

UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE
Přírodovědecká fakulta
Katedra organické a jaderné chemie

STAUDINGEROVA REAKCE AZIDODERIVÁTŮ LEVOGLUKOSANU



Bakalářská práce
studijního programu Klinická a toxikologická analýza

Praha 2011

Ondřej Mitrovský

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem tuto bakalářskou práci vypracoval samostatně, pod vedením školitelů RNDr. Jiřího Kroutila, Ph.D. a prof. RNDr. Tomáše Trnky CSc. a že jsem všechny použité prameny řádně citoval. Jsem si vědom toho, že případné využití výsledků, získaných v této práci, mimo Univerzitu Karlovu v Praze je možné pouze po písemném souhlasu této univerzity.

V Praze 27. května 2011

Obsah

1. Úvod a cíle bakalářské práce.....	4 -
2. Literární přehled	6 -
2.1. Staudingerova reakce	6 -
2.2. 1,6-anhydro- β -D-glukosa (levoglukosan)	7 -
2.3. Superbáze	9 -
2.4. Využití fosfazenů	11 -
3. Výsledky a diskuse	13 -
3.1. Syntéza výchozích látek	13 -
3.2. Syntéza fosfazenů.....	14 -
4. Experimentální část.....	18 -
4.1. Obecné metody.....	18 -
4.2. Experimentální část	18 -
5. Závěr.....	26 -
6. Použité zkratky	27 -
7. Použitá literatura.....	28 -
8. Poděkování.....	29 -

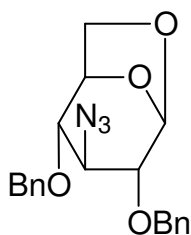
1. Úvod a cíle bakalářské práce

Cílem bakalářské práce bylo prozkoumání reaktivity různých azidoderivátů levoglukosanu s těmito fosfiny: tris(pyrrolidino)fosfinem [5] a trifenyfosfinem [11]. Azidoskupina těchto sacharidů je redukována fosfiny (látkami s obecným vzorcem R_3P), načež jako meziprodukt vznikají fosfazeny. Tyto fosfazeny by následně mohly být využity jako stereoselektivní deprotonační činidla (organické superbáze).

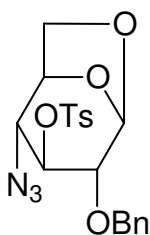
1.1. Příprava fosfazenu odvozených od azidoderivátů

1,6-anhydro- β -D-glukopyranosy.

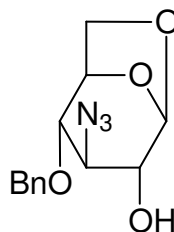
a) Použité azidové deriváty pro přípravu fosfazenu:



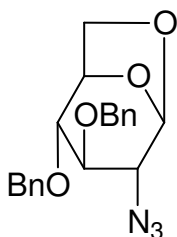
9



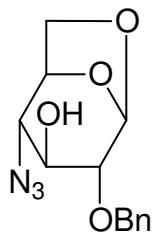
14



8

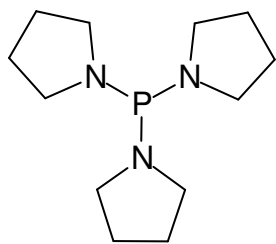


16

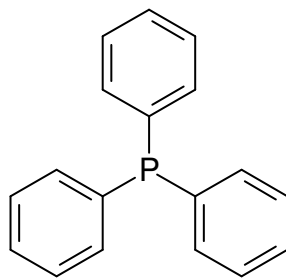


10

b) Použité fosfiny pro přípravu fosfazenů:



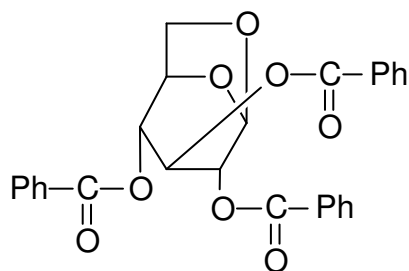
5



11

1.2. Příprava levoglukosanu z jeho tribenzoátu.

Použitý derivát:



6

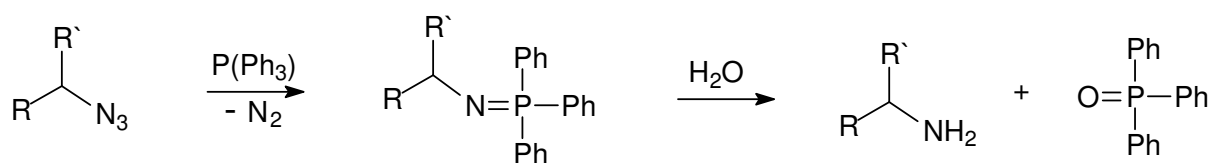
2. Literární přehled

2.1. Staudingerova reakce

V dnešní době se chemici snaží vytvořit nové sloučeniny, které mají různé, ať už technické nebo medicínské, využití. Dále se u sloučenin dnes již známých snaží přijít na lepší postupy přípravy, které mají zvýšit výtěžky a neposkytují tolik vedlejších nežádoucích produktů.

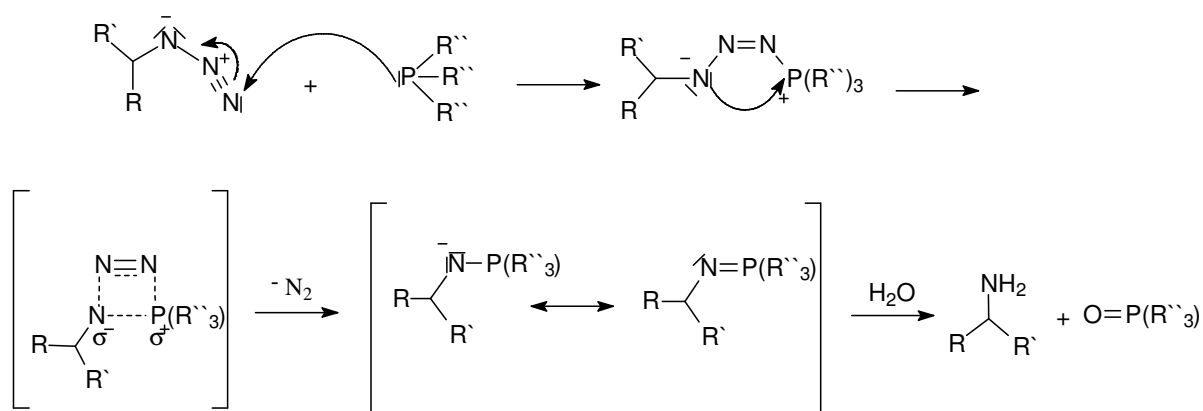
Díky těmto trendům došlo ke „znovuobjevení“ Staudingerovy reakce nebo též Staudingerovy redukce. Tato reakce je pojmenována na počest svého objevitele Hermana Staudingera. Tato reakce je velmi vhodná pro přípravu organických dusíkatých sloučenin. Výhodou je, že probíhá za velice mírných podmínek a dosahuje velice dobrých celkových výtěžků.

Princip reakce lze zapsat takto :



Produktem Staudingerovy reakce je fosfazen. Probíhá-li reakce v přítomnosti vody (nebo vzdušné vlhkosti), je fosfazen rychle hydrolyzován na amin a velice stálý fosfinoxid.^[1]

Mechanismus reakce lze pak obecně zapsat takto:

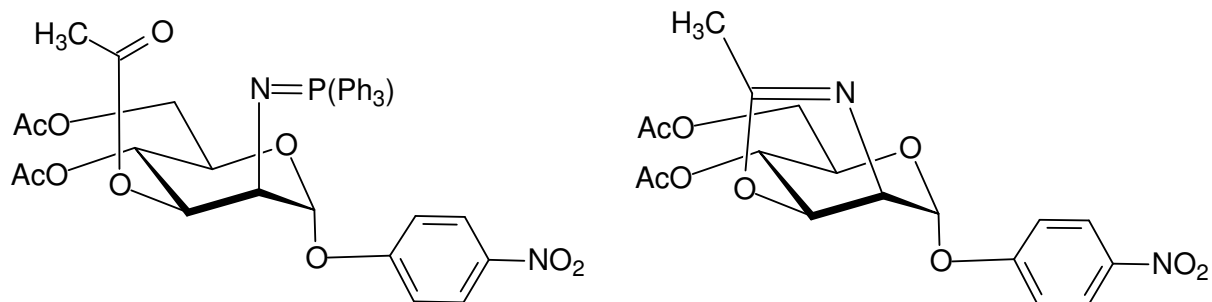


Trialkylfosfin reaguje s azidem za tvorby fosfazidu, od kterého se následně odštěpí molekula dusíku a vzniká fosfazen. Za přítomnosti vody reakce poskytuje amin a velmi stabilní fosfinoxid^[2].

