

На правах рукописи



Нагорная Марина

**РЕГИОСЕЛЕКТИВНЫЙ СИНТЕЗ И СВОЙСТВА
АЦЕТИЛЬНЫХ ПРОИЗВОДНЫХ ФЕНОЛГЛИКОЗИДОВ**

02.00.03 - органическая химия

Автореферат

диссертация на соискание ученой
степени кандидата химических наук

Томск – 2018

Работа выполнена в Научно-образовательном центре им. Н.М.Кижнера Инженерной школы новых производственных технологий федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Национальный исследовательский Томский политехнический университет»

Научный руководитель:

доктор химических наук, профессор
Филимонов Виктор Дмитриевич

Официальные оппоненты:

Коньшин Вадим Владимирович
доктор химических наук, доцент
ФГБОУ ВО Алтайский
государственный технический
университет им. И.И. Ползунова,
заведующий кафедрой
химической технологии.

Рыжов Иван Михайлович
кандидат химических наук
ФГБУН Институт биоорганической
химии им. Академиков М.М. Шемякина
и Ю. А. Овчинникова РАН,
научный сотрудник
лаборатории углеводов.

Ведущая организация:

ФГБУН Новосибирский институт
органической химии им. Н.Н. Ворожцова
СО РАН (г. Новосибирск)

Защита состоится «19» декабря 2018 г. в ____ часов на заседании диссертационного совета Д 212.269.04 при ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский Томский политехнический университет» по адресу: 634050, Томск, пр. Ленина, 43, 2-й корпус ТПУ, Малая химическая аудитория, e-mail: tvn@tpu.ru

С диссертацией можно ознакомиться в научно-технической библиотеке ФГАОУ ВО НИ ТПУ по адресу: Томск, ул. Белинского, 55 и на сайте: <http://portal.tpu.ru/council/911/worklist>

Автореферат разослан «__» октября 2018 г.

И. о. ученого секретаря диссертационного
совета Д 212.269.04



Слепченко Г.Б.

Актуальность работы. В природе широко встречаются частично ацетилированные фенолгликозиды. Такие соединения интересны для фармакологии, поскольку имеют биологическую активность, отличную от неацетилированных соединений с тем же скелетом. Наибольший интерес представляют природные фенолгликозиды, содержащие одну ацетильную группу на 2-гидроксигруппе углеводной части. Также, 2-*O*-ацетилированные арилгликозиды являются специфическими маркерами для растений определенных семейств и служат своеобразными «отпечатками пальцев» для хемотаксономии.

Выделение таких соединений из растительного сырья представляет собой сложный процесс, не дающий гарантии выделения необходимого компонента с достаточными выходами. Помимо этого, содержание 2-*O*-ацетилгликозидов в природном сырье зависит от ряда факторов, таких как: сезон сбора растительного материала, вид растения, место сбора и условия сушки и обработки сырья. Кроме того, выход 2-*O*-ацетилгликозидов зависит и от метода их выделения. Так, при высоких значениях pH при экстрагировании (выше 5.5) снижается их количество в связи с нестабильностью моноацетов в щелочной среде и вероятной миграцией ацетильных групп.

Получение 2-*O*-ацетилгликозидов прямым введением ацетильной группы в углеводный остаток невозможно, так как в этом случае преимущественно образуются 6-*O*-ацетильные производные. Известны лишь единичные примеры многостадийных синтезов 2-*O*-ацетилгликозидов. Так, учеными из Китая был предложен полусинтетический путь получения 2-ацетилсалицина в 5 стадий. Описан также синтез 2-*O*-ацетилгалактозида в 8 стадий как интермедиата в синтезе олигосахаридов.

Ранее на кафедре биотехнологии и органической химии ТПУ была открыта система HCl/EtOH/CHCl₃, позволяющая проводить селективное деацетилирование некоторых *пер*-ацетилгликозидов с получением ценных 2-*O*-ацетилгликозидов, а также полностью деацетилированных соединений с сохранением гликозидной связи. Однако механизм действия этой системы не исследован, равно как неизвестно и влияние строения ацетилированных гликозидов на их реакционную способность и селективность. Понимание механизма действия данной системы необходимо для широкого использования предложенного метода деацетилирования в химии углеводов.

Цель работы: Разработка новых методов получения 2-*O*-ацетиларилгликозидов путем деацетилирования *пер*-ацетатов под действием системы HCl/EtOH/CHCl₃, исследование механизма этого процесса и применение реакции деацетилирования в химии углеводов.

Положения, выносимые на защиту:

1. Препаративный метод получения ряда 2-*O*-ацетиларилгликозидов деацетилированием *пер*-*O*-ацетиларилгликозидов действием HCl/EtOH/CHCl₃.

2. Закономерности влияния структуры *пер*-*O*-ацетиларилгликозидов на их реакционную способность и селективность в реакции кислотно-катализируемого деацетилирования.

3. Результаты кинетических и квантово-химических исследований деацетилирования и гипотеза, объясняющая найденную селективность стерическим экранированием 2-*O*-ацетильной группы со стороны агликонового фрагмента в ходе деацетилирования.

4. Первый пример успешного применения 2-*O*-ацетил галактопиранозида в качестве нуклеофила в реакции сиалилирования для синтеза ценного сиалил-(α 2-3)-галактозного блока.

5. Первый полный синтез природного дигликозида **Virgaureoside A** и его аналога **iso- Virgaureoside A**, которые были получены при использовании разработанной системы HCl/EtOH/CHCl₃.

Научная новизна работы.

1. Впервые экспериментально и теоретически исследованы закономерности кислотно-катализируемого деацетилирования *пер*-ацетилированных арилгликозидов, определено влияние строения углеводного фрагмента и агликона на селективность.

2. Впервые предложен одностадийный метод синтеза ряда 2-*O*-ацетиларилгликозидов.

3. Впервые определена скорость кислотно-катализируемого алкоголиза 2-*O*-ацетильной группы для ряда 2-*O*-ацетиларилгликозидов и выявлено влияние строения углеводного фрагмента и агликона на скорость алкоголиза.

4. Впервые предложены и реализованы подходы к получению ценных природных дигликозидов (**Virgaureoside A** и **iso- Virgaureoside A**), а также строительных блоков практически важных олигосахаридов, в частности, сиалил-(α 2-3)-галактозного блока.

Практическая значимость.

1. Предложен простой одностадийный метод селективного алкоголиза *пер*-ацетилированных арилгликозидов для получения 2-*O*-ацетиларилгликозидов, что делает их доступными для применения в химии углеводов.

2. Осуществлен синтез нового галактозильного строительного блока (*n*-метоксифенил 2-*O*-ацетил-4,6-*O*-бензилиден- β -D-галактопиранозида) с использованием кислотно-катализируемого алкоголиза ацетильных групп и показана возможность его применения для синтеза важного сиалил-(α 2-3)-галактозного блока.

3. Впервые осуществлен синтез дигликозида растения *Solidago virgaurea* L- **Virgaureoside A**, а также дигликозида не найденного в природных источниках и не описанного в литературе - *изо*- **Virgaureoside A** с применением кислотно-катализируемого алкоголиза ацетильных групп *пер*-ацетилированных дигликозидов, благодаря чему возможно получение дигликозидов в количествах, достаточных для фармакологического изучения.

Апробация работы. Отдельные части работы докладывались и обсуждались на II и III Всероссийской научно-технической конференции молодых ученых, аспирантов и студентов с международным участием «Высокие технологии в современной науке и технике» (Томск, 2013 г., 2014 г.); Всероссийской конференции «Химия и химическая технология в XXI веке» (Томск, 2014, 2018 гг.); Всероссийской конференции «Актуальные проблемы органической химии» (Новосибирск, 2015 г.); 18th European Carbohydrate Symposium: Eurocarb18 (Москва, 2015 г.); VI Всероссийской конференции с международным участием «Актуальные вопросы химической технологии и защиты окружающей среды» (Чебоксары, 2016 г.); Международном юбилейном конгрессе, посвященном 60-летию Иркутского института химии им. А.Е. Фаворского СО РАН «Фаворский-2017» (Иркутск, 2017 г.).

