

# 微波辅助合成甘露糖基三氯乙酰亚胺酯及其传统方法优化

王 伟<sup>1</sup>, 成向荣<sup>1,2</sup>, 施用晖<sup>1,2</sup>, 乐国伟<sup>\*1,2</sup>

(1. 江南大学 食品学院, 江苏 无锡 214122; 2. 食品科学与技术国家重点实验室, 江南大学, 江苏 无锡 214122)

**摘要:** 甘露聚糖及甘露糖蛋白在很多生理过程中扮演重要的角色, 它们的合成研究也是目前糖化学热点之一, 甘露糖基三氯乙酰亚胺酯是它们合成中十分有效的糖给体。研究了甘露糖基三氯乙酰亚胺酯新型微波辅助合成方法, 并对传统合成方法进行优化改进。以 D-甘露糖为原料, 通过全苯甲酰基化、端位选择性水解, 再与三氯乙腈反应合成了 2,3,4,6-四-O-苯甲酰基- $\beta$ -D-甘露糖三氯乙酰亚胺酯, 对传统合成方法进行了优化, 使得总产率达到 85% 以上。同时首次通过微波辅助的方法合成了该种产物, 结果表明, 微波辅助合成方法产物产率是传统方法的 1.12 倍, 合成时间缩短了 15 倍。

**关键词:** 甘露糖基三氯乙酰亚胺酯; 工艺优化; 微波辅助

中图分类号: O 629.11; R 914.5 文献标志码: A 文章编号: 1673—1689(2014)07—0727—05

## Microwave Assisted Synthesis of Mannosyl Trichloroacetimidate and Its Process Improvement on Traditional Synthetic Method

WANG Wei<sup>1</sup>, CHENG Xiangrong<sup>1,2</sup>, SHI Yonghui<sup>1,2</sup>, LE Guowei<sup>\*1,2</sup>

(1. School of Food Science and Technology, Jiangnan University, Wuxi 214122, China; 2. The State Key Laboratory of Food Science and Technology, Jiangnan University, Wuxi 214122, China)

**Abstract:** Mannose-oligosaccharides and mannose glycoprotein play an important role in many physiological processes, their synthesis is a vital branch of carbohydrate chemistry. Mannosyl trichloroacetimidate is a very efficient glycosyl donor in their synthesis. This paper investigated the new microwave assisted synthesis of mannosyl trichloroacetimidate, and optimized the traditional synthetic method. It was synthesized from D-mannose by benzoyl protection, hydrolysis and then reaction with trichloroacetonitrile. Its existing methods were optimized and total yield was more than 85%. Meanwhile it was synthesized by the microwave assisted method firstly. The experiment result indicated the total yield in new method was more than 12% compared with that in traditional method, while the reaction time was shortened about 15 times.

**Keywords:** mannosyl trichloroacetimidate, process improvement, microwave assisted

收稿日期: 2013-10-14

基金项目: 国家“十二五”科技支撑计划项目(2012BAD33B05); 江苏高校优势学科建设工程资助项目。

\* 通信作者: 乐国伟(1956—), 男, 浙江宁波人, 农学博士, 教授, 博士研究生导师, 主要从事营养代谢与调控研究。

E-mail: lgw@jiangnan.edu.cn

D-甘露糖在食品工业、饲料工业、医药生命科学等研究中具有重要的作用<sup>[1]</sup>;其聚合物形式甘露聚糖具有免疫活性,能够刺激机体免疫应答,促进生长,调节动物肠胃微生物生态系统,治疗肥胖症,吸附霉菌毒素<sup>[2-3]</sup>;甘露糖蛋白在细胞识别、HIV 感染、病体恶化等方面起着很重要的作用<sup>[4-5]</sup>。2,3,4,6-四-O-苯甲酰基- $\beta$ -D-甘露糖三氯乙酰亚胺酯是甘露聚糖和糖基蛋白等合成中的非常有效的糖苷化试剂,具有活性好、低温下结构稳定、立体选择性好等诸多优点,但目前其合成仅限于实验室中,未实现工业化量产。

合成方法主要有以下 2 种:一是以甘露糖为原料,经全苯甲酰基化,弱碱性物质如:甲胺<sup>[6]</sup>、醋酸胍<sup>[7]</sup>等进行端位选择性水解;二是经全苯甲酰基化、溴代<sup>[8]</sup>、 $\text{Ag}_2\text{CO}_3$  等银盐促进水解来合成。由于第二种方法使用了价格昂贵的银盐,采用第一种方法制备。不过使用碱性物质对端基进行水解时,常因选择性不强而发生其他位置苯甲酰基的脱除,其合成普遍存在收率不高、操作繁琐等缺点。作者针对这些缺点进行了工艺改进,减少了副产物的发生,使得收率达到 85%以上。