Staudinger – Aza –Wittigova reakce azidodeoxyhexapyranos

Azidodeoxyhexapyranosy jsou široce užívané jako prekursory pro syntézy aminoderivátů sacharidů. Staudingerova reakce trifenyfosfinu za přítomnosti vody patří mezi běžné redukce azidové skupiny na aminovou. V bezvodém prostředí může trifenyfosfinimin reagovat s karbonylovou skupinou za současné tvorby heterocyklu. Tyto reakce poté vedou ke vzniku nových typů cukerných derivátů.^[3]

4-nitrofenyl-3,4,6-tri-*O*-acetyl-2-azido-2-deoxy- α -D-mannopyranosid poskytuje stabilní 2-methyloxazolový derivát, kde je 3-*O*-acetyl včleněn do nově zformovaného pětičlenného kruhu.^[4]

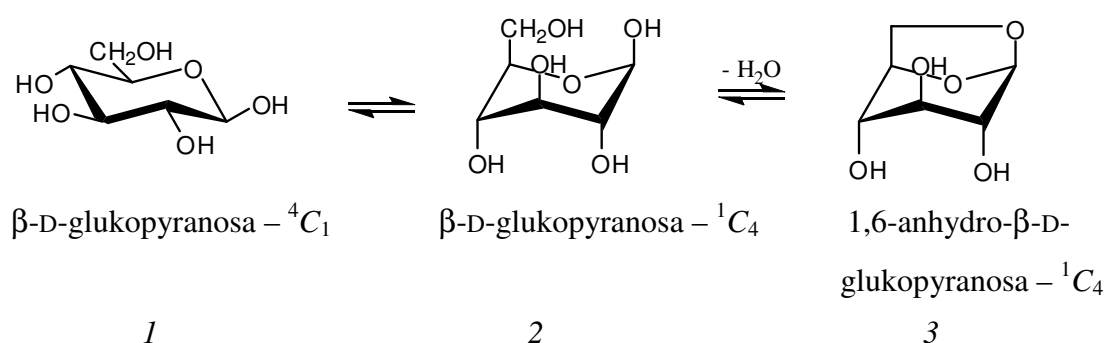


2.2. 1,6-anhydro- β -D-glukosa (levoglukosan) ^[5]

1,6-anhydroderiváty hexos jsou mimořádně vhodné výchozí látky nejen pro syntézy modifikovaných sacharidů, ale i pro přípravu složitých přírodních látek. Nejznámější ze všech anhydrohexopyranos je tzv. levoglukosan, 1,6-anhydro- β -D-glukopyranosa. Struktura tohoto derivátu glukosy představuje vnitřní glykosid mezi OH skupinou na atomech C-1 a C-6.

Základní struktura anhydroderivátů aldohexos je 6,8-dioxabicyklo-[3.2.1]oktan a na rozdíl od běžných hexos je zafixována v rigidní 1C_4 konformaci, která je pro běžné aldohexosy atypická. To má za následek, že hydroxylové skupiny na uhlících C-2, C-3 a C-4 zaujímají axiální polohu se všemi důsledky na reaktivitu. Tím, že jsou dvě nejcitlivější místa v molekule – poloacetalová skupina na C-1 a primární hydroxylová skupina na C-6 – vázány v podobě acetalové vazby, odpadá nutnost chránění i komplikace, které vyplývají z možnosti tvorby směsí anomerů α a β .

Konformační struktury glukopyranosy a syntéza levoglukosanu



Protože 1,6-anhydro vazba je vazba acetalová, dá se bez obtíží štěpit kyselou hydrolyzou a získat tak nazpět hexosu s volnými hydroxylovými skupinami na C-1 a C-6 v normální 4C_1 konformaci.

Anhydrohexosy se dají připravit buď cyklizačními reakcemi, například z fenylglykosidů nebo halogenos, eventuálně z glykalů. Pro přípravu větších množství jsou nejvhodnější pyrolytické reakce založené na tepelné depolymeraci polysacharidů. Takto lze připravit 1,6-anhydro- β -D-glukopyranosu (levoglukosan), ale i anhydromannosu, anhydrogalaktosu a další. Nejběžnější anhydrocukr, levoglukosan, lze připravit v kilogramových množstvích vakuovou pyrolýzou škrobu nebo celulosy ve výtěžcích kolem 20 %.

S ohledem na omezenou flexibilitu skeletu anhydrohexos se u těchto sloučenin výrazně projevuje rozdílná reaktivita axiálních a ekvatoriálních substituentů. U levoglukosanu, který má všechny hydroxylové skupiny axiální je hydroxylová skupina v poloze C-3 stericky bráněna methylenovou skupinou v poloze C-6 a axiálně orientovaným atomem kyslíku na C-1. Toho lze výhodně využít pro parciální chránění poloh C-2 resp. C-4.

2.3. Superbáze

Superbáze jsou vysoce bazické chemické sloučeniny s vysokou afinitou k protonům. Caubére^[6] je definuje jako produkt reakce dvou nebo více bází, přičemž tento produkt je vysoce bazický a zároveň má nějaké nové vlastnosti oproti výchozím látkám. Dělí se do tří hlavních skupin: Organické (sem patří fosfazeny), organokovové a anorganické.

2.3.1. Organické superbáze^[7]

Jsou téměř vždy neiontové nenabitě dusík obsahující sloučeniny. Jsou významné především proto, že i přes svojí výraznou protonovou afinitu mají velmi nízkou nukleofilitu. Jsou také relativně velmi reaktivní, přesto však nereagují nikterak bouřlivě. Jsou mezi ně řazeny především fosfazeny, amidiny a guanidiny.

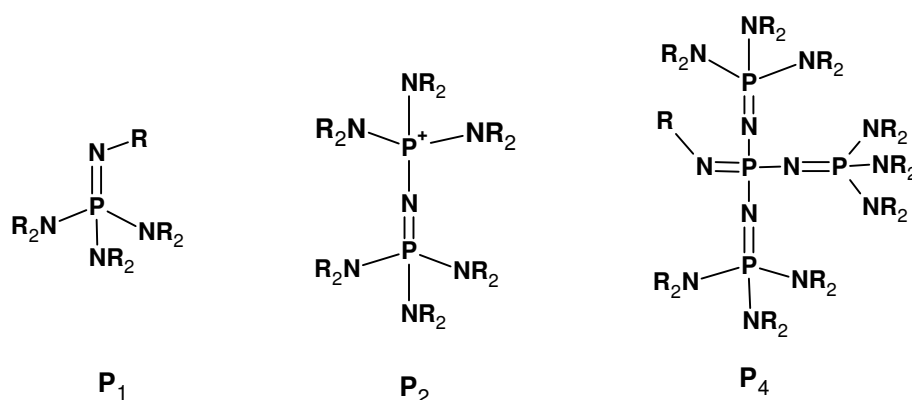
2.3.2. Organokovové superbáze^[7]

Organokovové sloučeniny reaktivních kovů jsou často superbáze, včetně např. organolithných a organohořečnatých (Grignardova činidla) sloučenin. Dalším typem mohou být nabitě sloučeniny, např. kovové alkoxidy nebo amidy (např. lithium diisopropylamid). Jejich žádoucí vlastností je nízká nukleofilita na rozdíl od běžných bází. IBěžně používanou superbází v organické syntéze je například směs n-butyllithia a terciárního butyloxidu draselného. Tato směs má v porovnání s jejími jednotlivými složkami mnohem větší reaktivitu.

2.3.3. Anorganické superbáze^[7]

Do této skupiny se většinou řadí soli s malými, vysoce nabitými aniony, jako např. nitrid lithný. Superbázemi jsou rovněž některé hydridy alkalických kovů (KH, NaH) a kovů alkalických zemin. Tyto látky jsou ovšem jen velmi omezeně rozpustné v aprotických rozpouštědlech.

Fosfazeny obecného vzorce $(R_2N)_3-P=N-R$ se označují jako báze Schwesingerova typu^[8] a řadí se mezi velice silné organické báze, jejichž celková bazicita roste s počtem fosfazenových jednotek^[9].

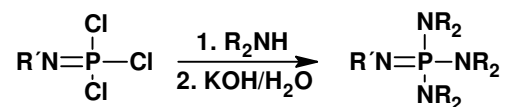


Dnes je komerčně dostupno těchto několik fosfazenů^[9] : monomerní (P1), dimerní (P2) a tetramerní (P4). Uplatnění fosfazenů je velice široké, mohou být využity např. při Michaelisově adici, alkylationi nebo silylaci.

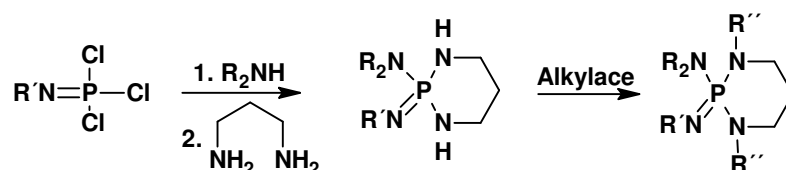
Pomocí Staudingerovy reakce se mohou připravit pouze fosfazeny nevykazující sterické pnutí, proto se vytvořily postupy pro přípravu takových sloučenin, které vykazují různý stupeň pnutí a nejdou připravit obvyklými postupy.

Mezi další postupy přípravy těchto typů fosfazenů patří^[10]:

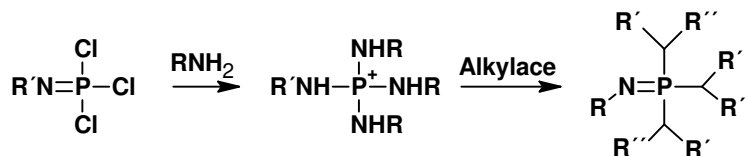
- 1) Substituce (alkylimino)fosfotrichloridu sekundárním aminem



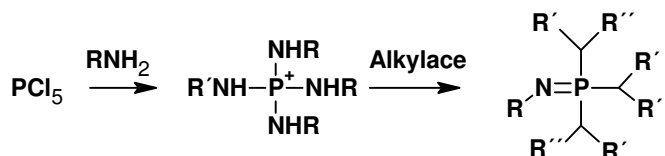
- 2) Monosubstituce (alkylimino)fosfotrichloridu sekundárním aminem, spojená s cyklizací sloučeniny pomocí 1,3-diaminu



- 3) Substituce (alkylimino)fosfotrichloridu primárním aminem následovaná alkylací (především methylace)

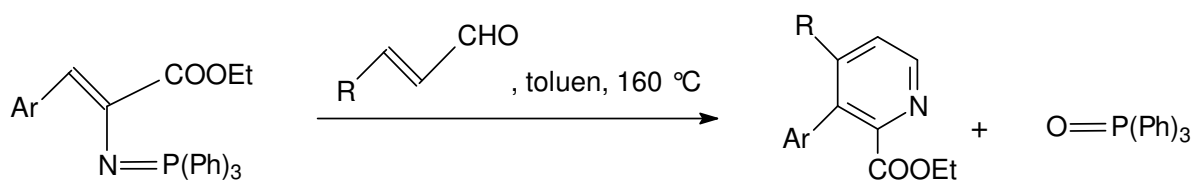


- 4) Přímá persubstituce chloridu fosforečného primárním aminem následovaná selektivní alkylací (především methylací)



2.4. Využití fosfazenů

Fosfazený jsou v organické syntéze využívány k přípravě velkého množství velice rozmanitých dusíkatých sloučenin. Zde se využívá tzv. Aza-Wittigova reakce, kdy se nechá vzniklý fosfazen reagovat s aldehydem, ketonem, karboxylovou kyselinou a dalšími sloučeninami s takto polarizovaným kyslíkem, za vzniku iminu a fosfinoxidu^[11]. Kyslík reagující s fosfazenem se může nacházet buď na jiné sloučenině, než je fosfazenová skupina, pak se tato reakce označuje jako intermolekulární Aza-Wittigova reakce, nebo jsou-li obě tyto skupiny na stejné sloučenině, pak jako intramolekulární. V obou případech však dochází k cyklizaci a vzniku dusíkatého heterocyklu. Při těchto reakcích se za laboratorní teploty obecně dosahuje okolo 50-80 % výtěžků^[12]. Příkladem budiž níže uvedená reakce.