Публикации. По теме диссертации опубликовано 2 статьи, 10 докладов, тезисы 13 докладов.

Объем и структура работы. Работа изложена на 126 страницах, содержит 11 рисунков и 9 таблиц. Состоит из введения, 4 глав, выводов и списка литературы из 226 наименований. Первая глава диссертации посвящена литературному обзору о нахождении в природе 2-О-ацетиларилгликозидов, методах защиты гидроксильных групп в арилгликозидах, а также методов гликозилирования для получения промежуточных продуктов. Вторая глава посвящена кинетическому и термодинамическому исследованию кислотно-катализируемого алкоголиза для селективного удаления ацетильных групп в арилгликозидах с использованием как экспериментальных методов, так и квантово-химических расчетов, в третьей главе описывается применение кислотно-катализируемого алкоголиза в синтезе строительных блоков для получения олигосахаридов и природных арилгликозидов. Четвертая глава посвящена описанию экспериментальной части работы.

Работа выполнена в Научно-образовательном центре им. Н.М.Кижнера Томского Политехнического университета. Работа поддержана проектами РФФИ № 18-33-00365 мол_а, РНФ №. 16-13-10244 и ВИУ - НОЦ Н.М. Кижнера - 213/2018.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

2. Исследование кислотно-катализируемого алкоголиза ацетильных групп в *пер*-ацетиларилгликозидах и синтез 2-О-ацетилгликозидов.

Для исследования селективности снятия ацетильных защитных групп *пер*-ацетилированных гликозидов нами была использована система, содержащая раствор HCl ($\rho = 1.18$ г/мл), EtOH (96 %) и CHCl₃ в объемном

соотношении 1:3:1, предложенная ранее на кафедре биотехнологии и органической химии ТПУ (E.V.Stepanova et al *Carbohydr. Res.* **2015**, 409, 36).

Исследование дезацетилирования *пер*-ацетилированных гликозидов **1-9** (схема 1) проводилось с использованием метода ВЭЖХ. На рис. 1 представлена в качестве примера динамика изменений хроматографической картины для *орто*-крезилгликозида **2** через 1 и 8 часов.

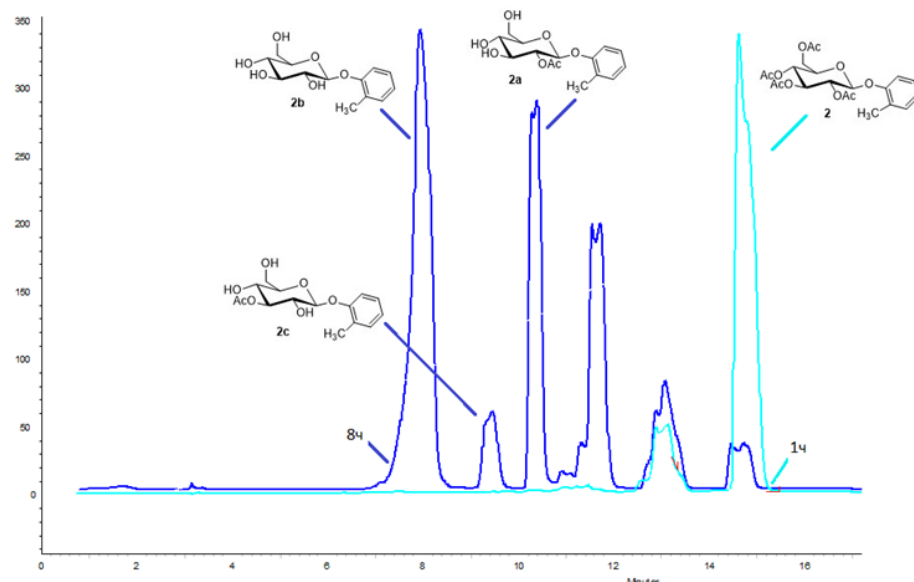


Рисунок 1. ВЭЖХ анализ реакционной массы кислотно-катализируемого алкоголиза *орто*-крезилгликозида **2** через 1 и 8 часов

Из рисунка **1** видно, что по истечении 8 часов почти полностью исчезает исходный гликозид **2**, появляется пик полностью дезацетилированного гликозида **2b** с $t_{уд} = 8$ мин, интенсивный пик $t_{уд} = 10.2$ мин и малоинтенсивный пик $t_{уд} = 9.8$ мин, помимо этого появляются пики при $t_{уд} = 13.0$ и 11.8 мин, которые исчезают со временем. Установлено, что при 8 ч проведения реакции пик с площадью ($t_{уд} = 10.2$ мин) принадлежит целевому 2-*O*-ацетилгликозиду **2a**. Почти во всех случаях, кроме пиков основных продуктов **1a-9a** и **1b-9b**, на хроматограммах наблюдаются малоинтенсивные пики, соответствующие 3-*O*-ацетилгликозидам **1c, 2c, 4c, 6c-9c** (на рис. 1 пик $t_{уд} = 9.8$ мин). Мерой селективности в исследуемом нами процессе дезацетилирования является отношение концентраций, образующихся 2-*O*-ацетилгликозидов **1a-9a** к 3-*O*-ацетилгликозидам **1c-9c** (схема 1).

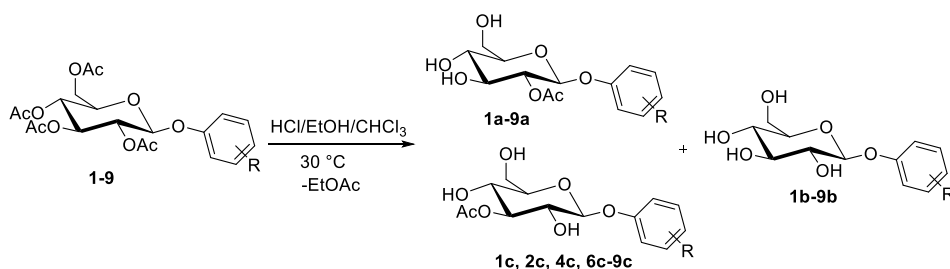


Схема 1: Реакция кислотно-катализируемого алкоголиза ацетильных групп *пер*-ацетилированных арилгликозидов **1-9** (R представлены в таблице 1).

Кисотно-катализируемый алкоголиз *пер*-ацетиларилгликозидов **1-9** осуществляли с использованием системы HCl/EtOH/CHCl₃. Реакционную смесь термостатировали при 30 °С, до тех пор, пока ВЭЖХ-мониторинг не показал максимальный пик 2-*O*-ацетилгликозида (времена удерживания приведены в таблице 1). Далее реакционную смесь обрабатывали анионообменной смолой АВ-17 до достижения pH 7, фильтровали и концентрировали в вакууме. Остаток подвергали колоночной хроматографии с получением 2-*O*-ацетилгликозидов **1a-9a** (табл. 1) и полностью деацетилированных гликозидов **1b-9b**.

Таблица 1. Результаты кислотно-катализируемого алкоголиза *пер*-ацетилированных арилгликозидов **1-9** и синтез 2-*O*-ацетилгликозидов **1a-9a**.

