

Б. Н. СТЕПАНЕНКО, Н. И. КАЛЕТИНА, В. В. ЗЕЛЕНКОВА

ИЗУЧЕНИЕ ОБРАЗОВАНИЯ НЕКОТОРЫХ N-ФЕНИЛГЛИКОЗИЛАМИНОВ И ИХ ПЕРЕГРУППИРОВКИ АМАДОРИ

(Представлено академиком А. И. Опариным 10 III 1971)

N-алкил- и N-арилгликозиламины (N-гликозиды) привлекают в последнее время все большее внимание химиков и биохимиков (¹). В нашей лаборатории был синтезирован ряд N-гликозиламинов (^{2, 3}), получены сведения (при изучении методом и.к. спектроскопии) об их строении (^{4, 5}), различными методами изучена кинетика их гидролиза (^{6, 7}). Изучение образования гликозиламинов сопряжено с большими трудностями, поскольку при взаимодействии сахаров и аминов, наряду с синтезом гликозиламинов, в ряде случаев идентифицируются продукты перегруппировки Амадори (ППА), возможные и другие процессы. Поэтому в качестве быстрого и специфического аналитического метода нами была использована качественная и количественная тонкослойная хроматография.

Изучено образование десяти N-арилгликозиламинов, указанных в табл. 1. Результаты синтеза N-фенилгликозиламинов оценивались по их выходу, а также по величине τ — времени полупревращения исходных веществ в N-фенилгликозиламины. Как видно из табл. 1, для каждого моносахарида оптимум величин pH сдвигается в более кислую область по мере уменьшения основности аминов. Границы значения pH, обеспечивающие максимальный выход, представляют собой довольно узкие пики (рис. 1). Найденные нами оптимальные условия синтеза ряда гликозиламинов дали возможность получать их с выходами, иногда в 2 раза большими, чем указано в (⁸). Скорость образования N-толилгликозиламинов (см. табл. 1), значительно выше скорости образования N-нитрофенилгликозиламинов.

По скорости образования в водно-спиртовой среде при одном и том же pH N-арилгликозиламины располагаются в ряд: гликозиламины < галактозиламины < ксилозиламины. В этом ряду происходит снижение конформационной устойчивости. Лучшим растворителем оказался 70% спирт.

Из ряда обсуждающихся в литературе возможных механизмов синтеза наиболее вероятной представляется схема Исбелла и Фраша (⁹), которую мы приводим с некоторыми дополнениями (схема 1).

Полученные экспериментальные данные подтверждают эту схему. Так, необходимость кислого катализатора и крайне медленный ход реакции в 95% спирте указывают на необходимость активирования сахара путем протонирования его и превращения в карбоксоиновый ион открытой формы сахара. Избыток кислоты, по нашим наблюдениям, тормозит реакцию; при этом, очевидно, амин переходит в соль и делается неспособным к нуклеофильной атаке сахара. Главная стадия реакции — присоединение амина к карбоксоиновому иону сахара, видимо, будет зави-

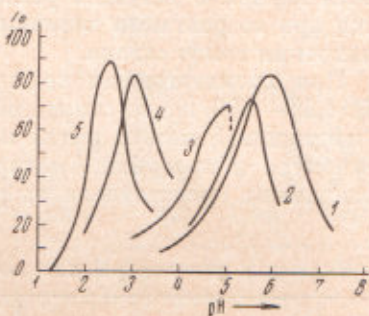


Рис. 1. Зависимость выхода N-фенил-D-гликозиламинов от pH реакционной среды. 1 — N-n-толил-D-гликозилламин; 2 — N-m-толил-D-гликозилламин; 3 — N-o-толил-D-гликозилламин; 4 — N-m-нитрофенил-D-гликозилламин; 5 — N-n-нитрофенил-D-гликозилламин

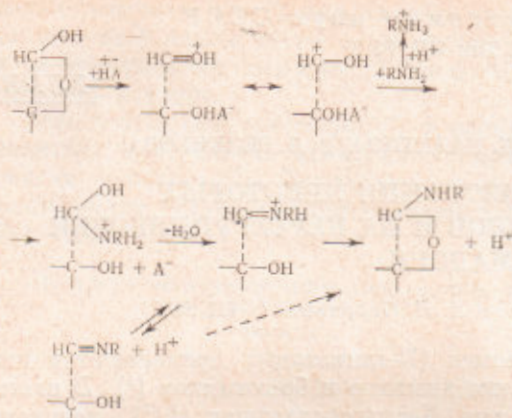


Схема 1

ность медленно текущих реакций со слабоосновными аминами повышается при возрастании величин pH среды, что связано с увеличением концентрации ионов сахара.

