Ta katalityczna metoda syntezy związków C-glikozylowych została rozwinięta i wykorzystana w reakcjach tworzenia wiązania C—C przez Sinou i wsp. [100–102]. 4,6-Dibenzylo-2,3-dideokso-D-erythro-heks-2-enopiranozyd fenylu poddawano reakcji różnych związków C-nukleofilowych w obecności Pd(dba)₂ i fosfiny w tetrahydrofuranie.



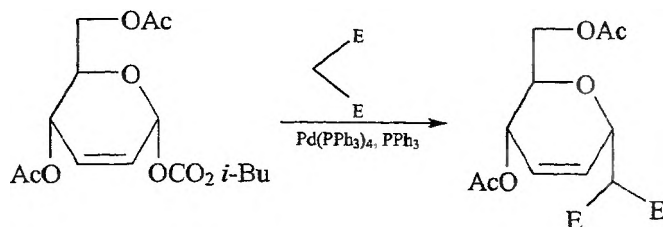
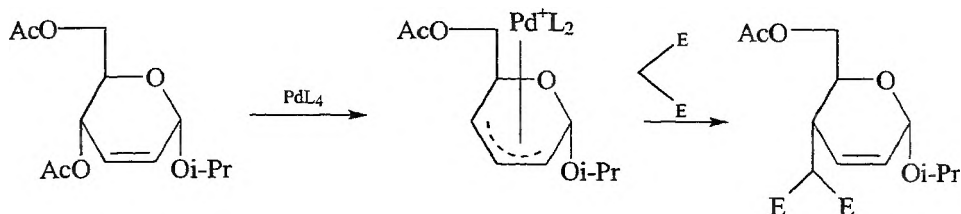
Schemat 19. R', R'' = OPh, H; R''', R'''' = CH(CO₂Et)₂, CH(COMe)₂, CH(NO₂)CO₂Et, C(CO₂Et)₂(CH₂CH=CH₂), H

Reakcja jest w pełni regioselektywna, gdyż w każdym przypadku wydzielono tylko jeden produkt podstawienia w pozycji anomerycznej. Reakcja jest także stereoselektywna dla wyjściowego anomeru β i zachodzi z retencją konfiguracji w anomerycznym centrum (jako wynik dwukrotnej inwersji). Glikozyd α w reakcji z malonianem etylu prowadził do mieszaniny α/β (90/10) odpowiedniego glikozylomalonianu. Zmniejszenie stereoselektywności reakcji w tym przypadku tłumaczą autorzy [101] izomeryzacją produktu w zasadowym środowisku reakcji (obecność jonu PhO⁻). Równowaga produktów procesu izomeryzacji, z udziałem łańcuchowej formy pośredniej, przesuwa się na korzyść termodynamicznie bardziej trwałego anomeru β.

Holzapfel ze wsp. [103, 104], stosując analogiczną metodę, także syntezował C-glikozyłowe pochodne. Prekursorem układu π-(allilo-palladu) był w tym przypadku 2,3-nienasycony sacharyd z acetylowymi zabezpieczeniami w pozycjach 4 oraz 6 i z węglanową grupą odchodzącą w położeniu anomerycznym.

Reakcja była prowadzona z dużym nadmiarem reagenta nukleofilowego (ok. 10 moli) w obecności katalitycznych ilości Pd(PPh₃)₄ i trifenylofosfiny. Produkt wydzielono z wydajnością 80%.

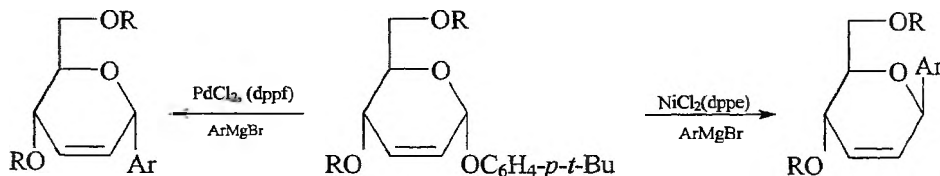
Ci sami autorzy [105], zmieniając podstawnik w pozycji anomerycznej 2,3-nienasyconego sacharydu, uzyskali produkt podstawienia w pozycji 4 sacharydu.

Schemat 20. E – CO₂Me, CN, ...

Schemat 21

Grupa acetylowa w 4,6-diacetylo-2,3-dideoksy- α -D-erythro-heks-2-enopiranozydzie *izo*-propylu jest grupą o większej zdolności opuszczającej niż grupa Oi-Pr i prowadzi to do utworzenia pokazanego na schemacie kompleksu η^3 -(allilo-palladu), który reagując z karboanionem daje końcowy produkt z zachowaniem konfiguracji węgla C-4.

Przydatność kompleksów metali przejściowych do kontrolowania stereochemicznego przebiegu reakcji została bardzo dobrze pokazana na przykładzie reakcji 2,3-nienasyconych sacharydów z różnymi bromkami arylomagnezu [106].



Schemat 22

W reakcji prowadzonej w obecności katalizatora palladowego powstają anomery α glikozyloarylu, natomiast w obecności kompleksów nikiel wyłącznie odpowiednie anomery β .

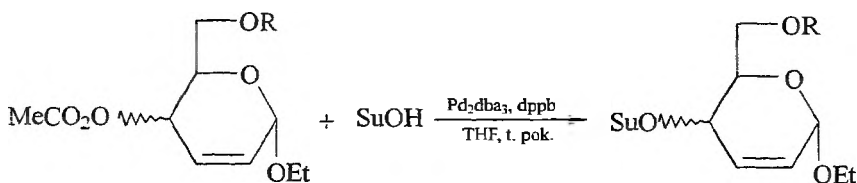
Przykłady syntezy disacharydów i eterów sacharydowych

Najważniejszym etapem syntezy disacharydów jest reakcja tworzenia wiązania glikozydowego łączącego poszczególne fragmenty monosacharydowe.

Wiązanie to powstaje w reakcji cząsteczki monosacharydu pełniącego funkcję donora glikozyłu z inną cząsteczką monosacharydu z wolną grupą hydroksylową w pozycji, z którą ma być utworzony mostek glikozydowy. Donorem glikozyłu w takich reakcjach jest monosacharyd z dobrą grupą opuszczającą w pozycji anomerycznej (np. halogenki glikozyłu, trichloroacetoimidany glikozyłu, tio-glikozydy). Akceptor glikozyłu (aglikon) jest reagentem nukleofilowym w omawianej syntezie i atom tlenu utworzonego wiązania glikozydowego pochodzi od aglikonu.

Synteza pochodnych sacharydów w reakcjach katalizowanych kompleksami palladu(0) z wykorzystaniem nienasyconych sacharydów jako prekursorów układu π -(allilo-palladu) daje możliwość odwrócenia roli donora-akceptor glikozyłu.

2,3-Nienasycone heksenopiranozydy z dobrą grupą opuszczającą w położeniu 4 idealnie nadają się do syntezy (1 \rightarrow 4) disacharydów, w których jeden fragment zawiera wiązanie podwójne. Porwański [91] w swojej pracy doktorskiej opracował warunki takiej reakcji i z sukcesem wykorzystał ją do syntezy wielu disacharydów szeregu zarówno piranozowego, jak i furanozowego [95, 96].



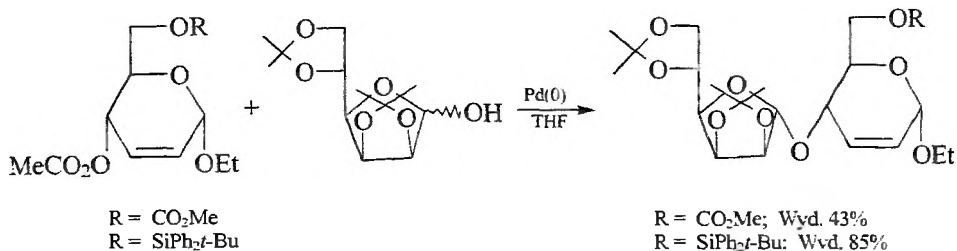
Schemat 23. R = CO₂Me, SiPh₂*t*-Bu; SuOH = monosacharyd z wolną grupą OH w położeniu anomerycznym

Prekursorami układu π -(allilo-palladu) w powyższych reakcjach były: 2,3-di-deoksy- α -D-erythro-heks-2-enopiranozydy etylu z węglanową grupą opuszczającą w położeniu 4 i węglanowym lub silylowym zabezpieczeniem pozycji 6 oraz odpowiednie izomery *treo* tego glikozydu.

Związki te można łatwo uzyskać w kilkietapowej syntezie z handlowego 3,4,6-tri-O-acetylo-D-glukalu. Głównymi etapami tej syntezy są: reakcja Ferriera [107], w której 1,2-nienasycony sacharyd przekształcany jest w 2,3-nienasycony glikozyd etylu, i reakcja z chloromrówczanem metylu prowadząca do końcowego węglanu. Węglan *treo* o odwróconej konfiguracji C-4 uzyskano w reakcji Mitsunobu [108–110]. Wybór pochodnych z opuszczającą grupą węglanową podyktowany był zaletami tego podstawnika w reakcjach katalizowanych kompleksami palladu(0) (zostało to omówione w poprzednich rozdziałach).

W reakcji *erythro*-heks-2-enopiranozydu etylu z 2,3:5,6-di-O-izopropylideno-D-mannofuranozy, prowadzonej w temperaturze pokojowej w obecności Pd₂(dba)₃ i dppb, powstaje tylko jeden disacharyd z wiązaniem glikozydowym

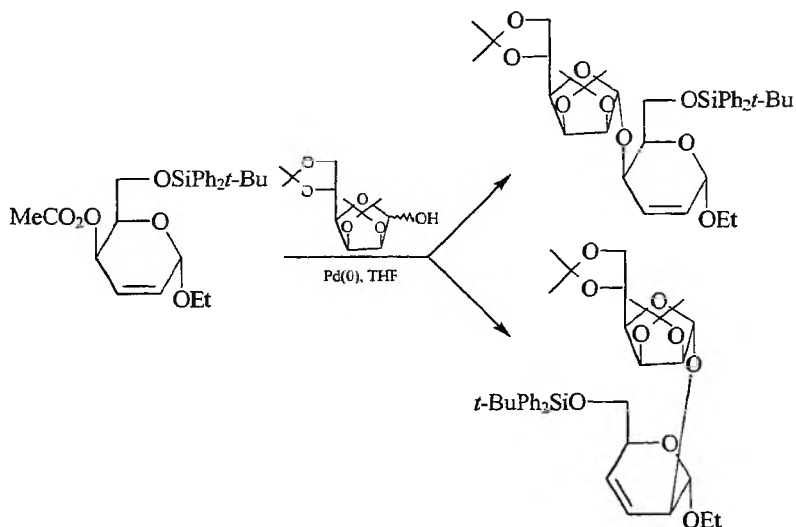
$\alpha(1 \rightarrow 4)$. Reakcja jest regioselektywna (brak produktu z wiązaniem $1 \rightarrow 2$) i stereoselektywna (powstaje tylko α disacharyd).



Schemat 24

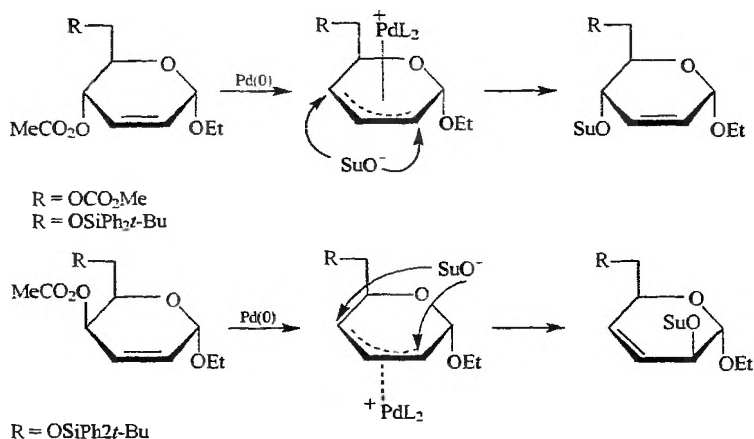
Pokazany przykład (schemat 24) wykazuje jednocześnie, że reaktywność węglanów 2,3-nienasyconych sacharydów w omawianej reakcji zależna jest także od rodzaju podstawnika w położeniu 6 tego prekursora układu π -(allilo-palladu). Elektroakceptorowy podstawnik ($-\text{OCO}_2\text{CH}_3$) zmniejsza reaktywność prekursora w stosunku do podstawnika siliowego ($-\text{OSiPh}_2t\text{-Bu}$) powodując, że wydajność reakcji jest dwukrotnie mniejsza.

Reakcja *treo*-heks-2-enopiranozydu etylu z tą samą pochodną mannofuranozy ma odmienny przebieg i prowadzi do mieszaniny dwóch produktów. Jednym z nich (wydzielonym z wydajnością 21%) jest disacharyd z wiązaniem glikozydowym $\beta(1 \rightarrow 4)$, a drugim (61% wyd.) jest disacharyd z wiązaniem $\beta(1 \rightarrow 2)$ glikozydowym i przesuniętym wiązaniem podwójnym w nienasyconym fragmencie do położenia 3,4.



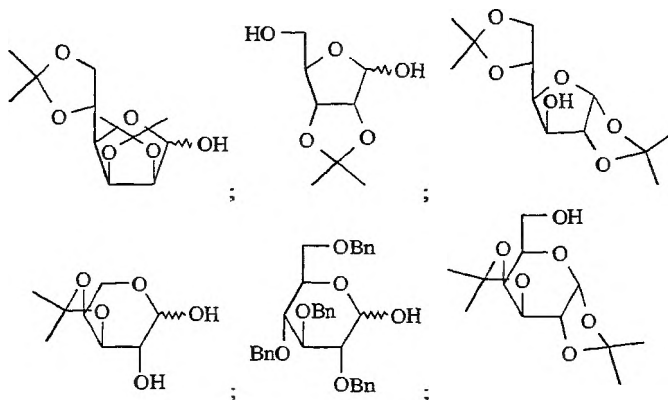
Schemat 25

Inny przebieg reakcji izomeru *treo* w stosunku do izomeru *erythro* powodowany jest wymaganiami sterycznymi zarówno etapu ataku kompleksu palladu(0) na układ allilu pierścienia piranozowego, jak i nukleofilowego ataku sacharydu z wolną grupą hydroksylową na utworzony kompleks π -(allilo-palladu) (schemat 26) [95].



Schemat 26

W cytowanych pracach [91, 95] znajdują się dalsze przykłady reakcji trzech wymienionych 2,3-nienasyconych sacharydów z furanozowymi i piranozowymi pochodnymi monosacharydów (schemat 27).

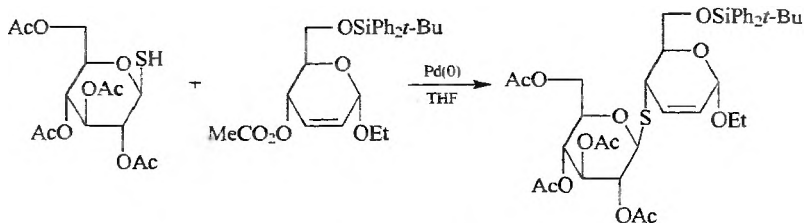


Schemat 27

1,2:5,6-Di-*O*-izopropylidenoglukofuranoza z wolną grupą hydroksylową w pozycji 3 i 1,2:4,5-di-*O*-izopropylidenogalaktopiranoza z wolną grupą hydroksylową w pozycji 6 tworzyły odpowiednie etery disacharydowe, a monosacharydy mające dwie wolne grupy hydroksylowe tworzyły disacharydy przez reak-

Synteza tiodisacharydów i tioeterów disacharydowych

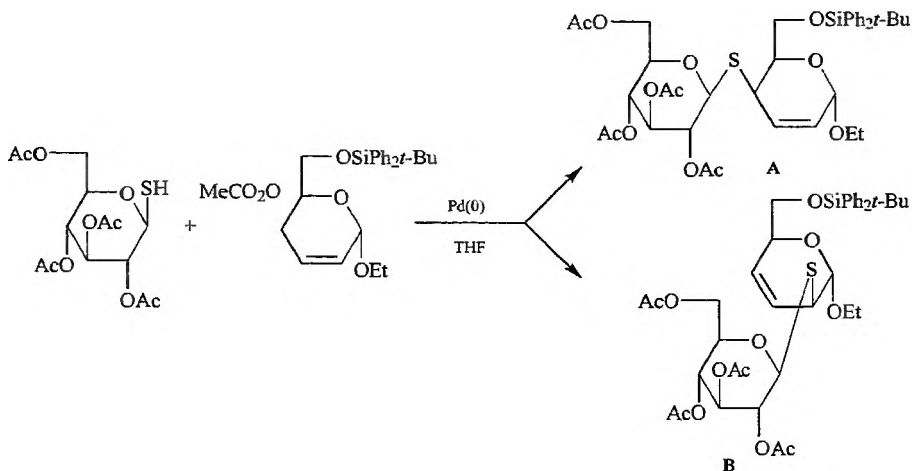
Heksopiranozydy nienasycone z wiązaniem podwójnym w pozycji 2,3 i odchodzącą grupą w pozycji 4 były wykorzystane także do syntezy tiodisacharydów i tioeterów sacharydowych. Zawisza [86, 93] wykazała, że β -tioglukoza z acetylowymi osłonami grup hydroksylowych w reakcji z 6-*O*-*tert*-butylo-difenylosi-4-*O*-metoksykarbonylo-2,3-dideoksy- α -D-*erythro*-heks-2-enopiranozydem etylu tworzy tiodisacharyd z wiązaniem β -tioglikozydowym (schemat 30).



Schemat 30

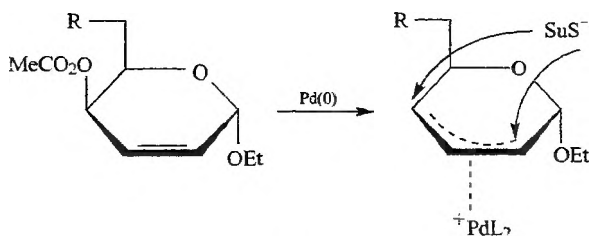
Reakcja była prowadzona w tetrahydrofuranie w obecności katalitycznych ilości katalizatora palladowego utworzonego z Pd_2dba_3 i dppb . Wydajności reakcji nie były wysokie (16% w temp. pokojowej i 18% w temp. 60 °C), ale należy sądzić, że zmiana osłon acetylowych na benzylowe w tioglukozie znacząco podwyższy wydajność procesu.

Izomer *treo* heks-2-enopiranozydu okazał się zdecydowanie bardziej reaktywny w reakcji z β -tioglukozą. Reakcję prowadzono w takich samych warunkach jak z izomerem *erythro* uzyskując w tym przypadku dwa produkty A i B z wydajnością po 49% każdy.



Schemat 31

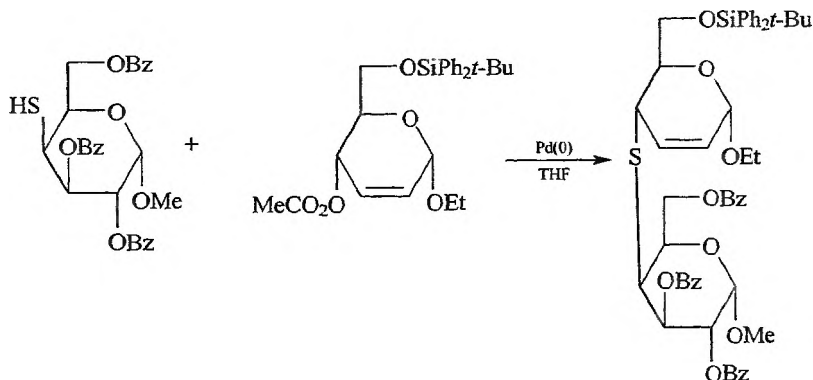
Tworzenie się dwóch tiodisacharydów: (1 → 4) z wiązaniem podwójnym w położeniu 2,3 i drugiego (1 → 2) z wiązaniem podwójnym w położeniu 3,4 wyjaśnia podobnie jak w przypadku tlenowych pochodnych odwrotnie, w stosunku do izomeru *erythro*, kierunek ataku kompleksu palladu(0) na układ allilowy enopiranozydu. W drugim etapie reakcji nukleofilowy atak SuS^- na kompleks η^3 (allilo-palladu) z równymi szansami zachodzi na pozycji 2 i 4.



Schemat 32

Stosowane w powyższych reakcjach dwa prekursorzy układu π -(allilo-palladu), *erythro* i *treo*-2,3-dideoksy- α -D-heks-2-enopiranozydy etylu dają także możliwość syntezy tioeterów sacharydowych, jeżeli poddane będą reakcji z sacharydami zawierającymi grupy SH w innej niż anomeryczna pozycja.

4-Tio- α -D-galaktopiranozyd metylu z 6-*O*-*tert*-butylodifenylosiilo-4-*O*-metoksykarbonylo-2,3-dideoksy- α -D-*erythro*-heks-2-enopiranozydem etylu daje w reakcji prowadzonej w analogicznych jak poprzednio warunkach tioeter disacharydowy z wydajnością 70%.

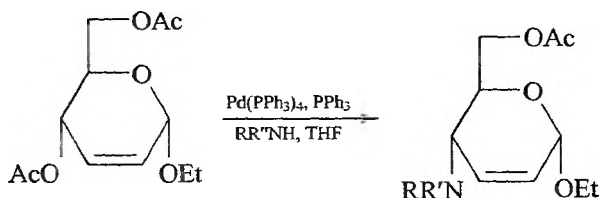


Schemat 33

Węglan enopiranozydu o konfiguracji *treo* z tym samym 4-tiosacharydem tworzy zgodnie z oczekiwaniem dwa tioetery disacharydowe z wiązaniem C-S w położeniu 4 (17%) i drugi z wiązaniem C-S w położeniu 2 (39%) [93].

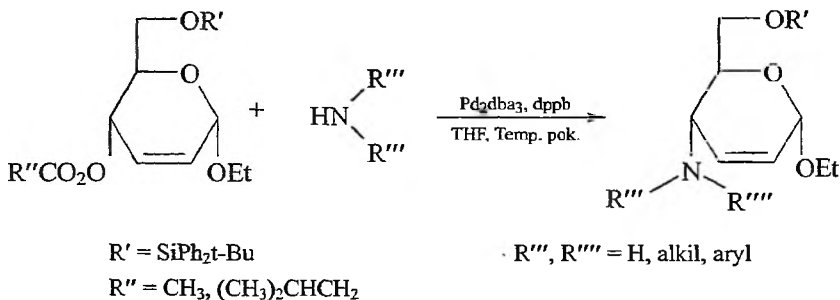
Synteza związków *N*-glikozydowych i innych *N*-pochodnych sacharydów

Heksenopiranozydy z podwójnym wiązaniem w pozycji 2,3 znalazły zastosowanie także do tworzenia wiązań C–N w reakcjach z nukleofilami azotowymi, prowadzonych w obecności kompleksów Pd(0). Bear i Hanna [111] przeprowadzili szereg reakcji różnych amin z 4,6-di-*O*-acetylo-2,3-dideoksy- α -D-erytro-heks-2-enopiranozydem etylu w obecności katalitycznych ilości Pd(PPh₃)₄ i trifenylofosfiny uzyskując 4-aminopochodne tego sacharydu z wysokimi wydajnościami.



Schemat 34. RR' = dietyloamina, piperydyna, cykloheksylometylamina, benzylometyloamina

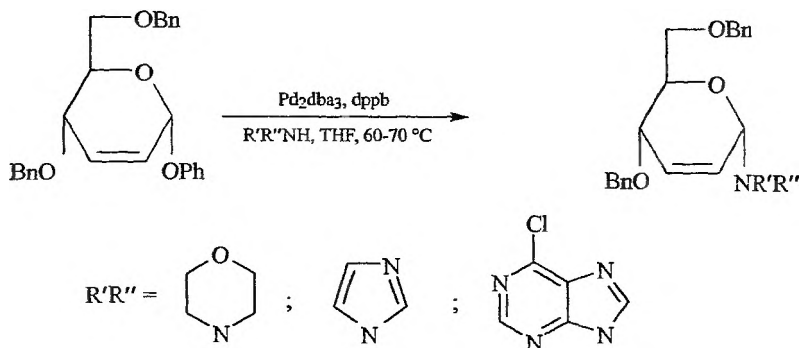
Reakcja jest regio- i stereoselektywna. Addycja nukleofila zachodzi na węglu C-4 z zachowaniem konfiguracji tego centrum. Reakcje różnych amin z prekursorem układu π -(allilo-palladu) typu 2,3-nienasycony sacharyd zostały także przeprowadzone przez Zawiszę [86]. Grupą odchodzącą w położeniu 4 była w tym przypadku grupa węglanowa.