	Исходное соединение/ 2- <i>O</i> -ацетилгликозид	R	Время удерживания 2- <i>O</i> -ацетилгликозида ВЭЖХ, мин	Селективность ^a	Время реакции, ч	Препаративный выход 2- <i>O</i> -ацетилгликозида a , %	Температура плавления 2- <i>O</i> -ацетилгликозида, °С
	1	2	3	5	6	7	8
1	1/1a	H	12.1 (11.2) ^e	98:2	6	45	128-129
2	2/2a	<i>o</i> -CH ₃	10.2 (9.2) ^e	96:4	12	55	159-161
3	3/3a	<i>o</i> -CH ₃ (β-D-Galp) ^b	10.2	100:0	11	35	161-162
4	4/4a	<i>n</i> -CH ₃	10.2 (9.1) ^e	94:6	10	25	144-145
5	5/5a	<i>o</i> -NO ₂	9.3	100:0	12	22	164-165
6	6/6a	<i>n</i> -NO ₂	9.5 (8.5) ^e	92:8	10	19	172-173
7	7/7a	<i>o</i> -OMe	8.8 (7.8) ^e	85:15	12	45	149-150
8	8/8a	<i>n</i> -OMe	9.1(8.5) ^e	80:20	8	21	184-185
9	9/9a	<i>o</i> -CH ₃ (α-D-Glcp) ^c	9.9 (8.8) ^e	60:30	8 ^d	-	-

a) Отношение гликозида **1a-9a** к **1c-9c**, соответственно

b) В качестве исходного соединения использовали 2-(2,3,4,6-тетра-*O*-ацетил-β-D-галактопиранозилокси) толуол

c) В качестве исходного соединения использовали 2-(2,3,4,6-тетра-*O*-ацетил-α-D-глюкопиранозилокси) толуол

d) Время максимальной концентрации 2-*O*-ацетилгликозида, определяемое ВЭЖХ

e) Время удерживания 3-*O*-ацетилгликозидов

В качестве примера на рис. 2 приводится спектр ЯМР НМВС для соединения **2a**.

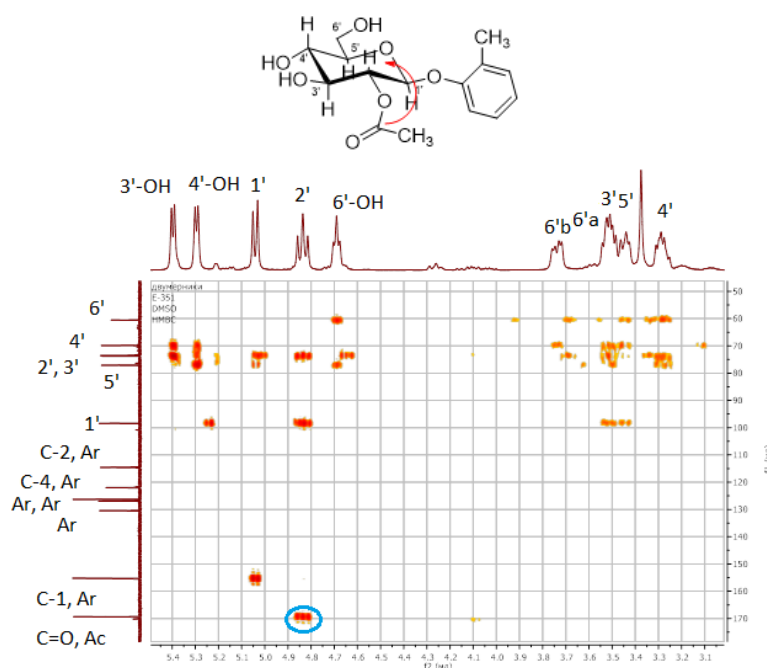


Рисунок 2. Фрагмент ЯМР ЯМВС (DMSO-d₆) соединения **2a**. Обведен кросс-пик, соответствующий корреляции $\delta_{C=O}$ 169.8/ δ_{H-2} 4.82 м.д.

В спектре ЯМР ЯМВС соединения **2a** наблюдается корреляция карбонильного углерода от ацетильной группы с H-2 $\delta_{C=O}$ 169.8/ δ_{H-2} 4.82 м.д. (на рисунке 2 обведенный кросс-пик).

Полученные данные (табл. 1) позволяют определить влияние углеводной части и агликона в гликозидах **1-9** на 2-*O*-селективность (селективное образование 2-*O*-моноацетата) изученных реакций алкоголиза. В частности, для соединений с одинаковым агликоном, но разными углеводными фрагментами селективность образования 2-*O*-ацетиларилгликозида уменьшается в следующем порядке: β -D-галактозид (**3a**) > β -D-глюкозид (**2a**) >> α -D-глюкозид (**9a**).

Строение агликона, как мы показали, также влияет в определенной степени на селективность (табл. 1). В случае сильной электронодонорной метокси группы в фенильном ядре (соединения **7**, **8**) селективность алкоголиза резко падает. Наличие в фенильном ядре менее электронодонорной метильной группы (соединения **2**, **4**) также вызывает снижение селективности, но в существенно меньшей степени. С другой стороны, сильный электроноакцептор NO₂ (соединение **5**) в *орто*-положении бензольного кольца резко увеличивает селективность. Однако, та же нитрогруппа в *пара*-положении (соединение **6**) не приводит к увеличению селективности.

Таким образом, можно сделать вывод, что реакция кислотно-катализированного этанолиза может быть применима только для β -глюко- и галактопираноз. Строение же агликона имеет не существенное значение, и даже при наличии незамещенного фенола в качестве агликона мы наблюдаем наименьшую реакционную способность 2-*O*-ацетильной группы.

2.2 Определение кинетики реакции кислотно-катализируемого алкоголиза ацетильной группы 2-О-ацетиларилгликозидов.

Определение константы скорости реакции кислотно-катализируемого алкоголиза ацетильной группы 2-О-ацетиларилгликозидов **1a-8a** проводилось с целью определения реакционной способности данных соединений, а также выяснения причин указанной выше селективности.

На примере гликозида **1a** (схема 2) представлены результаты определения константы скорости для реакции алкоголиза 2-О-ацетильной группы (таблица 2).

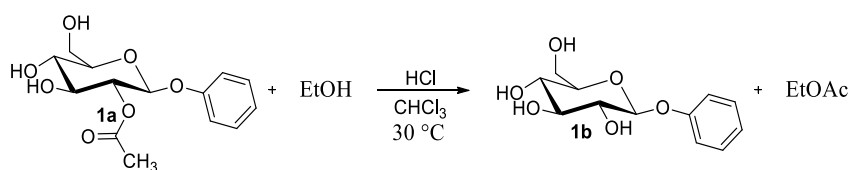


Схема 2. Реакция алкоголиза гликозида **1a**

Для этого строилась калибровочная кривая (зависимость площади ВЭЖХ пика от концентрации) для гликозида **1a** в концентрациях 0.25, 0.5 и 1.0 мг/мл с (рис. 3 А). В определенные промежутки времени отбирали пробу и анализировали с помощью ВЭЖХ три раза, рассчитывая среднюю площадь пиков. Концентрации соединения **1a** в реакционной смеси определялись по калибровочной кривой. Затем были построены графики зависимости концентрации **1a** (С) от времени (t) (рис. 3 В) и $\ln(C)$ от t (рис. 3 С). Константа скорости реакции k оценивалась по наклону прямой (рис. 3 С), предполагая, что реакция кислотно-катализируемого алкоголиза в гликозиде **1a** является реакцией псевдопервого порядка.

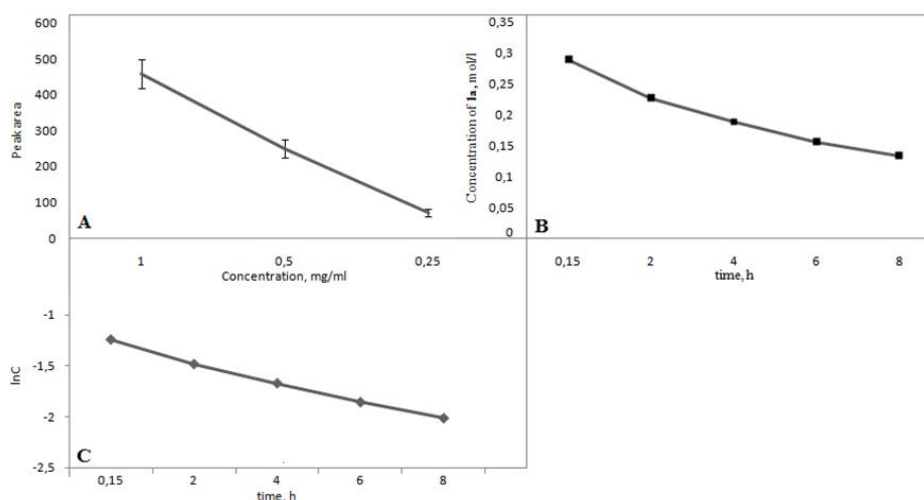


Рисунок 3. Кинетические измерения для реакции алкоголиза ацетильной группы соединения **1a**. А): калибровочная кривая для гликозида **1a**; В): изменение концентрации (моль/л) гликозида **1a** от времени реакции; С): линейный график зависимости $\ln(C)$ гликозида **1a** от времени.

