

**SYNTETYCZNE ODPOWIEDNIKI
FOSFOENOLOPIROGRONIANU,
CZYLI JAK NAŚLADOWAĆ BIOSYNTEZĘ
KWASÓW ULOZONOWYCH**

**SYNTHETIC EQUIVALENTS
OF PHOSPHOENOLPYRUVATE
– HOW TO IMITATE THE BIOSYNTHESIS
OF ULOSONIC ACIDS**

Marta Agnieszka Molenda

*Wydział Chemii, Uniwersytet Jagielloński
ul. Ingardena 3, 30-060 Kraków, Polska
e-mail: marta.molenda@gmail.com*

Praca nagrodzona przez Krakowski Oddział PTChem

Abstract

Wykaz stosowanych skrótów

Wprowadzenie

1. Charakterystyka i znaczenie kwasów ulozonowych
 - 1.1. Występowanie oraz biosynteza DAH i KDN
 - 1.2. Analiza retrosyntetyczna DAH i KDN
2. Równoważniki fosfoenolpirogronianu w syntezie kwasów ulozonowych
 - 2.1. Pochodne tiazolu
 - 2.2. Acetal aldehydu pirogronowego - organokataliza
 - 2.3. Acetal aldehydu pirogronowego, 2-acetylotiazol – kataliza metaloorganiczna
 - 2.4. Pirogronian etylu
 - 2.5. Pirogronian aryłowy

Uwagi końcowe

Podziękowanie

Piśmiennictwo cytowane



Marta Molenda urodziła się w 1990 roku w Krakowie. W 2009 roku ukończyła V Liceum Ogólnokształcące im. Augusta Witkowskiego. W tym samym roku rozpoczęła studia I stopnia na kierunku Ochrona Środowiska na Wydziale Chemii Uniwersytetu Jagiellońskiego, które ukończyła w 2012 roku. Następnie rozpoczęła studia drugiego stopnia na kierunku Chemia UJ, trafiając do Zespołu Stereokontrolowanej Syntezy Organicznej pod opiekę prof. dr hab. Jacka Młynarskiego. Pracę dyplomową o tytule „Organokatalityczna enancjochyrowanie diastereoselektywna reakcja aldolowa estrów kwasu pirogronowego” obroniła 24 czerwca 2014 r., otrzymując tytuł magistra chemii.

ABSTRACT

Ulosonic acids are key intermediated in many important biochemical pathways. One of them is DAH, which takes part in the shikimic acid pathway, as precursor in aromatic amino acids biosynthesis [1]. Another interesting compound is KDN isolated from rainbow trout egg [2], where it is responsible for the protection of the embryo in the early stages of embryonic development [3].

In the nature ulosonic acids are synthesized from phosphorylated sugar aldehydes and phosphoenolpyruvate in enzymatic aldol reaction. Mimic of enzymatic catalysis by asymmetric direct aldol reaction is one of the challenges of modern organic synthesis. Unfortunately, installation of the pyruvate unit in laboratory conditions is quite problematic.

The aim of this short review was to present synthetic equivalents of phosphoenolpyruvate, which over the years become more and more similar to the biosynthesis of ulosonic acids in living cells.

The first applied pyruvic acid unit was 2-acetylthiazole used as stoichiometric lithium enolate in aldol addition [9]. Next, the same research group used the phosphine derivative of 2-acetylthiazole in Wittig olefination of sugar aldehydes with subsequent stereoselective *syn* Michael addition of the benzyl oxide anion.

Another pyruvate equivalent is dimethyl acetal of pyruvic aldehyde successfully used in organocatalytic [12] and metalorganocatalytic [14] direct aldol reactions.

Nowadays sterically hindered aromatic ester of pyruvic acid is probably the best pyruvate unit. This ester was successfully used as aldol reaction donor in synthesis of two 3-deoxy-2-ulosonic acids – KDG and KDO [18]. Aryl pyruvate reacts with aldehydes to give aldol product with high efficiency and good diastereoselectivity in reaction catalyzed by chiral tertiary amines represented by *Cinchona* alkaloids. Chiral sugar aldehydes and pyruvate ester, are the building blocks that famously mimic the biological precursors of ulosonic acids.

Keywords: aldol reaction, pyruvate unit, ulosonic acids

Słowa kluczowe: reakcja aldolowa, równoważnik pirogronianu, kwasy ulozonowe

WYKAZ STOSOWANYCH SKRÓTÓW

1. Skróty opisowe:

<i>ee</i>	– nadmiar enancjomeryczny (ang. <i>enantiomeric excess</i>)
eq.	– równoważnik (ang. <i>equivalent</i>)
kat.	– katalizator
MS	– sita molekularne (ang. <i>molecular sieves</i>)
RT	– temperatura pokojowa (ang. <i>room temperature</i>)

2. Związki chemiczne i rozpuszczalniki:

BINOL	– 1,1'-bi-2-naftol
Cys	– cysteina
DAH	– kwas 3-deoksy-D- <i>arabino</i> -hept-2-ulozonowy
DCM	– dichlorometan
DMF	– <i>N,N</i> -dimetyloformamid
DMSO	– dimetylosulfotlenek
His	– histydyna
KDG	– kwas 2-keto-3-deoksy-D-glukozonowy (3-deoksy-D- <i>erythro</i> -heks-2-ulozonowy)
KDN	– kwas 3-deoksy-D- <i>glicero</i> -D- <i>galakto</i> -non-2-ulozonowy
KDO	– kwas 3-deoksy-D- <i>manno</i> -okt-2-ulozonowy
KHMDS	– amidek bis(trimetylosililu) potasu
LDA	– diizopropylamidek litu
Lys	– lizyna
Phe	– fenyloalanina
Pro	– prolina
THF	– tetrahydrofuran
Tyr	– tyrozyna
Trp	– tryptofan

3. Grupy funkcyjne i zabezpieczające:

Ac	– acetyl
Ar	– aryl
Bn	– benzyl
Bu	– butyl
<i>t</i> -Bu	– <i>tert</i> -butyl
Et	– etyl
Me	– metyl
Ph	– fenyl
<i>i</i> -Pr	– izopropyl
TBDMS	– <i>t</i> -butylo-di-metylosilil
TfO	– trifluorometanosulfonian
Th	– 2-tiazolil
PG	– grupa zabezpieczająca (ang. <i>protecting group</i>)

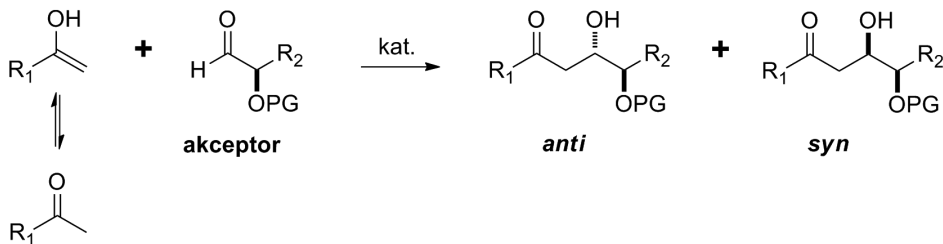
WPROWADZENIE

Niniejszy artykuł stanowi część pracy magisterskiej o tytule „Organokatalityczna enancjo- i diastereo selektywna reakcja aldolowa estrów kwasu pirogronowego” obronionej 24 czerwca 2014 r.

Kwasy ulozonowe są ważnymi metabolitami wielu szlaków biochemicznych. Jednym z przedstawicieli kwasów ulozonowych jest DAH, który bierze udział w szlaku metabolicznym kwasu szikimowego [1], jako jeden z prekursorów biosyntezy aromatycznych aminokwasów. Drugim interesującym związkiem jest KDN znaleziony w ikrze pstrąga tęczowego [2], gdzie jego zadaniem jest ochrona zarodka na wczesnych etapach rozwoju embrionalnego [3].

Celem badań prowadzonych w ramach pracy magisterskiej była synteza pochodnych obu kwasów na drodze bezpośredniej asymetrycznej reakcji aldolowej. Substratami reakcji były chiralne cukrowe aldehydy oraz ester kwasu pirogronowego, tj. bloki budulcowe imitujące biologiczne prekursory tych związków.