При хроматографии реакционной смеси *n*-толуидина и глюкозы при pH 4,33—4,90 водно-спиртовой среды и pH 4,58—4,65 водной среды мы обнаружили 5 пятен: пятна исходных продуктов, β-аномера гликозида, α-аномера и продукта Амадори. Идентификация α-аномера *N*-толилгликозиламина представлена на рис. 2, I. Было установлено, что α-аномер

Таблица 1

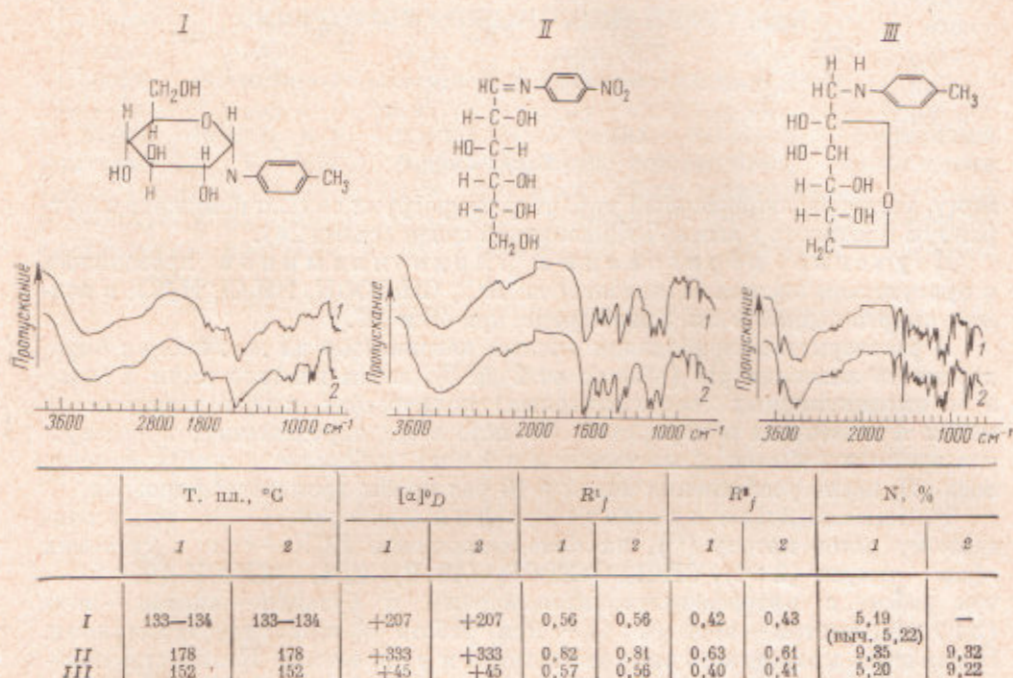
Оптимальные условия pH для синтеза *N*-фенилгликозиламинов (70% этанол, 40° C)

№ п. п.	Амин	pK _a амина	<i>N</i> -фенилгликозиламин	Оптимальный pH	Выход, %	τ, мин.
1	<i>n</i> -Толуидин	5,12	<i>N-n</i> -толил- <i>D</i> -гликозиламин	5,77	85	99
2	То же	5,12	<i>N-n</i> -толил- <i>D</i> -галактозиламин	5,74	84	70
3	»	5,12	<i>N-n</i> -толил- <i>D</i> -ксилозиламин	5,75	85	60
4	<i>m</i> -Толуидин	4,60	<i>N-m</i> -толил- <i>D</i> -гликозиламин	4,60	70	345
5	<i>o</i> -Толуидин	4,39	<i>N-o</i> -толил- <i>D</i> -гликозиламин	4,39	70	150
6	<i>m</i> -Нитроанилин	2,50	<i>N-m</i> -нитрофенил- <i>D</i> -гликозил-амин	3,00	83	430
7	<i>n</i> -Нитроанилин	1,02	<i>N-n</i> -нитрофенил- <i>D</i> -гликозил-амин	2,50	90	570
8	То же	1,02	<i>N-n</i> -нитрофенил- <i>D</i> -галактозил-амин	2,52	75	540
9	»	1,02	<i>N-n</i> -нитрофенил- <i>D</i> -ксилозил-амин	2,54	56	480
10	<i>o</i> -Нитроанилин	0,29	<i>N-o</i> -нитрофенил- <i>D</i> -гликозил-амин	1,80	70	395