V chemii sacharidů se fosfazenů využívá k přípravě glykosylamidů – glykokonjugátů, glykopeptidů nebo glykoproteinů, kdy glykosidazidy reagují s vhodně substituovanými deriváty aminokyselin v proteinu. Vzniká tak glykosylamidová vazba mezi sacharidem a aminokyselinou, např. asparaginem v sekvenci aminokyselin Asn – Xxx – Thr/Ser (kde Xxx je jakákoliv aminokyselina kromě prolinu)^[13].

Dalším využitím u sacharidů je příprava biologicky aktivních *N*-substituovaných derivátů. Zde s využitím Staudingerovy reakce jsou získávány látky (antibiotika, protirakovinotvorné látky) s vyššími výtěžky než s doposud používanými postupy.

Příkladem je např. syntéza 2'-deoxyfluoropuromycinových derivátů, používaných pro inhibici proteosyntézy, např. při léčbě rakoviny. Výchozí látkou je zde adenin, na který je navázána azoskupina, které se pak využije k navázání Butoxykarbonyl-L-Tyr(Me)-OH.

Celkový výtěžek této sedmikrokové syntézy je 10,5 %^[14].

3. Výsledky a diskuse

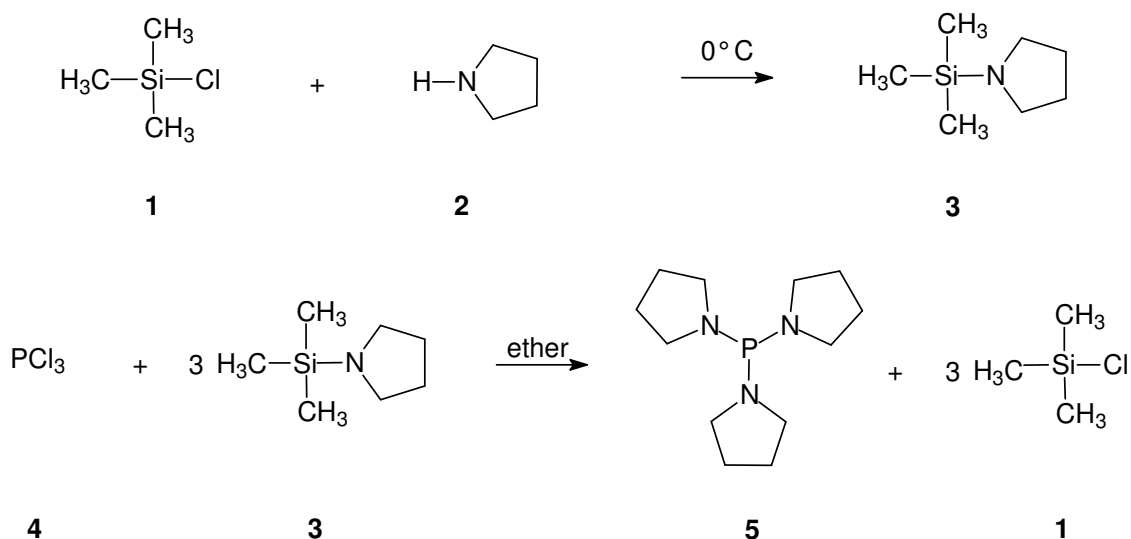
3.1. Syntéza výchozích látek

Byla připravena 1,6-anhydro- β -D-glukopyranosa [7] (levoglukosan) z 2,3,4-tri-*O*-benzoylderivátu.

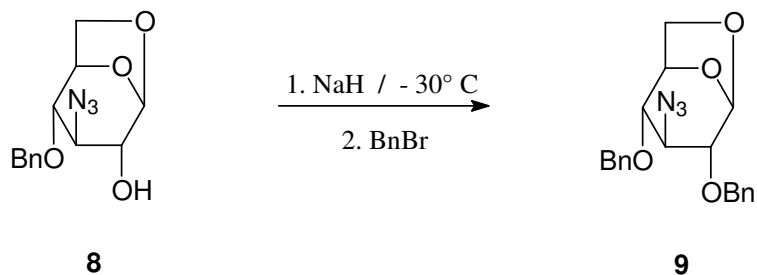
Pro zamýšlenou přípravu fosfazenů bylo potřeba nejdříve připravit tris(pyrrolidino)fosfin [5] a 1,6-anhydro-3-azido-2,4-di-*O*-benzyl-3-deoxy- β -D-glukopyranosu [9].

Tris(pyrrolidino)fosfin [5] byl připraven dvoukrokovou syntézou z komerčně dostupných látek. V prvním kroku, podle Briela^[15], spolu reagoval trimethylsilyl chlorid [1] a pyrrolidin [2] za vzniku *N*-(trimethylsilyl)pyrrolidinu [3], výtěžek reakce byl 31 %. Ve druhém kroku, podle Wieslera a Caruthera^[16], reagoval vzniklý *N*-(trimethylsilyl)pyrrolidin [3] s PCl_3 [4] v bezvodém etheru a vzniklý tris(pyrrolidino)fosfin [5] se oddělil frakční destilací za sníženého tlaku. Tato druhá reakce proběhla s výtěžkem 62,7 %. Celkový výtěžek této dvoustupňové syntézy byl 19,4 %.

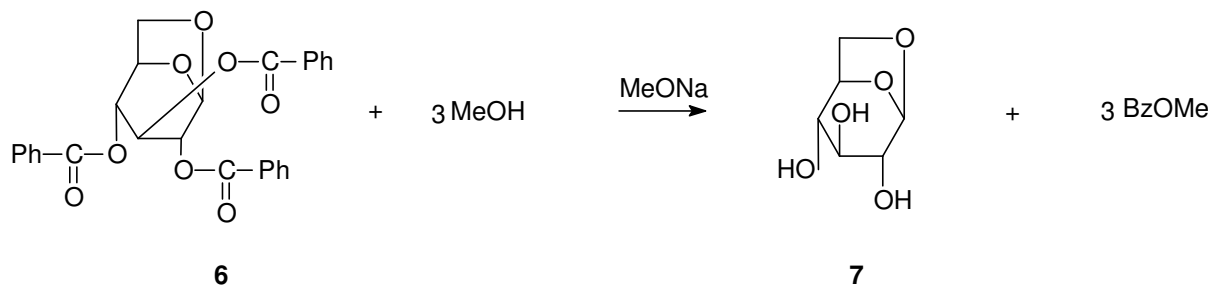
V porovnání s přípravou *N*-(trimethylsilyl)pyrrolidinu [3] v práci Briela^[15] (50 %) bylo dosaženo o 19 % nižšího výtěžku, při přípravě tris(pyrrolidino)fosfinu [5], bylo oproti práci Weislera a Caruthera (86 %) dosaženo také menšího výtěžku (o 23,3 %).



1,6-anhydro-3-azido-2,4-di-*O*-benzyl-3-deoxy- β -D-glukopyranosa [9] vznikla benzylací 1,6-anhydro-4-*O*-benzyl-3-azido-3-deoxy- β -D-glukopyranosy [8], podle Karbana a kol.^[17]. Výtěžek 71 % byl o něco nižší oproti práci Karbana a kol. (89 %).^[17]



1,6-anhydro- β -D-glukopyranosa [7] (levoglukosan) vznikla methanolýzou 1,6-anhydro-2,3,4-tri-*O*-benzoyl- β -D-glukopyranosy [6]. Výtěžek reakce byl 55,1 %.

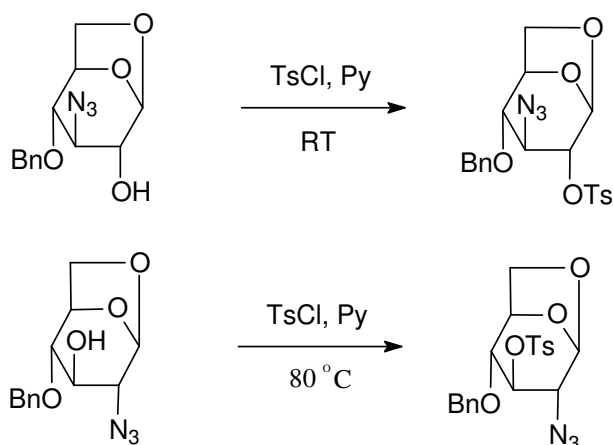


3.2. Syntéza fosfazenů

Byla vyzkoušena příprava celkově 6 různých fosfazenů, které se lišily navázaným fosfinem – syntéza trifenylofosfazenů (u tří reakcí) nebo tris(pyrrolidino)fosfazenů (rovněž u tří reakcí). Další substituenty na 2., 3. a 4. uhlíku cukerného skeletu mohly být hydroxylové, benzylové skupiny. Jeden derivát obsahoval i tosylovou skupinu.