Asymetryczne tworzenie wiązania węgiel-węgiel na drodze bezpośredniej reakcji aldolowej jest jednym z najważniejszych narzędzi współczesnej syntezy organicznej. W addycji aldolowej reagują ze sobą dwa związki karbonylowe, z których jeden jest nukleofilowym donorem reakcji, a drugi elektrofilowym akceptorem. Donor reaguje w postaci reaktywnej formy enolu lub enolanu. Produktem reakcji jest związek β -karbonylowy, posiadający nowe centrum (lub centra) stereogeniczne. W badanej reakcji możliwe jest powstanie dwóch produktów - o konfiguracji względnej *anti* lub *syn*. Schemat reakcji przedstawiono na Rysunku 1.

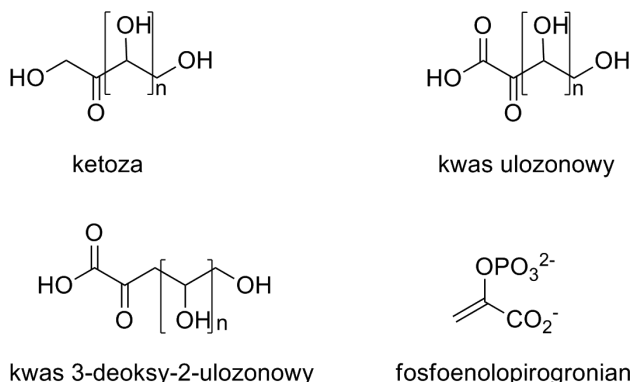


Rysunek 1. Schemat reakcji aldolowej prowadzącej do pochodnych kwasów 3-deoksy-2-ulozonowych
Figure 1. Scheme of aldol reaction leading to 3-deoxy-2-ulosonic acids derivatives

1. CHARAKTERYSTYKA I ZNACZENIE KWASÓW ULOZONOWYCH

Kwasy ulozonowe są istotnymi metabolitami szlaków biochemicznych. Są to analogi ketoz, w których pierwsza grupa hydroksylowa została utleniona do grupy karboksylowej. Interesującą grupą związków są kwasy 3-deoksy-2-ulozonowe, pozbawione grupy hydroksylowej przy trzecim atomie węgla, syntetyzowane w pro-

cesach biochemicznych z pochodnej kwasu pirogronowego – fosfoenolpirogro-
nianu. Omawiane związki przedstawiono na Rysunku 2.

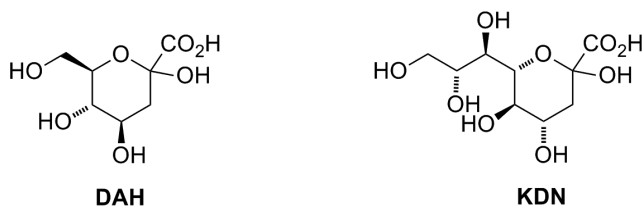


Rysunek 2. Budowa ogólna ketoz, kwasów ulozonowych, kwasów 3-deoksy-2-ulozonowych oraz fosfoenolpirogro-
nianu

Figure 2. General structure of ketoses, ulosonic acids, 3-deoxy-2-ulosonic acids and phosphoenolpyruvate

1.1. WYSTĘPOWANIE ORAZ BIOSYNTETA DAH I KDN

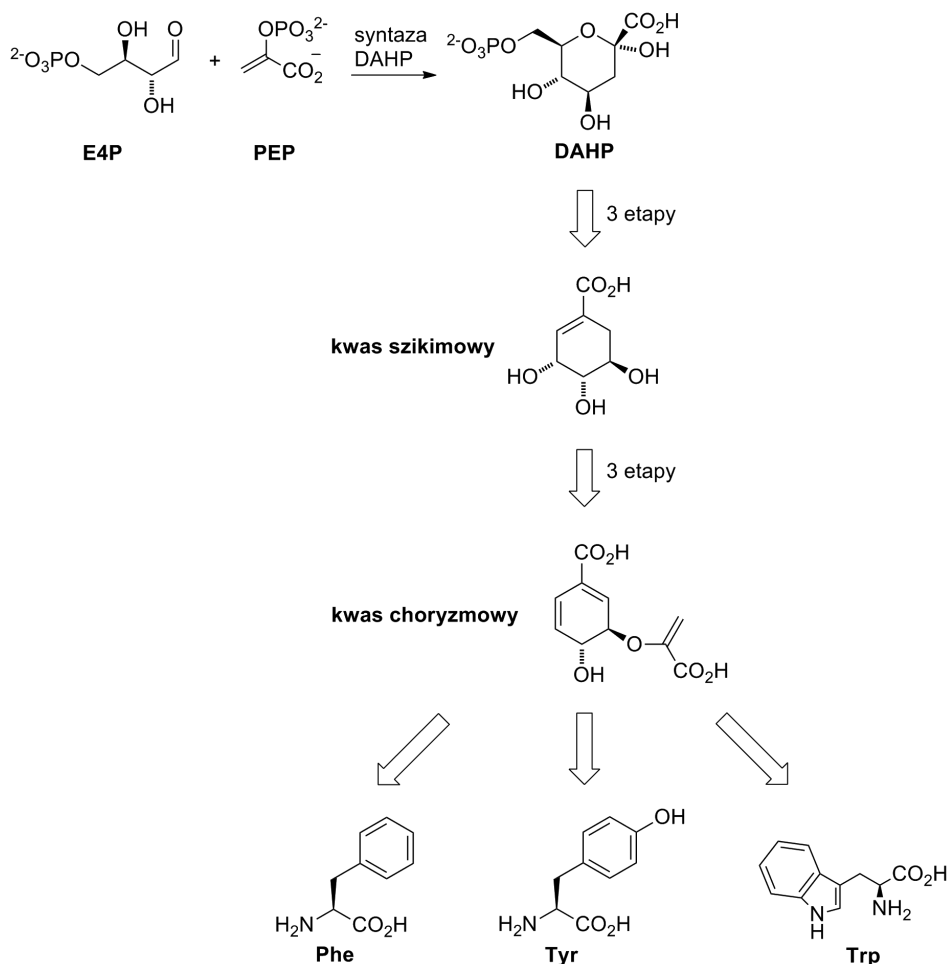
Niniejsza praca dotyczyła syntezy dwóch naturalnie występujących kwasów ulozonowych – siedmiowęglowego kwasu 3-deoksy-D-*arabino*-hept-2-ulozonowego (**DAH**) oraz dziewięciowęglowego kwasu 3-deoksy-D-*glicero*-D-*galakto*-non-2-ulozonowego (**KDN**) – przedstawionych na Rysunku 3.



Rysunek 3. Struktury DAH i KDN

Figure 3. DAH and KDN structure

DAH bierze udział w biosyntezie aminokwasów aromatycznych przez rośliny i mikroorganizmy – jego fosforan jest pierwszym produktem w szlaku metabolicznym kwasu szikimowego. Szlak ten zaczyna się od dwóch cukrowych prekursorów: fosfoenolpirogro-
nianu (**PEP**) i fosforanu-4 D-erytrozy (**E4P**), które ulegają reakcji aldolowej z utworzeniem fosforanu kwasu 3-deoksy-D-*arabino*-hept-2-ulozonowego (**DAHP**). Reakcję katalizuje enzym syntaza DAHP (EC 2.5.1.54). W kolejnych przemianach enzymatycznych powstaje **kwas szikimowy**, który ulega dalszym przekształceniom do **kwasu choryzmowego**, będącego substratem końcowych szlaków prowadzących do poszczególnych aromatycznych aminokwasów (Rys. 4) [1].



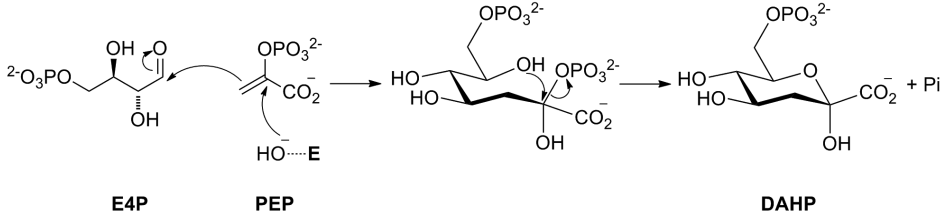
Rysunek 4. Ogólny schemat szlaku kwasu szikimowego [1]

Figure 4. General scheme of shikimic acid pathway [1]

Syntazy DAHP to białka tetrameryczne. Podjednostka prokariotycznej syntazy DAHP zbudowana jest z około 350 aminokwasów, natomiast enzym roślinny jest większy, rzędu 525 aminokwasów na podjednostkę [1]. Pomimo znacznych różnic strukturalnych wszystkie syntazy DAHP w swoim centrum aktywnym posiadają jon metalu na drugim stopniu utlenienia np. Zn^{2+} , Fe^{2+} , Mn^{2+} , Co^{2+} , Cu^{2+} lub Ca^{2+} , niezbędny do funkcjonowania enzymu. Pojedynczy jon metalu jest związany z każdą podjednostką enzymu, część miejsc wiążących zidentyfikowano jako motyw Cys-X-X-His. Preferowanym kofaktorem *in vivo* jest najprawdopodobniej Zn^{2+} [1, 4].