Schemat 35

Reakcja we wszystkich przeprowadzonych przypadkach jest regio- i stereoselektywna, dając produkt *N*-podstawienia przy węglu C-4. Reakcja zachodzi z retencją konfiguracji na tym centrum i w zależności od wyjściowego węglanu (metylu czy izobutyłu) oraz wybranej aminy, produkt wydzielany był z wydajnościami od 18 do 93%.

Reakcja amin z prekursorem mającym dobrą grupę odchodzącą w położeniu anomerycznym daje możliwość syntezy związków *N*-glikozydowych. Reakcje takie zostały przeprowadzone przez Sinou i wsp. [112]. Nukleofile azotowe, pochodne puryny, pirymidyny i inne aminy heterocykliczne poddano reakcji z 4,6-di-*O*-dibenzylo-2,3-dideoksy- α -D-*erythro*-heks-2-enopiranozydem fenylu w obecności katalitycznych ilości kompleksu palladu(0). Grupą odchodzącą jest w tym przypadku grupa fenoksylova z położenia anomerycznego nienasyconego sacharydu.



Reakcja, podobnie jak w poprzednich przypadkach jest regioselektywna i stereoselektywna. Z wyjściowego α -glikozydu powstają α -*N*-glikozydy, a z anomerem β tworzą się β -*N*-glikozydy. Metoda ta daje możliwości łatwej syntezy α oraz β -*N*-glikozydów i jest metodą konkurencyjną w stosunku do metod (zwykle kilkusetapowych) syntezy tej ważnej grupy związków.

PIŚMIENICTWO CYTOWANE

- [1] P. Collins, R. Ferrier, *Monosaccharides*, J. Wiley and Sons, 1995.
- [2] A.K. Mallans, *The Carbohydrate Containing Antibiotics*, *Carbohydrate Chemistry*, red. J.F. Kennedy, Oxford 1988.
- [3] W.A. Remers, *The Chemistry of Antitumor Antibiotics*, J. Wiley, New York 1988.
- [4] K. Toshima, K. Tatsuda, *Chem. Rev.*, 1993, **93**, 358
- [5] T. Sokołowska, A. Wiśniewski, *Nomenklatura węglowodanów. Zalecenia 1996*, *Bibl. Wiad. Chem.*, 2000, s. 113.
- [6] N. Sharon, H. Lis, *Chemical & Engineering News*, 1981, **59**, 21.
- [7] E. Fischer, *Chem. Ber.*, 1890, **23**, 2114.
- [8] W. Koenigs, E. Knorr, *Chem. Ber.*, 1901, **34**, 957.
- [9] R.R. Schmidt, J. Michel, *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.*, 1980, **19**, 731.
- [10] R. Jira, W. Freiesleben, *Organomet. React.*, 1972, **3**, 5.
- [11] J. Tsuji, *Palladium Reagents and Catalysts*, J. Wiley & Sons, New York 1995;
 - a. N. Miyaura, A. Suzuki, *Chem. Rev.*, 1955, **95**, 2457;
 - b. J.K. Stille, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, 1986, **25**, 508.

- [12] J. Tsuji, *Tetrahedron*, 1986, 42, 4361.
- [13] J. March, *Organic Chemistry*, J. Wiley & Sons, New York 1992.
- [14] R.F. Heck, *J. Am. Chem. Soc.*, 1968, 90, 5518.
- [15] M. Yamamura, N. Mita, S. Murahashi, *J. Org. Chem.*, 1977, 42, 2870.
- [16] R.F. Heck, *J. Org. Chem.*, 1982, 47, 1278.
- [17] J.J. Bozell, C.E. Vot, *J. Am. Chem. Soc.*, 1988, 110, 2655.
- [18] C. Andersson, K. Karabelas, A. Hallberg, D. Andersson, *J. Org. Chem.*, 1985, 50, 3891;
a. I.P. Beletskaya, A.V. Cherpakov, *Chem. Rev.*, 2000, 100, 3009;
b. N.J. Whitcombe, K.K.M. Hii, S.E. Gibson, *Tetrahedron*, 2001, 57, 7449.
- [19] R.F. Heck, J.P. Nolley, *J. Org. Chem.*, 1972, 37, 2320.
- [20] J.C.-Y. Cheng, G.D. Daves, *J. Org. Chem.*, 1987, 52, 3083.
- [21] I. Arai, T.D. Lee, R. Hanna, G.D. Daves, *Organometallics*, 1982, 1, 742.
- [22] I. Arai, G.D. Daves, *J. Am. Chem. Soc.*, 1981, 103, 7683.
- [23] U. Hacksell, H.T. Kalinowski, D.F. Barofsky, G.D. Daves, *Acta. Chem. Scand.*, 1985, 39, 469.
- [24] I. Arai, G.D. Daves, *J. Am. Chem. Soc.*, 1978, 100, 287.
- [25] R.N. Farr, R.A. Outten, J.C.-Y. Cheng, G.D. Daves, *Organometallics*, 1990, 9, 3151.
- [26] S. Czernecki, V. Dechavanne, *Can. J. Chem.*, 1983, 61, 533.
- [27] S. Czernecki, F. Gruy, *Tetrahedron Lett.*, 1981, 22, 437.
- [28] R.N. Farr, G.D. Daves, *J. Carbohydr. Chem.*, 1990, 9, 653.
- [29] T.D. Lee, G.D. Daves, *J. Org. Chem.*, 1983, 48, 399.
- [30] C.M. Anderson, A. Hallberg, G.D. Daves, *J. Org. Chem.*, 1987, 52, 3529.
- [31] H.T. Kalinowski, U. Hacksell, U. Barofsky, D.F. Barofsky, G.D. Daves, *J. Am. Chem. Soc.*, 1985, 107, 6476.
- [32] V. Bellosta, S. Czernecki, D. Avenel, S. El Bahij, H. Gillier-Pandraud, *Can. J. Chem.*, 1990, 68, 1364.
- [33] M. Sharma, R.K. Brown, *Can. J. Chem.*, 1966, 44, 2825.
- [34] J.C.-Y. Cheng, G.D. Daves, *Organometallics*, 1986, 5, 1753.
- [35] S. Czernecki, K. Vijayakumaran, G. Ville, *J. Org. Chem.*, 1986, 51, 5472.
- [36] S. Czernecki, [w:] *Carbohydrates: Synthetic Methods and Applications in Medicinal Chemistry*, red. H. Ogura, A. Haxgawa, T. Suami, Tokyo, Weinheim, New York, Cambridge, Basel 1992, 28.
- [37] R. Benhaddou, S. Czernecki, G. Ville, *J. Org. Chem.*, 1992, 57, 4612.
- [38] J.C.-Y. Cheng, V. Hacksell, G.D. Daves, *J. Org. Chem.*, 1985, 50, 2778.
- [39] J.C.-Y. Cheng, V. Hacksell, G.D. Daves, *J. Org. Chem.*, 1986, 51, 3093.
- [40] R.E. Ireland, C.S. Wilcox, S. Thairvong, *J. Org. Chem.*, 1978, 43, 786.
- [41] V. Hacksell, J.C.-Y. Cheng, *J. Carbohydr. Chem.*, 1986, 5, 287.
- [42] R.A. Outten, G.D. Daves, *J. Org. Chem.*, 1989, 54, 29.
- [43] R.N. Kwok, R.N. Farr, G.D. Daves, *J. Org. Chem.*, 1991, 56, 3711.
- [44] G.D. Daves, *Acc. Chem. Res.*, 1990, 23, 201.
- [45] R.A. Outten, G.D. Daves, *J. Org. Chem.*, 1987, 52, 5064.
- [46] V. Hacksell, G.D. Daves, *Prog. Med. Chem.*, 1985, 22, 1.
- [47] T.E. Stone, E.J. Eustace, M.V. Pickering, D. Daves, *J. Org. Chem.*, 1979, 44, 505.
- [48] H.C. Zang, G.D. Daves, *J. Org. Chem.*, 1999, 57, 4690.
- [49] B.M. Trost, T.R. Verhoeven, [w:] *Comprehensive Organometallic Chemistry*, red. G. Wilkinson, F.G.A. Stone, E.W. Abel, Pergamon Press, New York 1982, 8, 799.
- [50] G. Hata, K. Takahashi, A. Migake, *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, 1972, 45, 239.
- [51] K.E. Atkins, W.E. Walker, M.R. Manyik, *Tetrahedron Lett.*, 1970, 3821.
- [52] B. Akermark, S. Hansson, B. Krahenberger, A. Vitagliano, K. Zattenberg, *Organometallics*, 1984, 3, 679.
- [53] B.M. Trost, T.R. Verhoeven, *J. Org. Chem.*, 1976, 41, 3215.

- [54] T. Cuvigny, M. Julia, C. Rolando. *J. Organomet. Chem.*, 1985, **285**, 395.
- [55] B.M. Trost, L. Weber, *J. Am. Chem. Soc.*, 1975, **97**, 1611.
- [56] B.M. Trost, L. Weber, P.E. Strege, T.J. Fullerton, T. Dietsche, *J. Am. Chem. Soc.*, 1978, **100**, 3416.
- [57] B.M. Trost, T.R. Verhoeven, *J. Am. Chem. Soc.*, 1980, **102**, 4730.
- [58] B. Akermarck, J.E. Backvall, A. Lowenborg, K. Zetterberg, *J. Organomet. Chem.*, 1979, **166**, C33.
- [59] B. Akermarck, A. Jutand, *J. Organomet. Chem.*, 1981, **217**, C41.
- [60] T. Hayashi, T. Hagihara, M. Konishi, M. Kumada, *J. Am. Chem. Soc.*, 1983, **105**, 7767.
- [61] T. Hayashi, M. Konishi, M. Kumada, *Chem. Commun.*, 1984, 107.
- [62] J.C. Fiaud, J.Y. Legros, *J. Org. Chem.*, 1987, **52**, 1907.
- [63] R. Tamura, L.S. Hegendus, *J. Am. Chem. Soc.*, 1982, **104**, 3727.
- [64] R. Tamura, Y. Kai, M. Kakihana, K. Kayashi, M. Tsuji, T. Nakamura, D. Oda, *J. Org. Chem.*, 1986, **51**, 4375.
- [65] F. Guibe, Y. Saint M'Leux, *Tetrahedron Lett.*, 1981, **22**, 3591.
- [66] I. Minami, I. Shimizu, J. Tsuji, *J. Organomet. Chem.*, 1985, **296**, 269.
- [67] J. Tsuji, I. Shimizu, I. Minami, Y. Ohashi, T. Sugiura, K. Takahashi, *J. Org. Chem.*, 1985, **50**, 1523.
- [68] J. Tsuji, *Tetrahedron*, 1986, **42**, 4361.
- [69] J. Tsuji, Y. Kobayashi, H. Kataoka, T. Takahashi, *Tetrahedron Lett.*, 1980, **21**, 1475.
- [70] A. Negishi, T. Takahashi, K. Akiyoshi, *Chem. Commun.*, 1986, 1138.
- [71] V.V. Grushin, H. Alper, *Organometallics*, 1993, **12**, 1890.
- [72] T.A. Stromnova, M.N. Vargaftik, I.I. Moieev, *J. Organomet. Chem.*, 1983, **252**, 113.
- [73] A.L. Casanuovo, J.C. Calabrese, *J. Am. Chem. Soc.*, 1190, **112**, 4324.
- [74] W.A. Herman, C.W. Kohlpaintner, *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.*, 1993, **32**, 1524.
- [75] B.M. Trost, P.E. Strege, *J. Am. Chem. Soc.*, 1977, **99**, 1649.
- a. P. Braunstein, N.M. Boag, *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2000, **13**, 40
- b. B. Klapham, T.S. Reger, K.D. Janda, *Tetrahedron*, 2001, **57**, 4637.
- [76] R. Lakhmiri, P. Lhoste, D. Sinou, *Tetrahedron Lett.*, 1989, **30**, 4669.
- [77] R. Lakhmiri, P. Lhoste, P. Boullanger, D. Sinou, *J. Chem. Research*, 1990, 2301.
- [78] B. Kryczka, *Praca habilitacyjna UŁ*, 1994, Wyd. UŁ.
- [79] R. Lakhmiri, P. Lhoste, B. Kryczka, D. Sinou, *J. Carbohydr. Chem.*, 1993, **12**, 223.
- [80] R. Lakhmiri, P. Lhoste, D. Sinou, *Synth. Commun.*, 1990, **20**, 1551.
- [81] R. Kołodziuk, *Praca doktorska UŁ*, 2001.
- [82] R. Kołodziuk, B. Kryczka, P. Lhoste, S. Porwański, D. Sinou, A. Zawisza, *Synth. Commun.*, 2000, **30** (21), 3955.
- [83] W. Pigman, D. Horton, (red.), *The Carbohydrates*, Vol. II A, Academic Press, New York 1970, 230.
- [84] J.F. Kennedy (red.), *Carbohydrate Chemistry*, Oxford University Press, Oxford 1988, 106.
- [85] P.J. Garegg, *Adv. Carbohydr. Chem.*, 1997, **52**, 179.
- [86] A. Zawisza, *Praca doktorska UŁ*, 2001.
- [87] M. Moreno-Manas, R. Pleixats, M. Villaraja, *Tetrahedron*, 1993, **49**, 1457.
- [88] M. Moreno-Manas, R. Pleixats, M. Villaraja, *Tetrahedron*, 1993, **49**, 1465.
- [89] C. Goux, M. Massacret, P. Lhoste, D. Sinou, *Organometallics*, 1995, **14**, 4585.
- [90] C. Goux, P. Lhoste, D. Sinou, J. Muzart, *Sulfur Letters*, 1994, **18**, 1.
- [91] S. Porwański, *Praca doktorska UŁ*, 1997.
- [92] A. Zawisza, *Praca magisterska UŁ*, 1996.
- [93] A. Zawisza, B. Kryczka, P. Lhoste, S. Porwański, D. Sinou, *J. Carbohydr. Chem.*, 2000, **19** (7), 795.
- [94] G.J. Engelbrecht, C.W. Holzapfel, *Heterocycles*, 1991, **32**, 1267.

- [95] I. Frappa, P. Lhoste, S. Porwański, B. Kryczka, D. Sinou, *Tetrahedron Lett.*, 1995, **36**, 1251.
- [96] I. Frappa, P. Lhoste, S. Porwański, B. Kryczka, D. Sinou, *J. Carbohyd. Chem.*, 1998, **17** (7), 1117.
- [97] L.V. Dunkerton, A.J. Serino, *J. Org. Chem.*, 1982, **47**, 2812.
- [98] L.V. Dunkerton, J.M. Euske, J. Serino, *Carbohydr. Res.*, 1987, **171**, 89.
- [99] H. Matsushita, E. Negishi, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.*, 1982, 160.
- [100] M. Brakta, F. Le Borne, D. Sinou, *J. Carbohydr. Chem.*, 1987, **6**, 307.
- [101] M. Brakta, P. Lhoste, D. Sinou, *J. Org. Chem.*, 1989, **54**, 1890.
- [102] B. Chaguir, M. Brakta, V. Bollitt, P. Lhoste, D. Sinou, *J. Carbohyd. Chem.*, 1992, **11**, 609.
- [103] C. W. Holzapfel, G.J. Engelbrecht, G.H. Verdoon, *Heterocycles*, 1989, **28**, 433.
- [104] G.J. Engelbrecht, C.W. Holzapfel, *Tetrahedron Lett.*, 1991, **32**, 1267.
- [105] M.M. Basson, C.W. Holzapfel, G.H. Verdoon, *Heterocycles*, 1989, **29**, 2261.
- [106] C. Moineau, V. Bolitt, D. Sinou, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.*, 1995, 1103.
- [107] R.J. Ferrier, *Adv. Carbohydr. Chem.*, 1965, **20**, 67.
- [108] G. Gryniewicz, *Carbohydr. Res.*, 1977, **53**, C11.
- [109] W.R. Roush, X.-L. Lin, *J. Org. Chem.*, 1991, **56**, 5740.
- [110] I. Lundt, C. Peterson, *Acta Chem. Scand.*, 1966, **20**, 1369.
- [111] H. Baer, Z.S. Hanna, *Can. J. Chem.*, 1989, **54**, 1884.
- [112] V. Bolitt, B. Chaguir, D. Sinou, *Tetrahedron Lett.*, 1992, **33**, 2481.
- [113] A. De Meijere, F.E. Meyer, *Angew. Chem. Int. Ed.*, 1994, **33**, 2379.

Praca wpłynęła do Redakcji 11 grudnia 2001

**ALLILOCYNOWE POCHODNE
CUKRÓW PROSTYCH
W SYNTEZIE UKŁADÓW KARBOCYKLICZNYCH**

**APPLICATION OF SUGAR ALLYLITINS
IN THE SYNTHESIS
OF CARBOBICYCLIC DERIVATIVES**

**Sławomir Jarosz*, Stanisław Skóra,
Katarzyna Szewczyk**

*Institut Chemii Organicznej PAN
ul. Kasprzaka 44/52, 01-224 Warszawa*

Abstrakt

Wstęp

1. Synteza allilocynowych pochodnych cukrów prostych
2. Przekształcenie pochodnych allilocynowych w układy otwartołańcuchowe
3. Próba wyjaśnienia mechanizmu przegrupowania do dienoldehydów
4. Zastosowanie związków allilocynowych w syntezie układów karbobicyklicznych
 - 4.1. Stereoselektywna synteza układu bicyklo[4.3.0]nonanu
 - 4.2. Stereoselektywna synteza układu bicyklo[4.4.0]dekanu
 - 4.3. Mechanizm stereoselektywnej wewnątrzcząsteczkowej reakcji Dielsa-Aldera

Podsumowanie

Piśmiennictwo cytowane

* Sławomir Jarosz, tel. (22) 632 32 21 wew. 2101; fax: (22) 632 66 81; e-mail: sljar@icho.edu.pl

Prof. Sławomir Jarosz urodził się w Warszawie w 1952 r. W 1974 r. uzyskał pod kierunkiem profesora Jerzego T. Wróbla dyplom magistra chemii na Uniwersytecie Warszawskim. W 1979 r. uzyskał stopień doktora nauk chemicznych za pracę nad asymetryczną reakcją Paterno-Büchi wykonaną w Instytucie Chemii Organicznej PAN w Warszawie pod kierunkiem profesora Aleksandra Zamojskiego. W latach 1980–1981 spędził rok w laboratorium profesora Berta Fraser-Reida w University of Waterloo (Kanada), a następnie w University of Maryland (Washington DC, USA). W latach 1988–1989 pracował jako visiting scientist na Duke University w Durham (NC, USA). W 1990 r. uzyskał stopień doktora habilitowanego nauk chemicznych za pracę na temat stereoselektywnych metod syntezy cukrów wyższych wykonaną w ICHO PAN. W roku 1999 uzyskał tytuł profesora. Prof. Jarosz jest kierownikiem Studium Doktoranckiego ICHO PAN. Kieruje w Instytucie Chemii Organicznej grupą badawczą zajmującą się chemią sacharozy oraz wykorzystaniem cukrów w syntezie produktów naturalnych. Jest współautorem 90 publikacji naukowych.

Mgr inż. Stanisław Skóra urodził się w Mielcu w 1972 r. W roku 1998 uzyskał na Wydziale Chemicznym Politechniki Rzeszowskiej tytuł magistra inżyniera pod kierunkiem dr inż. Grażyny Groszek. Od października 1998 roku jest doktorantem IChO PAN pracując pod kierunkiem profesora S. Jarosza nad wykorzystaniem allilocynowych pochodnych cukrów prostych w syntezie związków karbobicyklicznych. Mgr inż. Skóra jest współautorem 10 publikacji naukowych oraz stypendystą Fundacji na rzecz Nauki Polskiej na rok 2002.

Mgr Katarzyna Szewczyk urodziła się w Ostrowcu Świętokrzyskim w 1970 r. W roku 1997 uzyskała w Wyższej Szkole Pedagogicznej w Kielcach dyplom magistra chemii pod kierunkiem dr Ewy Opozdy. W latach 1997–1999 pracowała jako asystent w ICHO PAN pod kierunkiem prof. Anny Banaszek. Od października 1999 roku jest doktorantką ICHO PAN pracując pod kierunkiem profesora S. Jarosza nad wykorzystaniem allilocynowych pochodnych cukrów prostych w stereokontrolowanej syntezie organicznej. Mgr Szewczyk jest współautorką 8 publikacji naukowych.

ABSTRACT

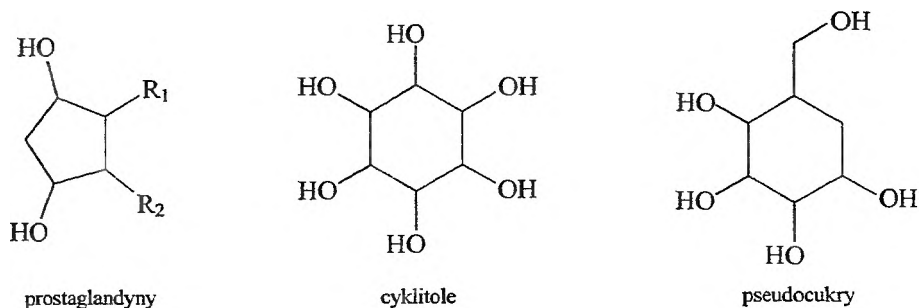
Sugar allylic alcohols of the general formula $\text{Sug}-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}_2\text{OH}$ are easily converted into the allyltin derivatives $\text{Sug}-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}_2\text{SnBu}_3$ (**7**) by conversion into xanthate followed by its thermal rearrangement and subsequent $\text{S}_{\text{R}}2'$ reaction of resulting thiocarbonate with tri-*n*-butyltin hydride. Allyltin derivatives **7** undergo a controlled rearrangement with zinc chloride to dienoaldehydes $\text{CH}_2=\text{CH}-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}(\text{OR})_3\text{CHO}$ with the *trans* geometry across the internal double bond (**3-E**). Dienoaldehydes **3-E** react with the C_2 -Wittig-type reagents [phosphoranes: $\text{Ph}_3\text{P}=\text{CH}-\text{COR}$ or phosphonates: $(\text{MeO})_2\text{P}(\text{O})\text{CH}_2\text{COR}$] to afford trienes **18** [$\text{CH}_2=\text{CH}-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}(\text{OR})_3\text{CH}=\text{CH}-\text{C}(\text{O})-\text{R}$] which undergo the intramolecular Diels-Alder reaction to give optically pure highly oxygenated bicyclo[4.3.0]indene derivatives **5** with the *trans* junction between the five- and six-membered rings.

Alternatively, the dienoaldehyde **3-E** can be converted into – regioisomeric to **18** – triene **24** [$\text{CH}_2=\text{CH}-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}(\text{OR})_3\text{C}(\text{O})-\text{CH}=\text{CH}-\text{R}$], cyclization of which furnish optically pure bicyclo[4.4.0]decane derivatives **4** with the *cis* junction between both six-membered rings. On the other hand, sugar allylic bromides react with tri-*n*-butyltin cuprate to afford a mixture of the primary and secondary allyltin derivatives [$\text{Sug}-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}_2\text{SnBu}_3$ (**7**) and [$\text{Sug}-\text{CH}(\text{SnBu}_3)-\text{CH}=\text{CH}_2$] (**15**) respectively]. Both isomers **7** and **15** might be converted into the *trans* dienoaldehyde **3-E** by action of ZnCl_2 . However, thermal behavior of these regioisomers is different. The primary derivative **7** is stable up to at least 170 °C, while the secondary one (**15**) undergoes elimination of the tributylstannyl moiety already at 140 °C (boiling xylene) to afford dienoaldehyde with the *cis*-geometry across the internal double bond (**3-Z**). Such aldehyde was used for the preparation of – isomeric to **5** – derivative of bicyclo[4.3.0]indene with the *cis*-configuration between both rings (**23**).