N-толилгликозиламина, образующийся в довольно значительных количествах при реакции в спирто-водной среде, в меньшем количестве получается в водной среде, вследствие быстрого гидролиза и перегруппировки Амадори. При синтезе *N-n*-толил-*D*-галактозиламина и *N-n*-толил-*D*-ксилозиламина наряду с главным продуктом — β-аномером, по-видимому, образуется и α-аномер.

При образовании *N-n*-нитрофенилгликозиламина мы одновременно идентифицировали основание Шиффа (рис. 2, II) (выход 27%). Это вещество в свободном состоянии или в протонированной форме — иона иммония, действительно является промежуточным продуктом, поскольку мы могли на серии хроматограмм наблюдать появление его ранее пятна гликозида, а затем постепенное уменьшение пятна основания Шиффа и увеличение пятна гликозида. В оптимальных условиях синтеза с пре-

сравнительными целями циклический продукт (гликозид) получается с выходом 90%. Вероятно, при более высокой температуре и последующей кристаллизации происходит циклизация основания Шиффа (или его протонированной формы — иона иммония). В настоящее время мы не можем исключить возможность образования основания Шиффа и при синтезе толилгликозиламинов, хотя и не смогли уловить их присутствия на хроматограммах, возможно, в связи с очень высокой скоростью образования *N*-толилгликозиламинов. Т.с.х. дала нам возможность выяснить условия образования ППА. ППА *N*-*n*-толил- β -D-гликозиламина обнаружен в боль-



И.к. спектры вещества из пятна хроматограммы (1) и синтезированного образца (2)

Рис. 2. Идентификация веществ с хроматограмм. I — *N*-*n*-толил- α -D-гликозиламин; II — Шиффово основание *n*-нитроанилина и D-глюкозы; III — ППА *N*-*n*-толил- β -D-гликозиламина. [α]_D — в метаноле; R_f¹ — ацетон — бутанол — вода; R_f² — хлороформ — метанол

ших количествах в кислой среде (рН 2,03—3,75) водно-спиртового раствора. Данные по его идентификации приведены на рис. 2, III. ППА идентифицирован и в водной среде при рН 5,40—5,75, но лишь после образования гликозида и длительного выдерживания реакционной смеси в термостате (6—24 часа) при 40° С. Аналогичные данные были получены и при изучении образования ППА при взаимодействии *o*- и *n*-толидина с другими сахарами.

Во всех случаях в слабокислой среде образование ППА происходит в течение продолжительного времени реакции из предварительно образовавшихся *N*-гликозиламинов, содержание которых уменьшается при одновременном появлении и накоплении ППА. В этом случае реакция идет, по-видимому, по схеме 2а, постулированной Куном и Вейгадом (¹⁹). С другой стороны, в условиях низких значений рН водно-спиртовой среды, мы наблюдали образование ППА ранее появления пятна *N*-гликозида. Возможно, в этих условиях ППА образуются непосредственно из сахара и амина, чему предшествует протонизация и енолизация сахара (схема 2б). ППА не образуются из *N*-гликозидов *o*-, *m*- и *p*-нитроанилинов. По-види-