Proponowany mechanizm aktywacji substratu (Rys. 5) polega na nukleofilowym ataku cząsteczki wody na atom węgla C2 fosfoenolpirogronianu, w wyniku czego elektrony wiązania podwójnego enolanu ulegają przesunięciu atakując karbo-

nylowy atom węgla **E4P**. W dalszym etapie następuje cyklizacja, której towarzyszy odłączenie nieorganicznego fosforanu i utworzenie **DAHP**.

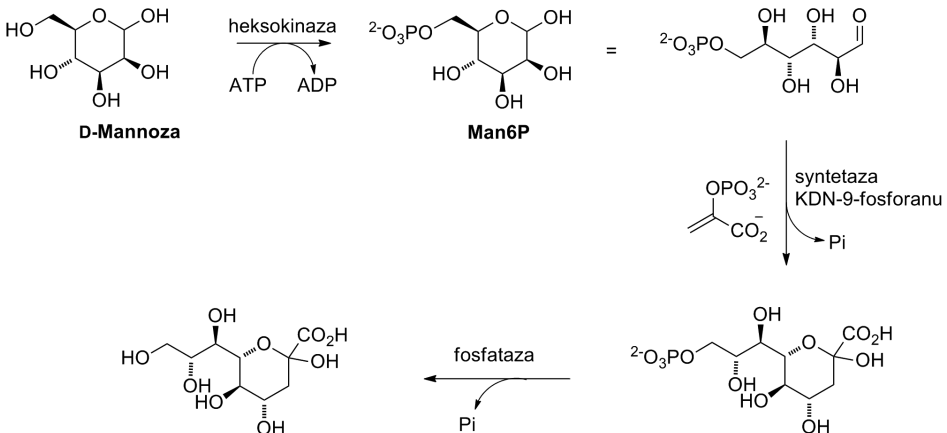


Rysunek 5. Sugerowany mechanizm biosyntezy DAHP [5]
Figure 5. The suggested mechanism for the biosynthesis of DAHP [5]

Rola jonu metalu w mechanizmie nie jest do końca poznana. Najprawdopodobniej ma on poprzez koordynację ułożyć w odpowiedniej geometrii łańcuchy boczne aminokwasów w centrum aktywnym – Cys-61 i His-268 – odpowiedzialnych za aktywację cząsteczki wody jako nukleofila poprzez jej koordynację [5].

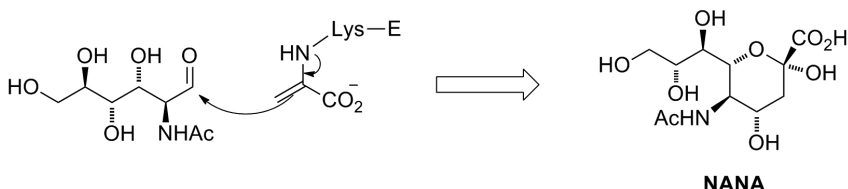
KDN został wyizolowany w 1978 roku z polisialoglikoproteiny (PSPG) ikry pstrąga tęczowego (*Salmo gairdneri*) [2]. Tworzy on nieredukowalną sekwencję na końcu PSPG, której zadaniem jest ochrona przed egzosialidazami, na wczesnych etapach rozwoju zarodkowego [3].

Biosynteza KDN składa się z trzech przemian. Pierwszy etap polega na ufosforylowaniu D-mannozy do fosforanu-6 mannozy (**Man6P**), reakcja ta katalizowana jest przez enzym heksokinazę. Następnie Man6P ulega reakcji aldolowej, katalizowanej przez syntetazę KDN-9-fosforanu, w wyniku czego powstaje fosforan-9 KDN (**KDN9P**). Ostatnim etapem jest defosforylacja katalizowana przez fosfatazę, prowadząca do KDN [6]. Schemat biosyntezy przedstawiono na Rysunku 6.



Rysunek 6. Biosynteza KDN
Figure 6. Biosynthesis of KDN

Dokładny mechanizm reakcji Man6P i PEP nie został jeszcze poznany, nie jest również znana struktura krystaliczna katalizującej reakcję syntetazy KDN-9-fosforanu. Wydaje się prawdopodobne, iż mechanizm jest analogiczny jak w przypadku aldolazy kwasu *N*-acetylneuraminowego (NeuA). KDN jest deaminowaną pochodną kwasu *N*-acetylneuraminowego, stąd można przypuszczać, iż mechanizm jego biosyntezy będzie podobny. NeuA jako aldolaza klasy I przekształca pirogronian będący donorem reakcji aldolowej w reaktywną enaminę, połączoną z enzymem poprzez lizynę w centrum aktywnym (Rys. 7) [7, 8].

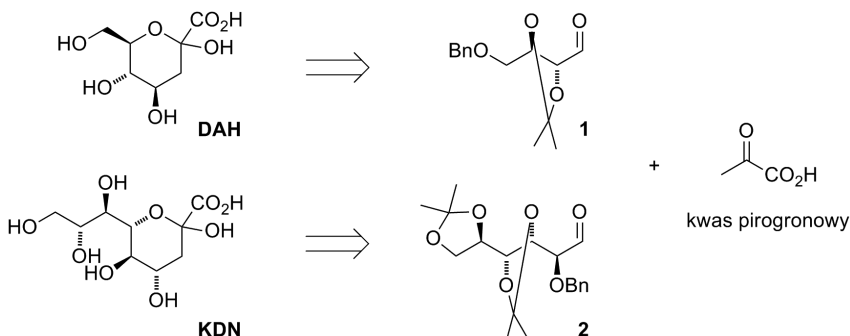


Rysunek 7. Mechanizm biosyntezy kwasu *N*-acetylneuraminowego (NANA)

Figure 7. Mechanism for the biosynthesis of *N*-acetylneuraminic acid (NANA)

1.2. ANALIZA RETROSYNTEZYCZNA DAH I KDN

Jak to często bywa we współczesnej syntezie organicznej i tym razem inspiracja pochodziła z natury. Celem podjętych badań było naśladowanie biosyntezy DAH i KDN w laboratorium chemicznym, jednak bez udziału drogich i trudnych w pracy enzymów. Jako akceptory reakcji aldolowej wybrano, dwa monosacharydy – *D*-erytrozę i *D*-mannozę, analogicznie jak w biosyntezie. Związki te odpowiednio zabezpieczono w celu ograniczenia reakcji ubocznych, otrzymując aldehydy **1** i **2**. Najbardziej problematycznym elementem syntezy kwasów ulozonowych jest cząsteczka donora - pirogronianu, która okazała się bardzo wymagającym substratem w bezpośredniej reakcji aldolowej. Problem ten zostanie omówiony w kolejnych podrozdziałach. Poniżej przedstawiono schemat retrosyntezy DAH i KDN (Rys. 8).