Všechny fosfazeny byly připraveny reakcí příslušné azido- β -D-glukosy a jednoho z fosfinů.

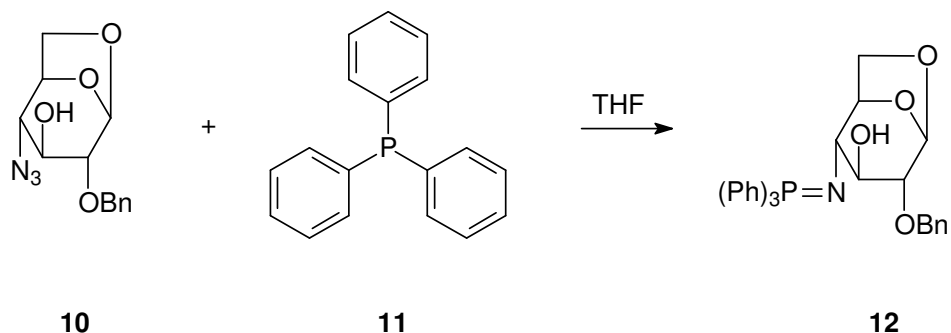
Rozdílná reaktivita C-2, C-3 a C-4 na 1,6-anhydro skeletu^[17]:



1,6-anhydro-2-*O*-benzyl-4-deoxy-4-trifenylofosfazenyl-β-D-glukopyranosa [**12**]:

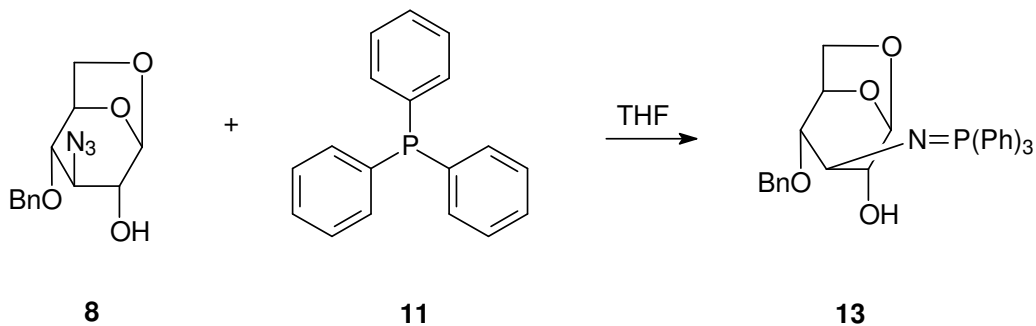
¹H a ¹³C NMR spektrum souhlasí se strukturou.

V MS – ESI byl nalezen jako hlavní ion 529,2 tj. (511,2 + H₂O). C₃₁H₃₂O₅NP vyžaduje 529,2. Oproti tomu C₃₁H₃₀O₄NP vyžaduje 511,2 (bez vody ve struktuře) – tento ion byl přítomen přibližně ve 12x menším množství než výše uvedený. Výtěžek byl 29,4 %.

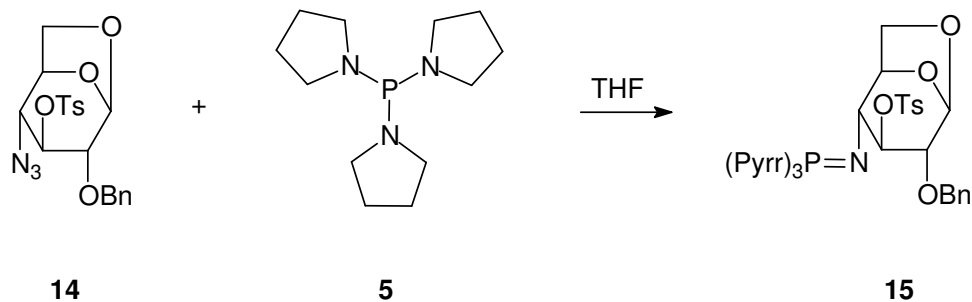


1,6-anhydro-4-*O*-benzyl-3-deoxy-3-trifenylofosfazenyl-β-D-glukopyranosa [**13**]:

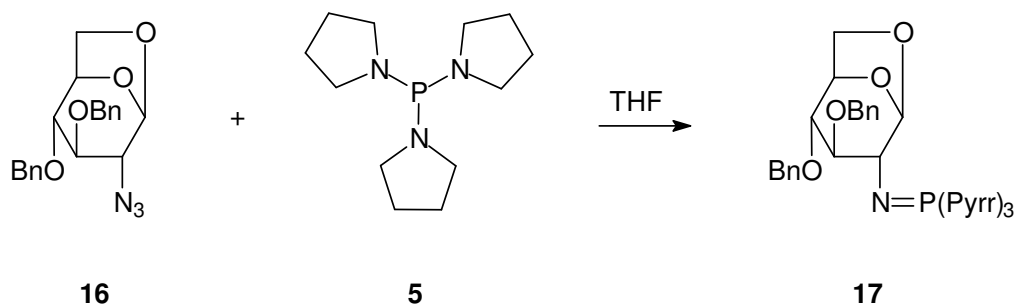
Analýza produktu pomocí MS-ESI spektroskopie odhalila, že látka [**13**] je směs cukrů s převažujícím obsahem volného fosfinoxydu, což potvrdilo i NMR. Požadovaný produkt nebyl připraven, reakce takto neprobíhá.



1,6-anhydro-2-*O*-benzyl-4-deoxy-4-tris(pyrrolidino)fosfazenyl-3-tosyl- β -D-glukopyranosa [15]: Pomocí NMR měření bylo zjištěno, že vznikl polymer, čemuž nasvědčovalo jak předchozí změření bodu tání (neostrý, 160 – 210 °C), tak i samotný vzhled tmavé sraženiny. Tosylová skupina pravděpodobně zabránila vzniku zamýšlené sloučeniny. Požadovaný produkt tudíž nebyl připraven, reakce takto neprobíhá.

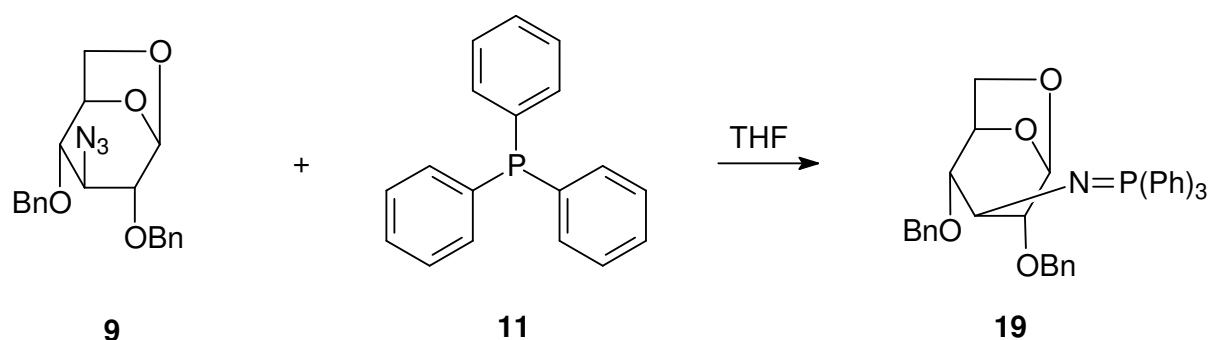


1,6-anhydro-3,4-di-*O*-benzyl-2-deoxy-2-tris(pyrrolidino)fosfazenyl- β -D-glukopyranosa [17] : ^1H a ^{13}C NMR spektrum souhlasí se strukturou. V MS – ESI byl nalezen převládající ion $581,3 (\text{M} + \text{H})^+$. $\text{C}_{32}\text{H}_{46}\text{O}_4\text{N}_4\text{P}$ (581,3). Bylo získáno 80 mg (0,138 mmol, 33,8 %) krystalické látky o předpokládané struktuře a dalších 150 mg hustého oleje s obsahem totožné látky, kterou ovšem již nelze převést do zcela pevného skupenství. Sloučenina byla kladně nabitá a počet těchto nábojů byl 1, 2, 3 nebo 4, což odpovídá počtu protonizovatelných atomů dusíku.

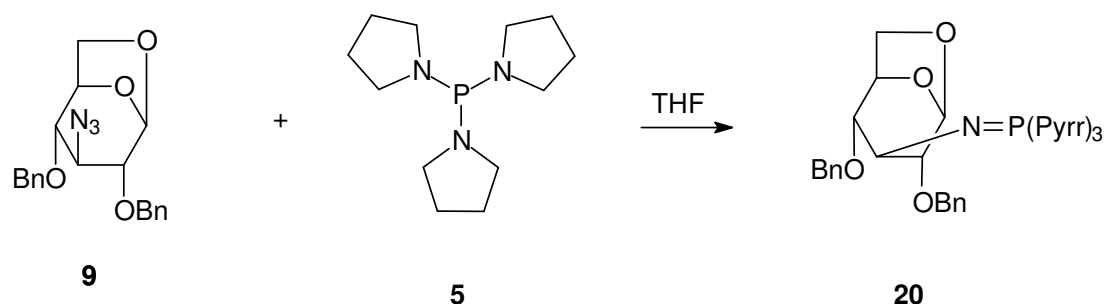


1,6-anhydro-2,4-di-*O*-benzyl-3-deoxy-3-trifenylfosfazenyl- β -D-glukopyranosa [19]: Produktem reakce byla hustá světlá olejovitá kapalina s obsahem krystalů, které ovšem nebylo možno nijak oddělit. Výtěžek byl 280 mg (115 %).

