



Cukor-szulfonsavak előállítása és szerkezetvizsgálata

Doktori (PhD) értekezés tézisei

Sajtos Ferenc

Témavezető: Dr. Lipták András

Debreceni Egyetem, Természettudományi Kar

Debrecen, 2005.

1. Az értekezés előzményei és célkitűzései

Az értekezés célkitűzése általános módszerek kidolgozása szulfonsav funkció kialakítására szénhidrátok különböző pozícióiban. A szulfonált cukor származékok természetes és mesterséges anionos szénhidrátok mimetikumai lehetnek. Ezekben ugyanúgy adott az erős ionos karakter, így biztosítani tudják a fehérje–szénhidrát közötti ionos kötés kialakulását. Ugyanakkor, a szulfatált származékokhoz képest, hosszabb ideig képesek a keringésben maradni, mert ellenállnak az észterázok hidrolitikus hatásának. További motivációt jelentett munkánk során, hogy szekunder cukor-szulfonsavak szintézisére, egy nem igazolt szerkezetű származéktól eltekintve, nem találtunk példát.

Cukor 2-szulfonsavat előállíthatunk intramolekuláris nukleofil szubsztitúciós (vándorlási) reakció segítségével, melynek során a megfelelő tioglikozidból kiindulva, nukleofil hatására az alkil-/aril-/aralkiltiocsoport a kettes pozícióba vándorol. Az így nyert 2-tioéterből az SH-csoport felszabadítható, majd a célvegyületté oxidálható. Ehhez először a külső nukleofilek hatására végbemenő vándorlási reakciót tanulmányoztuk különböző modellvegyületeken, különböző reagensekkel. Ezen modellreakciók segítségével akartunk képet kapni arról, hogy az egyes nukleofilek esetén milyen termékek képződésére számíthatunk, s ezen eredmények felhasználásával terveztük a cukor 2-szulfonsavak szintézisét.

Hogy egyéb pozíciókban szulfonált szénhidrátokat is előállíthassunk, intermolekuláris nukleofil szubsztitúciós reakciókat is vizsgáltunk. Az irodalomból ismert, hogy egy primer helyzetben jól távozó csoportot (toziloxit) tartalmazó cukor káliumtioacetáttal nukleofil szubsztitúciós reakcióba vihető, majd szulfonsavvá oxidálható. Ezt felhasználva, elvileg szekunder helyzetben is kialakíthatjuk az acetiltiocsoportot, s nyerhetjük belőle a megfelelő szulfonsavat.

Miután a monoszacharidok esetében már sikertült módszereket kidolgozni, melyekkel szulfonsavat vezethetünk be az egyes pozíciókba, célul tűztük ki, hogy ezeket diszacharidokra is kiterjesszük; s közben tapasztalatokat gyűjtünk a különböző eljárásokról. E munka első lépéseként állítottunk elő egy szulfonált diszacharidot, mely a hialuronsav ismétlődő diszacharid egységének szulfonsav analogonja.

2. Az alkalmazott vizsgálati módszerek

Szintetikus munkánk során a modern preparatív szerves kémia makro-, félmikro- és mikromódszereit egyaránt alkalmaztuk. A reakciók követésére, az anyagok tisztaságának ellenőrzésére vékonyrétegkromatográfiát, míg a reakcióelegyek tisztítására kristályosítást és oszlopkromatográfiát használtunk.

Az előállított vegyületek jellemzésére, azonosítására és szerkezetük igazolására a klasszikus analitikai eljárások (elemanalízis, olvadáspont és fajlagos forgatóképesség meghatározása) mellett a modern MALDI-TOF MS tömegspektrometriát, valamint ^1H - és ^{13}C -NMR spektroszkópiai módszereket alkalmaztuk. Az NMR vizsgálatok során a termékek teljes ^1H - és ^{13}C -NMR hozzárendelését kétdimenziós technikák alkalmazásával (^1H - ^1H COSY, TOCSY és ^{13}C - ^1H HSQC) végeztük el.