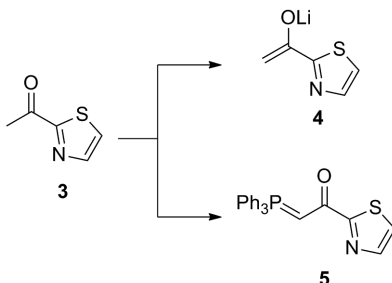
Rysunek 8. Analiza retrosyntezy DAH i KDN

Figure 8. Retrosynthetic analysis of DAH and KDN

2. RÓWNOWAŻNIKI FOSFOENOLOPIROGRONIANU W SYNTEZIE KWASÓW ULOZONOWYCH

2.1. POCHODNE TIAZOLU

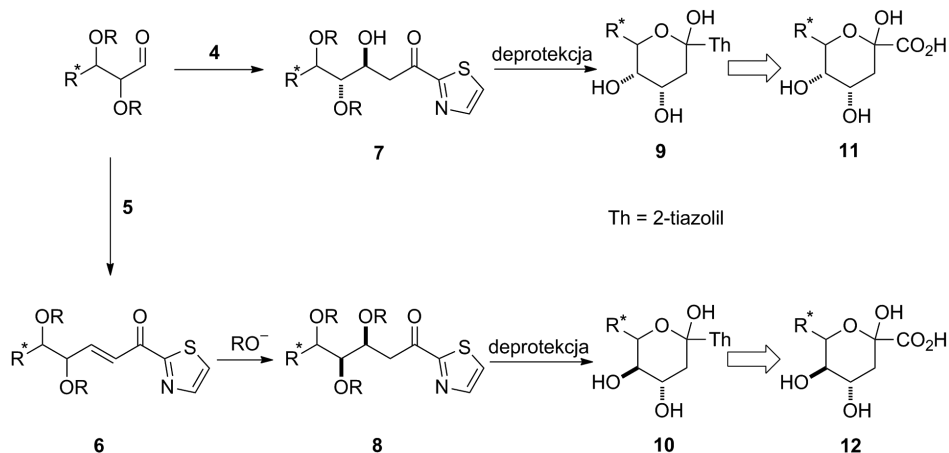
Z końcem XX w. zastosowano podstawione pochodne tiazolu **4** i **5** (Rys. 9) w syntezie kwasów 3-deoksy-2-ulozonowych [9]. Pierścień tiazolowy jest prekursorem grupy formylowej, która może zostać łatwo utleniona do grupy karboksylowej.



Rysunek 9. „Tiazolowe” równoważniki pirogronianu
Figure 9. The thiazole equivalents of pyruvate

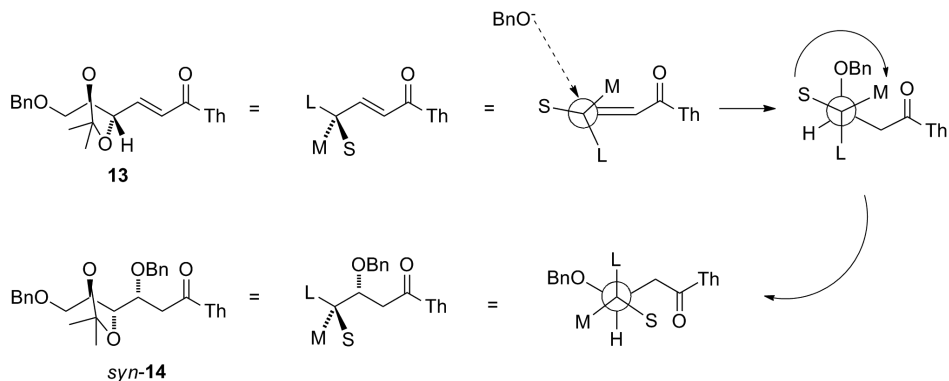
2-Acetylotiazol **3**, zastosowano jako donor w reakcji aldolowej z aldozami, przekształcając go stechiometrycznie w enolan litu **4**. Reakcja cechowała się wysoką *anti*-selektywnością, zgodnie z modelem Felkina-Ahna, co było korzystne w syntezie kwasu 3-deoksy-D-rybo-hept-2-ulozonowego z D-erytrozy, jednak zupełnie zawiodło w syntezie jego C4 epimeru (DAH) z tej samej tetrozy. Również otrzymanie istotnego biologicznie KDN tą metodą okazało się niemożliwe, gdyż jego synteza wymaga addycji preferującej konfigurację *syn* produktu.

Odwroćenie selektywności na korzyść produktu *syn* udało się osiągnąć poprzez sekwencję dwóch reakcji. Pierwszy etap to olefinacja Wittiga z użyciem fosfinowej pochodnej tiazolu, **5**. Produktem jest (*E*)- α,β -enon **6**, który dalej poddawany jest stereoselektywnej addycji Michaela z anionem alkoholowym (Rys. 10). Addukty **7**, **8** poddawano następnie cyklizacji (związki **9**, **10**) i przekształceniom pierścienia tiazolowego do grupy karboksylowej (**11**, **12**). Reakcje z użyciem obu tiazolowych odpowiedników pirogronianu przedstawiono na Rysunku 10.



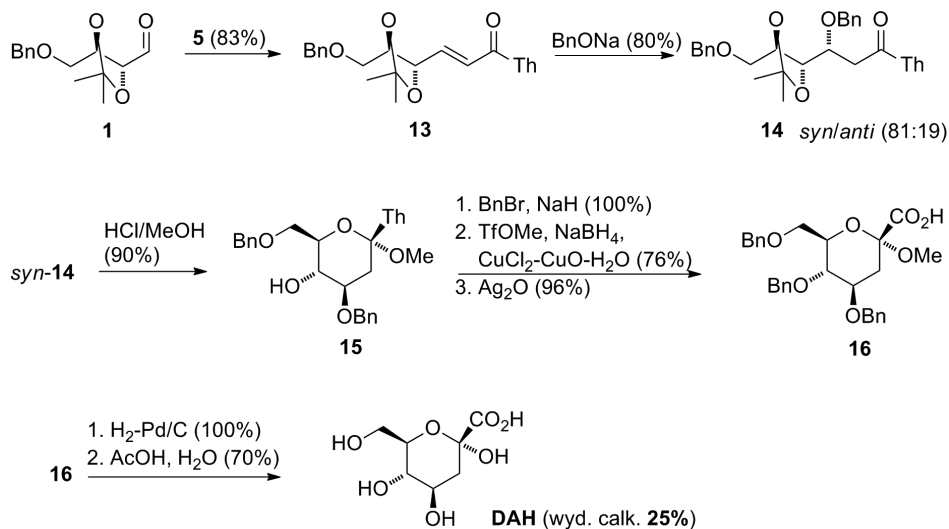
Rysunek 10. Tiazolowe równoważniki pirogronianu w syntezie kwasów ulozonowych
 Figure 10. Thiazole equivalents of pyrivate in synthesis of ulosonic acids

W tym miejscu należałoby wytłumaczyć przyczynę *syn* selektywności sprzężonej addycji anionu benzyłanowego. Przedstawiony poniżej model (Rys. 11) jest rozszerzeniem modelu stanu przejściowego Felkina-Ahna addycji nukleofilowej [9, 10]. Największy α podstawnik (L) jest zorientowany antiperiplanarnie do trajektorii ataku nukleofila, podstawnik średniej wielkości (M) w pobliżu wiązania podwójnego, natomiast najmniejszy podstawnik (S), w tym przypadku proton, lokuje się na zewnątrz, z dala od załoczenia, ale najbliższej trajektorii ataku nukleofila. Wysoka diastereoselektywność *syn* jest wynikiem asymetrycznej indukcji przez centrum stereogeniczne w bezpośrednim sąsiedztwie wiązania nienasyconego [10].



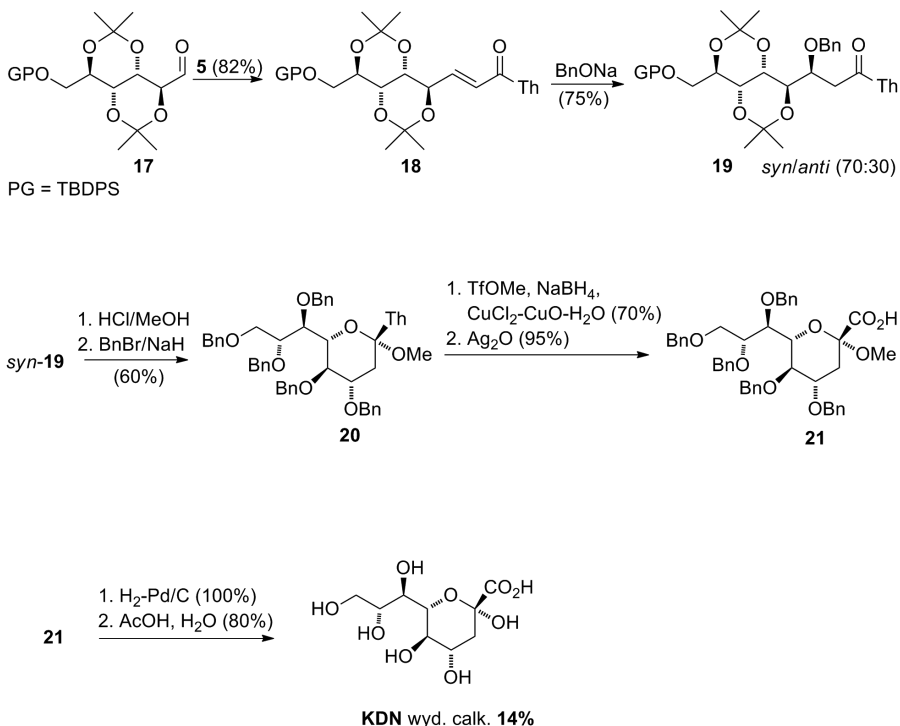
Rysunek 11. Wytłumaczenie stereoselektywności addycji Michaela
 Figure 11. Explanation for the stereoselectivity of Michael addition