The stereochemistry of all these cyclizations might be rationalized assuming the *endo*-transition states of the intramolecular Diels-Alder reactions. Mechanism of the rearrangement of sugar allyltin derivatives **7** and **15** to unsaturated aldehydes **3-E** and **3-Z** is discussed.

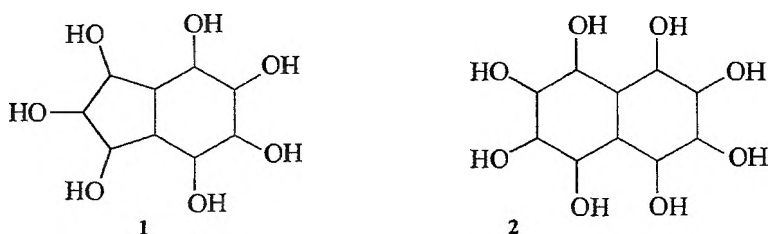
WSTĘP

Monocykliczne analogi cukrów prostych, takie jak: prostaglandyny [1], cyklitole [2] czy pseudocukry [3] (rys. 1), pełnią istotną funkcję w wielu procesach biologicznych.



Rys. 1. Monocykliczne analogi cukrów prostych

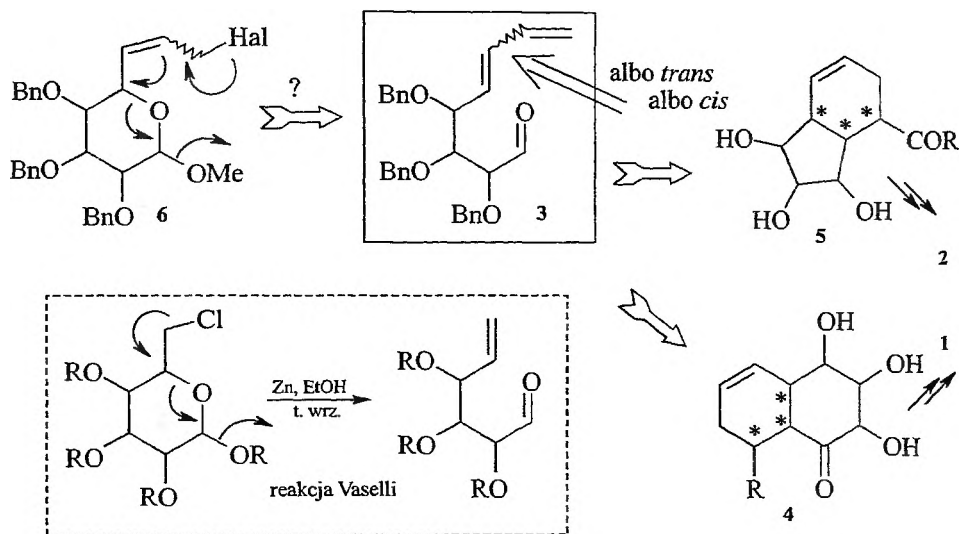
Znacznie mniej wiadomo o bicyklicznych analogach: ich syntezie czy aktywności biologicznej. Niedawno stwierdzono, że wysoce sfunkcjonalizowane pochodne bicyklo[4.3.0]nonanu (1) oraz bicyklo[4.4.0]dekanu (2) mają interesujące właściwości biologiczne. Przykładowo, jeden ze stereoizomerów pochodnej dekaliny 2 wykazuje wysoką aktywność (w skali mikrogramowej) w stosunku do α - oraz β -glukozydaz [4]. Jednakże jak do tej pory związki o ogólnym wzorze 1 lub 2 są dostępne wyłącznie w postaci racematu [5].



Wydawało się oczywiste, że tego typu układy można będzie otrzymać w postaci optycznie czystej wykorzystując jako substraty cukry proste. Taka koncepcja, tzw. *chiron approach* [6], jest bardzo często stosowana w syntezach związków optycznie czynnych. Pod koniec lat 80. została ona zastosowana przez Herczegha i wsp. [7] do syntezy związków o ogólnych wzorach 4 oraz 5, które można traktować jako bezpośrednie prekursorzy dekaliny 1 oraz perhydroindanu 2. Związki o ogólnym wzorze 5, mające określoną konfigurację centrów stereogenicznych związanych z grupami hydroksylowymi (alkoksyłowymi), zostały zsyn-

tetyzowane przez Herczegha z dienolaldehydu **3** (mieszanina izomerów *E* oraz *Z*), który z kolei został otrzymany z *D*-ksylozy na drodze kilkietapowej syntezy [7].

W naszej koncepcji syntezy optycznie czystych pochodnych perhydroindanu oraz dekaliny kluczową sprawą była synteza dienolaldehydu **3** o określonej konfiguracji wiązania podwójnego: albo *trans*, albo *cis* (ale nie mieszaniny), co mogło zaowocować opracowaniem stereoselektywnej metody syntezy związków o ogólnych wzorach **4** oraz **5** mających określoną konfigurację na nowo powstałych centrach stereogenicznych (rys. 2). Wydawało się, że otrzymanie czystego konfiguracyjnie dienolaldehydu **3** (o pożądanej konfiguracji *E* albo *Z* wewnętrznego wiązania podwójnego) byłoby możliwe w **jednym** etapie z odpowiednio przygotowanego chironu cukrowego **6** (rys. 2) przez modyfikowaną reakcję Vaselli [8].

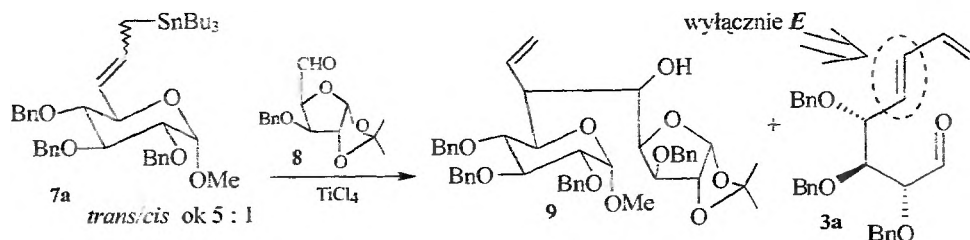


Rys. 2. Plan syntezy polihydroksylowych układów karbocyklicznych z cukrów

Niestety, wszelkie próby przeprowadzenia konwersji **6** → **3** (przy użyciu cynku w etanolu [8] lub aktywnych metali [9]) nie powiodły się. Rozwiązanie tego problemu przyszło z zupełnie innego rejonu naszej działalności, mianowicie syntezy cukrów wyższych [10, 11].

Reakcja pochodnej allilocynowej cukru prostego **7a** z aldehydem **8** katalizowana kwasem Lewisa (standardowa procedura stosowana w tzw. reakcji Yamamoto [12]) oprócz pożądanego produktu **9** dała również dienolaldehyd **3a**; co więcej, produkt **3a** miał **wyłącznie** konfigurację *E* wewnętrznego wiązania podwójnego [10] (schemat 1)!

To był początek drogi prowadzącej do opracowania stereoselektywnej syntezy wysoko sfunkcjonalizowanych układów karbocyklicznych.



Schemat 1. Synteza cukrów wyższych przez reakcję Yamamoto

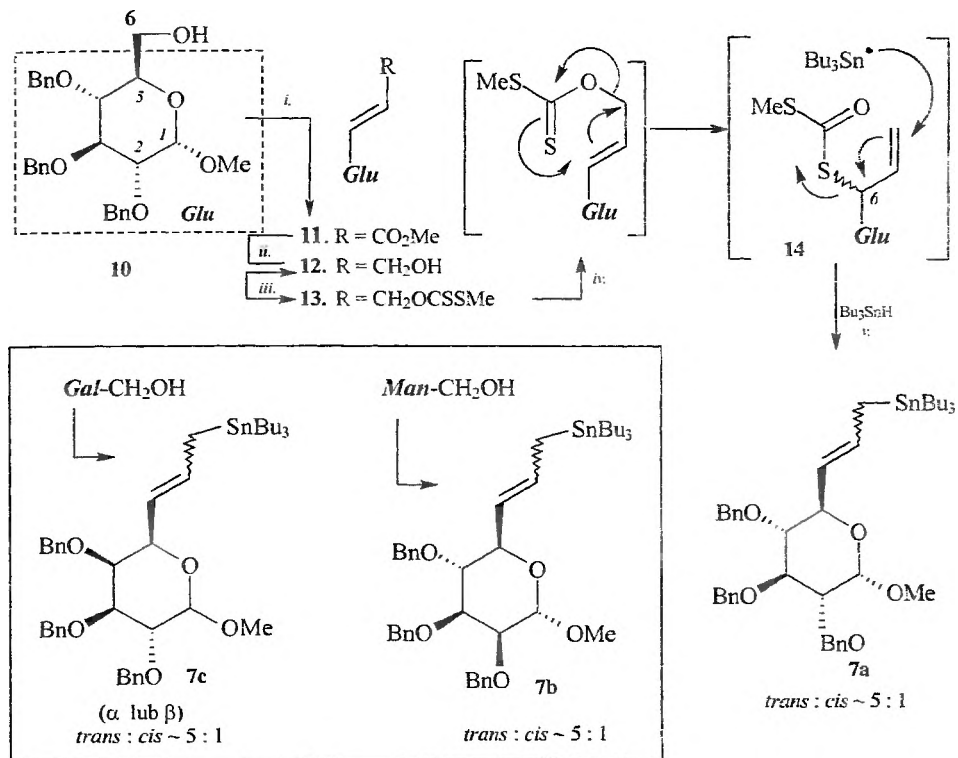
1. SYNTEZA ALLILOCYNOWYCH POCHODNYCH CUKRÓW PROSTYCH

Pierwszym krokiem w realizacji zamierzonego celu – syntezy wysoce sfunkcjonalizowanych pochodnych dekaliny oraz perhydroindanu – było opracowanie dogodnej metodyki otrzymywania allilocynowych pochodnych cukrów prostych. W literaturze można znaleźć wiele metod syntezy związków allilocynowych, jednakże większość z nich nie daje się zastosować w chemii węglowodanów [13]. W zasadzie jedyną ogólną i w pełni powtarzalną metodą jest metoda ksantogeanowa zaproponowana ponad dwadzieścia lat temu przez badaczy japońskich [14]. Zastosowanie tej metodyki w chemii węglowodanów [15] przedstawiono na schemacie 2 na przykładzie 2,3,4-tri-*O*-benzylo- α -D-glukopirazynozydu metyloвого (10).

Alkohol 10 utleniono do aldehydu odczynnikiem Swerna [16] i poddano reakcji z metoksykarbonylometylidenotrifenylofosforanem otrzymując α,β -nienasycony ester 11, który zredukowano wodorkiem diizobutyloglinowym (DIBAL-H) do odpowiedniego alkoholu allilowego 12. Związek ten przekształcono następnie w ksantogean 13 i poddano izomeryzacji w temperaturze wrzącego toluenu (110 °C) do ditiowęglanu 14. Ten ostatni proces przebiegał zupełnie nieselektywnie⁽¹⁾! Niezależnie od tego, czy wyjściowy alkohol allilowy 12 miał konfigurację *E* czy *Z* (czy też był mieszaniną *E/Z*) powstawała mniej więcej równomolowa mieszanina diastereoizomerów, różniących się konfiguracją centrum stereogenicznego C6 [15]. Reakcja 14 z wodorkiem tributylcynowym prowadziła z dobrą wydajnością do odpowiedniej pochodnej allilocynowej 7a. Mimo że ditiowęglan 14 był mieszaniną izomerów geometrycznych *E/Z*, w produkcie końcowym 7a zdecydowanie dominował izomer *E* (proporcja *E*:*Z* ~ 5:1) [15]. Oznaczało to, iż konfiguracja wyjściowego alkoholu allilowego **nie ma żadnego znaczenia**, gdyż otrzymuje się zawsze mieszaninę izomerów geometrycznych o tym samym składzie z dominacją izomeru *E*. Upraszczało to znacznie syntezę

⁽¹⁾ Należało oczekiwać, że w przypadku procesu uzgodnionego (*concerted*) powinien powstać – zgodnie z wymogami symetrii orbitali – jeden izomer.

allilocynowych pochodnych cukrów prostych (nie trzeba było rozdzielać alkoholi allilowych na czyste izomery *E* oraz *Z*), a sam fakt, iż związek **7a** był mieszaniną, nie miał (jak się okaże w następnym rozdziale) żadnego znaczenia w planowanej syntezie układów karbocyklicznych.



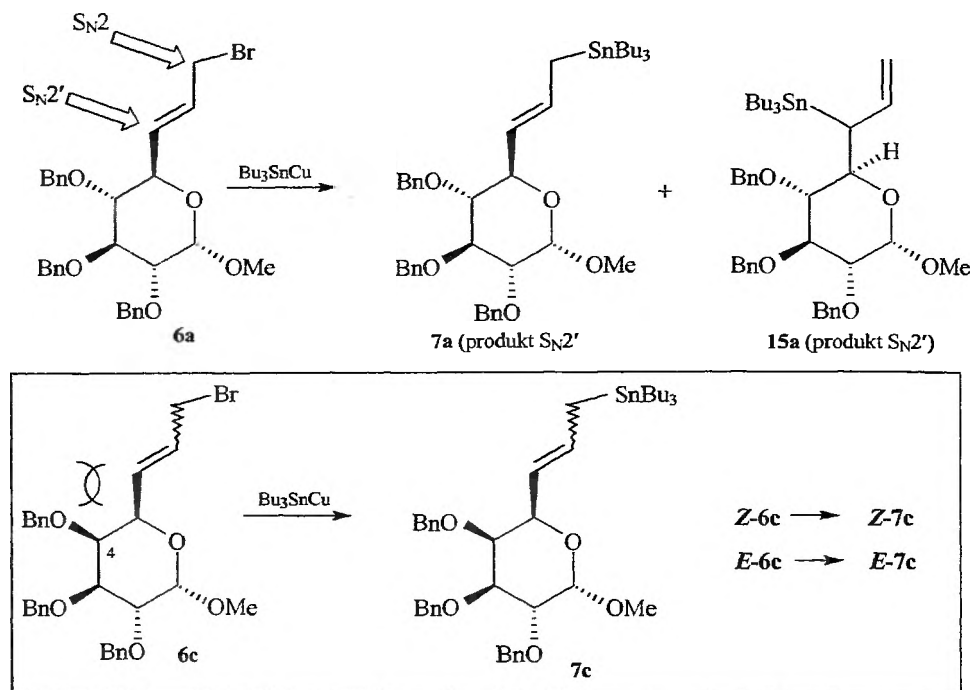
Schemat 2. *i.* 1. (COCl)₂, DMSO, Et₃N; 2. Ph₃P=CH-CO₂Me, 80%; *ii.* DIBAL-H, -23 °C, 80%; *iii.* 1. THF, NaH, 30 min; 2. CS₂, 2h; 3. MeI, 2h; *iv.* toluen, 110 °C, 2 h; *v.* toluen, 110 °C, 30 min

Wychodząc z glikozydów *D*-mannozy (seria **b**) oraz *D*-galaktozy (seria **c**) otrzymano również odpowiednie pochodne organometaliczne **7b** oraz **7c** [15] (schemat 2).

Inna metoda, choć już nie tak ogólna, polegała na reakcji bromków (lub me-sylanów) allilowych z odczynnikami Lipshutza [17] (Bu₃SnCu; tributylcynomiedź), co prowadziło do odpowiedniego związku **7**, a także jego regioizomeru **15** (schemat 3) [18].

I tak, reakcja bromku **6a** (konfiguracja wyłącznie *E*) – pochodnego *D*-glukozy – z Bu₃SnCu prowadziła do dwóch regioizomerów: **7a** (wyłącznie *E*) oraz **15a** (jeden izomer o nieznannej konfiguracji). Reakcja bardziej sterycznie załoczonego związku **6c** prowadziła wyłącznie do pierwszorzędowej allilocyny **7c**, jako że reakcja S_N2' prowadząca do związku II-rzędowego jest mocno utrudniona obecnością grupy OBn w pozycji C4. Obserwowano **retencję** konfiguracji

wiązania podwójnego w powyższych reakcjach: bromek o konfiguracji *E* dawał produkt **7** o takiej samej geometrii, natomiast bromek *Z*-**6** olefinę *Z*-**7** [18].



Schemat 3. Synteza allilocynowych pochodnych monosacharydów przy użyciu Bu_3SnCu

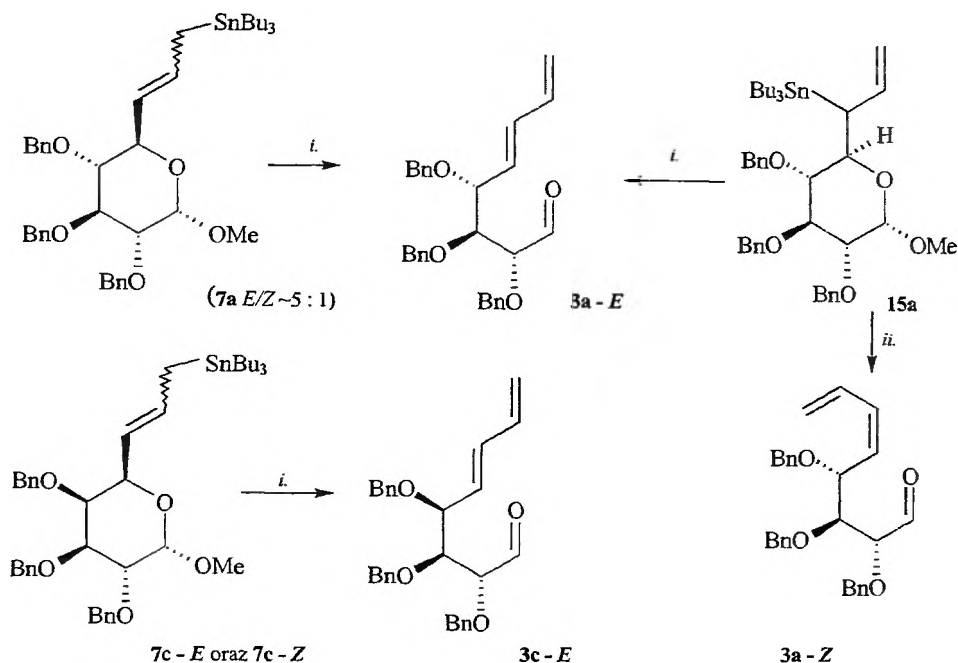
2. PRZEKSZTAŁCENIE POCHODNYCH ALLILOCYNOWYCH W UKŁADY OTWARTOLAŃCUCHOWE

Związki allilocynowe – zarówno pierwszorzędowe, jak i drugorzędowe – traktowane kwasami Lewisa ulegały przekształceniu w odpowiednie dienolaldehydy, co było połączone z eliminacją grupy tributylcynowej (schemat 4) [18, 19].

Wywodzące się z *D*-glukozy związki **7a** (pierwszorzędowy) [15] oraz **15a** (II-rzędowy) [19] pod wpływem chlorku cynku dawały ten sam produkt: 2(*R*),3(*S*),4(*R*)-tri-benzylloksy-5(*E*),7-dieno-oktanal (**3a-E**). Bardzo interesujący jest fakt, że konfiguracja wewnętrznego wiązania podwójnego (C5=C6) **nie zależy** od konfiguracji wyjściowej pierwszorzędowej pochodnej allilocynowej; niezależna reakcja zarówno *cis*-**7c**, jak i *trans*-**7c** dawała ten sam produkt **3c-E** z wiązaniem C5-C6 o geometrii *trans* (schemat 4) [18, 19]!

Natomiast regioizomery **7** i **15** zachowywały się zupełnie inaczej w podwyższonej temperaturze. Te pierwsze (**7**) były termicznie stabilne do temperatury co najmniej 170 °C (temp. wrz. *tert*-butylbenzenu), podczas gdy izomery **15** ule-

gały rozkładowi już w 140 °C (wrzący ksylen) z eliminacją grupy SnBu_3 z wytworzeniem produktu o wzorze sumarycznym identycznym z dienoaldehydem 3-*E*. Z widm ^1H oraz ^{13}C NMR wynikało, że to rzeczywiście jest dienoaldehyd, ale o konfiguracji *cis* ($J_{\text{olef}} = \sim 10$ Hz) wewnętrznego wiązania podwójnego czyli związek 3-*Z* [19].



Schemat 4. *i.* ZnCl_2 , CH_2Cl_2 ; *ii.* 140 °C, ksylen, 4 h

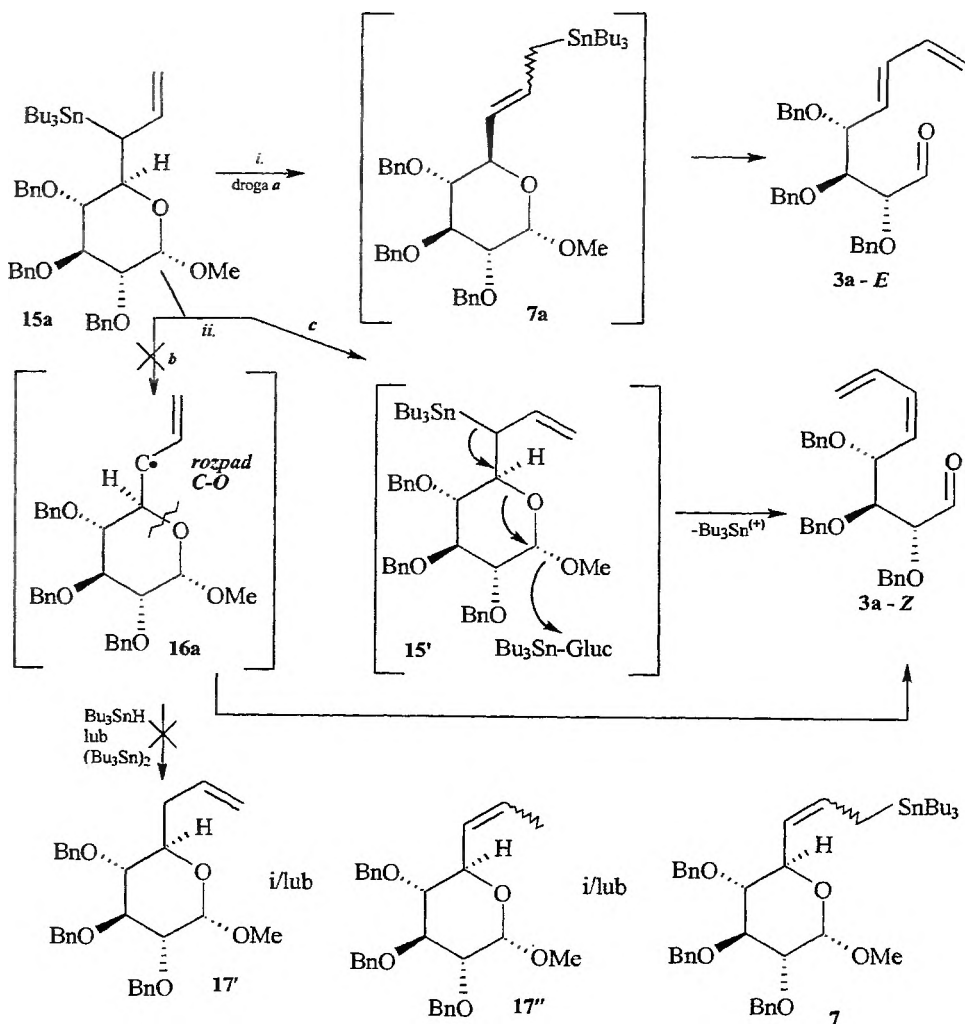
Opracowano zatem dogodną metodę syntezy dienoaldehydów 3 (wywodzących się z cukrów prostych) o **dowolnej, pożądanej** konfiguracji wewnętrznego wiązania podwójnego.