3. Az értekezés új tudományos eredményei

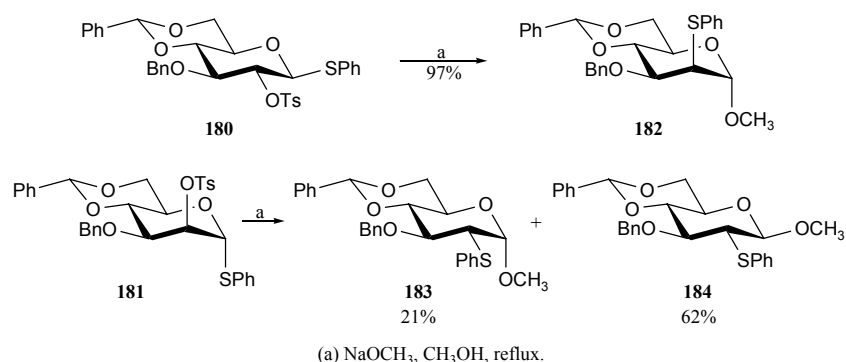
3.1. Tiofenil-glikozidok vándorlási reakciói

A célkitűzésben megfogalmazottak elérése érdekében először a külső nukleofilek hatására végbemenő vándorlási reakciót tanulmányoztuk, hexopiranozidok esetében. Olyan modellvegyületeket akartunk vizsgálni, melyekhez hasonlóak szolgálhatják eredeti céljainkat; egyben felmérni azok, valamint a nukleofil partnerek alkalmazhatóságának lehetőségeit. Ezért először kettes helyzetben jó leváló csoportot tartalmazó 1,2-*transz*-tiofenil-glikozidokat szintetizáltunk, mégpedig egy β -*glüko* és egy α -*manno* származékot. Az előbbinél a feniltio- és a leváló csoport egymáshoz képest *diekvatoriális*, míg az utóbbinál *diaxiális* helyzetben van.

Miután előállítottuk a kettes helyzetben tozioxicsoportot tartalmazó tiofenil- β -D-glüko- (**180**^{*}) és α -D-mannopiranozidot (**181**), reagáltattunk azokat 5 ekv. nátrium-metiláttal, metanolban, reflux hőmérsékleten. A **180** származékából 4 óra leforgása alatt,

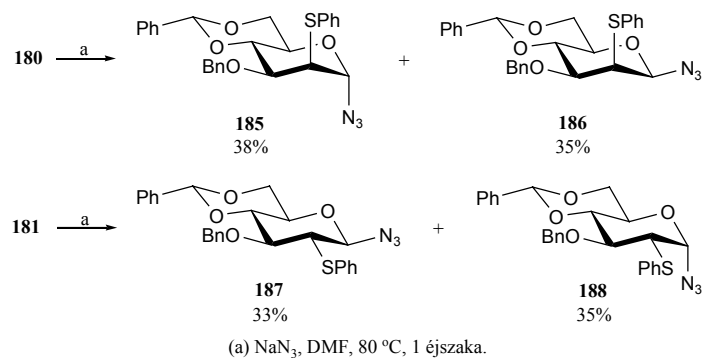
* A vegyületek számozása megegyezik az értekezésben használttal.

kiváló hozammal egy termék keletkezett: metil-3-*O*-benzil-4,6-*O*-benzilidén-2-*S*-fenil-2-tio- α -D-mannopiranozid (**182**). Ezzel ellentétben, a **181** tozilátból, egy éjszaka elteltével két anomer képződött: metil-3-*O*-benzil-4,6-*O*-benzilidén-2-*S*-fenil-2-tio- α -D- (**183**) és β -D-glükopiranozid (**184**) (1. ábra).

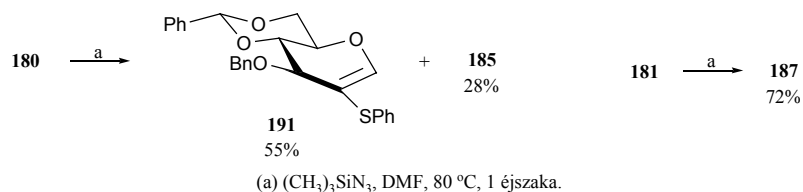


1. ábra

Az azid nukleofilek hatására bekövetkező vándorlási reakciókat is tanulmányoztuk. A már bemutatott tioglukozidokat (**180** és **181**) reagáltattuk nátrium-aziddal 80 °C-on, *N,N*-dimetilformamidban egy éjszakán át. A végrehajtott reakciók mindkét esetben 1:1 arányban eredményezték az 1,2-*transz* (**185** és **187**) és az 1,2-*cisz* származékokat (**186** és **188**) (2. ábra). Ezzel szemben trimetilszilil-azidot alkalmazva egyáltalán nem képződtek 1,2-*cisz* vegyületek. A **180** glükozidból kiindulva az 1,2-*transz* terméket (**185**) csak 28%-ban izoláltuk, s a **191** glikál származék volt a főtermék (55%). A **181** mannozidból viszont csak a **187** 1,2-*transz* vegyület (72%) képződött (3. ábra).