Stosując opracowaną metodę przeprowadzono syntezę totalną DAH z zabezpieczonej erytrozy **1** i związku **5**. Powstały w pierwszym etapie (*E*)- α,β -enon **13** poddano stereoselektywnej addycji sprzężonej z anionem BnO^- , otrzymując w przewodzie produkt **14** o konfiguracji *syn* (*syn/anti* 81:19), który następnie w sekwencji reakcji zaprezentowanych na schemacie poniżej przekształcono w DAH z całkowitą wydajnością 25% (Rys. 12).



Rysunek 12. Synteza totalna DAH
Figure 12. Total synthesis of DAH

Kolejnym wyzwaniem było zastosowanie opracowanej metody w syntezie wyższego kwasu ulozonowego – KDN. Przeprowadzając olefinację Wittiga *D*-mannozy **17** związkiem **5**, a następnie asymetryczną addycją Michaela wraz z następczymi reakcjami, otrzymano produkt naturalny – KDN. Schemat syntezy przedstawia Rysunek 13.



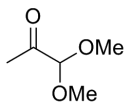
Rysunek 13. Synteza totalna KDN

Figure 13. Total synthesis of KDN

Pomimo bardzo wysokich wydajności poszczególnych etapów syntezy, wydajności kwasów ulozonowych są niewielkie: 25% (DAH) i 14% (KDN). Spowodowane jest to długą i złożoną syntezą, na którą składają się dwuetapowe formowanie łańcucha głównego oraz dodatkowe etapy wymagane do przekształcenia pierścienia tiazolu w grupę karboksylową. Z tego powodu wciąż poszukiwana jest krótsza droga syntetyczna stosująca lepsze analogi pirogronianu.

2.2. ACETAL ALDEHYDU PIROGRONOWEGO - ORGANOKATALIZA

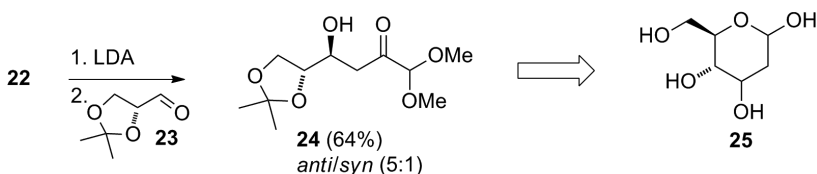
Kolejnym przykładem zamaskowanej jednostki kwasu pirogronowego jest aldehyd pirogronowy, w którym grupa formylowa została zabezpieczona w postaci dimetyloacetalu **22** (Rys. 14).



Rysunek 14. Dimetyloacetaldehydu pirogronowego

Figure 14. Dimethylacetal of pyruvic aldehyde

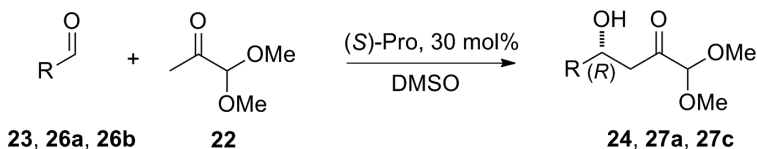
Asymetryczna reakcja aldolowa enolanu litu dimetyloacetalu aldehydu pirogronowego **22** znana jest od ponad 30 lat [11]. W reakcji z acetonidem aldehydu (*R*)-glicerynowego **23** otrzymano produkt **24** z wydajnością 64% i stosunkiem *anti/syn* około (5:1), zgodnie z przewidywaniami modelu Felkina-Ahna. Cel syntezy był jednak inny – produkt *anti*-**24** poddawano redukcji do 1,3-dioli, które przekształcano dalej do 3-deoksy-heksoz **25** (Rys. 15) [11].



Rysunek 15. Zastosowanie acetalowego równoważnika pirogronianu w syntezie 3-deoksy-heksoz

Figure 15. Application of acetal equivalent of pyruvate in synthesis of 3-deoxy-hexose

Pierwszy przykład organokatalitycznej reakcji aldolowej acetalu **22** z chiralnymi aldehydami przedstawił Enders [12]. Zastosował on prolinę i jej proste pochodne, jednak najefektywniejszy okazał się naturalny aminokwas (Rys. 16).

Rysunek 16. Schemat pierwszej organokatalitycznej reakcji aldolowej **22** z chiralnymi aldehydamiFigure 16. The first organocatalytic aldol reaction of **22** with chiral aldehydes

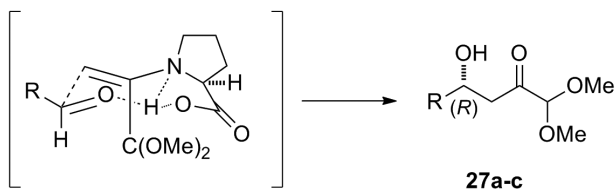
Dla grupy aldehydów otrzymano wyniki zebrane w Tabeli 1. Produkty **24** i **27a-b** otrzymano z niską wydajnością, ale za to z bardzo wysoką stereoselektywnością. D-Prolina o nienaturalnej konfiguracji (*R*) dawała lepszy rezultat pod względem wydajności w reakcji z aldehydem o konfiguracji (*R*) (wynik **27a***), jednak nie wpływała znacząco na diastereoselektywność w stosunku do katalizy (*S*)-proliną.

Tabela 1. Wyniki reakcji acetalu **22** z chiralnymi aldehydami **23**, **26a**, **26b**
 Table 1. The results of the reaction of acetal **22** with chiral aldehydes **23**, **26a** and **26b**

Lp.	Produkt	R	Wydajność [%]	<i>anti/syn</i>
1	24		38	1/21
2	24*		45	1/19
3	27a		31	19/1
4	27b		35	24/1

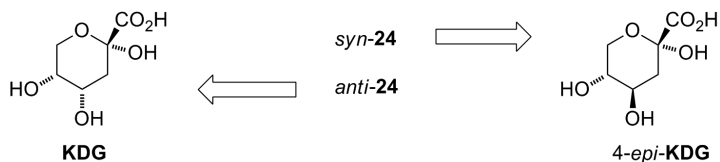
Warunki reakcji: DMSO, temperatura 4°C, czas reakcji 5–9 dni. *użyto (R)-Proliny.

Konfiguracja (*R*) nowopowstałego centrum stereogenicznego jest wynikiem mechanizmu katalizy. Zgodnie z modelem Houka-Lista [13] w pierwszym etapie tworzy się imina będąca w równowadze z reaktywną enaminą. Aldehyd ustawia się do enaminy w sposób opisany przez model Zimmermanna-Traxlera, faworyzujący ułożenie grupy R aldehydu w pozycji „ekwatorialnej” (Rys. 17) [13].