Для гликозида **1a** была также вычислена энергия активации алкоголиза 2-О-ацетильной группы путем определения констант скоростей этой реакции

при 30, 40 и 50 °С. Энергия активации оценивалась по наклону полученной прямой зависимости $\ln(k) - 1/T$ с использованием графика Аррениуса (рис. 6), которая составила 21,4 ккал/моль.

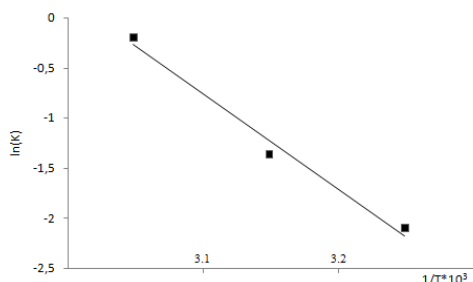
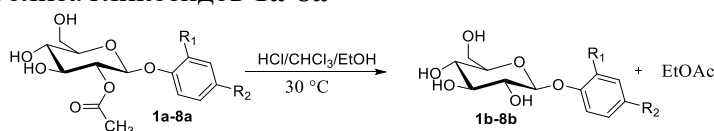


Рисунок 4. График Аррениуса для реакции этанолиза 2-*O*-ацетильной группы 2-*O*-ацетилфенилгликопиранозидов **1a**.

Описанные процедуры применялись также для оценки констант скорости алкоголиза 2-*O*-ацетиларилгликозидов **2a-8a**. Полученные экспериментальные данные констант скорости реакции кислотно-катализируемого алкоголиза гликозидов **1a-8a** приведены в таблице 2.

Таблица 2. Результаты определения констант скорости реакции кислотно-катализируемого алкоголиза гликозидов **1a-8a**



	2- <i>O</i> -ацетильный продукт	R	Константа скорости, ч ⁻¹
	1	2	3
1	1a	H	0.122±0,028
2	2a	<i>o</i> -CH ₃	0.106±0,011
3	3a	<i>o</i> -CH ₃ (β-D-Galp) ^b	0.084±0,008
4	4a	<i>n</i> -CH ₃	0.111±0,005
5	5a	<i>o</i> -NO ₂ , R ² =H	0.183±0,019
6	6a	<i>n</i> - NO ₂	0.235±0.035
7	7a	<i>o</i> -OMe	0.282±0,034
8	8a	<i>n</i> - OMe	0.315±0,037

а) В качестве исходного соединения использовали 2-метилфенил 2,3,4,6-тетра-*O*-ацетил-β-D-галактопиранозид

В результате проведения кислотно-катализируемого алкоголиза ацетильной группы 2-*O*-ацетиларилгликозидов, было выявлено что скорость реакции образования полностью дезацетилированного продукта **1b-8b** зависит как от углеводного фрагмента, так и от строения агликона. Так, в случае арилгликозидов с одинаковым агликоном **2a** и **3a**, оказалось, что константа скорости реакции намного ниже для арилгликозида **3a** с галактозным фрагментом, чем с глюкозным **2a**. Данный факт согласуется с тем, что алкоголиз тетраацетилгалактозида **3** происходит с высокой

селективностью (таблица 1), а также наибольшим выходом 2-*O*-ацетилгалактозида **3a**, т.е. соблюдается общее правило «высокая активность-низкая селективность». Также данная закономерность соблюдается при сравнении скоростей алкоголиза 2-*O*-ацетилгликозидов **7a**, **8a** содержащих в агликоне электронодонорный заместитель ОМе и селективности образования этих гликозидов в реакции алкоголиза (табл. 1). Соединения **7a**, **8a** показывают максимальную скорость алкоголиза (табл. 2) и наименьшую селективность при их образовании (табл. 1). В то же время для гликозидов **1a**, **2a**, **4a-6a** данная закономерность - высокая активность-низкая селективность -отсутствует. Интересно, что как электроноакцепторная группа NO₂ (соединения **5a**, **6a**), так и сильная электронодонорная ОМе группа (соединения **7a**, **8a**) в агликоне повышают скорость алкоголиза в сравнении с незамещенным фенилгликозидом **1a**, т.е. нет простой корреляции с электронными эффектами заместителей. При сравнении скоростей алкоголиза пар изомерных гликозидов **2a** и **4a**, **5a** и **6a**, а также **7a** и **8a**, можно заметить, что во всех случаях 2-*O*-ацетильные группы изомеров с *para*-замещенным агликоном оказываются активней таковых с *ortho*-замещенным агликоном.

2.3. Квантово- химическое моделирование реакции кислотно-катализируемого алкоголиза ацетильных групп ацетилгликозидов

Для определения причин обнаруженной региоселективности дезацетилирования требовалось понять, является ли данный процесс термодинамически контролируемым. Для ответа на это мы получили оптимизированные структуры всех четырех возможных изомеров *O*-моноацетилфенилгликозида и определили их ΔH и ΔG в приближении изолированной молекулы и в полярной водной среде (табл. 3).

Таблица 3. Вычисленные методом DFT b3lyp/aug-cc-pvdz относительные энтальпии и свободные энергии изомерных *O*-моноацетилфенилгликозидов, ккал/моль

О-ацетилфенилгликозид	Газовая фаза		Водный раствор (CPCM)	
	ΔH	ΔG	ΔH_{H_2O}	ΔG_{H_2O}
2- <i>O</i> -ацетилгликозид 1a	-4.51	-5.10	-2.16	-2.26
3- <i>O</i> -ацетилгликозид	-4.65	-4.86	-2.92	-3.00
4- <i>O</i> -ацетилгликозид	-2.01	-2.88	-2.06	-2.77
6- <i>O</i> -ацетилгликозид	0	0	0	0

Полученные данные показывают, что относительные свободные энергии ΔG *O*-моноацетилфенилгликозидов снижаются в неполярной среде (газовой) в следующем порядке: 2-*O*-ацетил- < 3-*O*-ацетил- < 4-*O*-ацетил- < 6-*O*-ацетил. Однако, в сильно полярной среде (вода) энтальпии ΔH изомерных

O-ацетилгликозидов выравниваются, а свободные энергии 3-*O*- и 4-*O*-ацетилгликозидов становятся даже чуть ниже, чем у 2-*O*-изомера **1a**. Проведенные расчеты указывают на наибольшую термодинамическую устойчивость 2-*O*- и 3-*O*-ацетилгликозидов.

Для определения действия кислотно-катализируемой системы на реакцию алкоголиза ацетильных групп *пер*-ацетиларилглизида **1** были проведены квантово-химические расчеты энергии Гиббса ΔG этой реакции с использованием AM1 и метода функционала плотности (DFT) B3LYP и базисным набором 6-31G (d, p). Реакция кислотно-катализируемого алкоголиза ацетильных групп *пер*-ацетиларилгликозида **1** была рассмотрена как ступенчатый процесс (схема 3).

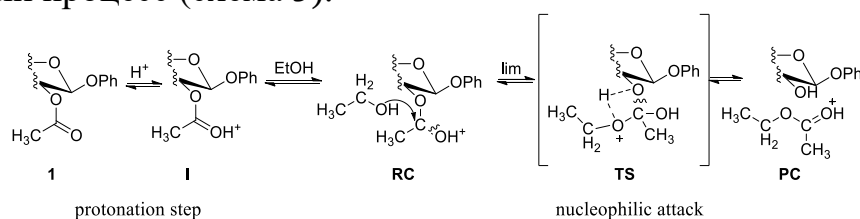


Схема 3. Механизм алкоголиза 2-*O*-ацетильной группы *пер*-ацетилгликозида (**1**)

Стадия протонирования была рассчитана для каждой ацетильной группы гликозида **1**. В качестве примера на рис. 5 приведена структура 2-*O*-протонированного комплекса **I**. Вычисленные ΔG этого этапа для каждой ацетильной группы приведены в таблице 4.