3. PRÓBA WYJAŚNIENIA MECHANIZMU PRZEGRUPOWANIA DO DIENOALDEHYDÓW

Allilowe pochodne cynoorganiczne cukrów prostych (7 lub 15) ulegają kontrolowanej konwersji do dienoaldehydów 3 o konfiguracji *E* wewnętrznego wiązania podwójnego pod wpływem kwasu Lewisa. Drugorzędowe związki allilocynowe są termicznie niestabilne i ulegają konwersji do *Z*-dienoaldehydu 3 w temperaturze 140 °C. Jak to wyjaśnić?

Nie ma jeszcze w tej chwili zadowalającego wytłumaczenia, dlaczego I-rzędowe związki allilocynowe 7 ulegają konwersji do dienoaldehydu o konfiguracji

E wiązania podwójnego przy atomie C5. Można się pokusić natomiast o pewne próby wyjaśnienia różnic w zachowaniu II-rzędowych izomerów **15** w warunkach wysokiej temperatury (140 °C) lub katalizy kwasem Lewisa. Można przyjąć, że pod wpływem kwasu Lewisa zachodzi izomeryzacja **15** do **7** (droga *a* na schemacie 5; tego typu proces przegrupowania układów I-rzędowych do II-rzędowych jest znany [20]), a pierwszorzędowe pochodne ulegają konwersji do *trans*-**3** niezależnie od konfiguracji wiązania podwójnego (*E* lub *Z*) pochodnej allilocynowej [18].



Schemat 5. i. ZnCl_2 , CH_2Cl_2 ; ii. 140 °C, ksylen, 4 h

Jak jednak wytłumaczyć reakcję przebiegającą we wrzącym ksylenie (140 °C) i dającą w rezultacie *cis*-dienoaldehyd? Wydawało się prawdopodobne, że w wysokiej temperaturze będzie preferowany homolityczny rozpad wiązania C—Sn z wytworzeniem rodnika **16a** (droga *b* na schemacie 5). Aby powstał produkt **3**, musiałoby pęknąć wiązanie C—O; tego typu rozpad jest obserwowany w przegrupowaniach acetały benzyliidenowych w reakcjach przebiegających w warunkach typowych dla procesów wolnorodnikowych [21]. Nie można zatem *a priori* wykluczyć powstawania aldehydu **3** przez rodnik **16a**. Aby tę możliwość potwierdzić (lub wykluczyć), przeprowadzono termolizę związku **15a** w obecności wodoru tributylocynowego oraz heksabutylodistannanu. Jeśli reakcja przebiega przez stadium rodnika, to w wyniku powyższego procesu powinien on być wychwycony (*trapped*) przez Bu₃SnH lub (Bu₃Sn)₂, co powinno prowadzić do produktów redukcji **17'** lub **17''** i/lub pierwszorzędowego analogu **7** (trwałego do temp. co najmniej 170 °C). Tych związków nie udało się zaobserwować, co raczej wyklucza mechanizm rodnikowy reakcji **15** → **3-Z** [19].

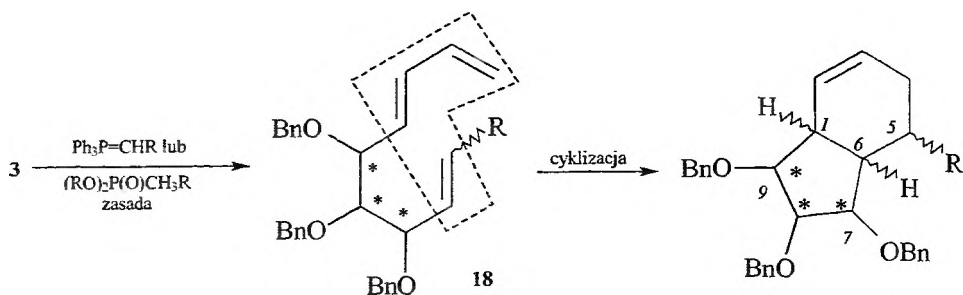
Proponujemy zatem inny mechanizm. Tetraalkilostannany można traktować jako bardzo słabe kwasy Lewisa, których właściwości kwasowe wzrastają w wysokiej temperaturze. Można postulować zatem kompleksowanie atomu cyny obecnego w **15** do grupy metoksylowej w drugiej cząsteczce substratu (**15'** na schemacie 5; droga *c*), co powoduje rozkład związku **15** do **3** [19]. Jednakże wciąż nie ma wytłumaczenia faktu powstawania wyłącznie aldehydu **3-Z** o konfiguracji *cis* wiązania podwójnego C(5)=C(6). Wymaga to dalszych intensywnych studiów.

4. ZASTOSOWANIE ZWIĄZKÓW ALLILOCYNOWYCH W SYNTEZIE UKŁADÓW KARBOCYKLICZNYCH

Łatwy dostęp do diennoaldehydów **3** o pożądanej konfiguracji wewnętrznego wiązania podwójnego stworzył możliwość stereoselektywnej syntezy pochodnych bicyklo[4.3.0]nonanu (**5**) oraz bicyklo[4.4.3.0]dekanu (**4**). Oba te procesy zostaną omówione oddzielnie.

4.1. STEREOSELEKTYWNA SYNTEZA UKŁADU BICYKLO[4.3.0]NONANU

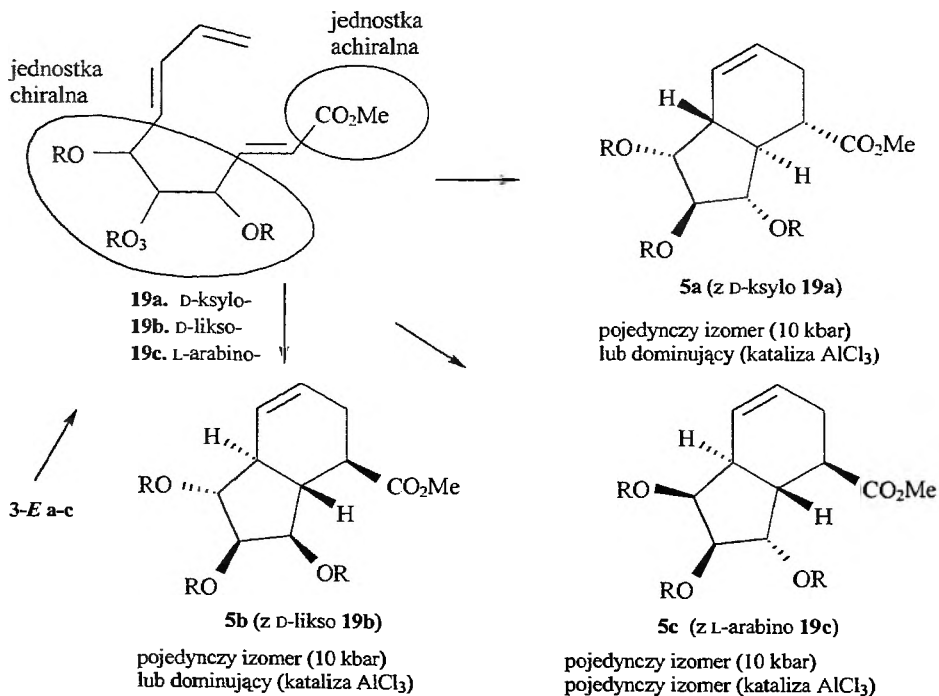
Konwersja grupy karbonylowej w drodze reakcji Wittiga (lub pokrewnych) w olefinę spowoduje powstanie trienu **18**, który może ulegać wewnątrzcząsteczkowej reakcji Dielsa–Aldera (*intramolecular Diels–Alder reaction*, IMDA) co powinno doprowadzić do układu perhydroindenu. W wyniku tego procesu powstaną trzy nowe centra stereogeniczne w pozycji C1, C5 oraz C6 (rys. 3).



Rys. 3. Otrzymywanie układu bicyklo[4.3.0]nonenu z dienoaldehydów

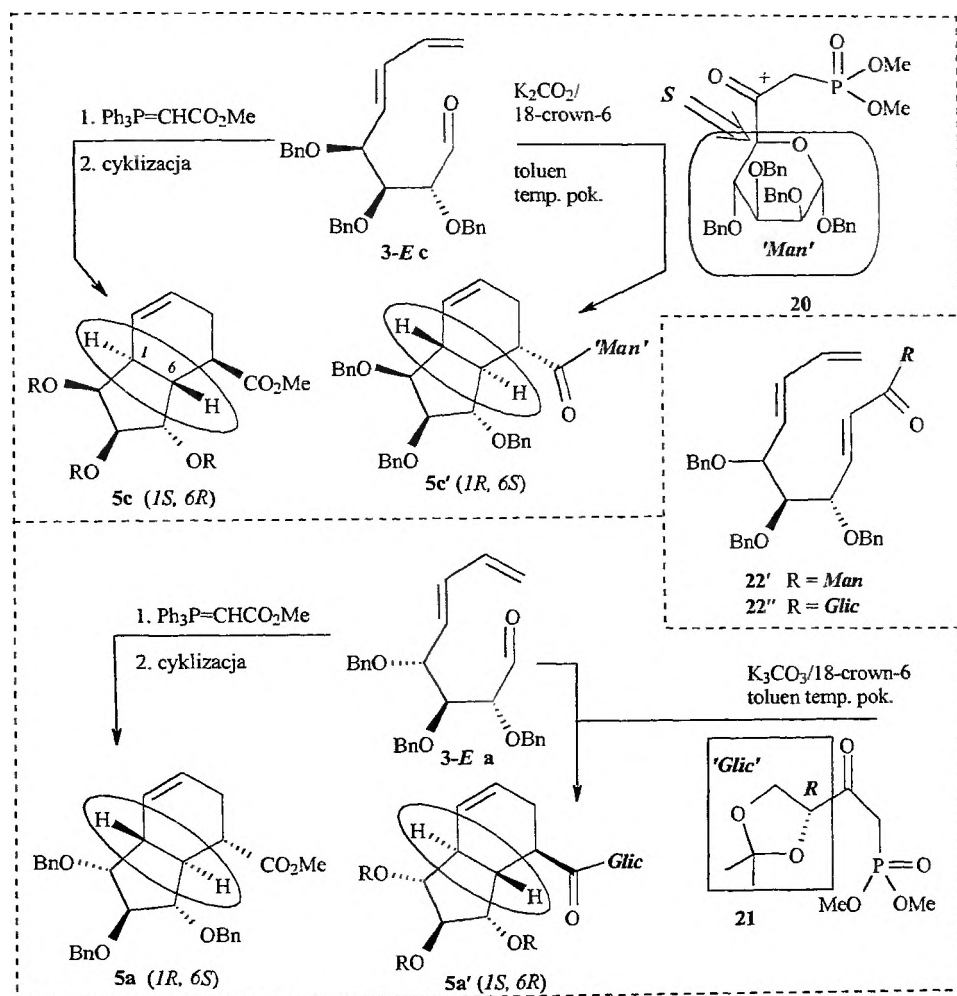
Względna konfiguracja centrów C1, C6 zależy od stereochemii stanu przejściowego (*endo/egzo* reakcji IMDA), podczas gdy relacja C5, C6 od geometrii wiązania podwójnego pośredniego związku – olefiny **18**. Konfiguracja absolutna wszystkich nowo powstałych centrów chiralności natomiast zależy od centrów obecnych w cząsteczce, zarówno tych w części dienoaldehydowej (związanych z grupami OBn), jak i nowo wprowadzonych w wyniku reakcji Wittiga (podstawnik R).

Konfiguracją wiązania podwójnego można łatwo sterować prowadząc reakcję aldehydu ze stabilizowanym odczynnikiem Wittiga, co nie tylko zapewni geometrię *E*, ale również powoduje, że olefina staje się aktywnym dienofilem.

Schemat 6. Reakcja dienoaldehydów *3-E* z $Ph_3P=CH-CO_2Me$ z następczą cyklizacją

Wszystkie łatwo dostępne aldehydy **3-E** (**a-c**) (o konfiguracji *D-ksylo-*, *D-likso-* oraz *L-arabino*; wywodzące się odpowiednio z **7a-c**) reagowały z najprostszym stabilizowanym ylidem $\text{Ph}_3\text{P}=\text{CH}-\text{CO}_2\text{Me}$ dając odpowiednie trieny **19** [15]. Te z kolei poddawano cyklizacji działaniem chlorku glinu lub wysokiego ciśnienia [22]. Wyniki przedstawiono na schemacie 6. We wszystkich przypadkach względna konfiguracja złącza pierścieni jest *trans*.

Prowadząc reakcję dienoidaldehydu z chiralnymi odczynnikami typu Wittiga można zmienić stereochemię powyższej przemiany (schemat 7) [23]. Jeśli w wyniku reakcji dienoidaldehydu **3-E** z układem achiralnym powstający trien cyklizował do produktu **5** o konfiguracji złącza pierścieni *1S,6R* (np. **3-E c** → **5c**), to tę stereochemię można było odwrócić jeśli zastosowano *chiralny* odczynnik fosforowy o konfiguracji α -*S* (np. związek **20**; reakcja z nim prowadziła do izomeru

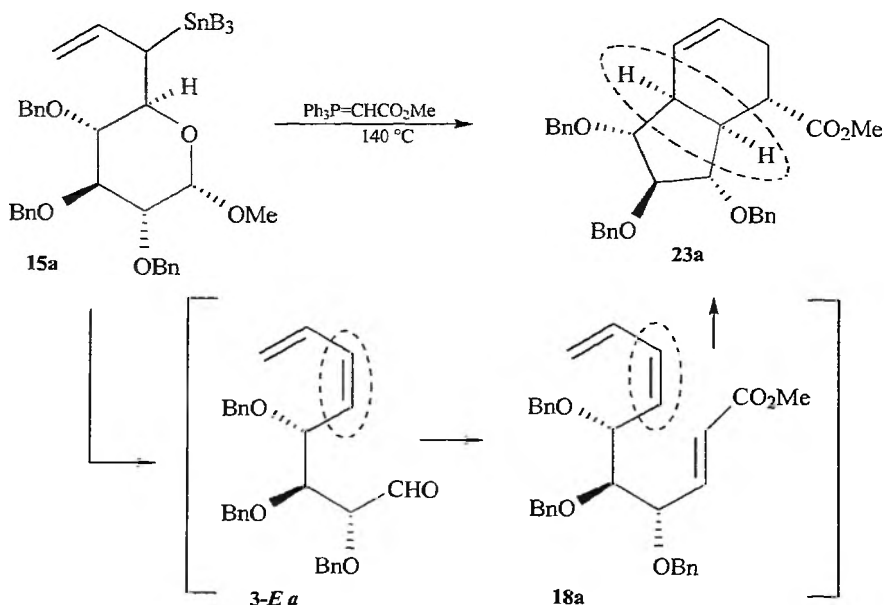


Schemat 7. Stereoselektywna synteza układu bicyklo[4.3.0]nonanu

5c' o geometrii *1R,6S*). Zastosowanie fosfonianu o konfiguracji α -R powinno te relacje odwrócić. I tak reakcja aldehydu **3-E** a z achiralnym odczynnikiem Wittiga prowadziła do izomeru **5a** (*1R,6S*), natomiast reakcja **5a** z fosfonianem **21** do izomeru **5a'** (*1S,5R*) [23].

Reakcja dienoaldehydów z fosfonianami wymaga pewnego komentarza. Przebiega ona w bardzo łagodnych warunkach katalizy międzyfazowej (K_2CO_3 , 18-crown-6, toluen, temp. pok.), a powstające trieny **22'** oraz **22''** (schemat 7) są na tyle reaktywne, że ulegają spontanicznej cyklizacji do związku **5** [23]⁽²⁾.

Reakcja dienoaldehydu **3a-E** o konfiguracji *cis* wewnętrznego wiązania podwójnego powinna dawać produkt bicykliczny o odwrotnej względnej konfiguracji złącza pierścieni, tj. *cis*. Rzeczywiście, drugorzędowa pochodna allilocy-nowa **15a** (prekursor dienoaldehydu **3a-E**) ogrzewana do temp. 140 °C w obecności ylidu: $Ph_3P=CHCO_2Me$ dawała z dobrą wydajnością bicykliczny produkt **23a** o geometrii *cis*-złącza pierścieni (schemat 8) [19].



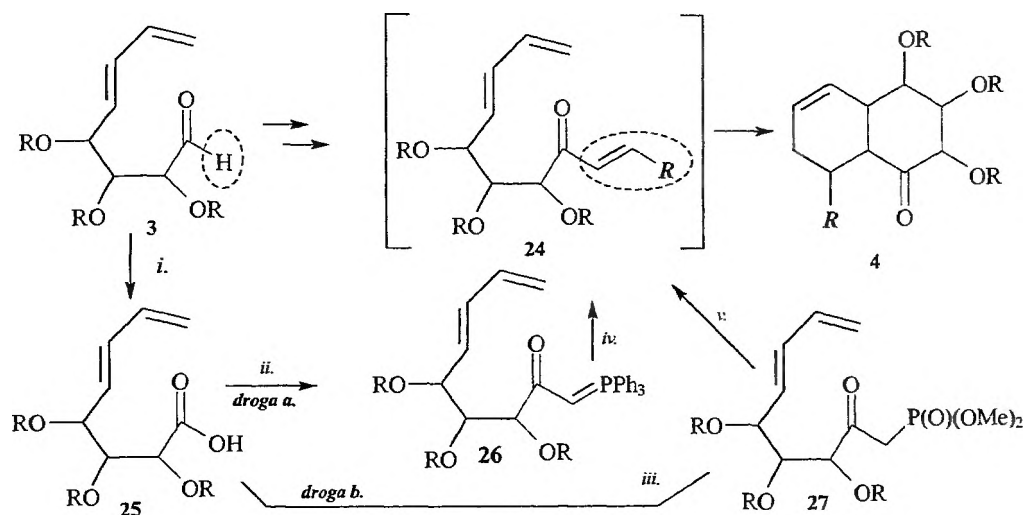
Schemat 8. Termiczny rozkład II-rzędowej pochodnej **15a** w obecności ylidu

4.2. STEREOSELEKTYWNA SYNTEZA UKŁADU BICYKLO[4.4.0]DEKANU

Plan syntezy dekaliny z dienoaldehydu przedstawiony jest na schemacie 9. Kluczową sprawą była wymiana aldehydowego atomu wodoru na grupę $CH=CHR$ (**3-E** \rightarrow **24**).

⁽²⁾ Jest to o tyle zrozumiałe, że w układzie trienu **22** występuje grupa ketonowa, która znacznie silniej aktywuje olefinę niż grupa estrowa obecna w trienie **19**.

Dokonano tego na dwóch niezależnych drogach. Po pierwsze aldehyd **3-E** utleniono do kwasu **25**, a ten przekształcono albo w stabilizowany odczynnik Wittiga **26**, albo fosfonian **27**, oba bogatsze o jeden atom węgla od wyjściowego związku **3**. Reakcja obu tych pochodnych z aldehydem *R*-CHO prowadziła do trienu **24**, który samorzutnie ulegał cyklizacji dając dekalinę **4**. Reakcja ylidu **26** z aldehydami zachodziła z bardzo umiarkowanymi wydajnościami tylko w wysokiej temperaturze lub pod wysokim ciśnieniem. Znacznie dogodniejsza była reakcja fosfonianów przebiegająca w łagodnych warunkach katalizy międzyfazowej i dająca produkty bicykliczne z dobrymi wydajnościami (schemat 9).



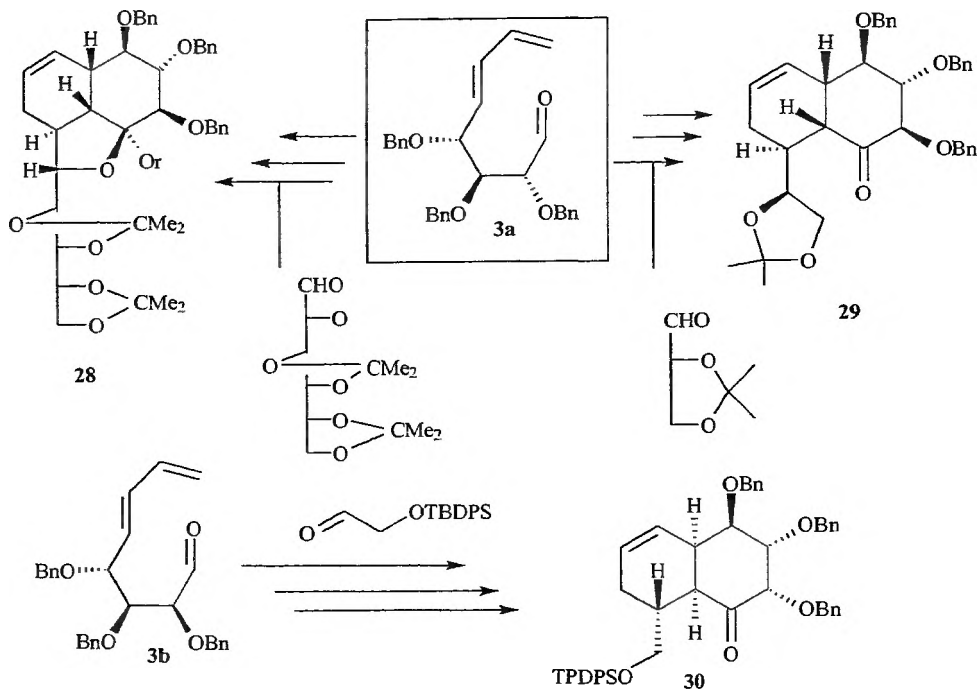
Schemat 9. *i.* reagent Jonesa; *ii.* 1. im_2CO ; 2. $\text{Ph}_3\text{P}=\text{CH}_2$ (2 równoważ.); *iii.* 1. CH_2N_2 ; 2. BuLi , $\text{MeP}(\text{O})(\text{OMe})_2$; *iv.* *R*-CHO, 140 °C lub 10 kbar; *v.* *R*-CHO, K_2CO_3 , 18-crown-6, temp. pok.

Aldehyd użyty w tej przemianie może być zarówno chiralny jak i achiralny. Stosując metodę fosfonianową zsyntetyzowano z dobrą wydajnością oraz znakomitą stereoselektywnością wiele produktów bicyklicznych, pochodnych dekaliny o konfiguracji *cis* złącza pierścieni. Wybrane przykłady syntezy prowadzące do stereizomerów **28** [24, 25], **29** [25] oraz **30** [25] przedstawiono na rys. 4.

4.3. MECHANIZM STEREOSELEKTYWNEJ WEWNĄTRZCZĄSTECZKOWEJ REAKCJI DIELSA-ALDERA

Wysoką stereoselektywność procesu wewnątrzcząsteczkowej cyklizacji [4 + 2] trienów prowadzącej do pochodnych bicyklo[4.3.0]nonanu oraz bicyklo[4.4.0]dekanu można łatwo wytłumaczyć przyjmując, że przebiega ona po-

przez – preferowany ze względu na drugorzędowe oddziaływania orbitalne – stan *endo*. Najbardziej uprzywilejowane stany *endo* addycji prowadzące do diastereoizomerycznie czystych produktów [19, 23, 25] przedstawiono na rys. 5.