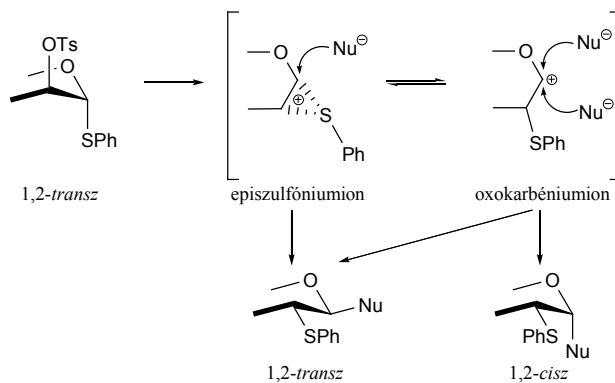


2. ábra



3. ábra

Azokban az esetekben, ahol csak 1,2-*transz* termék képződött, a reakciók lejátszódását episzulfóniumion intermedieren keresztül tartjuk elképzelhetőnek. Ekkor az ion lefedi a megfelelő oldalt, így a nukleofil már csak a másik irányból támadhat. Ha viszont felnyílik az episzulfónium gyűrű, akkor kialakul a megfelelő oxokarbéniumion, s azt már mindkét irányból támadhatja a nukleofil. Ez lehet a magyarázata az 1,2-*cisz* termékek képződésének. Az eliminációs termék is az episzulfóniumionból alakulhatott ki, az anomer szén és a kén, valamint a H-2 proton és kettes szénatom közötti kötések hasadásával (4. ábra).

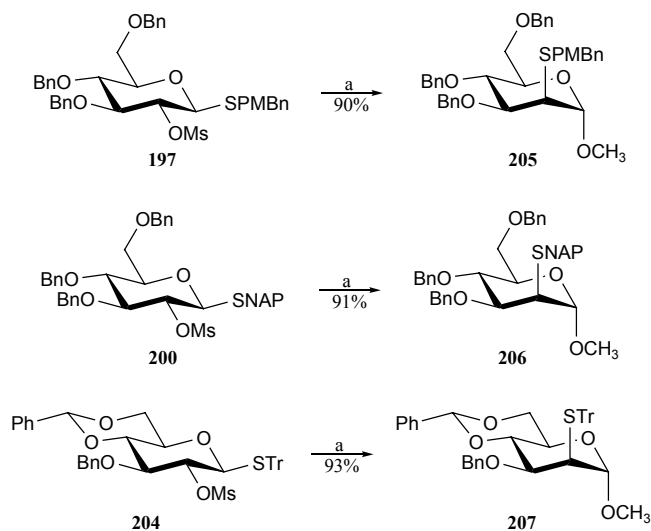


4. ábra

3.2. Cukor 2-szulfonsavak szintézise

A tiofenil-glikozidokon végrehajtott tanulmányreakciók tapasztalatait felhasználva nátrium-metiláttal váltottunk ki vándorlási reakciókat olyan glikozidok esetében, amelyekből később kialakítható a szulfonsav. Ezért kettes helyzetben leváló csoportot

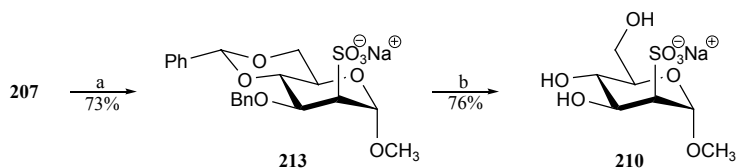
(meziloxit) tartalmazó *p*-metoxibenziltio- (**197**), (2-naftil)metiltio- (**200**) és tritiltio-glükozidot (**204**) állítottunk elő, majd végrehajtottuk velük a vándorlási reakciókat. Az előzetes kísérletek eredményeinek megfelelően, kiváló hozammal és sztereoselektivitással nyertük a megfelelő metil-2-*S*-aralkil-2-tio- α -D-mannopiranozidokat (**205-207**), melyek már szulfonsavvá konvertálhatók (5. ábra).