近年来,微波辐射技术在有机合成、食品等领域中应用广泛,常规条件下需要十几个小时完成的反应在微波条件下往往仅需数分钟或数秒钟即可完成,具有加热均匀、反应速率快的特点,并且通常收率较高。微波作为一种反应条件,也可以减少一些有毒有害催化剂或者试剂的使用,因此也具备绿色环保的特点<sup>[9-11]</sup>。首次应用微波辅助的方法合成了 2,3,4,6-四-O-苯甲酰基- $\beta$ -D-甘露糖三氯乙酰亚胺酯,通过对微波合成中影响产率的各因素的分析对比,得到优化反应条件。

## 1 材料与方法

### 1.1 仪器与试剂

XH-200A 型微波固液相合成仪:北京祥鹄公司产品;R-205 旋转蒸发器:无锡申科公司产品;UPLC-TQD 型超高效液相色谱串联四极杆质谱联用仪:美国 waters 公司产品;Bruker ARX-400 型核磁共振仪:TMS 内标,瑞士 Bruker 公司产品;GF254 硅胶层析板:青岛海洋化工厂产品;200-300 目柱层析用硅胶:青岛海洋化工厂产品;四氢呋喃、吡啶、二氯甲烷的纯化方法参照《实验室化学品纯

化手册》原著第五版。

### 1.2 传统方法合成

**1.2.1 1,2,3,4,6-五-O-苯甲酰基- $\beta$ -D-甘露糖(1)的合成** 取 10 g 干燥的 D-甘露糖在冰水浴下溶于 150 mL 干燥的吡啶中,使用恒压漏斗滴加苯甲酰氯 45 mL,室温下搅拌 24 h,TLC(薄层色谱法,展开剂为  $v(\text{石油醚}):v(\text{乙酸乙酯})=3:1$ )显示原料点消失,加水 100 mL 搅拌半小时破除未反应的苯甲酰氯,以二氯甲烷(100 mL $\times$ 3)萃取两次,合并有机相,分别用 1 mol/L 稀盐酸(200 mL $\times$ 3),饱和碳酸氢钠溶液(200 mL $\times$ 3),饱和食盐水(200 mL $\times$ 3)洗涤,有机相用无水  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  干燥过夜,过滤浓缩得黄棕色粘稠液体 1。

**1.2.2 2,3,4,6-四-O-苯甲酰基- $\beta$ -D-甘露糖(2)的合成** 取 14 g(1),溶于 30 mL 新制四氢呋喃中,加入醋酸胍 2 g,45  $^{\circ}\text{C}$  反应 12 h 后,再加入 2 g 醋酸胍,继续反应 12 h,TLC( $v(\text{石油醚}):v(\text{乙酸乙酯})=3:1$ )显示原料点消失,以石油醚:乙酸乙酯=5:1-3:1-1:1 为洗脱剂进行柱纯化得产物 2。

**1.2.3 2,3,4,6-四-O-苯甲酰基- $\beta$ -D-甘露糖三氯乙酰亚胺酯(3)的合成** 取 5.97 g(2),溶于 100 mL 甲苯减压蒸除溶剂后,加入 30 mL 新制二氯甲烷,再加入 4.1 mL 三氯乙腈、6.8 g 干燥碳酸钾,室温下搅拌过夜,TLC( $v(\text{石油醚}):v(\text{乙酸乙酯})=2:1$ )显示原料点消失,过滤减压浓缩后的产物经过短的碱性氧化铝柱( $v(\text{石油醚}):v(\text{乙酸乙酯})=3:1$ ),洗脱剂中加入 2%三乙胺)快速柱分离得产物 3。

### 1.3 新型微波辅助合成

**1.3.1 微波辅助合成** 微波实验条件中,原料配比采用非微波辅助合成中的最佳配比。取 10 g 干燥的 D-甘露糖在冰水浴下溶于 150 mL 干燥的吡啶中,使用恒压漏斗滴加苯甲酰氯 45 mL 后,将反应瓶置于微波合成仪,打开磁力搅拌器,微波功率设定为 450 W,反应温度 30  $^{\circ}\text{C}$ ,反应时间 1.5 h,TLC 显示原料点消失,粗品处理、纯化方式同传统方法。