Rysunek 17. Model stanu przejściowego katalizy (*S*)-proliną
 Figure 17. Transition state model of (*S*)-proline catalysis

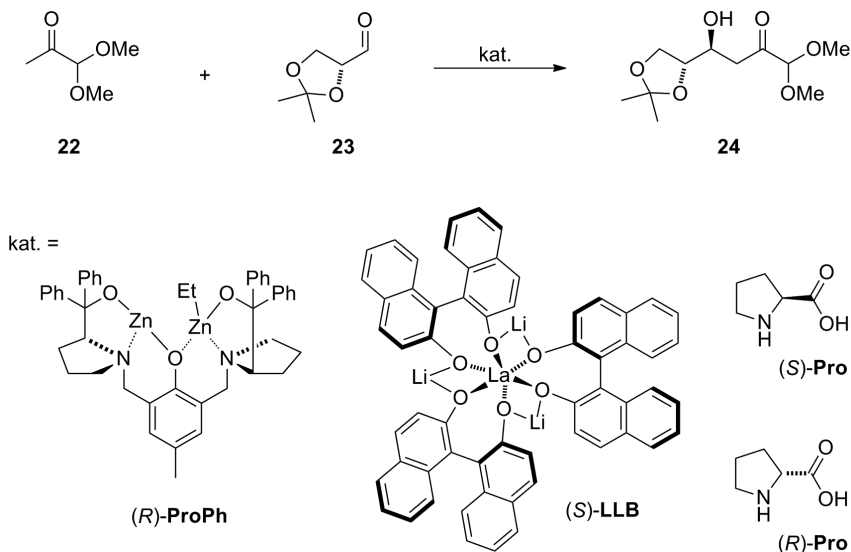
Otrzymane aldole **24** zabezpieczono przy pomocy żywicy jonowymienniej otrzymując prekursor kwasu 2-keto-3-deoksy-D-glukozonowego (KDG) i jego C4 epimeru (Rys. 18).



Rysunek 18. Produkty addycji aldolowej **24** jako prekursorzy KDG i 4-*epi*-KDG
 Figure 18. Aldol addition products **24** as precursors of KDG and 4-*epi*-KDG

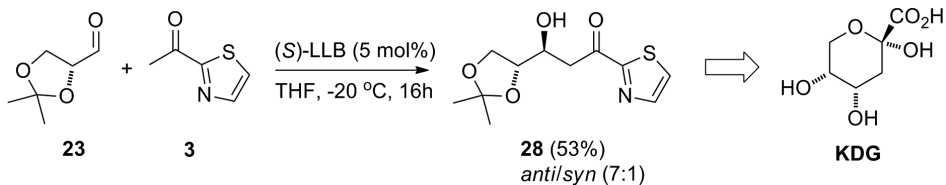
2.3. ACETAL ALDEHYDU PIROGRONOWEGO, 2-ACETYLOTIAZOL – KATALIZA METALOORGANICZNA

Bazując na wynikach Endersa [12], założono [14], że bezpośrednią reakcją aldolową donora **22** z chiralnymi cukrowymi aldehydami można przeprowadzić również z pomocą chiralnych kompleksów metali, które miałyby naśladować aldolazy typu II. Jako modelowy akceptor reakcji aldolowej wybrano ponownie aldehyd **23**, a jako katalizatory kompleksy cynku z ligandami (*R,R*)- i (*S,S*)-Profenolu, imitujące enzymy, oraz bimetaliczny katalizator na bazie BINOLu (**LLB**) (Rys. 19). Dla porównania wyników przeprowadzono również reakcje organokatalityczne z użyciem proliny.



Rysunek 19. Schemat reakcji oraz zastosowane katalizatory
 Figure 19. Reaction scheme and applied catalysts

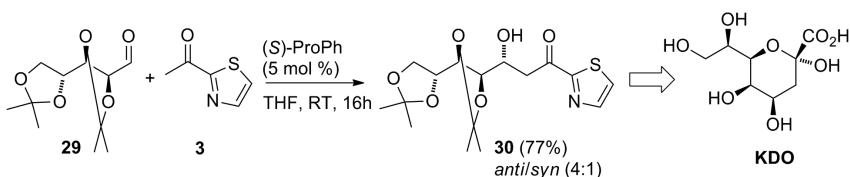
Autorom badań nie udało się powtórzyć tak dobrych wyników dla proliny, pomimo zastosowania identycznych warunków jak w przypadku prac Endersa [12]. Oba enancjomery proliny dawały jedynie śladowe ilości produktu **24** oraz wyraźnie



Rysunek 21. Synteza prekursora KDG

Figure 21. Synthesis of KDG precursor

Uniwersalność metody sprawdzono również w syntezie wyższego kwasu ulozonowego. W reakcji z *D-arabinoz* **29** katalizowanej przez (S)-ProPh otrzymano produkt **30** z bardzo dobrą wydajnością (77%) i dobrą diastereo selektywnością (*anti/syn* 4:1). *anti*-Oktoza **30** w kilku prostych etapach [9] prowadzi do produktu naturalnego – kwasu 3-deoksy-*D-manno*-okt-2-ulozonowego (KDO) (Rys. 22).

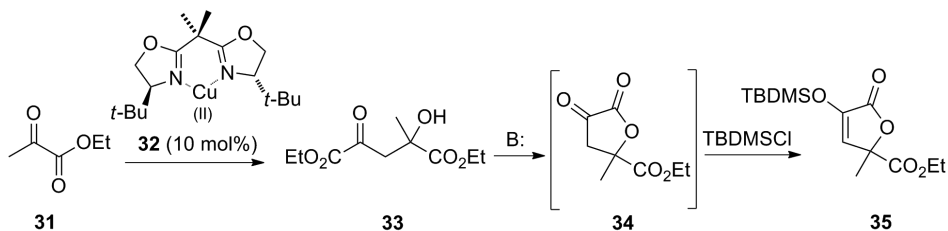


Rysunek 22. Synteza prekursora KDO

Figure 22. Synthesis of KDO precursor

2.4. PIROGRONIAN ETYLU

Bezspornie najprostszą drogą syntezy kwasów ulozonowych byłaby bezpośrednia reakcja kwasu pirogronowego lub jego estru. Po raz pierwszy estry kwasu pirogronowego w reakcji aldolowej zastosował Jørgensen w 2004 roku [15]. Jego zespół opracował enancjoselektywną reakcję homoaldolową pirogronianu etylu **31** katalizowaną przez chiralne bisoksazolinowe kompleksy miedzi(II) **32**. Addukt **33** okazał się niestabilny. Pod wpływem zasady cyklizował do laktonu **34**, który zabezpieczano eterem silylowym jako trwałą pochodną kwasu izotetronowego **35** (Rys. 23).

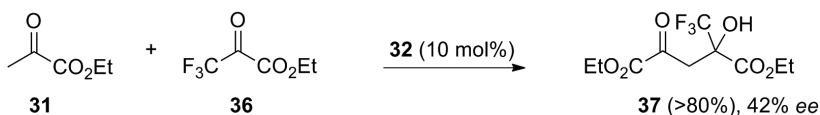


Rysunek 23. Reakcja homoaldolowa pirogronianu etylu

Figure 23. Homo-aldol reaction of ethyl pyruvate

Reakcje prowadzono z dodatkiem amin (*N,N*-dimetyloaniliny lub *N,N*-dibenzyloaniliny) w ilości katalitycznej (1–20 mol%) otrzymując do 96% *ee* enancjomeru (*S*)-**35**, przy wydajności reakcji powyżej 80%.

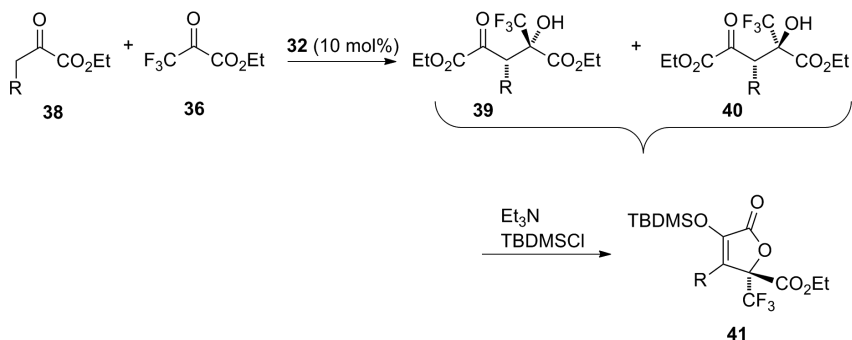
Kolejnym krokiem było rozszerzenie zastosowania estru kwasu pirogronowego na krzyżową reakcję aldolową. Donorem reakcji pozostawiono poprzednio używany pirogronian **31**, a jako akceptor zastosowano nieenolizowalny i silnie elektrofilowy trifluoropirogronian etylu **36** (Rys. 24). Produkt **37** otrzymano z wysoką wydajnością (>80%), lecz przeciętną enancjoselektywnością (42% *ee*), którą tylko nieznacznie udało się poprawić obniżeniem temperatury i dodatkiem wspomnianych wcześniej amin, jednak tracąc przy tym znacznie na stopniu konwersji.