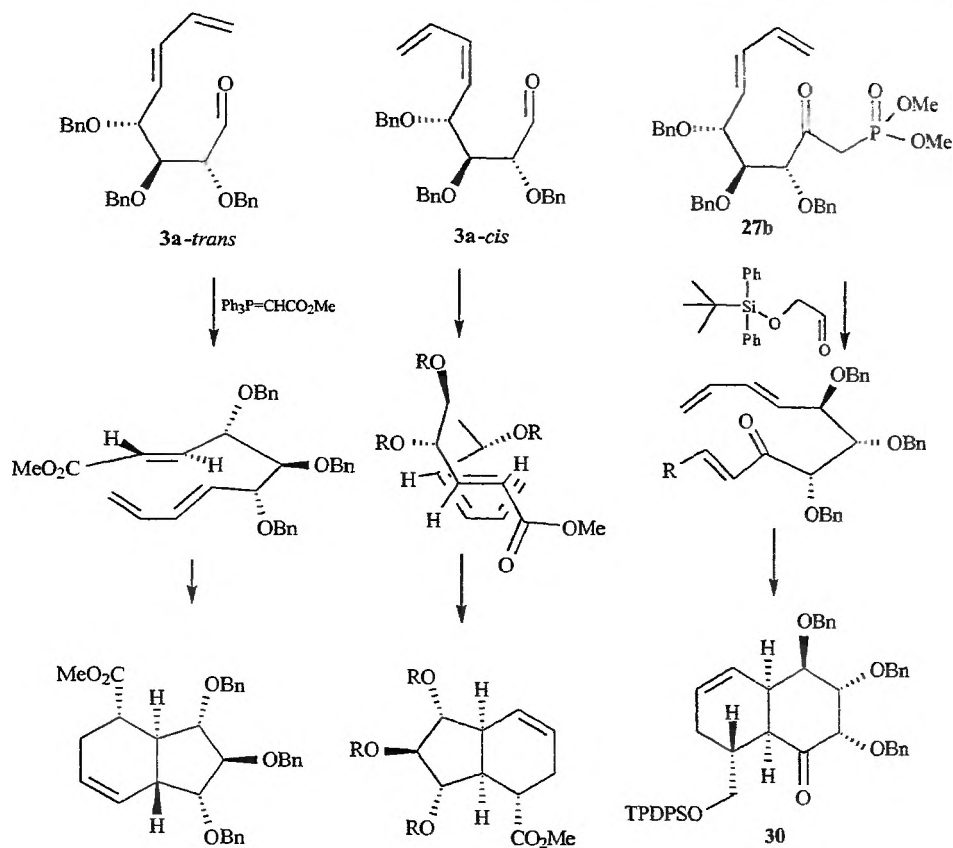


Rys. 4. Stereoselektywne syntezy optycznie czystych dekalin

PODSUMOWANIE

Allilocynowe pochodne cukrów prostych są dogodnymi substratami w syntezie układów karbocyklicznych. Zarówno pierwszo-, jak i drugorzędowe allilostannany ulegają kontrolowanemu rozkładowi z eliminacją grupy Bu_3Sn do odpowiednich dienoaldehydów o konfiguracji *E* wewnętrznego wiązania podwójnego. Drugorzędowe pochodne ulegają także rozkładowi termicznemu do *cis* dienoaldehydów. Oba te dienoaldehydy (*trans* oraz *cis*) zostały wykorzystane w stereokontrolowanej syntezie układów karbocyklicznych, pochodnych bicyklo[4.3.0]nonanu oraz bicyklo[4.4.0]dekanu.

Zaletą proponowanej tu metody syntezy układów karbocyklicznych jest jej prostota oraz dostępność substratów związków allilocynowych oraz w konsekwencji dienoaldehydów wywodzących się z różnych cukrów prostych. Wykorzystanie prostych monosacharydów jako tzw. *chiral pool* pozwala na syntezę **enantjomerycznie czystych**, wysoce sfunkcjonalizowanych pochodnych perhydroindanu oraz dekaliny, związków będących potencjalnymi inhibitorami glikozydaz.



Rys. 5. Preferowane stany *endo*-cykloaddycji prowadzące do układów bicyklicznych

PIŚMIENNICTWO CYTOWANE

- [1] R. Noyori, M. Suzuki, *Science*, 1993, **259**, 44; P.W. Collins, S.W. Djuric, *Chem. Rev.*, 1993, **93**, 1533 i odnośniki tam cytowane.
- [2] L.E. Brammer, T. Hudlicky, *Tetrahedron: Asymmetry*, 1998, **9**, 2011 i odnośniki tam cytowane.
- [3] T. Suami, S. Ogawa, *Adv. Carbohydr. Chem., Biochem.*, 1990, **48**, 22; A.M. Gomez, G.O. Danelon, S. Valverde, J.C. Lopez, *J. Org. Chem.*, 1998, **63**, 9626 i odnośniki tam cytowane.
- [4] G. Mehta, S.S. Ramesh, *Chem. Commun.*, 2000, 2429.
- [5] G. Mehta, S.S. Ramesh, *Tetrahedron Lett.*, 2001, **42**, 1987.
- [6] S. Hanessian, *Total Synthesis of Natural Products: The Chiron Approach*, Pergamon Press, New York 1983; B. Fraser-Reid, *Acc. Chem. Res.*, 1996, **29**, 57 i odnośniki tam cytowane.
- [7] P. Herczegh, M. Zsely, L. Szilagyi, I. Bajza, A. Kovacs, G. Batta, R. Bognar, *Cycloaddition Reactions in Organic Chemistry*, 1992, 112 (ACS Symposium Series 494, Giuliano R.M. Edition) i odnośniki tam cytowane.
- [8] B. Burnett, A. Vasella, *Helv. Chim. Acta*, 1979, **62**, 1990; *ibid.*, 1979, **62**, 2400.
- [9] A. Fuerstner, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, 1993, **32**, 164 i odnośniki tam cytowane.

- [10] S. Jarosz, B. Fraser-Reid, *J. Org. Chem.*, 1989, **54**, 4011.
- [11] Przegląd: S. Jarosz, *J. Carbohydr. Chem.*, 2001, **20**, 93.
- [12] Y. Yamamoto, H. Yatagi, Y. Ishihara, N. Maeda, K. Maruyama, *Tetrahedron*, 1984, **40**, 2239; Y. Yamamoto, *Acc. Chem. Res.*, 1987, **20**, 243; Y. Yamamoto, N. Asao, *Chem. Rev.*, 1993, **93**, 2207; S. Sumida, M. Ohga, J. Mitani, J. Nokami, *J. Am. Chem. Soc.*, 2000, **122**, 1310 i odnośniki tam cytowane.
- [13] S. Jarosz, E. Kozłowska, *Polish J. Chem.*, 1998, **72**, 815 i odnośniki tam cytowane.
- [14] Y. Ueno, M. Okawara, *J. Am. Chem. Soc.*, 1979, **101**, 1893; Y. Ueno, S. Aoki, M. Okawara, *J. Am. Chem. Soc.*, 1979, **101**, 5454; Y. Ueno, H. Sano, M. Okawara, *Synthesis*, 1980, 1011.
- [15] E. Kozłowska, S. Jarosz, *J. Carbohydr. Chem.*, 1994, **13**, 889.
- [16] A.J. Mancuso, S.L. Huang, D. Swern, *J. Org. Chem.*, 1978, **43**, 2480.
- [17] B.H. Lipshutz, E.L. Ellsworth, S.H. Dimock, D.C. Reuter, *Tetrahedron Lett.*, 1989, **30**, 2065.
- [18] S. Jarosz, *Tetrahedron*, 1997, **53**, 10765.
- [19] S. Jarosz, K. Szewczyk, *Tetrahedron Lett.*, 2001, **42**, 3021.
- [20] J.A. Verdone, J.A. Mangravite, N.M. Scarpa, H.G. Kuivila, *J. Am. Chem. Soc.*, 1975, **97**, 843.
- [21] B.P. Roberts, T.M. Smits, *Tetrahedron Lett.*, 2001, **42**, 137; E.S. Huyser, Z. Garcia, *J. Org. Chem.*, 1962, **27**, 2716.
- [22] S. Jarosz, E. Kozłowska, A. Jeżewski, *Tetrahedron*, 1997, **53**, 10775.
- [23] S. Jarosz, S. Skóra, *Tetrahedron: Asymmetry*, 2000, **11**, 1425.
- [24] S. Jarosz, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1*, 1997, 3579.
- [25] S. Jarosz, S. Skóra, *Tetrahedron: Asymmetry*, 2000, **11**, 1433.

Praca wpłynęła do Redakcji 11 grudnia 2001

**O CZWARTORZĘDOWYCH SOLACH
N-GLIKOPIRANOZYLOAMONIOWYCH**
ON THE *N*-GLYCOPYRANOSYLAMMONIUM SALTS

**Barbara Dmochowska, Eugenia Skorupowa,
Andrzej Wiśniewski**

*Wydział Chemii, Uniwersytet Gdański
ul. J. Sobieskiego 18, 80-952 Gdańsk*

Abstract

1. Otrzymywanie czwartorzędowych soli *N*-(*D*-glikopiranozylo)amoniowych
 2. Przemiany soli *N*-(*D*-glikopiranozylo)amoniowych pod wpływem metanolanu sodu w metanolu
 3. Wyniki badań krystalograficznych
- Piśmiennictwo cytowane
-



Prof. Andrzej Wiśniewski urodził się w 1948 r. w Starym Barkoczynie (woj. pomorskie). Studia wyższe odbył na Wydziale Chemii Uniwersytetu Gdańskiego w latach 1966–1971. Stopień doktora uzyskał w 1981, doktora habilitowanego w 1993, tytuł profesora nauk chemicznych w 2002 r. Od 1972 r. pracuje na Wydziale Chemii Uniwersytetu Gdańskiego, a od roku 2000 jest kierownikiem Zakładu Chemii Cukrów tego Wydziału. Jest współautorem 38 oryginalnych publikacji, podręcznika *Podstawy chemii cukrów* i dwu dokumentów nomenklaturowych dotyczących nomenklatury węglowodanów oraz rodników i indywiduów pokrewnych wydanych przez Bibliotekę Wiadomości Chemicznych. Zajmował się dehydratacją alditoli, obecnie pracuje m.in. nad czwartorzędowymi solami amoniowymi pochodnych cukrów, syntezą disacharydów i pochodnych diosgeniny. W identyfikacji struktury badanych połączeń wykorzystuje CGC, CGC-MS, metody spektroskopowe i krystalografię.



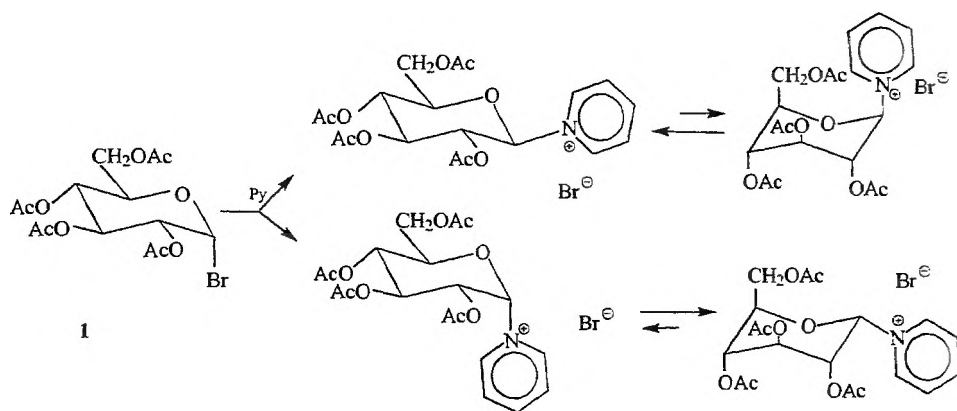
Dr Eugenia Skorupowa jest starszym wykładowcą w Katedrze Syntezy Organicznej Uniwersytetu Gdańskiego. Z uczelnią jest związana od czasów studiów, początkowo jako asystent, a od 1981 r. – po uzyskaniu doktoratu – jako starszy specjalista w Zakładzie Chemii Cukrów. Jako jego wieloletni członek czynnie uczestniczy w pracach badawczych dotyczących przemian chemicznych węglowodanów i polioli, a także syntezy i cyklizacji *N*-(*D*-glikopiranozylo)pirydyniowych soli. Jest autorką 17 publikacji o zasięgu międzynarodowym, 16 komunikatów na zjazdach naukowych oraz 3 zgłoszeń patentowych.



Dr Barbara Dmochowska urodziła się w 1970 r. w Łęborku. W 1994 r. ukończyła studia – kierunek chemia – na Wydziale Chemii Uniwersytetu Gdańskiego i rozpoczęła studia doktoranckie na tym samym Wydziale. Pracę doktorską, wykonaną pod kierunkiem prof. dra hab. Andrzeja Wiśniewskiego, obroniła w 1999 r. W latach 1999–2000 przebywała na stażu naukowym w Case Western Reserve University w Cleveland (USA). Od 2001 r. jest adiunktem na Wydziale Chemii Uniwersytetu Gdańskiego i pracuje w Zakładzie Chemii Cukrów. Jest współautorem 5 publikacji i 10 komunikatów na zjazdach krajowych i zagranicznych. Główny kierunek działalności badawczej to: synteza, budowa, właściwości chemiczne i biologiczne czwartorzędowych soli *N*-(*D*-glikopiranozylo)amoniowych.

1. OTRZYMYWANIE CZWARTORZĘDOWYCH SOLI *N*-(*D*-GLIKOPIRANOZYLO)AMONIOWYCH

W Zakładzie Chemii Cukrów Uniwersytetu Gdańskiego od kilku lat prowadzone są badania dotyczące syntezy i struktury czwartorzędowych soli *N*-(*D*-glikopiranozylo)amoniowych. W przeciwieństwie do obszernej literatury *N*-alkilowych (*N*-arylowych) soli pirydyniowych i związków pokrewnych, niewiele jest informacji o analogach *N*-glikozylowych. Halogenki per-*O*-acetyloglikopiranozyli (najczęściej bromki lub chlorki) w reakcji z trzeciorzędową aminą tworzą czwartorzędowe sole z nowym wiązaniem N—C_{an}. Pierwsze doniesienia dotyczące soli *N*-(*D*-glikopiranozylo)pirydyniowych pochodzą z 1910 r., kiedy to Fischer i Raske [1] opublikowali sposób otrzymywania bromku *N*-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetylo-β-*D*-glukopiranozylo)pirydyniowego. Prace kontynuował Karrer ze wsp. [2, 3], a wnioski dotyczące budowy uzyskanej soli pirydyniowej opierał jedynie na wynikach analizy elementarnej. W 1963 r. Lemieux i Morgan [4–6] otrzymali obydwa anomery bromku *N*-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetylo-*D*-glukopiranozylo)pirydyniowego (schemat 1) oraz udokumentowali ich struktury metodami spektroskopowymi.

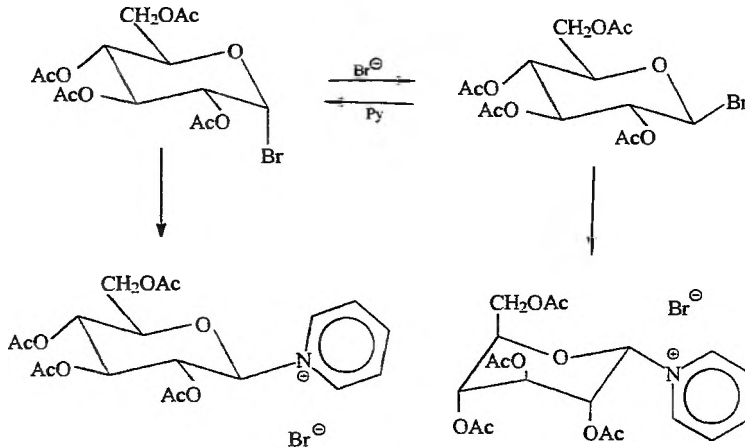


Schemat 1

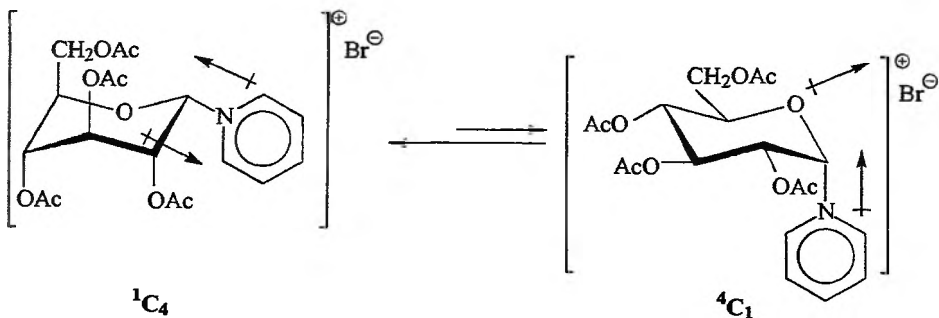
Na podstawie wyników tych doświadczeń Lemieux [5] zaproponował następujący mechanizm tworzenia soli pirydyniowych (schemat 2 przedstawia uproszczoną wersję proponowanego przez Lemieux mechanizmu).

Na podstawie wyznaczonych stałych sprzężenia ($J_{1,2} = 2,8$ Hz, $J_{2,3} = 3,1$ Hz, $J_{3,4} = 3,2$ Hz, $J_{4,5} = 5,7$ Hz) autorzy stwierdzili, że anomer α występuje w rzadko spotykanej konformacji 1C_4 . Przyczyną jest działanie odwrotnego efektu anomerycznego pojawiającego się w przypadku anomeru α w konformacji 4C_1 . Innymi słowy, w przypadku połączenia anomerycznego atomu węgla (C_{an}) z atomem azotu pirydyny (tworząc kation pirydyniowy z aglikonem w pozycji

ekwatorialnej), zwrot wektora momentu dipolowego wiązania $C_{an}-N^+$ jest przeciwny w stosunku do $C_{an}-Br$ i powoduje, że uprzywilejowaną konformacją dla anomeru α jest 1C_4 (rys. 1).

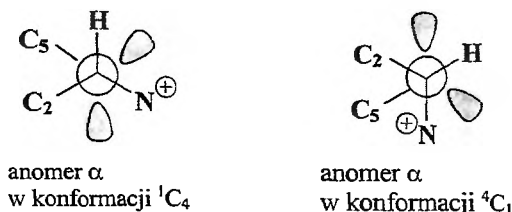


Ulokowanie podstawnika z deficytem elektronowym (w projekcji Newmana wzdłuż wiązania C-1—O-5) pomiędzy wolnymi parami elektronowymi heterocyclicznego atomu tlenu jak w przypadku anomeru α kationu *N*-(D-glikopiranozylo)pirydyniowego jest zjawiskiem korzystnym (konformacja 1C_4 , rys. 2) mimo czterech aksjalnych podstawników pierścienia pirazowego (niekorzystnych energetycznie). Natomiast konformer 4C_1 tego samego anomeru jest mniej stabilny od poprzedniego mimo obecności w pierścieniu pirazowym czterech ekwatorialnie ulokowanych podstawników.



Lemieux i Morgan [5] określili wpływ różnych czynników (np. stężenia bromku tetra-*O*-acetylo- α -D-glikopiranozyłu w pirydynie, czasu trwania reakcji

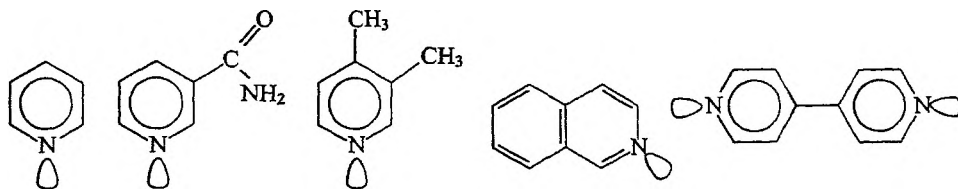
oraz dodania do reakcji bromku lub chloranu(VII) tetra-*n*-butyloamoniowego) na konfigurację anomerycznego atomu węgla produktu. Natomiast Sinnott i wsp. [7-10] poddali analogiczne sole reakcji *O*-deacetylowania uzyskując oczekiwane sole. Paulsen [11] i Finch [12] opublikowali wyniki badań nad wpływem efektu anomerycznego na stan równowagi konformacyjnej soli *N*-(per-*O*-acetyloaldopiranozylo)pirydyniowych i -imidazoliowych.



Rys. 2

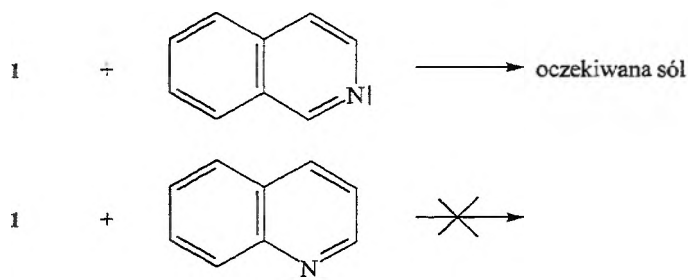
Reakcja bromku 2,3,4,6-tetra-*O*-acetylo- α -D-glukopiranozyłu (1) z trimetyloaminą ($pK_b = 4,20$ [13]) według przepisu Karrera [2] prowadziła do powstania soli *N*-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetylo- β -D-glukopiranozylo)trimetyloamoniowej w skali preparatywnej. Natomiast w skali mikro, tj. w szklanych ampułkach, przebadano reakcje związku 1 z trietyloaminą ($pK_b = 3,28$), tripropyloaminą ($pK_b = 3,34$) oraz z tri-*n*-butyloaminą ($pK_b = 3,58$). Pozytywny wynik otrzymano jedynie z trietyloaminą, jednak z małą wydajnością. Trzeciorzędowa amina alifatyczna zawierająca podstawniki *n*-propylowe i *n*-butylowe zwiększa zawadę przestrzenną do tego stopnia, że oczekiwana sól nie pojawia się nawet w śladowych ilościach.

Przebadano, w skali preparatywnej, reakcje związku 1 z aminami aromatycznymi, takimi jak: pirydyna ($pK_b = 8,83$), 3-karbamoilopirydyna ($pK_b = 10,67$), izochinolina ($pK_b = 8,60$) i 4,4'-bipirydył ($pK_{1b} = 9,18$, $pK_{2b} = 10,83$) oraz w skali mikro z chinoliną ($pK_b = 9,52$), 2,3-lutydyną ($pK_b = 7,41$), 3,4-lutydyną ($pK_b = 7,26$), 2,4-lutydyną ($pK_b = 7,58$) i 2,2'-bipirydylem ($pK_{1b} = 9,67$, $pK_{2b} = 14,52$). Stwierdzono, że tworzenie się czwartorzędowych soli *N*-(D-glikopiranozylo)pirydyniowych możliwe jest tylko wtedy, gdy halogenek acetyloglikopiranozyłu reagować będzie z heterocykliczną zasadą azotową mającą wolne (nie zajęte) pozycje 2 i 6 pierścienia pirydyny (rys. 3).



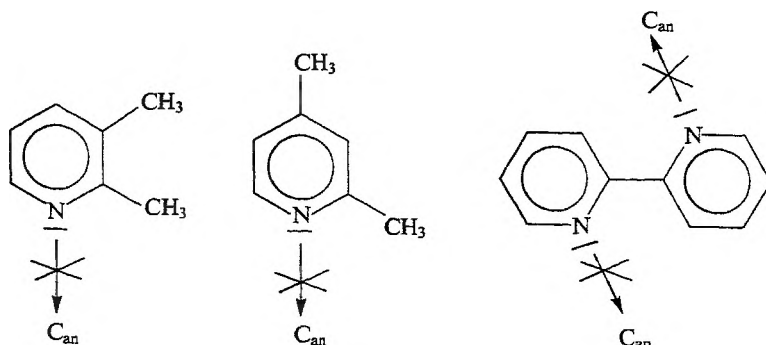
Rys. 3

Porównanie wyników reakcji bromku *per-O*-acetylo- α -D-glukopiranozyłu (**1**) z pirydyną, amidem kwasu nikotynowego, chinoliną, izochinoliną pozwoliły określić przyczyny tworzenia lub nietworzenia badanych soli. Porównanie wyników pierwszej pary zasad, tj. pirydyny i 3-karbamoilopirydyny w reakcji ze związkiem **1** dowodzi, że dość znaczna różnica ich zasadowości (ok. 90 razy), a tym samym wielkości ładunku ujemnego na heterocyklicznym atomie azotu, nie wpływa w istotnym stopniu na łatwość tworzenia się badanych soli (podobne wydajności). W obu przypadkach jest jednakowo łatwy steryczny dostęp anome-rycznego atomu węgla związku **1** do heterocyklicznego atomu azotu, lecz różna wielkość czynnika elektronowego. Z kolei, druga para zasad w analogicznej reakcji: chinolina i izochinolina (podobna zasadowość) prowadzi do całkowicie różnych wyników, co można wyjaśnić różnym czynnikiem sterycznym zasady azotowej (rys. 4).