V MS – ESI byl nalezen ion $602,2 (M + H)^+$, což odpovídá $C_{38}H_{37}O_4NP$. NMR spektroskopie vykazala přítomnost minimálně 4 různých látek. Vzhledem k předpokládané nestálosti produktu během měření NMR spektra (roztok v $CDCl_3$ obsahoval stopy vody a HCl) byl proveden pokus o vytvoření hydrochloridu požadované látky. Změření tohoto vzorku na 1H NMR odhalilo 2 vodíky H-1 (5,275 a 5,296 ppm), což svědčí o přítomnosti dvou sacharidů. Jedním je požadovaná látka, o čemž svědčí i 1H MS spektrum, druhým je pravděpodobně aminoderivát daného sacharidu.



1,6-anhydro-2,4-di-*O*-benzyl-3-deoxy-3-tris(pyrrolidino)fosfazenyl- β -D-glukopyranosa [20]: Bylo získáno 8 mg krystalů a 50 mg hustého oleje. Celkový výtěžek byl 26 %. V MS – ESI byl nalezen ion m/z 582,3 ($M + H$)⁺. $C_{32}H_{45}O_4N_4P$ odpovídá 581,3. 1H NMR přítomnost očekávaného produktu nepotvrdilo, neboť během měření zřejmě dochází k rozkladu látky vlivem přítomné vlhkosti a HCl. Proto byla látka převedena na odpovídající hydrochlorid. Změření tohoto vzorku na 1H NMR odhalilo 2 vodíky H-1 (5,412 a 5,428 ppm), což svědčí o přítomnosti dvou sacharidů. Jedním je požadovaná látka, o čemž svědčí i 1H MS spektrum, druhým je pravděpodobně opět aminoderivát daného sacharidu.



4. Experimentální část

4.1. Obecné metody

Teploty tání byly stanoveny na mikrobodotávku Boëtius a jsou nekorigované. Spektra ^1H , ^{13}C a ^{31}P NMR byla změřena na spektrometrech Varian VNMRS 300 (300 MHz) a Varian Inova 400 (400 MHz) v CDCl_3 a CD_3OD při teplotě $25\text{ }^\circ\text{C}$ za použití TMS jako vnitřního standardu. MS-ESI spektra byla změřena na spektrometru Bruker ESQUIRE 3000 pro roztoky látek v methanolu. Tenkovrstevná chromatografie (TLC) byla prováděna na deskách firmy MERCK F₂₅₄, látky byly detekovány pomocí UV záření při 254 nm a poté postříkáním 5% roztokem kyseliny fosfomolybdenové v EtOH a zahřátím. Sloupcová chromatografie byla prováděna na Silikagelu 60 fy MERCK (100-200 μm). Produkty byly sušeny v exsikátoru s P_2O_5 za vakua. Roztoky byly odpařovány na vakuové rotační odparce při teplotách od $25\text{ }^\circ\text{C}$ do $50\text{ }^\circ\text{C}$. THF a diethylether byly sušeny LiAlH_4 , methanol byl sušen hořčíkem a destilován, petrolether byla frakce $40\text{-}60\text{ }^\circ\text{C}$ čistoty HPLC. Trifenylfosfin a chemikálie pro přípravu tris(pyrrolidino)fosfinu byly od firmy SIGMA-ALDRICH. Sacharidové azidoderiváty byly k dispozici na pracovišti školitele. 1,6-anhydro-2,3,4-tri-*O*-benzoyl- β -D-glukopyranosa byla k dispozici na pracovišti školitele. Reakce byly obvykle prováděny v argonové atmosféře. Specifická optická otáčivost byla měřena na AUTOPOL III (Rudolph Research, Flanders) a je uváděna v jednotkách $\text{deg}\cdot\text{cm}^2\cdot\text{g}^{-1}$.

4.2. Experimentální část

N-(trimethylsilyl)pyrrolidin [3] :

K trimethylchlorsilanu [1] (32,5 ml; 0,26 mol) byl přikapáván pyrrolidin [2] (41,5 ml; 0,5 mol) při $0\text{ }^\circ\text{C}$ v průběhu jedné hodiny. Po šesti dnech od počátku reakce byl produkt rozdělen destilací na dvě frakce za sníženého tlaku jako bezbarvá kapalina (první frakce 600 Pa, $25\text{-}40\text{ }^\circ\text{C}$, druhá 600-1200 Pa, $40\text{-}60\text{ }^\circ\text{C}$; poté byly obě spojeny jakožto jedna látka [3] na základě výsledků MS analýzy). Celkový výtěžek reakce byl 11,38 g (79 mmol; 31 %).

Tris(pyrrolidino)fosfin [5] :

K roztoku PCl_3 [4] (2 ml; 23 mmol) v bezvodém etheru (30 ml) byl přikapáván za stálého míchání, *N*-(trimethylsilyl)pyrrolidin [3] (11,38 g; 79 mmol) v průběhu jedné hodiny. Roztok byl poté zahuštěn a produkt byl predestilován za sníženého tlaku (450 Pa; 155-160 °C) jako bezbarvá kapalina (4,09 g), u které podle NMR (^1H a ^{31}P) bylo zjištěno přibližně 15% znečištění tris(pyrrolidino)fosfinoxidem. Reakcí tudíž bylo získáno 3,48 g (14,4 mmol; 62,7 %) čistého produktu [5]. Celkový výtěžek této dvoustupňové syntézy byl 19,4 %.

1,6-anhydro- β -D-glukopyranosa [7] (levoglukosan) :

150,9 g 1,6-anhydro-2,3,4-tri-*O*-benzoyl- β -D-glukopyranosy [6] (0,318 mol) bylo rozpuštěno v 750 ml methanolu a smícháno s roztokem 5,2 g MeONa ve 150 ml methanolu, poté byla směs zahřívána 24 hodin pod zpětným chladičem (při 65 °C, vodní lázeň), načež směs ztmavla. Na vakuové rotační odparce byla směs odpařena na malý zbytek (cca 150 ml). Bylo přidáno 120 ml vody a extrahováno celkem 250 ml etheru. Směs byla rozdělena na dvě fáze, horní etherická byla vylita (obsahovala methyl-benzoát a jeho pryskyřičnaté kondenzační produkty). Vodná, spodní, tmavě hnědá průhledná fáze byla zamíchána s aktivním uhlím a zfiltrována přes skládaný filtr. Na vakuové rotační odparce při 40 °C byla směs zahuštěna na hnědý med. Krystalizace zbytku proběhla z 70 ml ethanolu, bylo použito krystalizační očko. Srovnáním pomocí TLC se standardem levoglukosanu a stanovení bodu tání (182-184 °C)^[18] bylo potvrzeno, že byla skutečně připravena látka [7]. Výtěžek reakce po vysušení produktu byl 28,42 g, (175 mmol, 55,1 %).

1,6-anhydro-3-azido-2,4-di-*O*-benzyl-3-deoxy- β -D-glukopyranosa [9] :

1,6-anhydro-4-*O*-benzyl-3-azido-3-deoxy- β -D-glukopyranosa [8] (795 mg, 2,87 mmol) byla rozpuštěna ve směsi 10 ml THF a 1 ml DMF. Pod argonovou atmosférou byl ke směsi ochlazené na -20 až -40 °C (v lázni z pevného CO_2 a acetonu) přidán NaH ve formě 50% suspenze v parafinovém oleji (0,25g; 5,74 mmol; 2 ekv.). Při teplotě -20 až -30 °C byla směs míchána po dobu 2 hodin a pak byl přidán roztok benzylbromidu (0,444 ml; 3,73 mmol; 1,3 ekv.) a tetrabutylamonium-jodidu (5,3 mg v 0,83 ml THF). Dále byla směs míchána pod argonovou atmosférou při laboratorní teplotě a míchána přes noc. Další den byla nažloutlá tmavá suspenze okyselena 5% HCl (8,5 ml) a byl přidán ether (také 8,5 ml). Rozdělené fáze byly odděleny a vodná fáze byla extrahována etherem (2 x 8,5 ml). Spojené organické fáze byly promyty vodou (2 x 8,5 ml) a vysušeny MgSO_4 .

Rozpouštědla byla odstraněna na vakuové rotační odparce (při teplotě do 65 °C) až směs zhoustla na olej, který byl dosušen za vakua olejové vývěvy (400 Pa). Následovala rekrystalizace ze směsi absolutní EtOH (1 ml) + bezvodý ether (3 ml) + petrolether (9 ml). Na základě určení bodu tání (54-56 °C) a NMR spektroskopie bylo ověřeno, že byla skutečně připravena látka [9] s výtěžkem 747 mg (2,04 mmol, 71 %).

$[\alpha]_D = -40,32^\circ$ (0,124 CHCl₃).

¹H NMR spektrum (400 MHz v CDCl₃): 5,38 s 1H (H-1); 3,20 d* 1H (H-2); 3,62 t 1H (H-3); J_{2,3} = 6,0 Hz; J_{4,3} = 6,0 Hz); 3,19 d* 1H (H-4); 4,50 d 1H (H-5; J_{5,6} = 4,8 Hz); 3,98 dd 1H (H-6_{endo}; J_{6_{en},6_{ex}} = 7,6 Hz; J_{6_{en},5} = 5,2 Hz); 3,59 d 1H (H-6_{ex}; J_{6_{ex},6_{en}} = 7,6 Hz); 4,68 d 1H (-CH₂-*; ²J = 15,2 Hz); 4,63 d 1H (-CH₂-*; ²J = 15,2 Hz); 4,67 t 1H (-CH₂-; J = 14,8 Hz); 7,30 – 7,36 m 10 H (2x C₆H₅).

¹³C NMR spektrum (101 MHz v CDCl₃): 101,05 (C-1); 72,35 (C-2*); 61,99 (C-3); 72,04 (C-4*); 75,34 (C-5); 66,96 (C-6); 127,97 – 137,20 (2 x Ph); 79,28 (2 x -CH₂-).