Rysunek 24. Krzyżowa reakcja aldolowa estrów kwasu pirogronowego

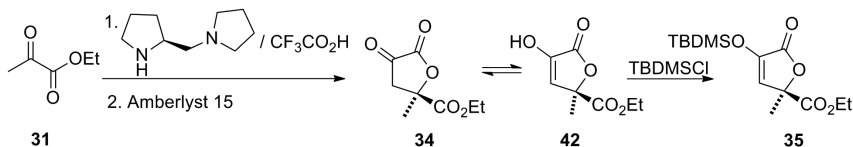
Figure 24. Cross-aldol reaction of pyruvic acid esters

Ta sama grupa badawcza opracowała również krzyżową reakcję aldolową pirogronianów w wariacie diastereo-selektywnym. W reakcji pomiędzy akceptorem **36** i podstawionymi 2-ketoestrami **38** otrzymano addukty (**39**, **40**) ze słabą diastereo-selekcją (1.1/1 do 1.8/1) oraz wysokimi nadmiarami enancjomerycznymi (69–93% *ee*). Produkty te były dalej przekształcane w aktywne optycznie pochodne kwasu izotetronowego **41** (Rys. 25).



Rysunek 25. Diastereo selektywna krzyżowa reakcja aldolowa pochodnych kwasu pirogronowego
 Figure 25. Diastereoselective cross-aldol reaction of pyruvic acid derivatives

Organokatalityczną wersję bezpośredniej reakcji homoaldolowej pirogronianu etylu opracował Dondoni [16]. Stosując katalizator na bazie piperolidyny i kwasu trifluoroctowego otrzymał pochodną kwasu izotetronowego **42** z wolną grupą hydroksylową, którą następnie zabezpieczył eterem silylowym, otrzymując trwałą pochodną **35** z wydajnościami rzędu 40–60% i wysokim nadmiarem enancjometrycznym sięgającym do 88% *ee*. Schemat syntezy przedstawiono na rysunku poniżej.



Rysunek 26. Organokatalityczna synteza pochodnej kwasu izotetronowego
 Figure 26. Organocatalytic synthesis of isotetronic acid derivative

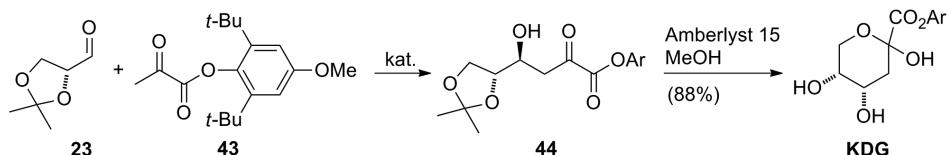
2.5. PIROGRONIAN ARYLOWY

Wyzwaniem okazała się organokatalityczna reakcja aldolowa estrów pirogronowych z alifatycznymi aldehydami, która mogłaby doprowadzić do kwasów 3-deoksy-2-ulozonowych, w łatwy i tani sposób, naśladując ich biosyntezę. Niestety, dotychczas reakcja aldolowa pirogronianu etylu została z sukcesem zaaplikowana jedynie dla wysoce reaktywnego aldehydu trichlorooctowego [17]. Prawdopodobnie trwałość alifatycznych estrów kwasu pirogronowego jest wystarczająca dla silnych elektrofilów, natomiast mniej reaktywne aldehydy wymagają stabilniejszej formy enolowej donora [18].

Większą stabilność formy enolowej otrzymano poprzez zwiększenie zatłoczenia sterycznego grupy estrowej. Przetestowano ester *t*-butylový, fenylový i *p*-metoksy-fenylový, jednak bez większego powodzenia. Sukcesem okazało się zastosowanie estru 2,6-di-*t*-butylo-4-metoksyfenylového **43**, którego zatłoczenie przestrzenne

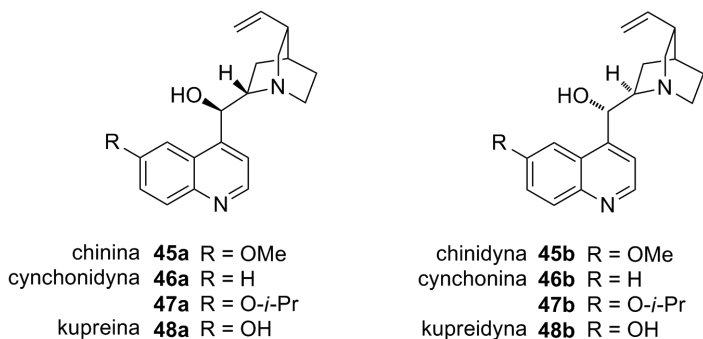
wymusza odpowiednią orientację substratów względem siebie oraz utrudnia reakcję homoaldolową donora, a grupa *p*-metoksyłowa dostarcza elektrony do pierścienia, co aktywuje ugrupowanie α -ketonowe ułatwiając jego enolizację [18].

Pirogronian **43** poddano reakcji aldolowej z acetonidem aldehydu (*R*)-glicerynowego **23**, katalizowanej przez (*S*)- i (*R*)-ProPh, otrzymując pożądaný produkt **44** z dobrą diastereo selektywnością (3:1, 8:1), faworyzującą izomer *anti*. Stereoselektywność reakcji udało się znacznie poprawić (16:1) stosując (*S*)-LLB oraz obniżając temperaturę z pokojowej do -20°C . Schemat reakcji przedstawiono poniżej.



Rysunek 27. Schemat reakcji pirogronianu aryłowego **43** z aldehydem (*R*)-glicerynowym **23**
Figure 27. Reaction of aryl pyruvate **43** with (*R*)-glyceraldehyde

W reakcji przetestowano również chiralne aminy trzeciorzędowe tj. alkaloidy kory drzewa chinowego. Alkaloidy te można podzielić na dwie grupy, będące względem siebie diastereoizomerami. Centra stereogeniczne w obrębie ugrupowania chinuklidyny są zawsze takie same, natomiast pozostałe dwa centra zaznaczone na Rysunku 28 są w obu grupach odbiciami lustrzanymi, z tego powodu diastereoizomery te czasem nazywane są *pseudoenancjomerami*.



Rysunek 28. Alkaloidy kory drzewa chinowego oraz ich pochodne
Figure 28. *Cinchona* alkaloids and their derivatives

Spośród alkaloidów najlepszy rezultat otrzymano dla chininy **45a** i jej izopropylowej pochodnej **47a**. Wyniki przedstawiono w Tabeli 3.

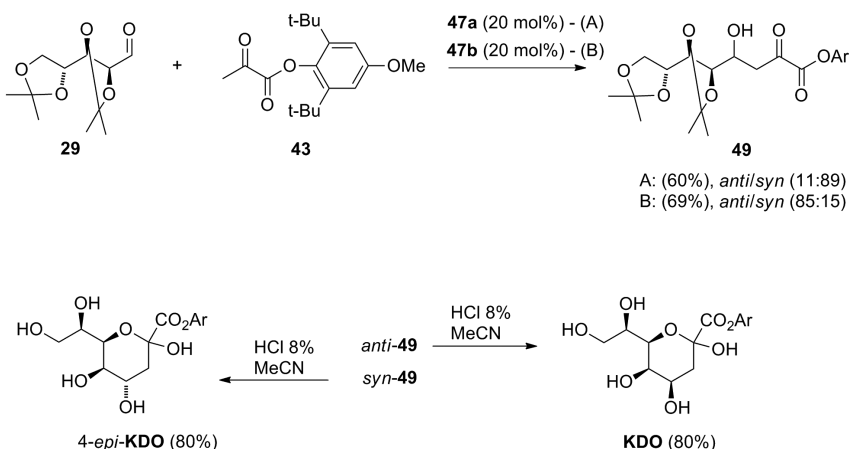
Tabela 3. Wyniki reakcji pirogronianu **43** z aldehydem (*R*)-glicerynowym **23**
 Table 3. The results of the reaction of pyruvate **43** with (*R*)-glyceraldehyde **23**

Nr	Kat. (mol%)	Wydajność [%]	<i>anti/syn</i>
1	(<i>S</i>)- ProPh (5)	62	3/1
2	(<i>R</i>)- ProPh (5)	62	8/1
3	(<i>S</i>)- LLB (5)	81	16/1
4	(<i>R</i>)- LLB (5)	81	4/1
5	45a (20)	75	7/1
6	45b (20)	61	1/1
7	46a (20)	31	5/1
8	46b (20)	31	2/1
9	47a (20)	80	16/1
10	47b (20)	59	1/1.5
11	48a (20)	51	1.5/1
12	48b (20)	62	6/1

Warunki reakcji: Stosunek **23/43** (1:1); Lp. 1–4 THF, 12 h; Lp. 5–12 CHCl₃, 48 h.
 Stosunek *anti/syn* określono na widmie ¹H NMR.