Rys. 4

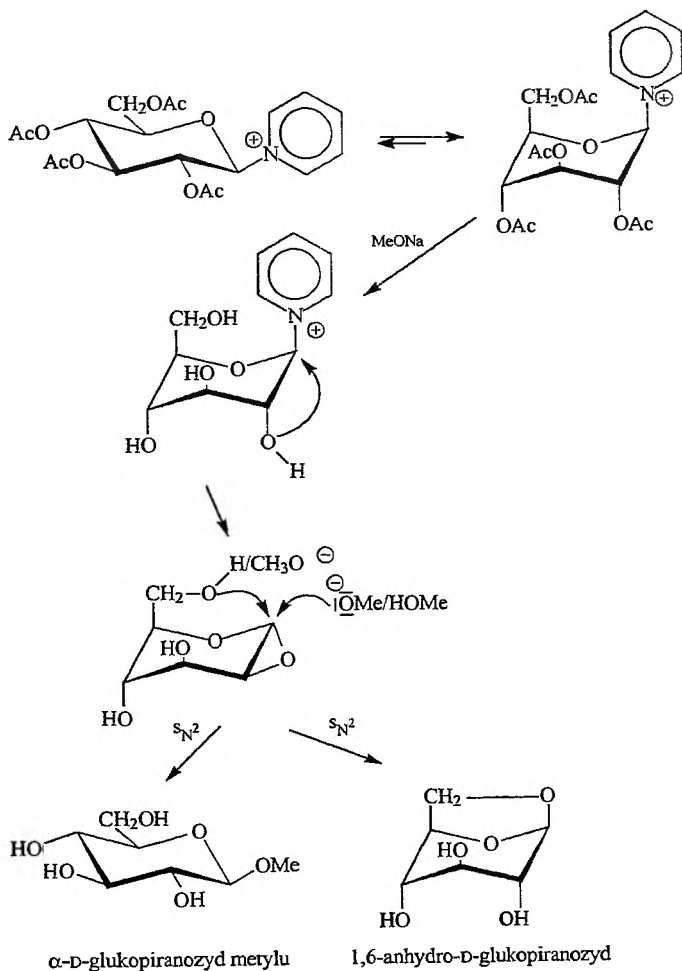
Zgodnie z oczekiwaniami, inne zasady, tj. 2,3-dimetylopirydyna, 2,4-dimetylopirydyna, 2,2'-bipirydył o podobnej trudności dostępu heterocyklicznego atomu azotu do C_{an} związku **1**, jak w chinolinie, nie tworzyły odpowiednich soli amoniowych (rys. 5).



Rys. 5

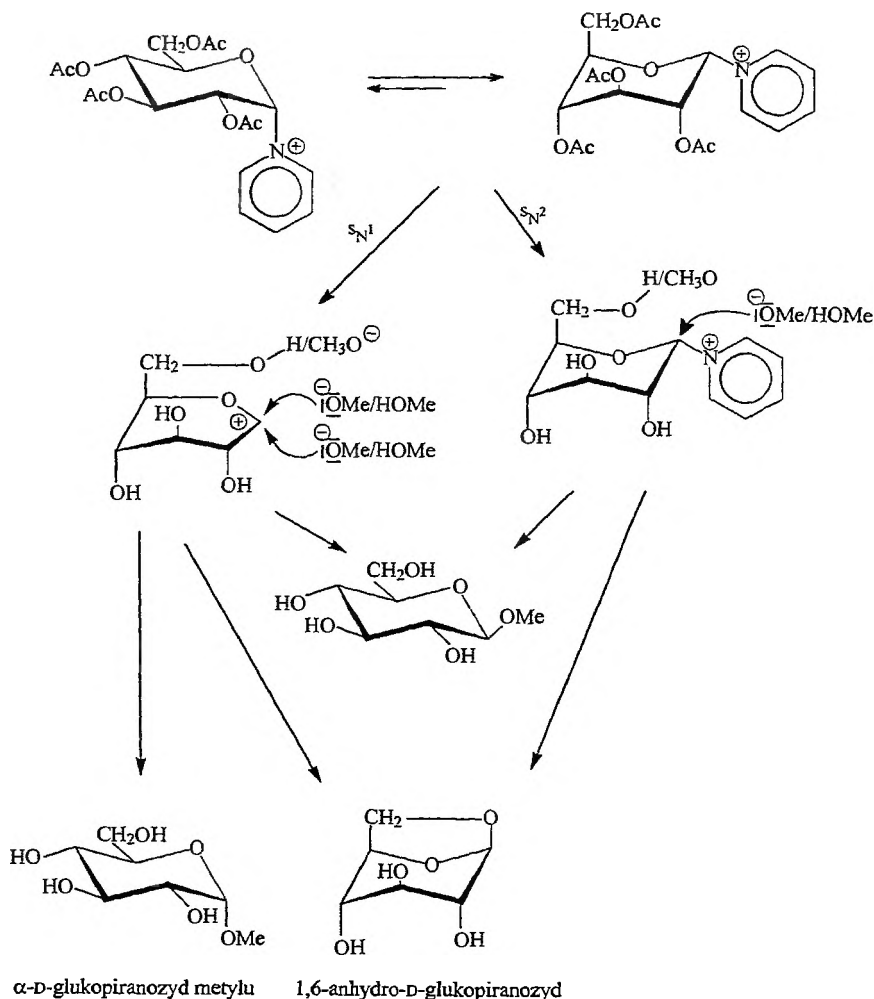
2. PRZEMIANY SOLI N-(D-GLIKOPIRANOZYLO)AMONIOWYCH POD WPLYWEM METANOLANU SODU W METANOLU

Pochodne heksopiranoz mające łatwo odchodzące grupy na anomerycznym lub szóstym atomie węgla mogą ulegać reakcji 1,6-cyklizacji. Związki takie, jak sole N-(tetra-O-acetylo- α - i β -D-glukopiranozylo)amoniowe z łatwo odchodzącą grupą i dodatnio naładowanym atomem azotu przy C-1 ulegają wewnątrzcząsteczkowej cyklizacji w obecności silnej zasady, jak np. metanolanu sodu [14]. Sole N-(D-glikopiranozylo)pirydyniowe reagują w metanolowym roztworze metanolanu sodu (pH = 9) w temperaturze 85 °C. Produkt ten izoluje się preparatywnie metodą krystalizacji, po wyczerpującym O-acetylowaniu, a skład jakościowy i ilościowy mieszaniny po reakcji ustala się za pomocą CGC (kapilarnej chromatografii gazowej).



Schemat 3

Okazało się, że oba anomery soli *N*-(tetra-*O*-acetylo-D-glukopiranozylo)pirydyniowych ulegają cyklizacji niemal z identyczną 80% wydajnością. Transformacja anomeru β (schemat 3) w 1,6-anhydro-D-glukopiranozę prawdopodobnie przebiega przez 1,2-epoksyd. Formowanie się 1,2-epoksydu wymaga konformacji 1C_4 , bo podstawniki przy C-1 i C-2 muszą znajdować się w orientacji *trans*. Otwarcie 1,2-epoksydu (wewnątrzcząsteczkowe) prowadzi do 1,6-anhydro-D-glukopiranozy lub (międzycząsteczkowe) do β -D-glukopiranozydu metylu i przebiega wg mechanizmu S_N2 . Z kolei transformacja anomeru α soli pirydynowej jest bardziej skomplikowana i może przebiegać zarówno wg mechanizmu S_N1 , jak i S_N2 (schemat 4). Można uzyskać w ten sposób, obok wymienionych związków również α -D-glukopiranozyd metylu, którego obecność jest dowodem na tworzenie się karbokationu C-1.



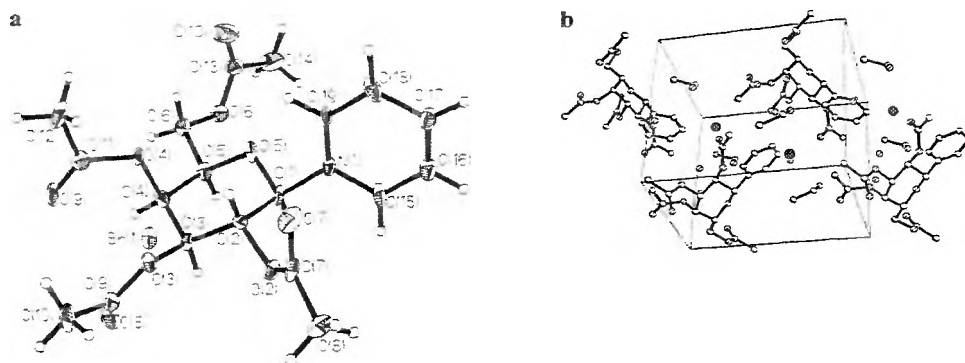
Schemat 4

Analogiczne doświadczenia z solami pochodnej *D*-mannopiranozy nie doprowadziły do uzyskania produktów cyklizacji, bo tworzący się jedynie anomer β soli *N*-(tetra-*O*-acetylo-*D*-mannopiranozylo)pirydyniowej nie może ze względów sterycznych przekształcać się w 1,2-epoksyd, zatem ta sól może reagować jedynie z jonem metanolanowym dając wyłącznie α -*D*-mannopiranozyd metylu. Natomiast przemiana bromku *N*-(tetra-*O*-acetylo- β -*D*-galaktopiranozylo)pirydyniowego w analogicznych warunkach prowadzi do produktu cyklizacji (1,6-anhydro-*D*-galaktoza) aż w 95%. Wyniki te świadczą o tym, że niezbędna do utworzenia 1,6-anhydroheksopiranozy konformacja 1C_4 substratu (niekorzystna energetycznie) łatwiej tworzy się dla soli o konfiguracji *D*-galakto niż *D*-gluko, co zgodne jest z przewidywaniem. Za ten stan rzeczy odpowiada najprawdopodobniej konfiguracja atomu C-4, bo w tej niekorzystnej energetycznie konformacji 1C_4 podstawnik C-4-OH pochodnej *D*-galakto znajduje się w korzystnej (ekwatorialnej) orientacji.

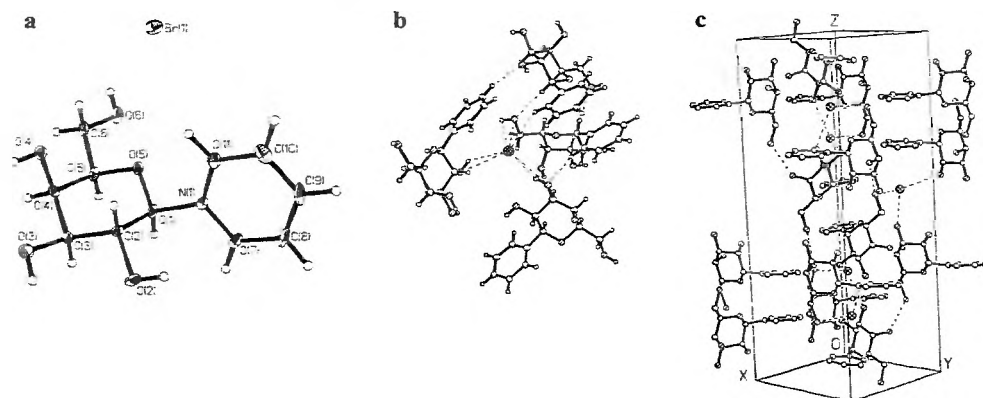
3. WYNIKI BADAŃ KRYSZTALOGRAFICZNYCH

Rozbieżne informacje literaturowe dotyczące analizy elementarnej soli *N*-(tetra-*O*-acetylo-*D*-glikopiranozylo)pirydyniowych sugerowały różne zanieczyszczenia uzyskanych produktów, a nawet obecność jednej wolnej grupy hydroksylowej we fragmencie sacharydowym lub, jak podejrzewaliśmy, obecność wody krystalizacyjnej. Uzyskane wyniki analizy elementarnej były nadzwyczaj zgodne z wyliczonymi, jeśli we wzorze sumarycznym analizowanych soli uwzględnić wodę (różne relacje molowe dla różnych soli). Różne techniki krystalizacji pozwoliły uzyskać odpowiednie kryształy pięciu związków do analizy rentgenograficznej: bromek *N*-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetylo- β -*D*-galaktopiranozylo)pirydyniowy [15], (2), bromek *N*-(β -*D*-galaktopiranozylo)pirydyniowy [15], (2a), chlorek *N*-(2-acetamido-3,4,6-tri-*O*-acetylo-2-deoksy- β -*D*-glukopiranozylo)pirydyniowy [16], (2b), bromek *N*-(2,3,4-tri-*O*-acetylo- α -*D*-ksylopiranozylo)pirydyniowy [17], (2c), bromek *N*-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetylo- β -*D*-glukopiranozylo)trimetyloamoniowy [18], (2d). Uzyskane wyniki krystalograficzne i rezultaty analizy elementarnej potwierdzają naszą hipotezę, że *O*-acetylowane pochodne soli *N*-(*D*-glikopiranozylo)amoniowych współkrystalizują z wodą. Wyjątek stanowi bromek *N*-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetylo- β -*D*-glukopiranozylo)trimetyloamoniowy. A zatem, uzyskane wyniki krystalograficzne wyjaśniają wszelkie dotychczasowe wątpliwości dotyczące struktur badanych połączeń.

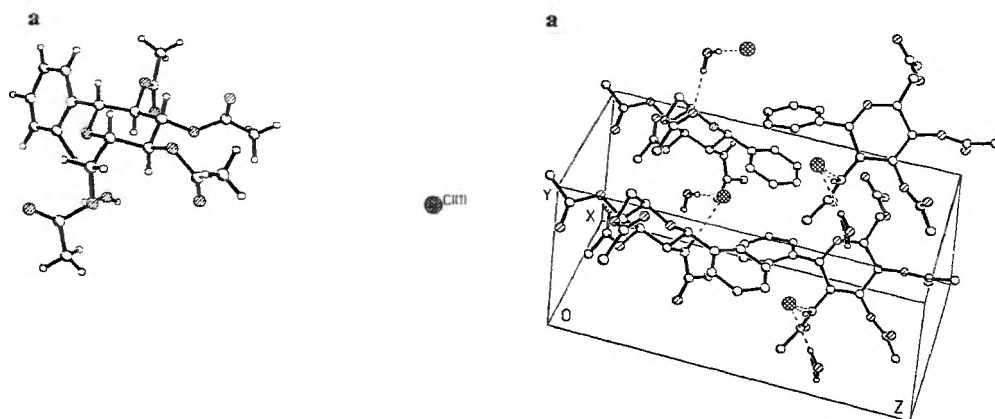
Konformacje pierścieni piranozowych w kryształach powyższych związków są identyczne z tymi, które występują w roztworze (widma 2D 1H NMR były podstawą w przypisaniu sygnałów odpowiednim protonom pierścienia piranozowego). Dotychczas uzyskane wyniki pozwalają sądzić, że wszystkie sole pirydiniowe heksopiranoz występują w konformacji 4C_1 , a pentopiranoz w konformacji 1C_4 . Na rys. 6, 7, 8, 9 i 10 przedstawiono struktury (widok ogólny) cząsteczek w kryształach oraz upakowanie (rozmieszczenie) cząsteczek w komórce elementarnej.



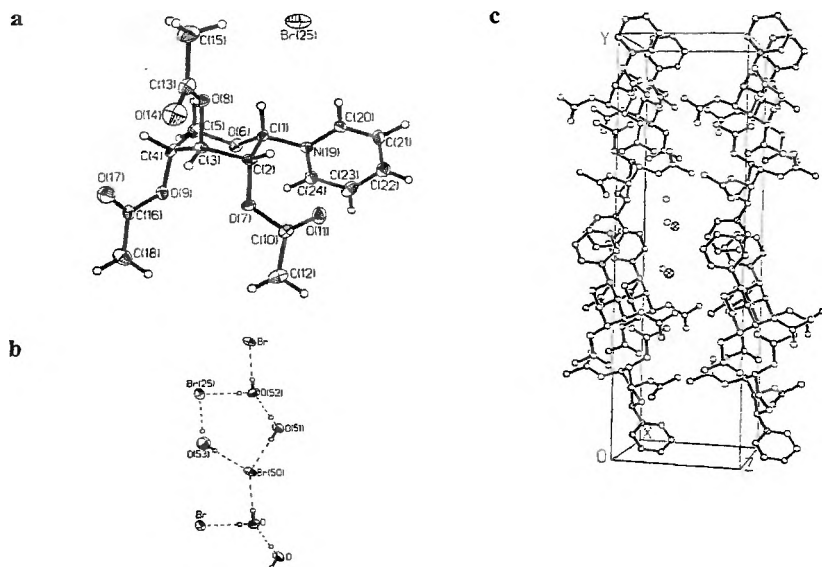
Rys. 6. a – struktura bromku *N*-(2,3,4,6-*O*-tetra-*O*-acetylo- β -D-galaktopiranozyl)pirydyniowego w kryształach (2), b – rozmieszczenie cząsteczek w komórce elementarnej związku 2



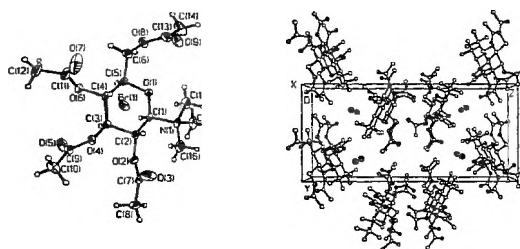
Rys. 7. a – struktura bromku *N*-(β -D-galaktopiranozyl)pirydyniowego (2a), b – oddziaływanie jednego anionu bromkowego z czterema kationami pirydyniowymi, c – rozmieszczenie cząsteczek w komórce elementarnej związku 2a



Rys. 8. a – Struktura chlorku *N*-(2-acetamido-3,4,6-tri-*O*-acetylo-2-deoksy- β -D-glukopiranozyl)pirydyniowego (2b) w kryształach, b – upakowanie cząsteczek w komórce elementarnej związku 2b



Rys. 9. a – Struktura bromku *N*-(2,3,4-tri-*O*-acetylo- α -D-ksylopiranozylo)pirydyniowego (**2c**), b – wzajemne oddziaływanie między atomami wodorów trzech cząsteczek wody a dwoma anionami bromkowymi w kryształach związku **2c**, c – upakowanie cząsteczek w komórce elementarnej związku **2c**



Rys. 10. a – Struktura chlorku *N*-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetylo- β -D-glukopiranozylo)trimetyloamoniowego (**2d**) w kryształach, b – upakowanie cząsteczek w komórce elementarnej związku **2d**

Przedstawione struktury związków należących do tej samej klasy wskazują na ogromną różnorodność architektury kryształów.

PIŚMIENNICTWO CYTOWANE

- [1] E. Fischer, K. Raske, Chem. Ber., 1910, 43, 1750.
- [2] P. Karrer, A.P. Smirnow, Helv. Chim. Acta, 1921, 4, 817.
- [3] P. Karrer, B.H. Ringier, J. Büchi, H. Fritzsche, U. Sollmssen, Helv. Chim. Acta, 1937, 20, 55.
- [4] R.U. Lemieux, A.R. Morgan, J. Am. Chem. Soc., 1963, 85, 1889.

- [5] R.U. Lemieux, A.R. Morgan. *Can. J. Chem.*, 1965, **43**, 2214.
- [6] R.U. Lemieux, A.R. Morgan, *Can. J. Chem.*, 1965, **43**, 2205.
- [7] M.L. Sinnott, S.G. Withers, *Biochem. J.*, 1974, **143**, 751.
- [8] C.C. Jones, M.L. Sinnott, J.L. Souchard, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. II*, 1977, 1191.
- [9] S.G. Withers, M. Jullien, M.L. Sinnott, J.M. Yon, *Eur. J. Biochem.*, 1978, **87**, 249.
- [10] G. Legler, M.L. Sinnott, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. II*, 1980, 1377.
- [11] H. Paulsen, Z. Györgydeák, M. Friedman, *Chem. Ber.*, 1974, **107**, 1590.
- [12] P. Finch, A.G. Nagpurkar, *Carbohydr. Res.*, 1976, **49**, 275.
- [13] J.A. Dean, *Lange's Handbook of Chemistry*, McGraw-Hill, Inc., New York 1992.
- [14] E. Skorupowa, B. Dmochowska, J. Madaj, F. Kasprzykowski, J. Sokołowski, A. Wiśniewski, *J. Carbohydr. Chem.*, 1998, **17**, 49.
- [15] B. Dmochowska, A. Nowacki, W. Wojnowski, A. Konitz, A. Wiśniewski, *Carbohydr. Res.*, 2001, **330**, 431.
- [16] B. Dmochowska, D. Bednarczyk, A. Nowacki, A. Konitz, W. Wojnowski, A. Wiśniewski, *Carbohydr. Res.*, 2000, **329**, 703.
- [17] A. Konitz, B. Dmochowska, A. Nowacki, W. Wojnowski, A. Wiśniewski, *Carbohydr. Res.*, 2001, **333**, 257.
- [18] E. Skorupowa, M. Kurszewska, A. Konitz, W. Wojnowski, A. Wiśniewski, *Carbohydr. Res.*, 2001, **331**, 343.

Praca wpłynęła do Redakcji 11 grudnia 2001

FELIETON NAUKOWY



NOTATKI CHAOTYCZNE XLI. W STRONĘ GASTRONOMII MOLEKULARNEJ

Ignacy Z. Siemion

*Wydział Chemii, Uniwersytet Wrocławski
ul. F. Joliot-Curie 14, 50-383 Wrocław*

„Losy narodów zależą od ich sposobu odżywiania się”.

A. Brillat-Savarin



Ignacy Z. Siemion, urodzony w 1932 r., ukończył studia chemiczne na Uniwersytecie Moskiewskim w 1955 r. Doktorat nauk technicznych na Politechnice Wrocławskiej – 1964. Doktor habilitowany nauk chemicznych – 1968. Profesor nadzwyczajny – 1974, profesor zwyczajny – 1981. Był kierownikiem Zakładu Chemii Organicznej Wydziału Chemii Uniwersytetu Wrocławskiego. Własne zainteresowania badawcze: chemia i stereochemia peptydów i białek. Wypromował 22 doktorów chemii, z których trzech się habilitowało. Autor 7 książek, ponad 250 prac oryginalnych i ponad 80 artykułów przeglądowych oraz dotyczących historii nauki. W latach 1983–1994 Redaktor Naczelny „Wiadomości Chemicznych”.

Kilka miesięcy temu wyczytałem w prasie codziennej, że w paryskim Collège de France utworzono laboratorium gastronomii molekularnej. Przymiotnik „molekularny” doczepiany jest teraz do nazw najróżniejszych, nowo kreowanych dyscyplin naukowych. Jest to niejako znamię czasu. Taki zabieg, oprócz oczywistych względów natury snobistycznej, bo przecież dajemy w ten sposób światu znać, że swoim badaniem bardzo głęboko wnikamy w strukturę rzeczywistości, ma często na widoku względy czysto praktyczne. Podatnik bowiem łatwo zniesie istnienie katedry gastronomii molekularnej, obok już istniejącej od dawna katedry chemii żywności, ale z trudem przystanie na obecność, na tej samej uczelni wyższej, dwóch odrębnych katedr tej dyscypliny. Ale w powołaniu do życia „gastronomii molekularnej” może przecież kryć się coś więcej niż potrzeba ulokowania na samodzielnej placówce jakiegoś dobrze rokującego młodego uczonego. Niestety, oprócz lakonicznego komunikatu prasowego nie dysponuję żadnymi materiałami o programie pracy wymienionej tu nowej placówki badawczej. Liczne natomiast względy świadczą o tym, że francuskie poczynanie nie jest pozbawione sensu.

Powiedzmy sobie na początku, że trudno wyobrazić sobie, by takie poczynanie mogło pojawić się w innym niż Francja kraju. Ono wypływa z samego jądra kultury francuskiej, słynącej z nadawania czynnikom gastronomicznym niebagatelnego znaczenia. W końcu to ten kraj wydał A. Brillat-Savarina, autora *Fizjologii smaku*. Z tej właśnie książki zaczerpnąłem motto niniejszej notatki.