**1.3.2 微波辅助合成** 取 14 g 全苯甲酰甘露糖,溶于 30 mL 新制四氢呋喃中,加入醋酸胍 3.5 g,微波功率设定为 700 W,反应温度 30  $^{\circ}\text{C}$ ,反应时间 70 min,TLC 显示原料点消失,粗品处理、纯化方式同传统方法。

**1.3.3 微波辅助合成** 取 5.97 g 产物,溶于 100 mL 甲苯减压蒸除溶剂后,加入 30 mL 新制二氯甲烷,

再加入 4.1 mL 三氯乙腈、6.8 g 干燥碳酸钾,微波功率设定为 600 W,反应温度 35 ℃,反应时间 1 h,TLC 显示原料点消失,粗品处理、纯化方式同传统方法。

## 2 结果与讨论

通过对传统合成方法的优化,得到产物(1) 38.21 g,产率为 98.2%,与文献[8]95%相比提高了 3.2%;产物(2)10.53 g,产率 88.2%,文献[7]报道的产率为 80%,文献[12]中产率为 83%,分别提高了 8.2%和 5.2%;产物(3)6.60 g,产率 90.1%,文献[13]报道的产率为 56%,文献[13]中产率为 66%,分别提高了 34.1%和 24.1%。

微波合成法中,3 种产物的产率分别为 98.5%、92.5%、96.4%。下面就 3 种产物微波合成法中,影响反应产率的各个因素的实验结果进行比较。

### 2.1 微波合成方法影响因素

**2.1.1 微波功率对产率的影响** 由表 1 可知,提高功率产率增加,增加到 450 W 微波功率对结果基本没影响。功率过大,副产物增多,产率反而下降。

表 1 微波功率对产率的影响

Table 1 Effects of microwave power on the yield

| 功率/W | 产率/% |
|------|------|
| 250  | 57.3 |
| 350  | 84.7 |
| 450  | 98.5 |
| 550  | 95.3 |
| 650  | 92.5 |

**2.1.2 反应时间对产率的影响** 由表 2 可以看出,增加反应时间产率提高,90 min 反应完全,增加反应时间产率反而有所下降。

**2.1.3 反应温度对产率的影响** 由表 3 可知,增加反应温度,产率增加,当温度增加至 30 ℃时,反应温度对产率基本没影响,温度过高不利于苯甲酰化反应,使产率降低。

表 2 反应时间对产率的影响

Table 2 Effects of reaction time on the yield

| 时间/min | 产率/% |
|--------|------|
| 70     | 82.6 |
| 80     | 90.8 |
| 90     | 98.5 |
| 100    | 97.6 |
| 110    | 91.2 |

表 3 反应温度对产率的影响

Table 3 Effects of reaction temperature on the yield

| 温度/℃ | 产率/% |
|------|------|
| 20   | 87.9 |
| 25   | 96.5 |
| 30   | 98.5 |
| 35   | 91.3 |
| 40   | 82.2 |

### 2.2 微波合成方法影响因素

**2.2.1 微波功率对产率的影响** 由表 4 可知,提高功率产率增加,当增加到 700 W 时反应产率最高,功率过大产率下降,且随着功率的逐渐升高,产率下降明显,这是因为随着功率的提高,醋酸酐端位水解的选择性降低。

表 4 微波功率对产率的影响

Table 4 Effects of microwave power on the yield

| 功率/W | 产率/% |
|------|------|
| 500  | 79.8 |
| 600  | 85.1 |
| 700  | 92.5 |
| 800  | 87.4 |
| 900  | 65.7 |

**2.2.2 反应时间对产率的影响** 由表 5 可知,增加反应时间产率提高,60 分钟反应完全,增加反应时间产率反而有所下降,但是下降并不明显。

表 5 反应时间对产率的影响

Table 5 Effects of reaction time on the yield

| 时间/min | 产率/% |
|--------|------|
| 50     | 72.3 |
| 60     | 83.5 |
| 70     | 92.5 |
| 80     | 88.5 |
| 90     | 87.9 |

**2.2.3 反应温度对产率的影响** 由表 6 可知,增加反应温度产率增加,当温度增加至 30 ℃产率达到最大值,温度过高产率下降明显,这也是由于高温下醋酸酐对苯甲酰基水解的选择性降低,从而导致副产物大量产生。

表 6 反应温度对产率的影响

Table 6 Effects of reaction temperature on the yield

| 温度/℃ | 产率/% |
|------|------|
| 20   | 74.5 |
| 25   | 82.7 |
| 30   | 92.5 |
| 40   | 84.3 |
| 50   | 77.5 |