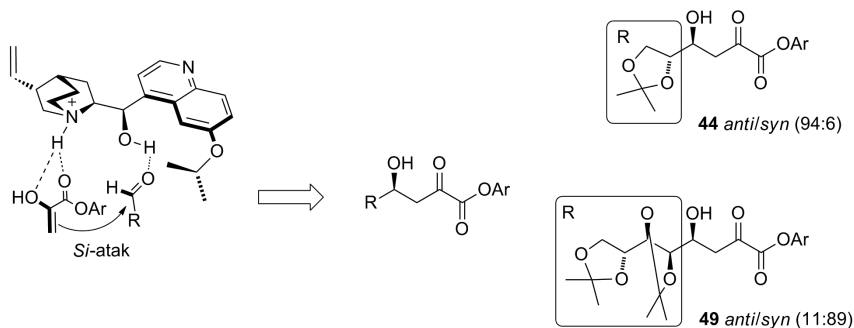
Deprotekcja aldolu *anti* pozwoliła otrzymać pożądaný ester KDG (Rys. 27).

W następnej kolejności opracowaną metodę zastosowano w asymetrycznej syntezie wyższego kwasu ulozonowego – ośmiowęglowego KDO. Wychodząc z diacetonidu *D*-arabinozy **29** i pirogronianu **43** otrzymano aldol **49**, w reakcji katalizowanej przez **47a**, z wysoką wydajnością (60%) i stosunkiem *syn/anti* (89:11), otrzymując prekursor 4-*epi*-KDO. Produkt o pożądaney konfiguracji uzyskano odwracając stereoselektywność na korzyść aldolu *anti*, zmieniając katalizator **47a** na jego pseudoenantjomer **47b** (69%, *anti/syn* 85:15) (Rys. 29).



Rysunek 29. Schemat syntezy KDO i jego C4 epimeru
 Figure 29. Synthesis of KDO and its C4-epimer

Aby wytłumaczyć kierunek stereoselektywności reakcji autorzy zaproponowali strukturę stanu przejściowego kompleksu substratów i katalizatora **47a** (Rys. 30). Mechanizm reakcji rozpoczyna się deprotonowaniem pirogronianu przez **47a**, po którym następuje atak enolu na elektrofilowy aldehyd. Jednak tutaj nie kończy się rola katalizatora – alkaloid poprzez sieć wiązań wodorowych tworzy asymetryczne środowisko w centrum reakcji. Grupa R aldehydu lokuje się na zewnątrz centrum katalitycznego, co powoduje przesłonięcie strony *Re* przez układ chinoliny katalizatora. Atak pirogronianu faworyzowany jest od strony *Si*, co skutkuje konfiguracją (*S*) produktu.



Rysunek 30. Proponowana struktura stanu przejściowego reakcji katalizowanej przez **47a**
Figure 30. The proposed structure of the transition state of the reaction catalyzed by **47a**

Jeśli katalizator **47a** zamieniono na pseuenancjomeryczny **47b** w przypadku obu aldehydów powstawał głównie produkt o konfiguracji (*R*) nowego centrum. Alkaloid **47b** posiada przeciwną konfigurację centrów stereogenicznych przy grupie hydroksylowej i trzeciorzędowej grupie aminowej, przez co zmianie ulega geometria wiązań wodorowych stanu przejściowego. W efekcie obserwujemy odwrócenie stereoselektywności addycji aldolowej.

UWAGI KOŃCOWE

W porównaniu z poprzednio stosowanymi [9, 12, 14] równoważnikami fosfoenolopirogronianu zastosowanie aromatycznego estru kwasu pirogronowego **43** pozwala otrzymywać pochodne kwasów 3-deoksy-2-ulozonowych ze znacznie wyższą wydajnością i lepszą stereoselektywnością.

Przy zastosowaniu tych samych katalizatorów organometalicznych w porównaniu z acetalem **22** poprawiono zarówno wydajność, jak i diastereoselekcję bezpośredniej reakcji aldolowej, prowadzącej do pochodnych KDG i KDO.

Co więcej, reakcje z sukcesem przeprowadzono w warunkach organokatalizy, stosując po raz pierwszy chiralne aminy trzeciorzędowe.

Ester **43** wydaje się być obecnie najlepszym ekwiwalentem jednostki kwasu pirogronowego, z pewnością jego struktura oraz mechanizm reakcji naśladowują biosyntezę kwasów ulozonowych lepiej niż wcześniej stosowane pochodne tiazolowe i acetalowe.

PODZIĘKOWANIE

Pragnę podziękować Profesorowi Jackowi Młynarskiemu za cierpliwość, cenne rady oraz za kierowanie moją pracą dyplomową.

Dziękuję także mgr inż. Sebastianowi Basiowi za opiekę, pomoc merytoryczną i motywację w trudnych chwilach, mgr inż. Bartoszowi Gutowi za opiekę i wsparcie oraz wszystkim pozostałym Członkom Zespołu Stereokontrolowanej Syntezy Organicznej za niepowtarzalną atmosferę pracy.

PIŚMIENNICTWO CYTOWANE

- [1] K. Herrmann, R. Entus, *Shikimate Pathway: Aromatic Amino Acids and Beyond, Encyclopedia of Life Sciences*, 2001, doi:10.1038/npg.els.0001315.
- [2] S. Inoue, M. Iwasaki, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 1978, **83**, 1018.
- [3] D. Nadano, M. Iwasaki, S. Endo, K. Kitajima, S. Inoue, Y. Inouc, *J. Biol. Chem.*, 1986, **261**, 11550.
- [4] C.M. Stephens, R. Bauerle, *J. Biol. Chem.*, 1991, **266**, 20810.
- [5] C. Furdui, L. Zhou, R.W. Woodard, K.S. Anderson, *J. Biol. Chem.*, 2004, doi: 10.1074/jbc.M404753200.
- [6] T. Angata, D. Nakata, T. Matsuda, K. Kitajima, F.A. Troy, *J. Biol. Chem.*, 1999, **274**, 22949.
- [7] B.J. Smith, M.C. Lawrence, J.A. Barbosa, *J. Org. Chem.*, 1999, **64**, 945.
- [8] P. Clapes, J. Joglar, [w:] R. Mahrwald, *Modern Method in Stereoselective Aldol Reaction*, 2010.
- [9] A. Dondoni, A. Marra, P. Merino, *J. Am. Chem. Soc.*, 1994, **116**, 3324.
- [10] K.N. Houk, M.N. Paddon-Row, N.G. Rondan, Y.D. Wu, F.K. Brown, D.C. Spellmeyer, J.T. Metz, Y. Li, R.J. Loncharich, *Science*, 1986, **231**, 1108.
- [11] K. Narasaka, F.-C. Pai, *Tetrahedron*, 1984, **40**, 2233.
- [12] D. Enders, T. Gasperi, *Chem. Commun.*, 2007, 88.
- [13] S. Bahmanyar, K.N. Houk, H.J. Martin, B. List, *J. Am. Chem. Soc.*, 2003, **125**, 2475.
- [14] O. El-Sepelgy, D. Schwarzer, P. Oskwarek, J. Mlynarski, *Eur. J. Org. Chem.*, 2012, 2724.
- [15] N. Gathergood, K. Juhl, T.B. Poulsen, K. Thordrup, K.A. Jørgensen, *Org. Biomol. Chem.*, 2004, **2**, 1077.
- [16] P. Dambruoso, A. Massi, A. Dondoni, *Org. Lett.*, 2005, **7**, 4657.
- [17] H. Torii, K. Nakadai, S. Ishihara, S. Saito, H. Yamamoto, *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2004, **43**, 1983.
- [18] O. El-Sepelgy, J. Mlynarski, *Adv. Synth. Catal.*, 2013, **355**, 281.

Praca wpłynęła do Redakcji 7 lipca 2014