*H-2, H-4 – chemické posuny těchto dvou vodíků mohou být vzájemně zaměnitelné.

*-CH₂- – chemické posuny obou těchto skupin jsou vzájemně zaměnitelné.

*C-2, C-4 – chemické posuny těchto dvou uhlíků mohou být vzájemně zaměnitelné.

1,6-anhydro-2-O-benzyl-4-deoxy-4-trifenyfosfazenyl-β-D-glukopyranosa [12] :

K 1,6-anhydro-4-azido-2-O-benzyl-4-deoxy-β-D-glukopyranose [10] (99,5 mg; 0,359 mmol), rozpuštěné ve 2,5 ml THF, byl pod Ar atmosférou přidán trifenyfosfin [11] (100 mg; 0,383 mmol) rozpuštěný ve 2,5 ml THF. Reakční směs byla míchána za varu po šest dnů a průběh reakce byl sledován pomocí TLC (hexan/ethyl-acetát 3:2). Směs byla poté zahuštěna na vakuové rotační odparce, dosušena na olejové vývěvě a následně rekrystalizována ze směsi absolutní EtOH (1 ml) + bezvodý ether (3 ml) + petrolether (9 ml) na bílou krystalickou látku [12], která byla dosušena v exsikátoru. Výtěžek 54 mg (0,106 mmol, 29,4 %). ¹H a ¹³C NMR spektrum souhlasí se strukturou.

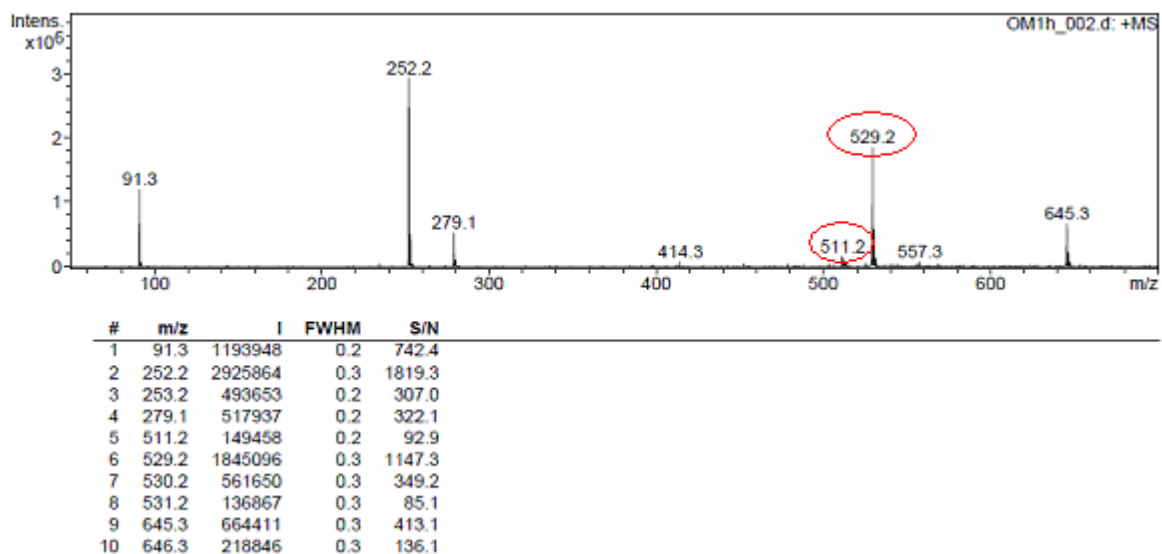
$[\alpha]_D = -13,5$ (0,192 CHCl₃)

¹H NMR spektrum (400 MHz v CDCl₃): 5,47 s 1H (H-1); 3,33 s 1H (H-2); 2,97 s 1H (H-3); 4,16 d 1H (H-4; J_{4,5} = 7,2 Hz); 4,47 d 1H (H-5; J_{5,4} = 7,2; Hz J_{5,6} = 5,2 Hz); 3,72 dd 1H (H-6_{endo}; J_{6_{en},5} = 5,2 Hz); 3,84 s 1H (H-6_{ex}); 4,67 t 1H (-CH₂-); 7,26 – 7,36 d 5H (C₆H₅).

¹³C NMR spektrum (101 MHz v CDCl₃): 100,79 (C-1); 72,16 (C-2*); 54,14 (C-3); 71,41 (C-4*); C-5 nelze identifikovat; 66,37 (C-6); 127,88 – 137,36 (2 x C₆H₅).

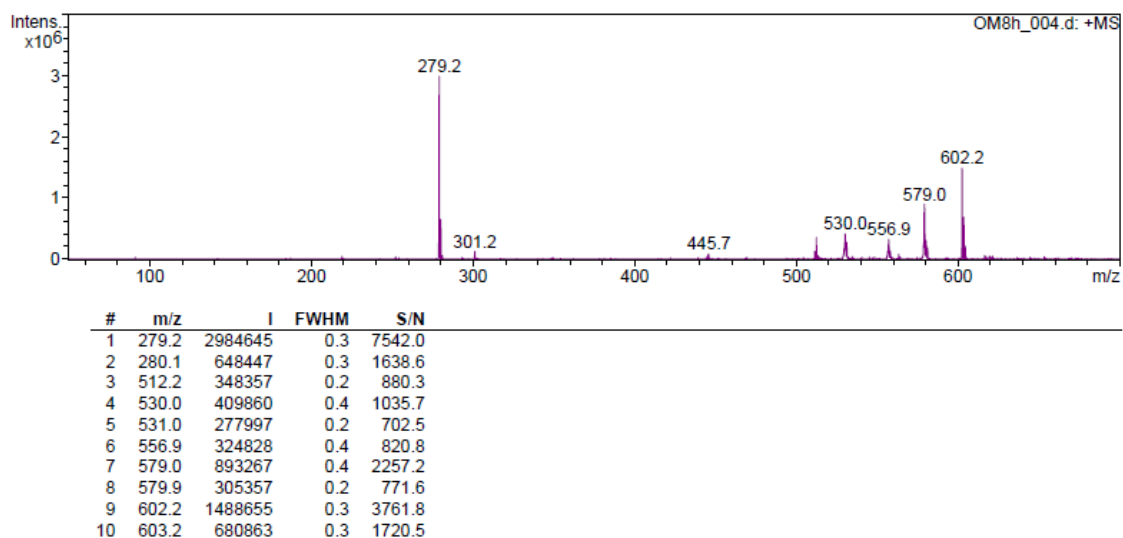
*C-2, C-4 – chemické posuny těchto dvou uhlíků mohou být vzájemně zaměnitelné.

V MS – ESI nalezen ion m/z 529,2 ($M + H_2O$). $C_{31}H_{32}O_5NP$ odpovídá 529,2, oproti tomu $C_{31}H_{30}O_4NP$ vyžaduje 511,2 (bez vody ve struktuře).



1,6-anhydro-4-O-benzyl-3-deoxy-3-trifenyfosfazenyl- β -D-glukopyranosa [13] :

V 10 ml THF byla rozpuštěna 1,6-anhydro-3-azido-4-O-benzyl-3-deoxy- β -D-glukopyranosa [8] (95 mg; 0,343 mmol), poté byl pod Ar atmosférou přidán trifenyfosfin [11] (99 mg; 0,377 mmol) rozpuštěný v 5 ml THF. Roztok byl pod Ar atmosférou zahříván k varu 5 dní, během kterých byl průběh reakce sledován pomocí TLC (hexan/ethyl-acetát 3:2). Směs byla poté zahuštěna na vakuové rotační odparce, dosušena na olejové vývěvě a následně rekrystalizována ze směsi absolutní EtOH (1 ml) + bezvodý ether (3 ml) + petrolether (18 ml) za použití krystalizačního očka. Po vysušení v exsikátoru bylo získáno 126 mg (0,247 mmol, 65,3 %) látky [13]. Analýza produktu pomocí MS-ESI spektroskopie odhalila, že látka [13] je směs cukrů s převládajícím obsahem volného fosfinoxydu, což potvrdilo i NMR.

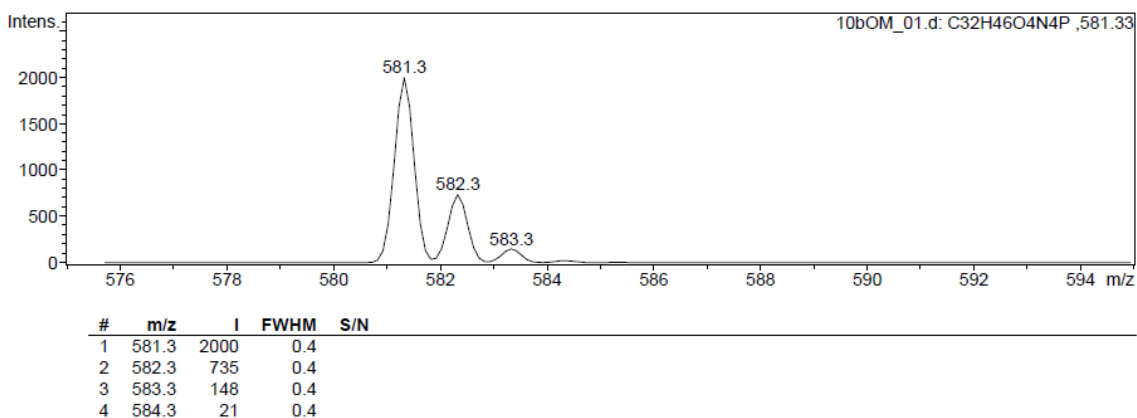


1,6-anhydro-2-*O*-benzyl-4-deoxy-4-tris(pyrrolidino)fosfazenyl-3-tosyl- β -D-glukopyranosa [15] :

1,6-anhydro-4-azido-2-*O*-benzyl-4-deoxy-3-tosyl- β -D-glukopyranosa [14] (177 mg; 0,41 mmol) byla rozpuštěna v 15 ml THF a byl přidán tris(pyrrolidino)fosfin [5] (100 mg; 0,414 mmol, rozpuštěný v 5 ml THF). Roztok byl zahříván pod zpětným chladičem 7 dní, během kterých byl průběh reakce sledován pomocí TLC (hexan/ethyl-acetát 3:2). Ke zreagované směsi bylo po 24 hodinách přidáno 100 μ l 4M roztoku HCl v etheru a pak byl roztok 1 hodinu míchán. Poté byla směs chlazena po dobu 24 hodin (0 °C). Vyloučené krystaly byly odsáty. K matečnému louhu bylo přidáno 25 ml etheru a vyloučená tmavá sraženina byla také odfiltrována. Oba pevné produkty byly vysušeny v exsikátoru a spojeny jakožto jedna látka. Pomocí NMR měření bylo ovšem zjištěno, že vznikl polymer, čemuž nasvědčovalo jak předchozí změření bodu tání (neostrý, 160-210 °C), tak i samotný vzhled tmavé sraženiny. Produkt nebyl dále zpracováván.