Brillat-Savarin tak zdefiniował w swym dziele gastronomię: „Gastronomia rozpatruje smak tak samo jak w tym, co jest źródłem przyjemności, jak i cierpienia, odkrywa stopniowo podmiety, którym smak podlega, reguluje ich działania i ustanawia granice, których szanujący się człowiek nie powinien nigdy przekroczyć” [1]. Jeśli zdanie to uzupełnić o zwrot „na poziomie molekularnym” i dodać przymiotnik „molekularna”, tak by brzmiało: „Gastronomia molekularna rozpatruje na poziomie molekularnym smak [...] i odkrywa stopniowo podmiety, którym smak podlega” itd., to przecież mamy gotową definicję, która z całą wyrazistością ujawnia różnicę, jaka mogłaby zaistnieć między tą nową dyscypliną badawczą a tradycyjną chemią żywności. Ale to są tylko nasze supozycje. Nie wiemy przecież, jakie były intencje twórców laboratorium molekularnej gastronomii.

W cytowanej książce Brillat-Savarina znaleźć można nieco wiadomości o historii gastronomii. Przypomina on więc nie tyle zapomniane, ile zaginione i znane z nielicznych fragmentów dzieło Achestradesa z Syrakuz, pt. *Gastronomia* właśnie. Dzieło to napisane było wierszem, a więc miało postać poematu. Brillat-Savarin przytacza wiadomość, którą o dziele przekazał Teotimos. „Ten wielki pisarz, mówi Teotimos, zjeździł lądy i morza, aby stwierdzić samemu, co mają najlepsze. W swoich podróżach nie zasięgał wiadomości o obyczajach ludów, skoro niepodobna ich zmienić, ale wchodził do miejsc, gdzie przygotowuje się rozkosze stołu, i zajmował się jedynie ludźmi, którzy poświęcili się tej sztuce. Jego poemat jest skarbem i nie zawiera ani jednego wiersza, który nie byłby przepisem” [2].

Wielka szkoda, że ten poemat o kuchni starożytnych ludów zaczytano, jak widać, na śmierć. A jeśli chodzi o poglądy samego Brillat-Savarina, to zwraca uwagę jego myśl o powinowactwie, jakie jego zdaniem istnieje pomiędzy gastronomią i chemią. Istotnie, jeszcze na początku XIX w. laboratorium chemiczne ze swoimi piecami bardziej przypominało kuchnię niż cokolwiek innego. Można powiedzieć, że wyrosło, po części przynajmniej, z kuchni. Różne narzędzia wczesnej chemii – czyż nie nosiły znamion swojego kuchennego rodowodu? Czy np. dawna nazwa łyżki, służącej do wlewania płynnego ołowiu do form – „cochlear” – nie była źródłosłowem dla naszej zwyczajnej chochli? Albo sprawa „kąpeli Maryjski”. O niej tak piszą Panie Fedak w swojej książce *Vademecum łakomczucha*: „Bain-Marie czyli kąpiel Maryjski – Bierzemy większy garnek lub rondel z gorącą wodą i umieszczamy w nim ostrożnie naczynie z produkowaną przez nas zawartością, poczym wykonujemy czynności opisane w przepisie. Duży garnek powinien cały czas stać na małym ognieniu. W ten sposób składniki kremu nie mają bezpośredniego kontaktu z ogniem, co gwarantuje, że np. nie zwarzą się” [3].

Każdy chemik rozpozna w tej „kąpeli Maryjski” łaźnię wodną. Ale dlaczego „kąpiel Maryjski” właśnie? Według tradycji alchemicznej wynalazczynią łaźni wodnej była mityczna Maria – Żydówka, często wspominana w alchemicznych apokryfach, przypisywanych Pseudo-Demokrytowi. łaźnię wodną nazywano więc „łaźnią Marii”, „Balneum Mariae”. Taki jest oczywisty rodowód „kąpeli Maryjski”, tyle że mityczna Maria-alchemiczka przekształciła się w Maryskę, jakąś prostą pomoc kuchenną zapewne.

Mówiąc jednak dokładniej, Brillat-Savarin rozróżnia trzy rodzaje kuchni. Pierwsza to ta zwyczajna, pomieszczenie do przygotowywania potraw. Druga to kuchnia chemiczna. Trzeci rodzaj stanowi „kuchnia lecznicza”, przybytek farmaceutów.

Dzisiejsza nauka gotowa już jest do tego, by obszar zakreślony mianem „gastronomii molekularnej” zapełnić licznymi problemami i zadaniami szczegółowymi. Więc, po pierwsze, mogłyby się tu znaleźć badania nad molekularnymi mechanizmami procesów odczuwania bodźców smakowych i ich przetwarzania w sygnały nerwowe. Uzupełnione oczywiście o teorię zapachów, bo przecież zapachy to niemała część doznań gastronomicznych. W tym miejscu otwiera się wielki przestwór dociekań nad zależnościami między smakiem i zapachem substancji obecnych w pożywieniu a ich strukturą molekularną. Ale tej sprawie nasze „Wiadomości Chemiczne” poświęciły sporo prezentowanych u nas opracowań. Więc nie będę tej sprawy dokładniej tu omawiał. Zwróćmy jednak uwagę na fakt, że w odnajdywanych w otaczającym nas świecie nowych dla nas substancjach chemicznych odkrywamy ciągle jeszcze nowe i nowe własności smakowe. Sięgnijmy choćby do nie tak dawno, bo w latach 70. rozpoczętej historii słodkich białek: taumatyny i monelliny.

Obydwa te białka są płodem roślin wilgotnych lasów tropikalnych, rosnących w afrykańskiej Ghanie. Taumatynę produkuje płożąca się nisko roślina o na-

zwie *Thaumatococcus daniellii*. Kwitnie ona nisko przy ziemi, a po przekwitnięciu jej kwiatostan zagłębia się w niej i zawiązuje owoce, zawierające taumatynę. Taumatyna jest białkiem, zbudowanym z 207 reszt aminokwasowych. Jej sekwencja aminokwasowa i budowa przestrzenna jest dobrze poznana [4]. Monelinę natomiast wytwarza liana *Dioscoreophyllum cumminsii*. Jest to niewielkie białko, złożone z dwóch niekowalencyjnie ze sobą połączonych podjednostek polipeptydowych. Zawierają one, odpowiednio, 44 i 50 reszt aminokwasowych w łańcuchu. Struktura przestrzenna monelliny jest także znana. Obydwa te białka nie wykazują homologii sekwencyjnej ani podobieństwa budowy przestrzennej. Ale przecież przeciwciała wytworzone przeciwko jednemu z tych białek reagują krzyżowo i z tym drugim. Musi więc je cechować podobieństwo jakiegoś obszaru epitopowego (będącego determinantą antygenową, zapewne obszaru oddziaływania z receptorami smaku słodkiego).

Słodki smak taumatyny zanika, jeśli białko poddać denaturacji cieplnej. Bdziec smakowy związany jest, jak z tego wynika, z jakąś lokalną strukturą przestrzenną makrocząsteczki, która ulega podczas denaturacji cieplnej zniszczeniu. I co ciekawe, słodki dipeptyd, Aspartam, powszechnie dziś w całym świecie używany słodzik, konkuruje z tym białkiem o miejsce wiązania z odpowiednim przeciwciałem. Kompleksy taumatyny i monelliny z przeciwciałami nie mają, co wydaje się oczywiste, smaku, a eksperymenty elektrofizjologiczne wykazały, że obydwie te białka działają na ten sam receptor smakowy. Trzeba jeszcze dodać, że białka te są, w przeliczeniu na stężenie molowe, 100 tys. razy słodsze od sacharozy.

W wilgotnych lasach Ghany rośnie też inna roślina – *Synsepalum dulcificum*. Jej owoce zawierają inne wielce-interesujące białko: mirakulinę. Nazwa tego białka sugeruje, iż zdolne jest ono działać cuda. I rzeczywiście, spożycie mirakuliny (jest ona glikoproteiną) wywołuje niezwykle zmiany wrażliwości smakowej. Pięciominutowe oddziaływanie 2,3 mM roztworu tego białka z kubkami smakowymi języka powoduje, iż przez następne trzy godziny wszystko, co byśmy zjedli, wydaje się nam słodkie [5].

Definicja gastronomii, podana przez Brillat-Savarina, zawiera, jako swoją część składową, problem regulacji doznań smakowych. Tutaj odkrywa się cały przestwór dla badań na poziomie molekularnym. Odczuwanie zarówno łaknienia i pragnienia, jak i uczucia sytości, to przecież procesy dokładnie w naszych organizmach regulowane. W owych regulacjach zaś bierze udział wielka liczba czynników hormonalnych, o polipeptydowej częstokroć naturze. W ciągu paru dziesiątków lat wydzielono i scharakteryzowano wiele takich substancji, działających w przewodzie pokarmowym i regulujących procesy trawienia pokarmów. Należą do nich np. takie peptydowe hormony, jak gastryna, sekretyna, cholecystokina i motylina. Gastryna, powstająca w błonie śluzowej żołądka, stymuluje wydzielanie kwasu solnego, a także sekrecję enzymów trzustkowych. Sekretyna powstaje w nabłonku jelita cienkiego. Wzmaga działanie trzustki i wątroby. Motylina oddziałuje na ruchliwość żołądka i wydzielanie pepsyny. Cholecystokina

powoduje obkurczenie woreczka żółciowego i stymuluje produkcję enzymów w trzustce. Cały proces trawienia pokarmu jest więc regulowany hormonalnie.

Z punktu widzenia spraw traktowanych w tej notatce specjalnej uwagi godna jest cholecystokinina. Występuje ona w organizmie człowieka w kilku postaciach molekularnych, różniących się długością łańcucha peptydowego. Najczęstsze jej formy to 39-peptyd (wariant CCK-39), 33-peptyd (wariant CCK-33) i oktapeptyd (CCK-8). CCK-8 jest po prostu C-końcowym fragmentem „długiej” cholecystokininy. Ma on następującą sekwencję aminokwasową



Zapis ten oznacza, że fenolowa grupa tyrozyny jest tu połączona estrowo z resztą kwasu siarkowego, a terminalna grupa karboksylowa fenyloalaniny uamidowana. CCK-8 jest dominującą formą hormonu, cyrkulującą w organizmie.

Cholecystokinina występuje nie tylko w przewodzie pokarmowym. W takim samym stężeniu występuje również w tkance mózgowej, zwłaszcza w obszarach podwzgórza. O CCK-8 wiadomo zaś, że jest to endogenny supresor łaknienia i być może taka jest jej rola, jeśli chodzi o działanie w obszarach układu nerwowego. Jeszcze w latach 70. wykazano, że podanie – najczęściej podskórne – CCK wywołuje stan sytości u szczurów i małp [6]. Cóż to za pole działania dla gastronomii molekularnej! Zamiast kłopotać się o smak i aromat pożywienia można przecież spróbować wytworzyć, w oparciu o strukturę CCK-8, skuteczne supresory apetytu. I mimo że taka propozycja brzmi jak niezły żart, takie badania są przecież prowadzone.

Ale wróćmy do bliskich związków, jakie zdaniem Brillat-Savarina istniały między zwykłą kuchnią gastronomiczną i kuchnią chemiczną. Wczesna chemia w jej alchemicznym jeszcze okresie szczególnie mocno zaważyła na przygotowaniu napojów alkoholowych, niezbędnego przecież składnika jadłospisów. To alchemicy, we wczesnym jeszcze średniowieczu, wynaleźli sztukę „pędzenia” alkoholu. W „Dzienniku Wileńskim” z 1806 r. tak opowiada się o początkach tej sztuki (w artykule pt. *Początek i wzrost niektórych wynalazków i odkryć, mianowicie tych, z których przystosowania i użycia ważniejsze nastąpiły między ludźmi odmiany*):

Pędzenie wódki ograniczało się początkowo do samych *laboratoryów* chemicznych, a użycie iey do samej lekarskiej nauki. Wiadomo z pism *Arnalda de Villeneuve, Raymunda Lulli i Teofrasta Paracelsa*, iż sposób robienia iey, chociaż od roku 1353 znajomy już po niektórych krajach Europy, był jeszcze niedoskonały, zbyt wiele pracy kosztujący, i niewielkiej liczbie chemików zostawiony, którzy interes w tem własny znajdując, starali się go przed powszechnością ukrywać. Po niejakiem czasie Maltańczykowie iedni zaczęli przywozić wódkę do Włoch, skąd dopiero w bardzo małej ilości i w małych tylko flaszczech po innych się krajach rozchodziła. Modeńczykowie potem zaczęli ją robić w znaczniejszey już części, a tym sposobem zwrócili do siebie tę gałąź przemysłu. Wenetowie, którzy we wszystkich rodzajach handlu tem właśnie w średnim wieku byli, co Feniczykowie w dawniejszym, poczęli dzielić naprzód z nimi, a potem zaś całe im wyrwać te zyski, a Francuzi, już na gotowe trafiwszy, doskonalić sposób robienia i przyjemniejszym coraz napoy ten czynić się starali. Cóżkolwiek bądź w XV dopiero wieku użycie wódki zaczęto się stawać

powszechniejszym nieco u Niemców. W roku 1483 Michał Schrick Lekarz Auszpurski wydał dzieło o cudownych skutkach gorzałki. Dzieło to, we dwunastu arkuszach *in folio*, podług powszechnego czasów owych zwyczajui, trzy iedne po drugim, miało następnie wydania. Nazywa w niem wódkę powszechnem na wszystko lekarstwem. utrzymuje, iż nie masz choroby, któryby nie uleczyła, lub w samym nie zniszczyła początku; przypisuje iey moc zachowania nawet piękności. „Kto by nią (to jest wódką) słowa są iego, mył głowę, będzie zawsze pięknym i młodym, dobrą będzie miał pamięć; wódka bowiem umacnia zmysły i dowcip”.

Z tego cośmy dotąd mówili, pokazuje się, że do końca 15tego wieku wódka miana była za lekarstwo, i w 16tym dopiero w powszechnie i nałogowe weszła u Niemców użycie [7].

Przekonanie o leczniczym działaniu alkoholu zawarte było i w ówczesnej nazwie tego produktu: *aqua vitae*, woda życia, z czego nasza *okowita* przecież wyniknęła. Zresztą, mimo iż w pędzeniu wódek byliśmy wtórni, ucząc się tej sztuki u innych narodów, to przecież rychło staliśmy się w tej dziedzinie mistrzami nawet dla Włochów. Spójrzmy choćby na wiersz Wacława Potockiego *Sławny Kraków w Rzymie*. Według jego treści, rzymscy przekupnie, aby sprzedać swój alkoholowy towar, reklamowali go jako polski:

Rano, rzecze, po mieście chodząc chłop z gorzałką
Woła: Di Cracovia aqua wita bona,
Choć co wiedzieć gdzie z largu we Włoszech palona.
To nas nie mogą z czego pocziwego chwalić,
Prócz gorzałki, że dobrze umiemy ją palić [8].

I choć nie podzielamy dziś przekonań przodków o cudownym leczniczym działaniu alkoholu, to przecież wiemy, że użyty w umiarkowany sposób istotnie przeciwdziała chorobom układu krążenia. Takie pozytywne działanie wywiera zwłaszcza spożywanie czerwonego wina, stale przecież obecnego na francuskim stole.

Wino – od ilu ono już wieków towarzyszy człowiekowi! Jego historię ocenia się na 10 tys. lat. Wtedy właśnie doszło do „udomowienia” dzikiego szczepu winnego *Vitis vinifera*. Dokonać się to miało na południowych stokach gór Zagroz w północnym Iranie. Najstarszym zaś obiektem, zawierającym ślady wina, jest liczące 7 tys. lat gliniane naczynie neolityczne z Hajji Firuz Tepe. Na wewnętrznej stronie skorup, pochodzących z tego naczynia, zachowała się warstewka żywicowatego osadu. Analiza chemiczna wykazała, że jest w nim obecny kwas winowy – oprócz żywicy drzewa terpentynowego. Sugeruje to, że już wówczas konserwowano wino dodatkiem żywicy, tak jak się to i dziś robi w Grecji przy produkcji retsyny. Żywica zabija bakterie fermentacji octowej, od wieków „psujących” wino.

Znacznie później, bo dopiero ok. 4700 lat temu, uprawa winorośli i produkcja wina rozwinęły się w delcie Nilu. Była to uprawa importowana, bo w delcie Nilu nigdy nie rosła dzika winorośl. Ale wino wytwarzano tam, z całą pewnością, jak o tym świadczy choćby przedstawiona tu ilustracja, będąca reprodukcją grobowego malowidła egipskiego sprzed 3400 lat. Widzimy tam scenę zbiorów win-

nych gron. A obok scenę wyciskania soku winogronowego z gron umieszczonych w wielkiej kadzi i zbierania soku do pojemni [9].

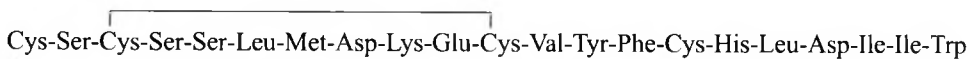
No i teraz możemy już opowiedzieć o „paradoksie czerwonego wina”. Inni mówią o nim, że to „paradoks francuski”. Chodzi o to, że w większości krajów śmiertelność, wywołana chorobą wieńcową, jest liczbowo proporcjonalna do zawartości w diecie nasyconych kwasów tłuszczowych. Ale przecież nie we Francji. Jak stwierdzono, zgubnym skutkiem spożywania przez Francuzów dużych ilości nasyconych tłuszczów skutecznie przeciwdziała picie również niemałej ilości czerwonego wina. Nawet przecież wprowadzony przez Niemców w czasie ostatniej wojny system kartkowy przewidywał w przypadku Francuzów bodaj około litra wina dziennie.



Winobranie. Malowidło grobowe z Teb. Około 1400 p.n.e.

I chociaż takie czynniki ryzyka, wpływające na rozwój choroby wieńcowej, jak nadciśnienie, średnia waga ciała, palenie tytoniu, zawartość cholesterolu w krwi, są we Francji na takim samym poziomie, jak w innych krajach, choroba wieńcowa wyraźnie słabiej trapi Francuzów. Efekt ten wywołuje wino, ale tylko wino czerwone. Jak stwierdzono [10], umiarkowane spożycie alkoholu obniża wprawdzie zachorowalność na tę chorobę, ale czerwone wino czyni to skuteczniej niż wszystkie inne alkoholowe napoje.

Zgodnie z wynikami, opublikowanymi niedawno w „Nature” [11], za wskazany efekt odpowiedzialne są obecne w czerwonym winie polifenole. Hamują one transkrypcję genu kodującego γ -endotelinę-1. Jest to 21-peptyd, wytwarzany w śródbłonku, wyściełającym ściany naczyń krwionośnych, a także przedsionki i komory serca. Jego liniową strukturę zmocowują dwa mostki disiarczkowe:



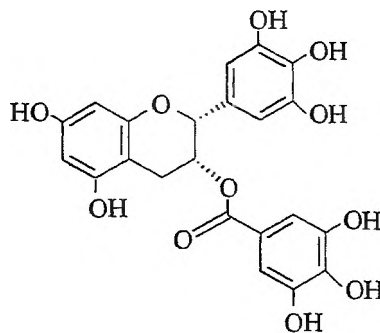
Sekwencja aminokwasowa endoteliny

Endotelina jest czynnikiem zwiększającym ciśnienie krwi. Stąd jej kluczowa rola w rozwoju arteriosklerozy. W tych ostatnich badaniach poddano próbom ekstrakty polifenolowe z 23 rodzajów win czerwonych, czterech win białych i z jednego wina różowego. Zbadano też sok z czerwonych winogron. Hamowanie biosyntezy endoteliny było proporcjonalne do stężenia polifenoli w ekstraktach. Wyciąg z soku hamował biosyntezę endoteliny, ale słabiej niż wyciąg z wina; ekstrakty z win białych i wina rosé nie były w tym względzie aktywne.

Skoro już zacząłem mówić o używkach, niezbędnych przecież składnikach stołu, to muszę też wspomnieć o herbacie. Tej też przypisywano od dawna właściwości lecznicze. Spójrzmy do encyklopedii, wydanej w XVIII w. przez księdza Chmielowskiego, a noszącej tytuł: *Nowe Ateny, albo Akademia wszelkiej sciencyi pełna*. Czytamy tam:

The, które u nas Herba the zowią, jest drzewo Iapońskie, Chińskie wysokie, tak grube, że ledwie go osób dwie obejmie. Posadziwszy go, aż w lat trzy wypuszcza z siebie listki, które w Maiu y Kwietniu zbierają, kiedy są naybardziej soczyste i żółte. Nazbierawszy, trzymają je długo nad parą wody wrzącej, potem na deski żelazne gorące kładą, aby wyschły. [...] Skutki tego ziela, że głowy letkość sprawuje, grube humory tłumi, żołądek posila, od kamienia przerwuje y nań leczy, głowy ból uśmierza, torsye uspokaja, ociążałość oddala, krew zastanawia, na wrzody leczy [12].

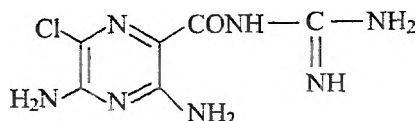
I chociaż nadzieje, wyrażane kiedyś przez księdza Chmielowskiego, były przesadne, to przecież sprawdzają się po części dzisiaj, kiedy stwierdzono, że zielona herbata ma działanie przeciwnowotworowe. Jak wskazują wyniki badań epidemiologicznych, spożycie zielonej herbaty wzmacnia oporność na nowotwory. Co więcej, próby przeprowadzone na zwierzętach wykazały, że redukuje ona nowotwory piersi i prostaty. Efektu takiego nie wywołuje już jednak czarna herbata. Podczas fermentacji dochodzi bowiem do utlenienia zawartej w herbacie epigallokatechiny-3 (EGCG), która jest silnym inhibitorem urokinazy, enzymu występującego w kanałkach nerkowych. Urokinaza zaś bierze udział w rozpuszczaniu fibryny.



EGCG

Komórki rakowe cechuje zwiększona produkcja urokinazy. Pomaga ona zniszczyć otaczające komórki rakowe tkanki. Zawarta w herbacie epigallokatechyna, hamując aktywność tego enzymu, wywiera więc działanie przeciwnowotworowe.

W jednej filiżance czarnej herbaty znajduje się 150 mg EGCG. A przecież z łatwością można wypić i 10 filiżanek herbaty dziennie i dostarczyć w ten sposób organizmowi pokaźną ilość środka przeciwnowotworowego. Tymczasem maksymalna dopuszczalna dzienna dawka leku, będącego inhibitorem urokinazy, leku o nazwie Amiloride, to zaledwie 20 mg. Herbata wyraźnie więc wygrywa w konkurencji z syntetycznym lekiem [13].



Amiloride

W tym miejscu stwierdzić by można, że dość daleko odbiegłem od spraw gastronomii molekularnej. Ale przecież ewentualne lecznicze działanie składników pokarmów wiąże się z nią ściśle. Choćby przez prace dietetyków, ustalających najkorzystniejsze dla prawidłowego rozwoju organizmu ludzkiego, ale i dla ludzi chorych, diety pokarmowe. A sprawy, o których mówimy, dotyczą subtelnego, molekularnego już poziomu takich prac.

Zresztą, okoliczności te pozwalają jeszcze raz nawiązać do dziełka Brillat-Savarina. Pisał on o trzech rodzajach kuchni: kuchni gastronomicznej, chemicznej i farmaceutycznej. I że są one ze sobą genetycznie powiązane. Sprawa leczniczych właściwości pokarmów, przynajmniej niektórych, to ganek łączący kuchnię gastronomiczną z tą farmaceutyczną właśnie.

PIŚMIENNICTWO CYTOWANE

- [1] A. Brillat-Savarin, *Fizjologia smaku*, PIW, Warszawa 1973, s. 20.
- [2] Jak wyżej, s. 53–54.
- [3] A. i P. Fedak, *Vademecum łakomczucha*, Warszawa 1987, s.16.
- [4] Sung-Hou Kim, A. De Vos, C. Ogata, TIBS, Jan. 1988, 13–15.
- [5] R.H. Cogan, Science, 1973, **181**, 32.
- [6] J.H. Morley, Life Sciences, 1980, 27, 361.
- [7] Dziennik Wileński, Roku drugiego 1806 Miesiąc maj, s. 153–155.
- [8] W. Potocki, *Ogród fraszek*, Lwów 1907, s. 19.
- [9] P.E. McGovern, The Sciences, 1996, **36**, 27.
- [10] S. Renaud, M. De Lorgeril, The Lancet, 1992, **339**, 1523.
- [11] R. Corder, J.A. Douthwaite, D.M. Lees, N.Q. Khan, A.C. Viseu dos Santos, E.G. Wood, M.J. Carrier, Nature, 2001, **414**, 863.
- [12] B. Chmielowski, *Nowe Ateny albo Akademia wszelkiej sciencyi pełna*, Wyd. Literackie Kraków 1966, s. 318.
- [13] J. Jankun, S.H. Selman, R. Swiercz, E. Skrzypczak-Jankun, Nature, 1997, **387**, 561.