(a) NaOCH₃, CH₃OH, reflux, 4 óra.

5. ábra

Különböző módszerekkel végrehajtva az SH-csoportok felszabadítását, majd azt követő oxidációját, mindhárom származékból megkaptuk a megfelelő védett szulfonsavakat. Ezek az átalakítások a 2-*S*-tritol származék (**207**) esetében voltak a legjobb ho-

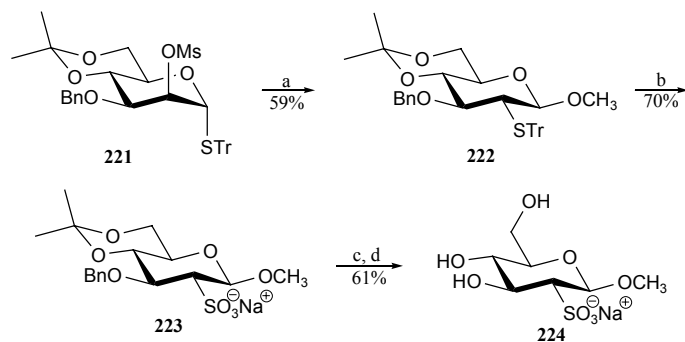


(a) Oxon, KOAc, AcOH, szobahő, 5 óra; (b) H₂-Pd(C), AcOH, EtOH, szobahő, 24 óra.

6. ábra

zamúak, mikor a tiol kialakítását és oxidációját egy lépésben, Oxonnal, ecetsavban, KOAc jelenlétében valósítottuk meg ($\rightarrow$ **213**). A védőcsoportokat katalitikus

hidrogénezéssel távolítottuk el, s nyertük a metil-2-dezoxi-2-nátriumszulfonáto- α -D-mannopiranozidot (**210**) (6. ábra).



(a) NaOCH₃, CH₂Cl₂-CH₃OH (1:1), reflux, 1 éjszaka; (b) Oxon, KOAc, AcOH, szobahő, 5 óra;
(c) TFA, H₂O, CH₂Cl₂, szobahő, 3 óra; (d) H₂-Pd(C), AcOH, EtOH, szobahő, 24 óra.

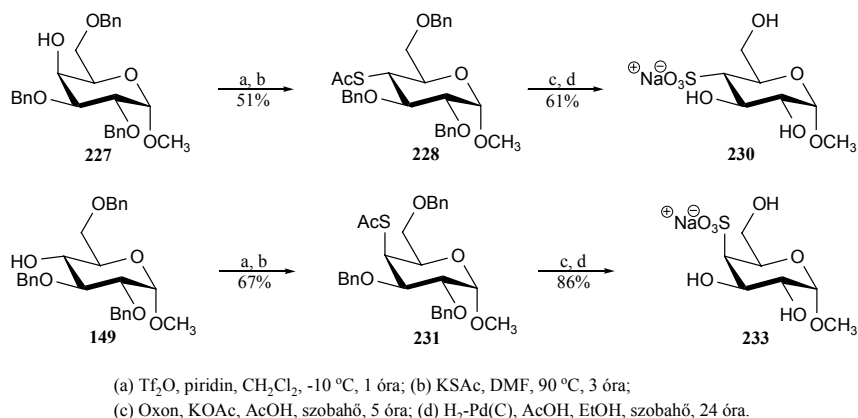
7. ábra

Ezeket az eredményeket felhasználva glükóz 2-szulfonsavat is szintetizáltunk. Ekkor már csak tritil-3-*O*-benzil-4,6-*O*-izopropilidén-2-*O*-mezil-1-tio- α -D-mannopiranozidot (**221**) készítettünk, s ezzel végeztük el a vándorlási reakciót. Egy éjszaka elteltével, CH₂Cl₂-CH₃OH (1:1) oldószerkeletben, a tiofenil-mannozidnál tapasztalt eredménnyel ellentétben, itt csak 1,2-*transz* termék (**222**) keletkezett. Ebből közvetlenül képeztük a **223** szulfonsavat, majd az izopropilidén-csoportot trifluor-ecetsavas kezeléssel, a benzilcsoportot pedig hidrogenolízissel eltávolítva, izoláltuk a metil-2-dezoxi-2-nátriumszulfonáto- α -D-glükopiranozidot (**224**) (7. ábra).