1,6-anhydro-3,4-di-*O*-benzyl-2-deoxy-2-tris(pyrrolidino)fosfazenyl- β -D-glukopyranosa [17] :

K roztoku 150 mg 1,6-anhydro-2-azido-3,4-di-*O*-benzyl-2-deoxy- β -D-glukopyranosy [16] (0,409 mmol) v 15 ml THF bylo přidáno 100 mg tris(pyrrolidino)fosfinu [5] (0,414 mmol) rozpuštěného v 5 ml THF. Poté byla reakční směs týden zahřívána pod zpětným chladičem a sledována pomocí TLC (hexan/ethyl-acetát 3:2). Ke zreagované směsi bylo příštího dne přidáno 100 μ l 4M roztoku HCl v etheru za současného míchání. Po 1 hodině byla směs chlazena po dobu 24 hodin (0 °C). Druhý den bylo za současného míchání ke kapalině přidáno 2 x 25 ml etheru, až poté se vyloučily krystaly, které byly odděleny od roztoku, vysušeny a zváženy. Oddělená kapalná fáze byla zahuštěna na olej a dosušena za vakua olejové vývěvy (400 Pa). Bylo získáno 80 mg (0,138 mmol, 33,8 %) krystalické látky [17]. Dále bylo získáno dalších 150 mg hustého oleje s obsahem totožné látky, kterou ovšem již nelze převést do zcela pevného skupenství (celkem 97 %). V MS – ESI byl nalezen ion 581,3 (M + H)⁺. C₃₂H₄₆O₄N₄P (581,3). Látka byla kladně nabitá a počet těchto nábojů byl 1, 2, 3 nebo 4, což odpovídá počtu protonizovatelných atomů dusíku. Více protonizované ionty byly přítomny v úměrně menším zastoupení (viz spektrum na další straně).



$[\alpha]_D = -10,8$ (0,148 CHCl_3).

^1H NMR spektrum (300 MHz v CDCl_3): 5,32 s 1H (H-1); 2,90 dt 1H (H-2; $J_{2,\text{NH}} = 11$ Hz; $J_{2,3} = 4,5$ Hz; $J_{2,4} = 4,5$ Hz); 3,88 t 1H (H-3; $J_{3,2} = 4,5$ Hz; $J_{3,5} = 4,5$ Hz); 3,57 m 1H (H-4; $J_{4,2} = 4,5$ Hz); 4,72 m 1H (H-5; $J_{5,\text{NH}} = 11$ Hz; $J_{5,6} = 5,7$ Hz); 3,98 d 1H (H-6_{ex}; $J_{6\text{ex},6\text{en}} = 7,0$ Hz); 3,73 dd 1H (H-6_{en}; $J_{6\text{en},6\text{ex}} = 7,0$ Hz; $J_{6\text{en},5} = 5,7$ Hz); 4,83 d 1H a 4,69 d 1H (*OBn; $^2J = 12$ Hz); 4,74 d 1H a 4,63 d 1H (*2 x (-CH₂-); $^2J = 11,4$ Hz); 7,30 – 7,36 m 10 H (2x C₆H₅); 3,14 – 3,20 m 12H (-CH₂-N); 1,82 – 1,91 m 12H (-CH₂-CH₂-N).

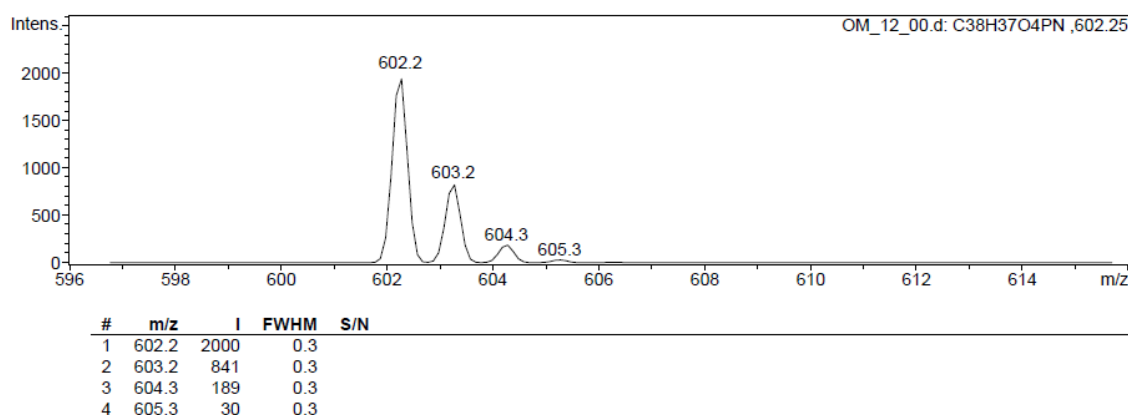
^{13}C NMR spektrum (75 MHz v CDCl_3): 103,00 (C-1); 73,22 (C-2); 54,73 (C-3); 71,46 (C-4); 74,40 (C-5); 66,47 (C-6); 127,81 – 137,84 (2 x C₆H₅); 78,26 (2 x -CH₂-); 47,51 (N-CH₂-CH₂); 26,21 (N-CH₂-CH₂).

*-CH₂- – chemické posuny obou těchto skupin jsou vzájemně zaměnitelné.

1,6-anhydro-2,4-di-O-benzyl-3-deoxy-3-trifenylfosfazenyl-β-D-glukopyranosa [19]:

1,6-anhydro-3-azido-2,4-di-O-benzyl-3-deoxy-β-D-glukopyranosa [9] (149 mg; 0,406 mmol) byla rozpuštěna v 10 ml THF. Dále byl přidán trifenylfosfin [11] (118 mg; 0,45 mmol) rozpuštěný v 5 ml THF. Po pěti dnech zahřívání pod zpětným chladičem za průběžného sledování pomocí TLC (hexan/ethyl-acetát 3:2) již reakční směs neobsahovala výchozí látku. THF byl odpařen na vakuové rotační odparce za vzniku husté, olejovité a částečně krystalické suspenze. Ta byla následně rozpuštěna v dichlormethanu. Po opětovném odpaření vznikla velmi hustá světlá olejovitá kapalina s obsahem krystalů, které ovšem nebylo možno nijak oddělit. Výtěžek byl 280 mg (115 %). V MS – ESI byl nalezen ion 602,2 (M + H)⁺. C₃₈H₃₇O₄NP odpovídá 602,2. NMR spektroskopie vykazovala přítomnost minimálně 4 různých látek.

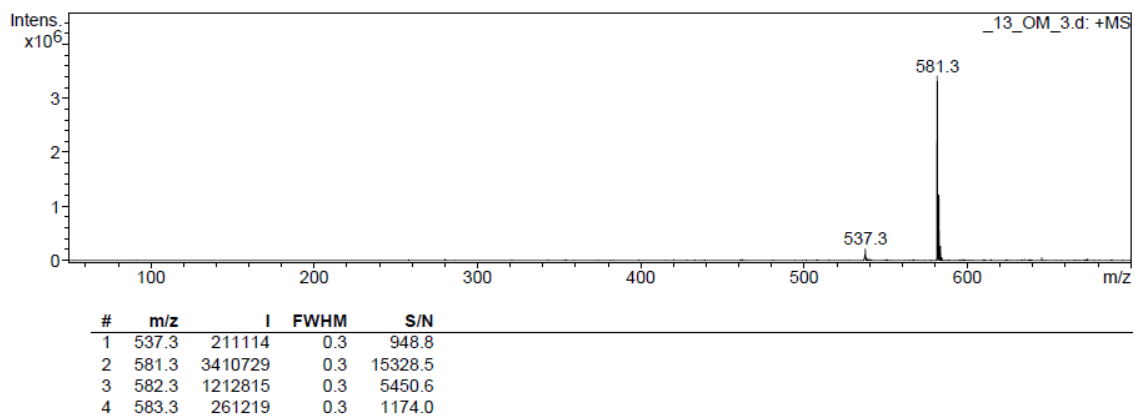
Vzhledem k předpokládané nestálosti produktu během měření NMR spektra (roztok v CDCl₃ obsahoval stopy vody a HCl) byl proveden pokus o vytvoření hydrochloridu požadované látky. Za tímto účelem bylo k látce rozpuštěné ve 2 ml dichlormethanu přikapáno 100 µl 4M roztoku HCl v etheru. Na vakuové odparce byla směs vysušena, vznikl bílý prášek. Změření tohoto vzorku na ¹H NMR odhalilo 2 vodíky H-1 (5,275 a 5,296 ppm), což svědčí o přítomnosti dvou sacharidů. Jedním je požadovaná látka, o čemž svědčí i ¹H MS spektrum, druhým je pravděpodobně aminoderivát daného sacharidu.