### 2.3 微波合成方法影响因素

**2.3.1 微波功率对产率的影响** 由表 7 可知,提高功率产率增加,增加到 600 W,微波功率对结果基本没影响,功率过大产率反而下降。

表 7 微波功率对产率的影响

Table 7 Effects of microwave power on the yield

| 功率/W | 产率/% |
|------|------|
| 400  | 78.8 |
| 500  | 90.3 |
| 600  | 96.4 |
| 700  | 91.1 |
| 800  | 84.2 |

**2.3.2 反应时间对产率的影响** 由表 8 可知,增加反应时间产率提高,反应时间过长产率有所下降,但是下降并不明显。

表 8 反应时间对产率的影响

Table 8 Effects of reaction time on the yield

| 时间/min | 产率/% |
|--------|------|
| 40     | 66.7 |
| 50     | 85.1 |
| 60     | 96.4 |
| 70     | 94.9 |
| 80     | 92.5 |

**2.3.3 反应温度对产率的影响** 由表 9 可知,增加反应温度,产率增加,当温度增加至 35 ℃时,反应温度对产率基本没影响,温度过高产率反而降低。

表 9 反应温度对产率的影响

Table 9 Effects of reaction temperature on the yield

| 温度/℃ | 产率/% |
|------|------|
| 25   | 76.6 |
| 30   | 88.4 |
| 35   | 96.4 |
| 40   | 92.2 |
| 45   | 85.6 |

## 3 结 语

在 1 的合成中,采用冰浴中使用恒压漏斗滴加苯甲酰氯,避免了一次性加入苯甲酰氯时大量放热,防止爆料及副反应的发生,产物纯度高,减少了柱分离过程,可以直接投下一步反应。

在 2 的合成中,文献[15]使用 NaI 进行端位水解,但是反应步骤较为繁琐,且不易操作,溴代甘露糖的合成过程中也会产生副产物。而醋酸肼法克服了这些缺点,不过醋酸肼选择性不强,常伴有其他位置酯基的脱除。通过对反应条件的控制,使得产率和纯度得到较大提高。分两次加入醋酸肼,且提高反应温度至 45 ℃,结果表明,该种反应条件下,醋酸肼的选择性增强,其他位置的水解大为减少,TLC 几乎看不出其他杂点。

在 3 的合成中,采用碱性氧化铝柱代替硅胶柱进行柱分离,且在洗脱剂中加入体积分数 2% 的三乙胺,避免了三氯乙酰亚胺酯在硅胶柱中的分解,提高了产物产率,为工业生产提供了有效的借鉴。

首次将微波辅助技术应用于甘露糖基三氯乙酰亚胺酯的合成中,实验发现产物 1、2、3 的产率均得到提高,尤其减少了一些副产物的产生,简化了柱纯化过程,大为缩短了反应时间,3 个产物的反应速度是传统反应速度的 16、20、17 倍。可见,与常规方法相比,微波辅助法是一种高产、快速、简便的合成方法。

## 参考文献:

- [1] 谷惠琦,赵君. 甘露聚糖医药用价值研究进展[J]. 黑龙江医药,2012,25(1):110-111.  
GU Huiqi,ZHAO Jun. Research progress of mannan pharmaceutical value [J]. Heilongjiang Medicine Journal,2012,25(1):110-111.(in Chinese)
- [2] Uriel Rodriguez-Estrada, et al. Effect of inactivated enterococcus faecalis and mannan oligosaccharide and their combination on growth, immunity, and disease protection in rainbow trout[J]. North American Journal of Aquaculture, 2013, 75: 416-428.
- [3] David Crich, et al. Direct chemical synthesis of the  $\beta$ -D-mannans: the  $\beta$ -(1 $\rightarrow$ 2) and  $\beta$ -(1 $\rightarrow$ 4) series[J]. J AM CHEM SOC,