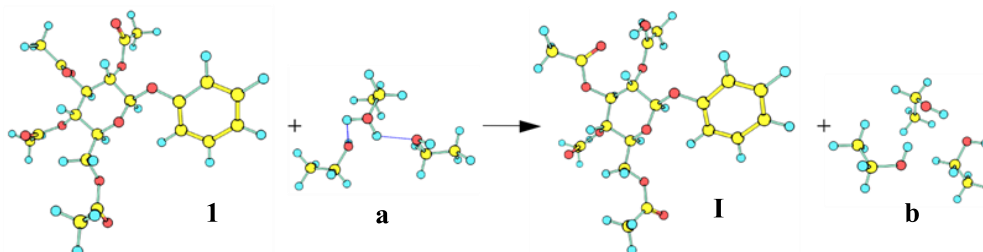


Рисунок 5. Моделирование стадии протонирования 2-*O*-ацетильной группы **1**

Таблица 4. Вычисленные методом AM1 свободные энергии *O*-протонирования каждой ацетильной группы соединения **1** методом AM1, ккал / моль

Положение ацетильной группы	ΔG стадии протонирования	Относительные значения ΔG протонирования
O-2	-132.4	10.2
O-3	-132.4	10.2
O-4	-135.0	7.6
O-6	-142.6	0

Протонирование карбонила O-6 ацетильной группы является наиболее энергетически предпочтительным, а наибольший энергетический барьер протонирования наблюдается для ацетильных групп O-2 и O-3 (таблица 4).

Далее были проведены расчеты стадии нуклеофильной атаки этанолом. Для этого получены оптимизированные структуры RC, TS, PC для второй стадии реакции соединения **1** (рис. 6). Количественные характеристики представлены в таблице 5. Как видно из рисунка 6 (B), мнимая частота TS (представлена на рис. 6 стрелкой).

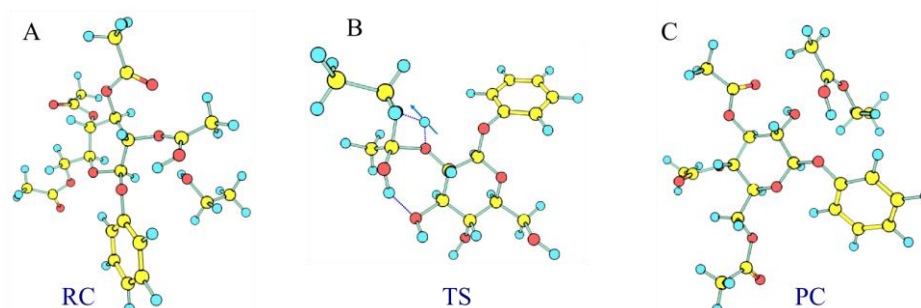


Рисунок 6. Оптимизированные геометрии для (A) RC, (B) TS (амплитуда мнимой частоты иллюстрируется стрелкой) и (C) PC реакции этанолиза O-2 ацетильной группы тетраацетилфенилгликозида **1**

Таблица 5. Относительные энергии RC, TS по отношению к энергии PC; энергии активации и энергии Гиббса на стадии нуклеофильной атаки этанолом каждой ацетильной группы гликозида **1** методом AM1, ккал / моль

Положение ацетильной группы	RC	TS	Энергия активации	PC	ΔG
O-2	4.1	46.0	41.9	0	-4.1
O-3	13.9	53.1	39.2	0	-13.9
O-4	14.9	54.1	39.2	0	-14.9
O-6	31.4	43.7	12.3	0	-31.4

Можно видеть, что ΔG является максимальной для реакции 2-O-ацетильной группы.

Для уточнения результатов мы провели расчеты лимитирующей стадии этанолиза 2-O-ацетильной группы тетраацетилгликозида **1** по вышеописанной схеме методом DFT B3LYP в базисе 6-31G (d, p) (таблица 6).

Таблица 6. Энергия активации для реакции алкоголиза 2-O-ацетильной группы 2-O-ацетилфенилглюкопиранозид **1a**

Методы определения энергии активации	Энергия активации, ккал/моль
DFT/B3LYP/6-31G(d,p)	25.3
AM1	30.0
ExP	21.4

Удовлетворительная сходимость результатов обоих использованных методов вычислений с экспериментальным значением подтверждает корректность проведенного квантово-химического моделирования.

В качестве гипотезы мы можем предложить следующие объяснения обнаруженной селективности алкоголиза соединения **1** и наименьшей реакционной способности 2-*O*-ацетильных групп в этом процессе. На наш взгляд, весьма вероятно, что О-Аг группы агликона стерически ингибируют, как атаку протона на С=О группу 2-*O*-ацетильного фрагмента, так и создают пространственные напряжения в тетраэдрических интермедиатах - СН(ОН)OEt и их протонированных формах. Второй фактор выглядит предпочтительней. В некоторой степени предложенная гипотеза объясняет и найденную закономерность, что в дезацетилировании 2-*O*-ацетиларилгликозидов *орто*-изомеры (максимальный стерический фактор) оказываются менее реакционноспособными, чем соответствующие *пара*-изомеры. Интересно, что данная трактовка позволяет объяснить и причину резкого снижения селективности алкоголиза α -аномера тетраацетилфенилгликозида **9** (таблица 1).

3. Применение алкоголиза в синтезе строительных блоков для получения олигосахаридов и природных арилгликозидов

3.1 Использование 2-*O*-ацетилгликозидов в синтезе сиалил-(α 2-3)-галактозного блока

Помимо проведенных кинетических и квантово-химических исследований, мы применили кислотно катализируемую систему для получения сиалил-(α 2-3)-галактозного блока в синтезе олигосахаридов (схема 4).

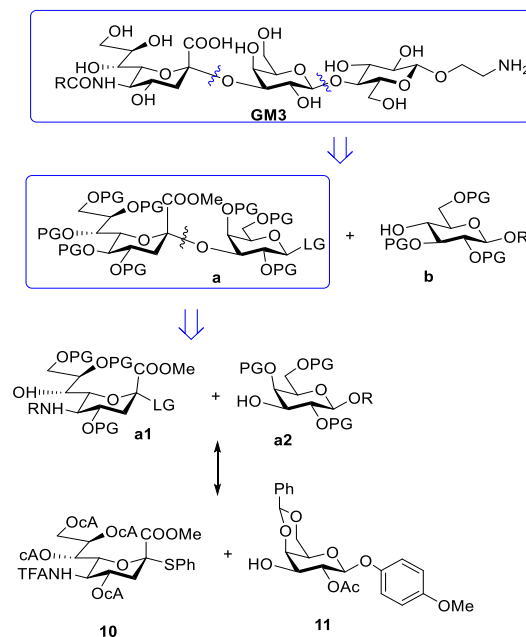


Схема 4. Ретросинтетический подход к созданию ганглиозида **GM3**

PG = защитная группа, LG = уходящая группа, R = агликон

Одним из важнейших сиалоолигосахаридов является ганглиозид **GM3**, имеющий большое значение в медико-биологических исследованиях.

Согласно ретросинтетическому анализу, можно предложить подход, представляющий собой конденсацию глюкозного блока **a** с сиалил-(α 2-3)-галактозным блоком **b** (схема 4), при этом необходимо предварительно получить блок **a** конденсацией сиалового фрагмента **a1** с галактозным фрагментом **a2**. Следует отметить, что формирование гликозидной связи между сиаловым и галактозным фрагментами является трудной синтетической задачей и часто сопровождается плохой α/β селективностью.

3.1.1 Получение 2-*O*-ацетилметоксифенил галактопиранозида двумя методами.