1,6-anhydro-2,4-di-O-benzyl-3-deoxy-3-tris(pyrrolidino)fosfazenyl- β-D-glukopyranosa [20] :

K 141 mg 1,6-anhydro-3-azido-2,4-di-O-benzyl-3-deoxy-β-D-glukopyranosy [9] (0,384 mmol) rozpuštěné v 10 ml THF bylo přidáno 100 mg tris(pyrrolidino)fosfinu [5] (0,414 mmol) rozpuštěného v 5 ml THF. Poté byla reakční směs pět dní zahřívána pod zpětným chladičem a sledována pomocí TLC (hexan/ethyl-acetát 3:2). Zbylý THF byl odpařen na vakuové rotační odparce za vzniku husté nažloutlé olejovité kapaliny. Ta byla chromatografována na 25 g silikagelu s použitím mobilní fáze - hexan/ethyl-acetát 3:2, později čistý ethyl-acetát. Frakce s obsahem požadovaného produktu byly spojeny a rozpouštědla odpařena. Rozpuštěním odparek a filtrací bylo získáno 8 mg krystalů. Po odpaření matečného louhu bylo ze zbytku získáno ještě 50 mg hustého oleje. Celkový výtěžek byl 26 %. V MS – ESI byl nalezen ion m/z 582,3 (M + H)⁺. C₃₂H₄₅O₄N₄P odpovídá 581,3. ¹H NMR přítomnost očekávaného produktu nepotvrdilo, neboť během měření zřejmě dochází k rozkladu látky vlivem přítomné vlhkosti a HCl. Proto byla látka převedena na odpovídající hydrochlorid. Za tímto účelem bylo k látce rozpuštěné ve 2 ml dichlormethanu přikapáno 100 µl 4M roztoku HCl v etheru. Na vakuové odparce byla směs vysušena za vzniku nažloutlého prášku.

Změření tohoto vzorku na ^1H NMR odhalilo 2 vodíky H-1 (5,412 a 5,428 ppm), což svědčí o přítomnosti dvou sacharidů. Jedním je požadovaná látka, o čemž svědčí i ^1H MS spektrum, druhým je pravděpodobně opět aminoderivát daného sacharidu.



5. Závěr

Byly připraveny dva ze zamýšlených sedmi trifenyl- a tris(pyrrolidino)fosfazenů. Ve vzájemném srovnání se očekávala větší úspěšnost u reakcí s trifenylfosfinem. Skutečnost byla taková, že izolace požadovaných derivátů povedla pouze jedna u každého z obou fosfinů, a to se srovnatelným výtěžkem. Ta navíc byla možna pouze u struktur, které měly azidovou skupinu na 2. nebo 4. uhlíku skeletu levoglukosanu. U pokusů s azidovou skupinou na 3. uhlíku se podařilo připravit oleje, které odpovídaly zamýšleným produktům po proměření hmotnostního spektra (tj. molekulovou hmotností), ale nikoli NMR spektrem, z čehož lze soudit na jejich následný rozklad, včetně pravděpodobného odštěpení navázaných fosfinů.

Jednou z možných cest zvýšení celkového výtěžku u těchto sloučenin či zvýšení jejich stability (mj. pro lepší možnosti změření NMR spektra) by mohla být příprava jejich hydrochloridů, které pravděpodobně mají větší možnost separace a krystalizace z roztoků.

Výsledky této bakalářské práce naznačují, že reakce stericky náročných azidoderivátů (jako jsou ty odvozené od levoglukosanu) se stericky náročnými fosfiny je možná, avšak pouze s azidem v poloze 2 nebo 4 (poloha 3 je zřejmě příliš stericky bráněná) a zároveň dosažené výtěžky produktů jsou poměrně nízké. Rovněž nízká je stabilita některých fosfazenů (zejména odvozených od tris(pyrrolidino)fosfinu). Obtížné mohou být i izolace látky v pevném stavu, často lze získat pouze medově zbarvený olej, který je nutné skladovat hluboko pod bodem mrazu.

Za hlavní úspěch celé práce lze považovat přípravu tris(pyrrolidino)derivátu [16], který vzniknul v dobrém výtěžku a podařilo se jej vykrytalizovat. Tato látka představuje perspektivní derivát pro studium acidobazických reakcí fosfazenů odvozených od levoglukosanu.

6. Použité zkratky

Ar	aryl
Bn	benzyl
Bz	benzoyl
DMF	<i>N,N</i> -dimethylformamid
Ph	fenyl
Pyrr	pyrrolidin- <i>N</i> -yl
THF	tetrahydrofuran
TLC	thin layer chromatography (tenkovrstevná chromatografie)
Ts	tosyl; (4-toluensulfonyl)

7. Použitá literatura

- [1] a) Staudinger, H., Meyer, J., *Helv. Chim. Acta*, **1919**, 2, 635 – 641.
b) Golobov, Y. G., Zhmurova, I. N., Kasukhin, L. F., *Tetrahedron*, **1981**, 37, 437 – 472.
- [2] a) W. Q. Tian, Y. A. Wang, *J. Org. Chem.*, **2004**, 69, 4299 – 4308.
b) F. L. Lin, H. M. Hoyt, H. v. Halbeek, R. G. Bergman, C. R. Bertozzi, *J. Am. Chem. Soc.*, **2005**, 127, 2686 – 2695.
- [3] a) Scriven, E. F. V., Turnbull K., *Chem. Rev.*, **1988**, 88, 297 – 368.
b) Golobov, Y. G., Kasukhin, L. F., *Tetrahedron*, **1992**, 48, 1353 – 1406.
- [4] Popelová A., Kefurt, K., Hlaváčková M., Moravcová J., *Carbohydr. Res.*, **2005**, 340, 161 – 166.
- [5] Černý, M., Staněk Jr., J., *Adv. Carbohydr. Chem. and Biochem.* **1977**, 34, 23 – 177.
- [6] Caubère, P., *Chemical Reviews*, **1993**, 93, 2317 – 2334.
- [7] <http://en.wikipedia.org/wiki/Superbase> , 21. 5. 2011.
- [8] Schwesinger, R., Hasenfratz, C., Schlemper, H., Walz, L., Peters, E. M., Peters, K., Von Schnering, H. G., *Angew. Chem.*, **1993**, 105, 1420 – 1422.
- [9] Köhn, U., Schulz, M., Schramm A., Günther, W., Görts, H., Schenk, S., Anders, E., *Eur. J. Org. Chem* **2006**, 4128 – 4134.
- [10] Schwesinger, R., Willaredt, J., Schlemper, H., Keller, M., Schmitt, D., Fritz, H., *Chem. Ber.* **1994**, 127, 2435 – 2454.
- [11] Valentine Jr., D. H., Hillhouse, J. H., *Synthesis* **2003**, 3, 317 – 334.
- [12] Molina, P., Vilaplana, M. J., *Synthesis* **1994**, 1197 – 1218.
- [13] He, Y., Hinkin J., Chang, J., Kiessling, L. L., *Org. Lett.* **2004**, 6, 4479 – 4482.
- [14] Charafeddine, A., Dazoub, W., Chapnis, H., Strazeovski, P., *Chem. Eur. J.* **2007**, 13, 5566 – 5584.
- [15] Briel, O., Nielsen, J., Caruthers, M. H., *J. Am. Chem. Soc.*, **1991**, 113, 3972 – 3981.
- [16] Wiesler, W. T., Caruthers, M. H. *J. Org. Chem.*, **1996**, 61, 4272 – 4281.
- [17] Karban, J., Buděšínský, M., Černý, M., Trnka, T., *Collect. Czech Chem. Commun.*, **2001**, 60, 799 – 819.
- [18] <http://en.wikipedia.org/wiki/Levogluconan> , 21. 5. 2011.

8. Poděkování

Na závěr bych rád poděkoval svému školiteli RNDr. Jiřímu Kroutilovi, Ph.D. za výborné vedení mé práce, za jeho poskytnutý čas a úsilí. Moje poděkování také patří prof. RNDr. Tomáši Trnkovi CSc. za významnou pomoc při dokončení práce.

Dále bych rád poděkoval RNDr. Martinovi Štíchovi za měření ESI hmotnostních spekter, Mgr. Simoně Hybelbauerové, Ph.D. za měření NMR spekter a Mgr. Bohunce Šperlichové za změření optických otáčivostí.

Klíčová slova

Staudingerova reakce, fosfazeny, azidoderiváty levoglukosanu, superbáze.

Abstrakt

V této bakalářské práci byla zkoumána reaktivita azidoderivátů levoglukosanu s trifenylofosfinem a tris(pyrrolidino)fosfinem. Snahou bylo připravit fosfazeny, které zatím nebyly publikovány v odborné literatuře, k možnému budoucímu využití. Úspěšně se v krystalické formě podařilo připravit dva fosfazeny. Obecně lze říct, že výrazně lepších výsledků bylo dosaženo u derivátů levoglukosanu s azidovou skupinou na 2. nebo 4. uhlíku. Reaktivita anhydroderivátů s azidoskupinou na uhlíku C-3 byla výrazně nižší, navíc produkty se většinou nepodařilo získat v krystalické formě.

Keywords

Staudinger reaction, phosphazenes, azido derivatives of levoglucosan, superbasis.

Abstract

This bachelor thesis is focused on research of reactivity of azido derivatives of levoglucosan with triphenylphosphine and tris(pyrrolidine)phosphine. The ultimate goal of this thesis was preparation of until now unpublished phosphazenes to make them available for practical utilization. Two of them were successfully prepared in crystalline form. Better results were with 2- or 4-azido derivatives of levoglucosan. In general reactivity of anhydro derivatives with azido group at C-3 were substantially lower, moreover the product mostly failed to crystallize.