3.3. Cukor 4- és 6-szulfonsavak előállítása intermolekuláris nukleofil szubsztitúciós reakciók segítségével

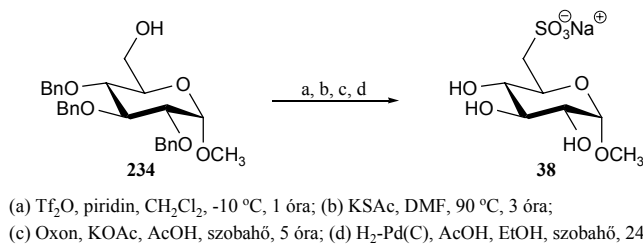
Hogy ne csak a kettes helyzetben alakíthassunk ki szulfonsavat, intermolekuláris nukleofil szubsztitúciós reakciókat is alkalmaztunk. Figyelembe kell azonban venni, hogy ha szekunder szénatomon kívánjuk ezeket a reakciókat megvalósítani, akkor inverzió következik be. Négyes és hatos pozícióban szabad hidroxilcsoportot tartalmazó glükóz (**149**, **234**) és galaktóz (**227**, **237**) származékokból triflátésztereket képeztünk,

majd azokat kálium-tioacetáttal nukleofil reakcióba vittük. Az S_N2 reakciók mechanizmusának megfelelően, a **227 galakto** vegyületből 4-*S*-acetyl-glükóz (**228**), míg a **149** glükózidból 4-*S*-acetyl-galaktoz (**231**) származékot nyertük. Ezeket oxidálva, majd a védőcsoportokat eltávolítva kaptuk a metil-4-dezoxi-4-nátriumsulfonáto- α -D-glükó- (**230**) és galaktopiranozidot (**233**) (8. ábra).



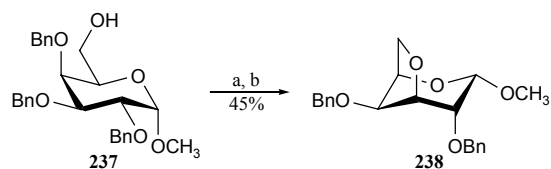
8. ábra

A primer származékok előállításánál nem kellett inverziótól tartanunk, ezért a 6-OH tartalmú glükóz származékból (**234**) kiindulva, a már bemutatott reakciókat követve nyertük a metil-6-dezoxi-6-nátriumsulfonáto- α -D-glükopiranozidot (**38**) (9. ábra).



9. ábra

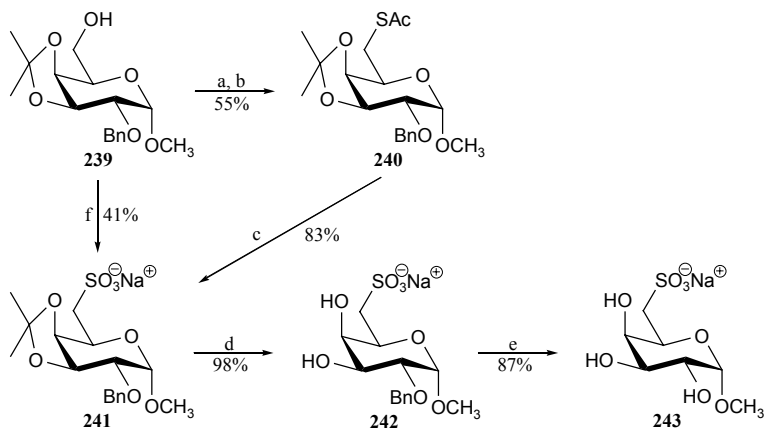
A szintén primer hidroxilcsoportot tartalmazó *galakto* vegyületből (**237**) azonban, a triflátészter kialakítását követően, a kálium-tioacetátos reakció a **238** 3,6-anhidro származékot eredményezte (10. ábra). Hogy a konformációváltással járó anhidro-gyűrű képződési reakciót elkerüljük, a **239** 3,4-*O*-izopropilidén származékot



(a) TiF_2O , piridin, CH_2Cl_2 , -10°C , 1 óra; (b) KSAc , DMF, 90°C , 3 óra.