Нами были предложены два пути получения 2-*O*-ацетилметоксифенил галактопиранозида **12a** (схема 5) для создания галактозного акцептора **11** как возможного строительного фрагмента в синтезе сиалил-(α 2-3)-галактозного блока.

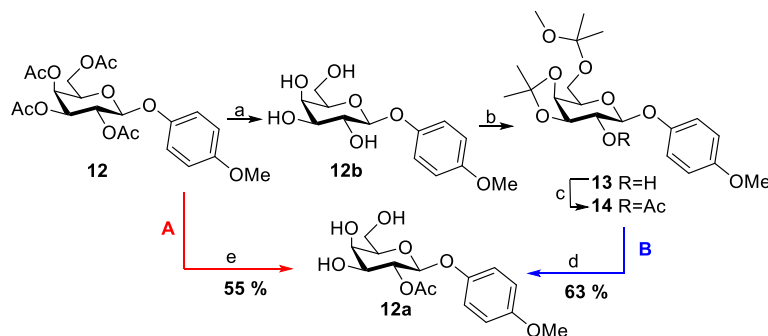


Схема 5. Синтез 2-*O*-ацетилметоксифенил галактопиранозида двумя методами
Реагенты и условия: **a)** MeONa, MeOH, RT; **b)** 2,2-dimethoxypropane, CSA, RT; **c)** Ac₂O, Py, RT; **d)** TFA, CH₂Cl₂, 0 °C; **e)** HCl, EtOH, CHCl₃, 30 °C.

Первый путь (схема 5, метод **A**) заключался в применение ранее исследованной нами кислотнo-катализируемой системы HCl/EtOH/CHCl₃. В данном случае, как и во всех случаях алкоголиза было зафиксированы 2 продукта, одним из которых является целевое соединение 2-*O*-ацетил галактопиранозид **12a** (выход 55%) и полностью дезацетилированное соединение **12b** (выход 45%).

Второй путь (схема 5, метод **B**) представляет собой четырехстадийную реакцию с использованием защитных групп.

Полученные выходы продукта **12a** по методу **A** (55 %) и методу **B** (63 %) соизмеримы. Однако, метод **B** является более трудоемким, многостадийным и времязатратным (общее время реакций по пути **B** заняло ок. 5 дней), что существенно снижает его синтетическую ценность. Помимо многостадийности, метод **B** имеет ограничения, которые заключаются в том, что данный подход применим лишь для галактопираноз, в то время как метод **A** применим как для галакто-, так и для глюкопираноз, что значительно расширяет область его применения. Существенным преимуществом метода **A** является применение доступных реагентов.

3.1.2 Получение галактозил акцепторов (11 и 17)

2-*O*-ацетилметоксифенил галактопиранозид **12a** далее был применен для создания нового гликозил-акцептора **11** (схема 6). Получение галактозил акцептора **11** представляет собой введение бензилиденовой защиты в О-4, О-6-положения соединения **12a** с получением свободной ОН группы при О-3. Преимуществом данного акцептора **11** является то, что 4,6-*O*-бензилиденная защита не дезактивирует гидроксильную группу при С-3. Также наличие *para*-ОМе группы для защиты аномерного положения галактозил-акцептора **11** позволит легко удалить данную группу, когда это станет необходимо.

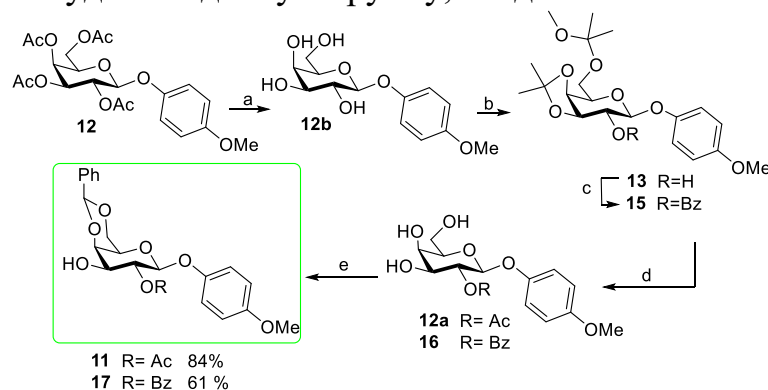


Схема 6. Синтез *p*-метоксифенил 2-*O*-ацил-4,6-*O*-бензилиден- β -D-галактопиранозидов
Реагенты и условия: **a)** MeONa, MeOH, RT; **b)** 2,2-dimethoxypropane, CSA, RT;
c) BzCl, Py, CH₂Cl₂, 0 °C; **d)** TFA, CH₂Cl₂, 0 °C; **e)** PhCH(OMe)₂, TsOH, MeCN, RT.

Помимо вышеполученного 2-*O*-ацетил галактозил акцептора **11** мы синтезировали 2-*O*-бензоил галактозил акцептор **17** по методу В (схема 6). Получение акцептора **17** было предпринято с целью сравнения реакционной способности двух полученных акцепторов **11** и **17**.

3.1.3 Применение галактозил-акцепторов 11 и 17 в синтезе сиалил-галактозного блока

Полученный галактозил акцептор с 2-*O*-ацетильной защитой **11** был применен для синтеза дисахаридного блока **18** (схема 7).

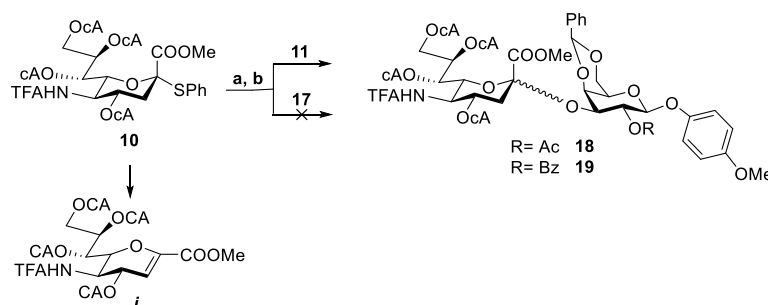
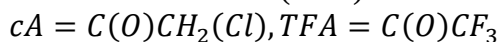


Схема 7. Синтез нового сиалил-(α 2-3)-галактозного блока **18**



Реагенты и условия: **a.** NIS, TfOH, MS 3A, MeCN (для соединения **11**); **b.** (CF₃)₂CHOH (для соединения **17**), -40 °C

Помимо этого, была осуществлена оптимизация синтеза сиалил-(α 2-3)-галактозного блока **18** с целью повышения выхода реакции и селективности образования целевого α – изомера соединения **18** (табл.7).

Таблица 7: Оптимизация синтеза сиалил-(α 2-3)-галактозного блока **18**

№	Молярное соотношение 10:11	Выход дисахарида 17	18 α : β соотношение
1	1:1	76 %	10:1
2	1:1.5	96 %	10:1
3	1:2	74 %	19:1

При этом, соотношение изомерных продуктов α и β для соединения **18** было определено с помощью метода ЯМР-спектроскопии ^1H при интегрировании сигналов в области α -H-3eq δ 2.84 м.д. и β -H-3eq δ 2.64 м.д., нейраминовой кислоты дисахарида **18** (рисунок 7).

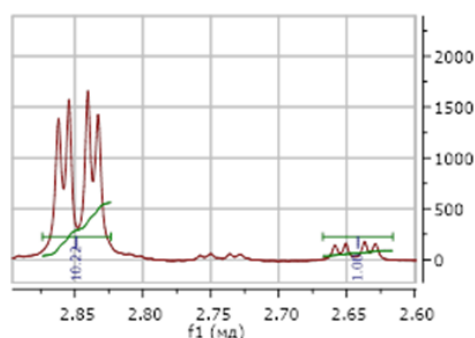


Рисунок 7. Часть спектра ЯМР ^1H дисахаридной фракции **18**, полученного при реакции **10** и **11** 1:1, показывающая сигналы α -H-3eq и β -H-3eq нейраминовой кислоты.