KRONIKA



IV OGÓLNOPOLSKA KONFERENCJA „FLAWONOIDY I ICH ZASTOSOWANIE”

W dniach 23–25 czerwca 2002 r. w Boguchwale pod Rzeszowem odbyła się IV Ogólnopolska Konferencja „Flawonoidy i ich zastosowanie” z udziałem gości zagranicznych. Organizatorem tej Konferencji była Katedra Chemii Nieorganicznej i Analitycznej Wydziału Chemicznego Politechniki Rzeszowskiej wraz z Rzeszowskim Oddziałem Polskiego Towarzystwa Chemicznego. Przewodniczącym Komitetu Organizacyjnego był prof. Stanisław Kopacz, natomiast w skład Komitetu Naukowego weszli: prof. Maria Kopacz (przewodnicząca, Politechnika Rzeszowska), prof. Alfreda Graczyk (Wojskowa Akademia Techniczna w Warszawie), prof. Jadwiga Wilska-Jeszka (Politechnika Łódzka) i doc. dr hab. Wojciech Król (Śląska Akademia Medyczna w Zabrze).

Konferencja obejmowała zagadnienia związane z występowaniem, wydzielaniem i właściwościami naturalnych bioflawonoidów – barwników roślinnych występujących we wszystkich roślinach, oraz ich niektórych pochodnych sulfonowych nie występujących w przyrodzie, ale bardzo dobrze rozpuszczalnych w wodzie.

W Konferencji uczestniczyło ok. 60 osób z 19 ośrodków naukowych i firm Polski oraz Ukrainy. Były reprezentowane następujące ośrodki naukowe i firmy: Akademia Medyczna w Białymstoku, Akademia Medyczna w Łodzi, Akademia Medyczna w Poznaniu, Akademia Medyczna w Warszawie, Akademia Rolnicza we Wrocławiu, Instytut Uprawy, Nawożenia i Gleboznawstwa w Puławach, Politechnika Łódzka, Politechnika Rzeszowska, Śląska Akademia Medyczna w Zabrze, Uniwersytet Jagielloński w Krakowie, Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie, Uniwersytet Warszawski, Wojskowa Akademia Techniczna w Warszawie, ALIMA-GERBER w Rzeszowie, Stowarzyszenie Promocji Zdrowego Stylu Życia „Człowiek + Natura” w Jarosławiu, ICN POLFA w Rzeszowie, Uniwersytet Lwowski we Lwowie i Akademia Medyczna w Tarnopolu (Ukraina).

Na Konferencji zaprezentowano 21 referatów i 20 komunikatów, wygłoszonych w językach polskim oraz ukraińskim i poruszających następujące zagadnienia:

- wydzielenie, identyfikacja i fizykochemiczne badania bioflawonoidów występujących w roślinach,
- zastosowanie flawonoidów jako antyoksydantów,
- zastosowanie flawonoidów w lecznictwie,
- synteza i fizykochemiczne właściwości sulfonowych pochodnych bioflawonoidów nie występujących w przyrodzie.
- zastosowanie związków kompleksowych sulfonowych pochodnych flawonoidów z jonami metali.

Na zakończenie pierwszego dnia obrad odbyło się towarzyskie spotkanie.

W drugim dniu Konferencji, pod hasłem „Lepszy gram profilaktyki niż kilogram leczenia”, prezes Stowarzyszenia Promocji Zdrowego Stylu Życia „Człowiek + Natura” Ireneusz Pyrzak udzielał rad dotyczących zdrowego odżywiania, zażywania witamin i minerałów.

Na zakończenie obrad odbyła się długa i ożywiona dyskusja, podczas której podsumowano wyniki konferencji i ustalono, że V Ogólnopolska Konferencja „Flawonoidy i ich zastosowanie” odbędzie się w maju 2004 r., a jej organizatorem będzie Katedra Chemii Nieorganicznej i Analitycznej Wydziału Chemicznego Politechniki Rzeszowskiej wraz z Rzeszowskim Oddziałem Polskiego Towarzystwa Chemicznego. Uczestnicy Konferencji wyrazili życzenie, żeby odbyła się ona w Ośrodku Doradztwa Rolniczego w Boguchwale.

Sponsorzy Konferencji: Ministerstwo Edukacji Narodowej i Sportu, „Nowiny” – gazeta codzienna w Rzeszowie oraz Stowarzyszenie Promocji Zdrowego Stylu Życia „Człowiek + Natura” z Jarosławia.

Stanisław Kopacz

NOWE WYDAWNICTWA



Clyde E. Stauffer, **Emulgatory**, tłumaczenie Emilia Barbara Cybulska, Wydawnictwo Naukowo-Techniczne, Warszawa 2001, 182 s., oprawa miękka

Opiniowana książka Clyde'a E. Stauffera jest interesująca i bardzo potrzebna na niezbyt zasobnym w odpowiednie pozycje wydawnicze rynku podręczników, prezentujących wiedzę teoretyczną i praktyczną, dotyczącą własności użytkowych i zastosowań surfaktantów w wyrobach, stosowanych w różnych dziedzinach gospodarki i w życiu codziennym każdego człowieka. Materiał książki obejmuje wybraną grupę surfaktantów stanowiących emulgatory spożywcze, stosowane w przemyśle przy wytwarzaniu produktów piekarskich, mleczarskich, majonezów, sosów i napojów.

Książka napisana jest przystępnym językiem i dobrze zilustrowana rysunkami, tabelami i wykresami. Treść książki podzielona jest na siedem rozdziałów. Rozdział 1. – „Emulsje i piany” – zawiera podstawową wiedzę na temat budowy cząsteczek surfaktantów i ich aktywności powierzchniowej, powstawania i trwałości układów zdyspergowanych, takich jak emulsje, mikroemulsje i piany stabilizowane przez surfaktanty (emulgatory).

W rozdziale 2. – „Struktura molekularna”, przedstawiono informacje dotyczące struktury kryształicznej acylowych pochodnych gliceryny, stanowiących podstawową grupę surfaktantów pełniącą funkcję emulgatorów w przemyśle spożywczym, omówiono typy i struktury mezofaz powstających z udziałem emulgatora w środowisku wodnym, ich przewidywanie za pomocą diagramów fazowych surfaktantów i wykorzystywanie w komponowanych produktach spożywczych.

Treść rozdziału 3 – „Emulgatory żywności”, stanowi omówienie kompletnej gamy emulgatorów stosowanych w nowoczesnych technologiach wytwarzania żywności z podaniem ich struktury chemicznej, koncepcji równowagi hydrofilowo-hydrofobowej (HLB) emulgatorów, pozwalającej na ich precyzyjne przyporządkowanie do określonych celów technologicznych, roli, jaką spełniają białka w procesach spieniania i emulgowania zachodzących przy wytwarzaniu produktów żywnościowych. Przedstawiono również listę emulgatorów i obowiązujące w USA, Kanadzie i krajach Unii Europejskiej uregulowania prawne dopuszczające stosowanie tych emulgatorów jako dodatków do żywności.

Treść pozostałych czterech rozdziałów odnosi się do istotnych problemów technologicznych, decydujących o jakości i nowoczesności wybranych wyrobów piekarskich, mleczarskich i ich analogów, majonezów, sosów oraz napojów.

W rozdziale 4. – „Produkty piekarskie”, omówiono szczegółowo zjawiska odpowiedzialne za czerstwienie pieczywa, czynniki powodujące osłabianie struktury i pogorszenie równomiernego napowietrzenia ciasta oraz sposoby spowalniania przebiegu tych procesów lub zapobiegania im.

W kolejnym 5. rozdziale – „Produkty mleczarskie i ich analogi”, po bliższym scharakteryzowaniu mleka jako podstawowego surowca dla przedmiotowych produktów, omówiono metody wytwarzania masła, margaryny, bitej śmietanki i jej analogów, lodów i zabielaaczy do kawy.

W rozdziale 6. – „Majonezy i sosy”, przedstawiono składniki tych wyrobów nie będące emulgatorami spożywczymi, które wydatnie podnoszą walory użytkowe i smakowe. Do składników tych autor zalicza pochodzenia naturalnego gumy roślinne i inne, modyfikowaną skrobię i pochodne celulozy.

Z omówienia w rozdziale 7. – „Napoje”, wynika, że guma arabska jest podstawowym stabilizatorem emulsji smakowo-zapachowych przy produkcji napojów. Strategicznym problemem przy produkcji napojów zdaniem autora jest zapewnienie przez co najmniej 6 miesięcy trwałości rozcieńczonej emulsji O W. jaką stanowi wyprodukowany napój, otrzymanej z mieszaniny dodatków smakowo-zapachowych i olejowego czynnika obciążającego.

Bardzo ciekawą i zasługującą na podkreślenie formą podnoszącą wartość merytoryczną ocenianej książki, szczególnie dla osób zajmujących się produkcją żywności, jest umieszczenie na końcu każdego z ostatnich czterech rozdziałów tabeli „Rozpoznawanie i rozwiązywanie trudnych zagadnień”. Zestawione w tabeli informacje pozwalają łatwo rozpoznawać objawy odstępstw od prawidłowego przebiegu procesu technologicznego przy produkcji określonego wyrobu, przyczyny powstania tych nieprawidłowości pogarszających jakość produktu oraz sposoby wyeliminowania zaistniałego problemu. Innym elementem umożliwiającym wygodne korzystanie z materiału zawartego w książce są umieszczone na marginesie strony krótkie objaśnienia terminów pojawiających się w tekście głównym, a także opracowanie załączonego na końcu książki zbiorczego zestawienia tych terminów w postaci słowniczka.

Z uwag krytycznych wymienić należy: nieprecyzyjny podział powierzchni międzyfazowych występujących w produktach żywnościowych na „trzy specyficzne rodzaje faz granicznych: faza ciecz-ciecz, czyli emulsja; powietrze-ciecz, czyli piana; ciecz-ciało stałe, czyli zawiesina”; terminu „emulgator” dla surfaktantu nie rezerwuje się zwykle dla środków stosowanych w żywności, jak to stwierdzono w książce, ale i dla wielu innych zastosowań związanych z wytwarzaniem emulsji, np. w kosmetyce, farmacji, w środkach ochrony roślin itd.; hydrofilowo-lipofilowy charakter cząsteczki surfaktantu określany jest w książce terminem „amfofilowy” zamiast prawidłowym „amfilowy”; niepoprawne w języku polskim nazwy emulgatorów, jak np. „monoacyloglicerol”, „etoksyloglicerol”, „sukcynylomonoacyloglicerol” itp.

Omówiona w skrócie treść ocenianej książki pozwala mi polecić ją studentom wyższych uczelni, kształcących się na kierunkach i specjalnościach związanych z technologią żywności i żywienia, producentom żywności, a także i pracownikom naukowym, których prace badawcze związane są z własnościami użytkowymi surfaktantów i wykorzystaniem tych własności przy wytwarzaniu produktów żywnościowych.

Ryszard Janik

Redakcja „Wiadomości Chemicznych” informuje, że są u nas do nabycia następujące pozycje „Biblioteki Wiadomości Chemicznych”:

Nomenklatura steroidów (Zalecenia 1989), tłum. J.W. Morzycki i W.J. Szczepiek, cena 3 zł

J. Połtowicz, T. Młodnicka, *Metaloporfiryny jako katalizatory procesów utleniania*, cena 3 zł

Nomenklatura chemii nieorganicznej. Zalecenia 1990, red. Z. Stasicka, cena 25 zł

Z. Kluz, M. Późniczek, *Nomenklatura związków chemicznych. Poradnik dla nauczycieli*, cena 10 zł

Podstawowa terminologia stereochemii oraz Słownik podstawowych terminów w nauce o polimerach. Zalecenia 1996, red. O. Achmatowicz, B. Szechner i P. Kubisa, cena 12 zł

Nomenklatura węglowodanów. Zalecenia 1996, tłum. i red. T. Sokołowska i A. Wiśniewski, cena 18 zł

I.Z. Siemion, *Bronisław Radziszewski i lwowska szkoła chemii organicznej*, cena 18 zł

K. Maruszewski, *Fizykochemia molekuł zamkniętych w zeolitach i zol-żelach*, cena 18 zł

Praca zbiorowa, *Uporządkowane materiały mezoporowate*, red. B. Burczyk, cena 18 zł

Skorygowana nomenklatura rodników, jonów, jonorodników i podobnych indywidualności chemicznych. Zalecenia 1993, red. T. Sokołowska i A. Wiśniewski, cena 15 zł

I.Z. Siemion, *Lutum sapientiae, czyli Notatek chaotycznych część pierwsza*, cena 18 zł

Bibliografia „Wiadomości Chemicznych” za lata 1988–1997, cena 3 zł

Książki wysyłamy na koszt zamawiającego. Zamówienia prosimy kierować pod adresem: Redakcja „Wiadomości Chemicznych”, ul. F. Joliot-Curie 14, 50-383 Wrocław. Opłaty należy wносить na konto: BHP SA I O/Wrocław, Redakcja „Wiadomości Chemicznych”, Nr 10601679-320000400597.

Do nabycia jest również książka Z. Ruzewicza *Ludzie i dzieła. Studia nad historią chemii na ziemiach polskich*, wyd. Instytut Chemii Fizycznej i Teoretycznej Politechniki Wrocławskiej, cena 10 zł.

Do Autorów i Czytelników

Redakcja, analizując materiały dotychczas publikowane i biorąc pod uwagę propozycje Czytelników, widzi możliwość druku na łamach „Wiadomości Chemicznych” interesujących rozpraw habilitacyjnych w formie zwartych monografii.

Prosimy nadsyłać prace tak, aby spełniały wymogi regulaminu dla Autorów.

Zachęcamy Państwa do skorzystania z tej formy publikacji, widząc w tym korzyść obustronną, zarówno dla szerokiego grona Czytelników, jak i Autorów.

Redakcja zastrzega sobie prawo ostatecznej akceptacji rozpraw do druku.

Redakcja „Wiadomości Chemicznych”

REGULAMIN DLA AUTORÓW

„Wiadomości Chemiczne” publikują artykuły referatowe, nie oryginalne prace doświadczalne, dotyczące wszystkich dziedzin chemii i nie drukowane przedtem w innych czasopismach. Artykuły publikowane w „Wiadomościach Chemicznych” nie mogą być bez zgody Redakcji drukowane w innych czasopismach. Treść artykułów powinna odpowiadać stanowi wiedzy w chwili pisania artykułu. Piśmiennictwo cytowane powinno uwzględniać najnowsze prace krajowe i zagraniczne z dziedziny, której dotyczy artykuł.

Maszynopisy (wydruki komputerowe) należy nadsyłać do Redakcji w **dwóch egzemplarzach**: oryginał i kopia lub kserokopia pisana jednostronnie, z zachowaniem podwójnej interlinii i marginesu szerokości 5 cm z **prawej strony**; pierwszy wiersz akapitu należy zaznaczyć wcięciem na 5 uderzeń w klawisz.

Na pierwszej stronie pod tytułem polskim należy umieścić tytuł w języku angielskim, adres autora oraz spis rozdziałów. Praca powinna zawierać obszernie streszczenie w języku angielskim (do 1,5 strony maszynopisu z cytowaniem piśmiennictwa i odsyłaczami do tabel i rysunków w tekście). Na osobnej kartce prosimy o krótką (do 150 wyrazów) notkę z informacją o uprawianej przez Autora tematyce naukowej i przebiegu pracy. Prosimy o podanie tytułu naukowego i miejsca pracy oraz o dołączenie aktualnego zdjęcia. Przesłanie tych informacji będziemy traktować jako zgodę na ich publikację.

Artykuły należy opracowywać zwięźle i nie zamieszczać szczegółów, odsyłając czytelnika do piśmiennictwa oryginalnego. Maszynopis nie powinien przekraczać 25 stron wraz z tabelami i wykazem piśmiennictwa lub 100 stron, jeśli jest monografią przeznaczoną do druku w „Bibliotece Wiadomości Chemicznych”. Artykuły powinny być napisane za pomocą komputera. Redakcja prosi o dołączenie dyskietki z tekstem pracy i ilustracjami wraz z wyczerpującą informacją o używanym edytorze. Pożyczany edytor Word (co najmniej wersja 6).

Rysunki (mogą być kolorowe) należy nadsyłać w dwóch egzemplarzach (oryginały i kopie lub kserokopie). Oryginały rysunków muszą mieć taką formę graficzną, by nadawały się do reprodukcji. Na odwrotnej stronie należy podać ołówkiem nazwisko autora i numer rysunku i ten sam numer zaznaczyć w odpowiednim miejscu maszynopisu. Na osobnym arkuszu dołączyć podpisy pod rysunki. **Wzory chemiczne i schematy reakcji chemicznych, których nie można w prosty sposób napisać na maszynie lub komputerze**, powinny być wpisane ręcznie, w odpowiednich miejscach tekstu. Niezależnie od tego do pracy należy dołączyć jeden komplet wzorów i schematów narysowanych oddzielnie w formie nadającej się do reprodukcji.

Tabele należy ponumerować cyframi arabskimi oraz podać ich tytuły.

Piśmiennictwo zestawia się w kolejności cytowania w tekście: powinno ono zawierać kolejno inicjały imion i nazwisko, skrót tytułu czasopisma zgodny z przyjętymi normami, rok wydania, tom podkreślony i numer pierwszej strony cytowanej pracy. Wykaz skrótów ważniejszych czasopism chemicznych jest podany w „Wiadomościach Chemicznych”, 1989, 43, 979. Jeśli część piśmiennictwa zebrana jest w monografiach lub innych wydawnictwach, nie należy podawać szczegółowo wykazu tego piśmiennictwa, lecz cytować odnośne wydawnictwo.

O przyjęciu pracy do druku decyduje Komitet Redakcyjny. **Maszynopisy nie odpowiadające podanym warunkom nie będą przez Komitet rozpatrywane**. Artykuły nie zakwalifikowane do druku Redakcja zwraca, zachowując kopię maszynopisu. Autorzy przeprowadzają jedną korektę tekstu. Po zakwalifikowaniu pracy do druku nie będą uwzględniane żadne poprawki rysunków.

Honoraria za wydrukowane prace są wypłacane wyłącznie tym Autorom, których artykuły zostały zamówione przez Redakcję. Autorzy wydrukowanych prac otrzymują bezpłatnie 20 nadbitków.

DO CZYTELNIKÓW „WIADOMOŚCI CHEMICZNYCH”

Redakcja miesięcznika PTCh „Wiadomości Chemiczne” zawiadamia, że wysokość prenumeraty rocznej „Wiadomości Chemicznych” za 2002 r. ustaliliśmy na 60 zł dla instytucji i nie zrzeszonych prenumeratorów indywidualnych oraz 30 zł dla bibliotek szkół średnich i podstawowych. Należność za prenumeratę prosimy przekazywać na konto:

Bank Przemysłowo-Handlowy S.A.
I Oddział we Wrocławiu
pl. Powstańców Śl. 9, 53-316 Wrocław
Redakcja „Wiadomości Chemicznych”
Nr 10601679-320000400597

Prenumerata „Wiadomości Chemicznych” dla członków PTCh, połączona z opłatą składek członkowskich, jest znacznie niższa i przedstawia się następująco:

– prenumerata „Wiadomości Chemicznych” na rok 2002 wraz ze składką członkowską, w ramach której dostarczany jest „Orbital”, wynosi 85 zł (składka – 75 zł, prenumerata – 10 zł);

– emeryci oraz nauczyciele szkół średnich i podstawowych płacą 35 zł (składka – 25 zł, prenumerata – 10 zł);

– dla studentów, członków PTCh, składka wraz z prenumeratą „Wiadomości Chemicznych” wynosi 18 zł (składka – 8 zł, prenumerata – 10 zł).

Członkowie PTCh, którzy zechcą zaprenumerować „Wiadomości Chemiczne” na podanych tu warunkach, proszeni są o wnoszenie opłat na konto:

PTCh Warszawa, ul. Freta 16
Millennium BIG BG SA, Nr 5711602202-0000000027202458

Redakcja „Wiadomości Chemicznych”



SPIS TREŚCI

Grzegorz GRYNKIEWICZ, Osman ACHMATOWICZ, Iza FOKT, Waldemar PRIEBE, Jan RAMZA, Barbara SZECHNER, Wiesław SZEJA: Syntezy naturalnych i modyfikowanych antybiotyków antracyklinowych ze wspólnego prekursora: 3,4-di- <i>O</i> -acetylo- <i>L</i> -ramnalu	535
Joanna RABICZKO, Dariusz SOCHA, Margarita JURCZAK, Marek CHMIELEWSKI: Synteza polihydroksyindolizydyn z α,β -nienasyconych δ -laktonów	561
Antoni RÓŻAŁSKI, Agnieszka TORZEWSKA, Beata BARTODZIEJSKA, Dorota BABICKA, Iwona KWIL, Andrei V. PEREPELOV, Anna N. KONDAKOVA, Sof'ya N. SENCHENKOVA, Yuriy A. KNIREL, Evgeny V. VINOGRADOV: Struktura chemiczna, swoistość antygenowa i znaczenie w chorobotwórczości lipopolisacharydu (LPS, endotoksyna) na przykładzie bakterii <i>Proteus vulgaris</i>	585
Wiesław SZEJA, Joanna BUGLA, Aleksandra NIEMIEC, Gabriela PASTUCH, Anna KASPRZYCKA, Anna ŚLUSARCZYK, Ilona WANDZIK, Tadeusz BIEG, Bogdan PRZYBYSZ, Jadwiga BOGUSIAK: Glikozylacja z zastosowaniem pochodnych 1-tiocukrów jako substratów	605
Bogusław KRYCZKA, Stanisław PORWAŃSKI: Synteza glikozydów, disacharydów i pseudo-disacharydów w reakcjach z udziałem związków palladu	627
Sławomir JAROSZ, Stanisław SKÓRA, Katarzyna SZEWCZYK: Alillocynowe pochodne cukrów prostych w syntezie układów karbocyklicznych	661
Barbara DMOCHOWSKA, Eugenia SKORUPOWA, Andrzej WIŚNIEWSKI: O czwartorzędowych solach <i>N</i> -glikopiranozyloamoniowych	679
Felieton naukowy	
Ignacy Z. SIEMION: Notatki chaotyczne. XLI. W stronę gastronomii molekularnej	691
Kronika	701
Nowe wydawnictwa	703

W NASTĘPNYM ZESZYCIE UKAŻĄ SIĘ:

Bogdan BURCZYK: Zielona chemia: zadania, cele, przykłady osiągnięć	
Krzysztof ŁYCZKO: Chemia gazów szlachetnych	
Wojciech KROSZCZYŃSKI, Bożena MORZYCKA, Jacek W. MORZYCKI: Niekończąca się historia witaminy D	
Jan ZAWADIAK, Mirosław DANCH: Nadtlenki polimeryczne – otrzymywanie właściwości, zastosowanie	
Andrzej BARAŃSKI, Radomir JASIŃSKI: Reakcje [2+3] cykloaddycji sprzężonych nitroalkenów z nitronami	
Jan KALEMBKIEWICZ, Elżbieta SOĆO: Rozdział i oznaczanie Cr(III) i Cr(VI) w próbkach środowiskowych	
Andrzej BUREWICZ, Hanna GULIŃSKA, Piotr JAGODZIŃSKI, Małgorzata MIRANOWICZ, Nikodem MIRANOWICZ, Robert WOLSKI, Małgorzata ZIELIŃSKA: Akademicki podręcznik multimedialny <i>Dydaktyka ochrony środowiska</i>	

Felieton naukowy

Ignacy Z. SIEMION: Notatki chaotyczne. XLII. Portret literacki Józefa Jerzego Boguskiego