10. ábra

állítottuk elő, és ebből kiindulva hajtottuk végre a reakciókat. Így már megkaptuk a metil-6-dezoxi-6-nátriumszulfonáto- α -D-galaktopiranozidot (**243**). A védett szulfon-savat (**241**) egy másik úton is szintetizáltuk. Miután a **239** vegyületből kialakítottuk a trifluor-metánszulfonsav észtert, azt vizes etanolban nátrium-szulfittal refluxáltattuk. Ennek a módszernek ugyan hasonló a hozama, de kevesebb lépésből áll, és az össz-reakcióidő is rövidebb (11. ábra).

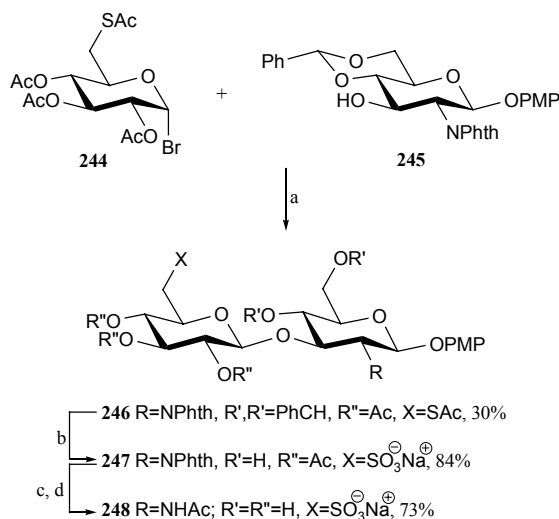


(a) TiF_2O , piridin, CH_2Cl_2 , -10°C , 1 óra; (b) KSAc , DMF, 90°C , 3 óra;
 (c) Oxon, KOAc , AcOH , szobahő, 5 óra; (d) AcOH , CH_2Cl_2 , H_2O , szobahő, 3 óra;
 (e) H_2 -Pd(C), AcOH , EtOH , szobahő, 24 óra; (f) Na_2SO_3 , $\text{EtOH-H}_2\text{O}$ (1:1), reflux, 45 perc.

11. ábra

3.4. Szulfonsav tartalmú diszacharid szintézise

Az eredeti célkitűzéseknek megfelelően egy szulfonált diszacharidot (**248**) is előállítottunk, mely a hialuronsav szulfonsav analogonja. A hatos pozícióban acetiltiocsoportot tartalmazó donorral (**244**) glikozileztük a megfelelően védett, hármashelyzetben szabad hidroxilt tartalmazó glükózamint (**245**). A kapcsolási reakció során az AcS-csoport inert maradt, így izolálás után a diszacharidot (**246**) H₂O₂-oldattal, ecetsavban, 40 °C-on – a benzilidencsoport lehasadása közben – a **247** szulfonsav származékká alakítottuk. A védőcsoportok eltávolítása, illetve az amin szelektív acetilezése után megkaptuk a szabad **248** származékot (12. ábra).



(a) AgOTf, CH₂Cl₂, toluol, -40 °C, 3 óra; (b) 30% H₂O₂, NaOAc, AcOH, 40 °C, 1 éjszaka;
(c) NH₂CH₂CH₂NH₂, EtOH, reflux, 5 óra; (d) Ac₂O, CH₃OH, 0 °C, 1 óra.

12. ábra

4. Összefoglalás

Összegzésként elmondhatjuk, hogy tiofenil-glikozid modellvegyületeken tanulmányoztuk a különböző nukleofilek hatására végbemenő tiocsoport-vándorlást

reakciókat. Ezek eredményeit felhasználva, nátrium-metiláttal sikeresen oldottuk meg 1,2-*transz*-2-szulfonsavak előállítását. Erre a célra leginkább az 1,2-*transz*-tiotritil-glikozidok feleltek meg, melyekből a vándorlási reakciókat követő közvetlen oxidációval, majd a védőcsoportok eltávolításával nyertük a célvegyületeket.