Применение в реакции сиалилирования 2-*O*-бензоил галактозильного акцептора **17** не привело к желаемому продукту **19** (схема 8), в этом случае был получен только побочный продукт реакции элиминирования соединения **10** – гликаль **i** (схема 9). Полученные результаты гликозирования с использованием двух различных галактозильных акцепторов **11** и **17** демонстрируют существенное влияние *O*-2 защитной группы на создание гликозидной связи между сиаловым фрагментом и галактозным фрагментом.

Полученную смесь α/β дисахаридов **18** разделяли колоночной хроматографией на силикагеле. Чистый α -изомер **18a** модифицировали с целью получения реакционноспособного сиалил-галактозного донора **24** (схема 10) для получения на его основе ценных сиалоолигосахаридов.

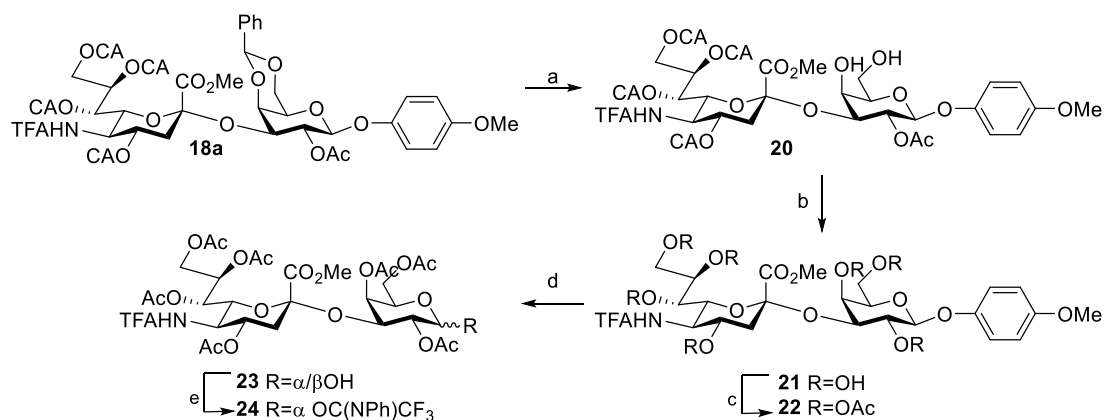


Схема 10. Синтез сialiл-(α2-3)-галактозил имидатного донора **25**

Реагенты и условия: a. AcOH, H₂O, 70 °C, 8 h (78%); b. MeONa, MeOH, RT, 48 h (93%); c. Ac₂O, Py, RT 15 h (83%); d. CAN, MeCN / H₂O, 0 °C, 1 h (84%); e. ClC(NPh)CF₃, Cs₂CO₃, CH₂Cl₂, 0 °C → RT, 16 h (73%).

Для этого снимали бензилиденовую защиту с получением диола **20**, затем снимали все хлорацетильные и ацетильные группы с получением соединения **21**. Далее, все гидроксильные группы как сialового, так и галактозного фрагмента защищали ацетильными группами с получением соединения **22**. Затем снимали временную *p*-метоксифенильную группу с получением полуацетала **23**. На последней стадии вводили имидатную аномерную группу с получением соединения **24**. Общий выход конечного продукта **24** составил 41 %.

3.2 Применение кислотно-катализируемого алкоголиза в синтезе природных арилгликозидов (*Virgaureoside A* и *iso-Virgaureoside A*).

Одним из труднодоступных природных соединений растительного происхождения является дигликозид **Virgaureoside A** (рис. 8). Он содержится в лекарственном растении золотарник обыкновенный L. (*Solidago virgaurea* L.) и хорошо известен в китайской народной медицине как мочегонный, желчегонный и антисептический препарат, обладающий также антиоксидантной, противогрибковой и цитотоксической активностью на раковых клетках.

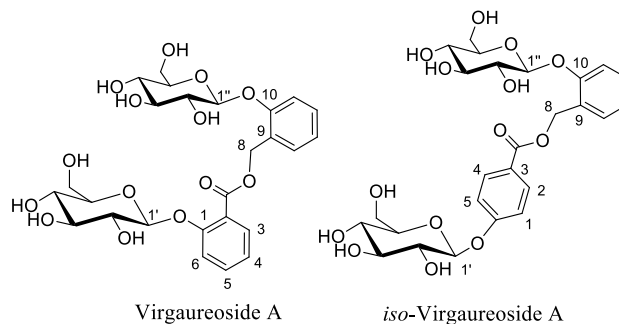


Рисунок 8. Структуры **Virgaureoside A** и **iso-Virgaureoside A**

3.2.2 Применение кислотно-катализируемого алкоголиза в синтезе Virgaureoside A и iso-Virgaureoside A

Наш синтетический подход (схема 12) основанный на применение кислотно-катализируемого алкоголиза позволяет получить природный дигликозид **Virgaureoside A** и его аналог **iso-Virgaureoside A**, который не встречается в растениях. Мы предположили, что **iso-Virgaureoside A** может присутствовать в лекарственных растениях и их экстрактах, ввиду того, что агликон данного соединения представляет собой сложный эфир салицилового спирта и *para*-гидроксибензойной кислоты, который встречается в растительных экстрактах.

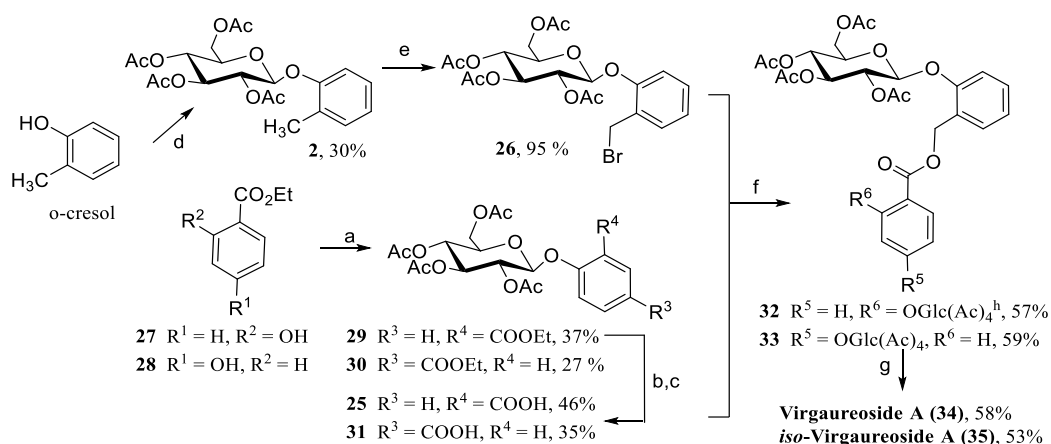


Схема 12. Синтез **Virgaureoside A** и **iso-Virgaureoside A**. Реагенты и условия: (a) АБГ, Ag_2O , хинолин, 1 ч, RT; (b) aq. NaOH, 100 °C, 1 ч; (c) Ac_2O , Py, RT, 20 ч; (d) АБГ, ТБАБ, NaOH, $CHCl_3$, кипение, 4 ч; (e) $NaHCO_3$, $CHCl_3$, Br_2 , hv, 2 ч; (f) $NaHCO_3$, ДМФА, 3 дня; (g) HCl- $CHCl_3$ -EtOH, RT, 48 ч

Разработанный нами новый синтетический подход для получения природных дигликозидов и их аналогов основан на поэтапном получении двух фрагментов **26** и **25** (для **Virgaureoside A**), **31** (для **iso-Virgaureoside A**), которые конденсируются с получением целевых продуктов (схема 11).

Синтез строительного блока **26** начали с получения промежуточного гликозида **2** путем гликозилирования *орто*-крезола в условиях межфазного катализа. Затем в полученном гликозиде **2** бромировали метильную группу и получали реакционноспособный строительный блок **26**.