- 2004, 126:14930-14934.
- [4] ZHU Yuliang, KONG Fanzuo. Highly efficient synthesis of the mannose nonasaccharide of the N-glycan expressed on the HIV glycoprotein Gp 120[J]. **Synlett**, 2001, 8:1217-1220.
- [5] ZHANG Jianjun, MA Zuchao, et al. Efficient synthesis of a 3,6-branched mannose hepta- and octasaccharide [J]. **Carbohydrate Research**, 2003, 338:2039-2046.
- [6] Kenji Egusa, Shoichi Kusumoto. Solid-phase synthesis of a phytoalexin elicitor pentasaccharide using a 4-azido-3-chlorobenzyl group as the key for temporary protection and catch-and-release purification[J]. **Eur J Org Chem**, 2003:3435-3445.
- [7] Zorlu Y, Ermeýdan M A, Dumoulin F, et al. Glycerol and galactose substituted zinc phthalocyanines [J]. **Photochem Photobiol Sci**, 2009, 8:312-318.
- [8] Woo-Sirl Lee, Wan-Il Kim, Kyong-Tai Kim, Sung-Kee Chung. Mitochondrial affinity of guanidine-rich molecular transporters built on monosaccharide scaffolds: stereochemistry and lipophilicity[J]. **Bull Korean Chem Soc**, 2011, 32:2286-2300.
- [9] 郑利琴, 张慇. 微波与超声波提取杨梅汁多酚类物质的对比研究[J]. 食品与生物技术学报, 2010, 29(4):514-520.  
ZHENG Liqin, ZHANG Min. Comparison study on the microwave and ultrasonic wave extraction polyphenol from bayberry juice [J]. **Journal of Food Science and Biotechnology**, 2010, 29(4):514-520. (in Chinese)
- [10] 范大明, 陈卫. 食品微波加热过程中的传热模型[J]. 食品与生物技术学报, 2012, 31(4):373-378.  
FAN Daming, CHEN Wei. Investigations on the heat transfer model in food during microwave heating [J]. **Journal of Food Science and Biotechnology**, 2012, 31(4):373-378. (in Chinese)
- [11] Atul Manvar, Anamik Shah. Microwave-assisted chemistry of purines and xanthines[J]. **Tetrahedron**, 2013, 69:810581-810627.
- [12] Pilgrim W, Murphy P V. SnCl<sub>4</sub>- and TiCl<sub>4</sub>-catalyzed anomerization of acylated O- and S-glycosides: analysis of factors that lead to higher alpha:beta anomer ratios and reaction rates[J]. **J Org Chem**, 2010, 75:6747-6755.
- [13] Bessie N. A. Mbadugha. Sugar/steroid/sugar conjugates: sensitivity of lipid binding to sugar structure[J]. **Org Lett**, 2003, 5:4041-4044.
- [14] Jun Ning. A general strategy for the synthesis of 3,6-branched gluco-oligosaccharides: facile synthesis of the phytoalexin elicitor oligosaccharides[J]. **Tetrahedron Letters**, 2002, 43:5545-5549.
- [15] 李晓东. 糖苷化试剂 \_ 糖基三氯乙酰亚胺酯的高效制备[J]. 沈阳药科大学学报, 2011, 28:707-711.  
LI Xiao-dong. preparative high-performance of glycosidic trichloroacetimidate [J]. **Journal of Shenyang Pharmaceutical University**, 2011, 28:707-711. (in Chinese)

## 会议信息

会议名称(中文): 中国毒理学会第四届中青年学者科技论坛

开始日期: 2014-08-13

结束日期: 2014-08-16

所在城市: 宁夏回族自治区 银川市

主办单位: 中国毒理学会

承办单位: 宁夏医科大学公共卫生学院

主题: 投身毒理事业, 保障人类健康

全文截稿日期: 2014-07-01

联系电话: 010-66932387

E-MAIL: cst@chntox.org

会议网站: <http://www.chntox.org/news-js.asp?id=606>

会议背景介绍: 中国毒理学会将于 2014 年 8 月 13-16 日, 在宁夏回族自治区银川市举办《中国毒理学会第四届中青年学者科技论坛》。

会议主题: 投身毒理事业, 保障人类健康。

会议目的: 提供我国中青年毒理学工作者学术交流平台, 促进学术交流, 加强协作与沟通, 提高我国毒理学研究水平; 通过论坛发现青年科技人才, 评选和颁发中国毒理学会优秀青年科技奖, 推进我国毒理学后备人才的成长, 加速我国毒理学事业的发展。

征文内容: 与人类健康相关的毒理学研究工作, 主要涉及领域如下: 环境与生态毒理学、药物毒理与安全性评价、分子与机制毒理学、管理毒理学与风险评估、食品毒理学、临床毒理学与中毒救治、生殖毒理学和遗传毒理学, 等等。