Intermolekuláris nukleofil szubsztitúciós reakciókat is sikeresen alkalmaztunk cukor-szulfonsavak szintézise során. A módszert felhasználva glükóz és galaktóz négyes, illetve hatos helyzetében alakítottunk ki szulfonsavcsoportot.

Egy szulfonált diszacharidot is előállítottunk acetiltiocsoportot tartalmazó glikozildonor kapcsolási reakciójával, majd azt követő oxidációval. Ez a módszer igen ígéretesnek tűnik a későbbiekben is, és kombinálva a vándorlási reakcióval további oligoszacharidok szulfonsav tartalmú mimetikumait állíthatjuk elő.

5. Publikációk

Az értekezés alapjául szolgáló közlemények

1. András Lipták, **Ferenc Sajtos**, Lóránt Jánossy, Dietmar Gehle and László Szilágyi:
A General Method for the Synthesis of Sugar 2-*C*-Sulfonic Acids by 1→2 Arylthio Group Migration in Acid-Sensitive Thioglycosides. Direct Transformation of Thiotrityl Ethers into *C*-Sulfonic Acids;
Org. Lett., **5** (2003) 3671-3674.
2. András Lipták, Edit Balla, Lóránt Jánossy, **Ferenc Sajtos** and László Szilágyi:
The First Synthesis of Secondary Sugar Sulfonic Acids by Nucleophilic Displacement Reactions;
Tetrahedron Lett., **45** (2004) 839-842.

Egyéb közlemény

3. **Ferenc Sajtos**, János Hajkó, Katalin E. Kövér, András Lipták:
Synthesis of the α -D-GlcpA-(1 $\rightarrow$ 3)- α -L-Rhap-(1 $\rightarrow$ 2)-L-Rha trisaccharide isolated from the cell wall hydrolyzate of green alga *Chlorella vulgaris*;
Carbohydr. Res., **334** (2001) 253-259.

Az értekezés témájához kapcsolódó előadások (E) és poszterek (P)

1. **Sajtos Ferenc**, Lipták András:
2-*O*-Tozil csoportot tartalmazó tioglikozidok átrendeződése;
XXIV. Kémiai Előadói Napok, 2001. október 29-31., Szeged. (E)
2. András Lipták, Dietmar Gehle, **Ferenc Sajtos** and Edit Balla:
Thioglycoside rearrangement by 1 $\rightarrow$ 2-thiomigration into 2-thio sugars and their oxidation to sugar 2-sulfonic acids;
XXIst International Carbohydrate Symposium, 7-12 July 2002, Cairns, Australia.
(P)
3. Anikó Borbás, **Ferenc Sajtos**, Gábor Májer and András Lipták:
Preparation of *C*-sulfated sugar donors for the synthesis of *C*-sulfate containing Sialyl Lewis X analogues;
Third Pan-Pacific conference on „Sialoglycoscience and Other Novel forms of glycosylation”, 14-17 July 2002, Gold Coast, Australia. (P)
4. András Lipták, László Lázár, **Ferenc Sajtos**, Edit Balla and Anikó Borbás:
Sugar *C*-sulfonic acids and sugar methylene-sulfonic acids;
XII. European Carbohydrate Symposium, 6-11 July 2003, Grenoble, France. (P)

5. András Lipták, Anikó Borbás, László Lázár, Magdolna Csávás and **Ferenc Sajtos**:
New types of sugars: sugar sulfonic acids and sugar methylene sulfonic acids;
2nd International Symposium of Rare Sugars, 27-29 May 2004, Takamatsu, Kagava,
Japan. (E)
6. **Ferenc Sajtos**:
Preparation of unknown sugar sulfonic acids;
Summer Course Glycosciences, 28 June - 1 July 2004, Wageningen, The
Netherlands. (P)
7. **Sajtos Ferenc**, Bajza István, Lipták András:
Fenil-1-tio-2-*O*-tozil- β -D-glüko- és α -D-mannopiranozidok nukleofil szubsztitúciós
reakciói;
MTA Kém. Tud. Oszt., Szénhidrátkémiai Munkabizottság Előadóülése, 2004.
november 5., Debrecen. (E)