Синтез строительных блоков **25** и **31** начали с получения гликозидов **29** и **30**, соответственно. В качестве исходных субстратов в их синтезе были использованы эфиры фенольных кислот **27** и **28**. Соединения **29** и **30** получены гликозилированием соединений **27**, **28** при действии оксида серебра, но с небольшими выходами 37 и 27%, соответственно. Тем не менее, этот метод превосходит ранее опубликованные синтезы **29** и **30**, как по выходу, так и по скорости реакции. Гликозиды **29** и **30** были затем подвергнуты омылению с целью освобождения карбоксильной группы для дальнейшей реакции, и повторно ацетилированы с образованием строительных блоков **25** и **31**, соответственно.

Следующим этапом являлась конденсация полученных строительных блоков **25** (для **Virgaureoside A**) и **31** (для *iso-Virgaureoside A*) со строительным блоком **26** с использованием карбоната натрия в ДМФА и получением октоацетататов дигликозидов **32** и **33**, соответственно.

Заключительной и наиболее важной стадией в синтезе **Virgaureoside A** (**34**) и *iso-Virgaureoside A* (**35**) является селективное удаление ацетильных групп соединений **32** и **33**. Эта реакция была успешно проведена с использованием вышеописанного кислотного-катализируемого алкоголиза HCl-EtOH-CHCl₃, который позволил успешно снять ацетильные группы дигликозидов, не затрагивая ни гликозидные, ни сложноэфирные связи в агликоновых фрагментах.

Выводы:

1. Впервые для реакций деацетилирования (алкоголиза) *пер*-ацетилированных арилгликозидов определено влияние строения углеводной составляющей и агликона на скорость и селективность образования 2-*O*-ацетиларилгликозидов.
2. На основе ряда кинетических и квантово-химических исследований предложен механизм, рационально объясняющий найденную селективность деацетилирования. Показано, что селективность деацетилирования контролируется, как термодинамическими, так и кинетическими факторами.
3. Разработаны эффективные одностадийные методы синтеза 2-*O*-ацетиларилгликозидов путем кислотного-катализируемого алкоголиза доступных *пер*-ацетилированных арилгликозидов.
4. Разработан доступный способ получения галактозил-акцептора (параметоксифенил 2-*O*-ацетил-4,6-*O*-бензилиден-β-D-галактопиранозид) и показана возможность его применения в синтезе сиалил-(α2-3)-галактозного блока ценного ганглиозида GM3.
5. Впервые осуществлен синтез дигликозида растения *Solidago virgaurea* L-**Virgaureoside A** и *iso-Virgaureoside A* с применением кислотного-катализируемого алкоголиза.

Основное содержание работы изложено в следующих публикациях:

1. Nagornaya M. O. The First Total Syntheses of the Diglycosides Virgaureoside A, of *Solidago virgaurea* L., and its analogue iso-Virgaureoside A / E. V. Stepanova, M. O. Nagornaya, M. L. Belyanin, V. D. Filimonov // *Cur. Org. Synth.* —**2017**. —Vol.14. —№3. —P.394-397.
2. Nagornaya M, O. A new look at acid catalyzed deacetylation of carbohydrates: A regioselective synthesis and reactivity of 2-*O*-acetyl arylglycopyranosides / E. V. Stepanova, M. O. Nagornaya, V. D. Filimonov, R. R. Valiev et al. // *Carbohydr. Res.* —**2018**. —Vol.458-459. —P. 60-66.
3. Нагорная М. О. Синтез нового сиалил-(α2-3)-галактозного блока/ М. О. Нагорная // Химия и химическая технология в XXI веке: сборник научных

трудов XIX Международной научно-практической конференции имени профессора Л.П. Кулева студентов и молодых ученых. — Томск.: Изд-во ТПУ, 2018. — с.236.

4. Нагорная М.О. Acidic hydrolysis of tetraacetyl aryl glucosides generally leads to 2-O-acetyl derivatives / М.О. Нагорная, Е.В. Степанова // «19th European Carbohydrate Symposium». — Барселона, Испания.: Издательство «EuroCarb 19», 2017, с. 499.

5. Нагорная М. О. Кислотно-катализируемое селективное удаление ацетильных групп углеводов на примере фенолгликозидов / М. О. Нагорная., Е.В. Степанова // Международный юбилейный конгресс, посвященный 60-летию Иркутского института химии им. А.Е. Фаворского СО РАН «Фаворский-2017». - Иркутск.: Издательство Иркутский институт химии им. А.Е. Фаворского СО РАН, 2017, с.137.

6. Нагорная М. О. Синтез 2-О-ацетилпроизводных глюкопиранозидов / М. О. Нагорная., Е.В. Степанова //Актуальные вопросы химической технологии и защиты окружающей среды: сборник материалов VI Всероссийской конференции с международным участием. – Чебоксары.: Издательство ЧГУ, 2016, с.153.

7. Нагорная М. О. Селективное получение аналогов природных фенолгликозидов / А. Э. Шаршеева, М. О. Нагорная // Химия и химическая технология в XXI веке: сборник научных трудов XXI Международной научно-практической конференции имени профессора Л.П. Кулева студентов и молодых ученых. — Томск.: Изд-во ТПУ, 2017 – с.175.

8. Нагорная М.О. Синтез сложных эфиров гликозидов различных моносахаридов / М.О. Нагорная, Е.В. Степанова // I Международная школа-конференция студентов, аспирантов и молодых ученых «Биомедицина, материалы и технологии XXI века». - Казань.: Изд-во Казан. ун-та, 2015. – с.139.

9. Нагорная М.О. Синтез сложных фенольных соединений / М.О. Нагорная, Е.В. Степанова //VI Международная конференция молодых ученых “Органическая химия сегодня” InterCYS-2014 – Спб.: Изд-во Лема, 2014. – с.64.

10. Нагорная М. О. Синтез 2-О-ацетилпроизводных глюкопиранозидов / М. О. Нагорная, Е.В. Степанова // Тезисы докладов X всероссийской конференции «Химия и медицина» с молодежной научной школой. -Уфа.: Изд-во Социально гуманитарное знание, 2015. - 173С.

11. Nagornaya M.O. A simple route to 2-O-acetyl glycopyranosides / М. О. Nagornaya, E.V. Stepanova // XVIII th European Carbohydrate Symposium – Moscow: Eurocarb 18, August 2-6, 2015. -50 p.

12. Nagornaya M.O. The synthetic method of obtaining natural diglycoside Virgaureoside A / M. O. Nagornaya, E.V. Stepanova // Siberian winter conference «Current topics in organic chemistry» - Sheregesh.: March 21-27, 2015, 167 p.
13. Нагорная М. О. Синтез нового дигликозида изо-Virgaureoside A / М. О. Нагорная // Химия и химическая технология в XXI веке: сборник научных трудов XV Международной научно-практической конференции имени профессора Л.П. Кулева студентов и молодых ученых— Томск.: Изд-во ТПУ, 2014. — С. 139-140.
14. Нагорная М. О. Полный синтез природного дигликозида Virgaureoside A / М. О. Нагорная // Высокие технологии в современной науке и технике: сборник научных трудов III Международной научно-технической конференции молодых ученых, аспирантов и студентов — Томск.: Изд-во ТПУ, 2014. — С. 263-265.
15. Нагорная М. О. Синтез 6'-(4-ацетоксициннамоил) глюкопиранозы / М. О. Нагорная, Е.В. Степанова // Высокие технологии в современной науке и технике: сборник научных трудов II Международной научно-технической конференции молодых ученых, аспирантов и студентов — Томск.: Изд-во ТПУ, 2013. — С. 101-103.

Автор выражает искреннюю благодарность к.х.н., старшему преподавателю Е.В. Степановой (Томский Политехнический университет) за всестороннюю помощь и постоянное внимание к работе. Отдельную благодарность, автор выражает д.х.н., ведущему научному сотруднику Л.О. Кононову (лаборатория химии углеводов им. Н.К. Кочеткова Института органической химии им. Н.Д. Зелинского РАН) за возможность проведения отдельных исследований диссертационной работы, а также обсуждения этих результатов. Автор выражает признательность к.ф.-м.н., ассистенту Валиеву Р. Р. (кафедра оптики и спектроскопии физического факультета Национального исследовательского Томского государственного университета) за ценные консультации и помощь в проведении квантово-химических исследований.