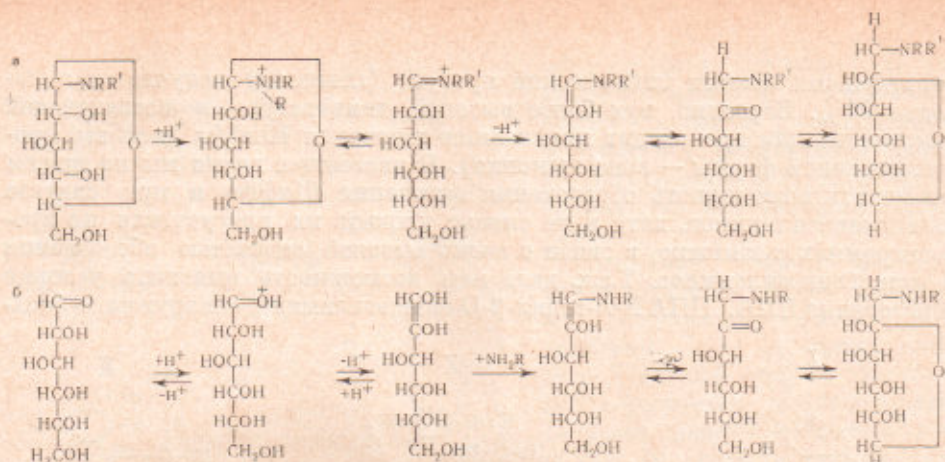


Схема 2

мому, электрооакценторный характер нитрогруппы сильно понижает электронную плотность у азота N-гликозидной связи (схема 2а).

Изучение образования гликозиламинов проводилось в присутствии кислых катализаторов: HCl, CH₃COOH, NH₄Cl, H₂SO₄ в водной, спирто-водной и спиртовой среде, при 40 и 62°.

К растворителю прибавляли кислый катализатор до достижения определенного значения pH (обычно от 2 до 5), затем вносили амин и сахар в эквимолекулярных (сантимольных) количествах, колбы доводили до метки и помещали в термостат. По истечении определенных промежутков времени (обычно с интервалом в 1 час) отбирались пробы, измерялось pH, после разбавления водой в 10 раз пробы хроматографировали.

Тонкослойная хроматография проводилась по ранее описанному нами методу⁽¹¹⁾, на слое силикагель KSK — гипс в системах эфир — толуол (2 : 1), CHCl₃ — CH₃OH (19 : 2), C₆H₆ — CH₃OH (95 : 5) — при работе с нитрофенилгликозиламинами и бутанол — ацетон — вода (2 : 7 : 1), ацетон — вода (4 : 1), — при работе с толилгликозиламинами. Проявление проводилось анилинфталатом и у.ф. светом. Количества образовавшихся гликозиламинов высчитались по площади пятен⁽¹¹⁾. Метод в пределах 20—140 мг дает точность ±3%. Величины τ определялись путем построения соответствующих графиков и интерполяции.

Для идентификации веществ пятен мы синтезировали N-*n*-толил-α-*D*-глюкозиламин^(12, 13), шиффово основание *n*-нитроанилина и *D*-глюкозы⁽¹²⁾, ППА N-*n*-толил-*D*-глюкозиламина⁽¹⁴⁾ и сопоставили R_f пятен, полученных веществ и неизвестных соединений на хроматограмме, используя разные системы растворителей. Кроме того, элюировали вещества пятен, накопляли их (в количестве 100—150 мг), перекристаллизовывали и определяли температуру плавления, удельное вращение, проводили элементарный анализ и снимали и.к. спектры.

Институт биохимии им. А. Н. Баха
Академии наук СССР
Москва

Поступило
18 II 1971

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ В. Сарон, Chem. Rev., 69 (4), 407 (1969). ² Б. Н. Степаненко, Р. Д. Грешных, ДАН, 170, 121 (1966). ³ Б. Н. Степаненко, Э. С. Волкова, М. Г. Ченцова, ДАН, 177, 607 (1967). ⁴ В. Д. Щербухин, Б. Н. Степаненко, Р. Д. Грешных, ДАН, 170, 362 (1966). ⁵ В. Д. Щербухин, Э. С. Волкова, Б. Н. Степаненко, ДАН, 174, 725 (1967). ⁶ Б. Н. Степаненко, В. А. Игнатюк-Майстренко, М. Г. Ченцова, ДАН, 154, 650 (1964). ⁷ Б. Н. Степаненко, Э. С. Волкова, ДАН, 183, № 6 (1968). ⁸ G. P. Ellis, J. Honeymann, J. Chem. Soc., 1952, 1490. ⁹ H. S. Isbell, H. Z. Frush, J. Organ. Chem., 23, 1309 (1958). ¹⁰ R. Kuhn, F. Weigand, Ber., 70, 769 (1937). ¹¹ Б. Н. Степаненко, Н. И. Суздалева, Прикл. биохим. и микробиол., 4, 320 (1968). ¹² P. Vognar, P. Nanasi, J. Chem. Soc., 1961, 323. ¹³ В. Сарон, B. Connet, J. Chem. Soc., 1965, 4492. ¹⁴ Schichico Akija, Setsuo Fejini Jakugaki Zasshi, 77, 214 (1957); Chem. Abstr., 51, 10382a (1957).