



ПИСЬМА РЕДАКТОРУ

УДК 547.455.566.118'455.522'854.81.057

ХИМИЧЕСКИЙ СИНТЕЗ ЦИТИДИНДИФОСФАТАБЕКВОЗЫ

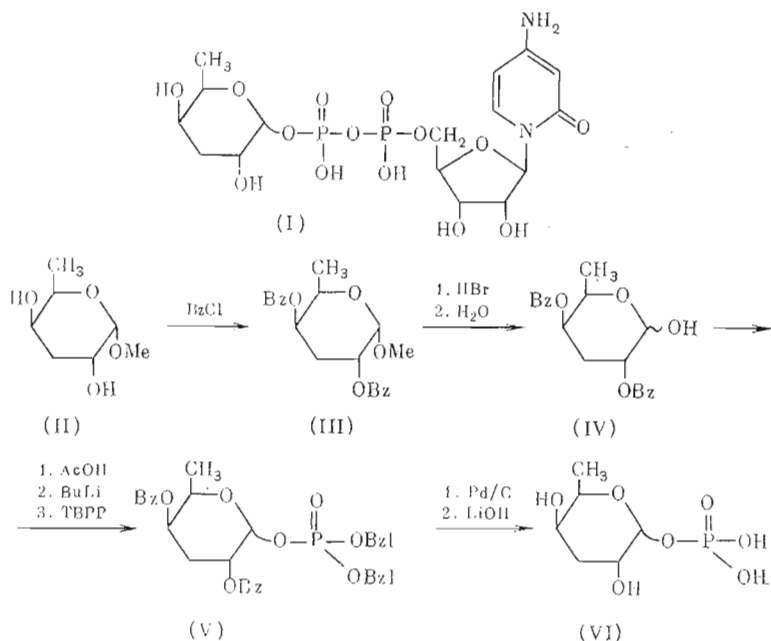
Уткина Н. С., Данилов Л. Л., Шибяев В. Н.

Институт органической химии им. Н. Д. Зелинского
Академии наук СССР, Москва

Характерными компонентами ряда О-специфических полисахаридов бактерий являются 3,6-дидезоксигексозы, выступающие в качестве их антигенных детерминант. Активированными формами этих моносахаридов при биосинтезе полисахаридов служат соответствующие цитидиндифосфатсахара [1]. До сих пор эти соединения получали лишь путем ферментативного синтеза или выделения из экстрактов бактерий.

В настоящей работе мы сообщаем о химическом синтезе первого представителя этого класса соединений — цитидиндифосфат-3,6-дидезокси- α -D-ксило-гексозы (I), которая ранее была выделена из *Salmonella typhimurium* и получена ферментативным синтезом из цитидиндифосфатглюкозы [1].

Ключевой стадией получения CDP-Abe (I) является синтез α -абеквонилфосфата (VI). В литературе описан единственный пример получения соединения (VI) [2], однако не приведено убедительного доказательства приписываемого строения для конечного и промежуточных продуктов синтеза. При попытке воспроизвести указанную схему синтеза анализ продуктов реакции методом ЯМР уже на первой стадии показал, что образуется не поддающаяся разделению смесь пиранозной и фуранозной форм триацетата абеквозы.



Недавно мы показали, что гликозилфосфаты могут быть успешно получены фосфорилированием литиевых алкоголятов сахаров [3]. Эту схему мы применили для получения α -абеквозилфосфата (VI).

Метил-3,6-дидезокси- α -D-ксило-гексопиранозид (II) [4] бензоилировали бензоилхлоридом в пиридине и полученный метил-2,4-ди-O-бензоил- α -абеквозид (III) выделяли колоночной хроматографией на силикагеле с выходом 98% (R_f 0,8, Kieselgel 60, Merck, ФРГ, бензол — этилацетат, 9:1). Гликозид (III) переводили далее в соответствующий бромид действием HBr аналогично [5] и омыляли последний прибавлением 10 экв. воды в среде THF в присутствии 2,6-лутидина. Ди-O-бензоат (IV) получали с выходом 73,5% (R_f 0,38) после колоночной хроматографии на силикагеле. По данным $^1\text{H-NMR}$ -спектра, продукт является смесью α - и β -пираноз в соотношении 1:1. Для увеличения доли α -аномера соединение (IV) обрабатывали уксусной кислотой в диоксане, переводили в Li-алкоголят и фосфорилировали аналогично описанному в работе [3]. При обработке 100 мкмоль соединения (IV) 300 мкмоль бутиллития в абс. THF с последующим прибавлением 130 мкмоль тетрабензилпирофосфата (ТВРР) и выдерживанием в течение 16 ч при 20° С образовывался фосфотриэфир (V), который после отделения осадка дибензилфосфата лития был выделен колоночной хроматографией на Al_2O_3 с выходом 34,2% (R_f 0,68, Aluminiumoxid F₂₅₄, Merck, ФРГ) и, по данным $^1\text{H-NMR}$ -спектра, имел α -конфигурацию. Поскольку β -фосфотриэфира среди продуктов хроматографического разделения обнаружено не было, в дальнейшем реакцию смесь после центрифугирования и удаления осадка подвергали гидрогенализу в THF над Pd/C, щелочному дебензоилированию и анионообменной хроматографии [3]. Выход соединения (VI) 50 мкмоль (50%), $[\alpha]_D^{20} +103^\circ$ (c 0,077, H_2O), k $6,8 \cdot 10^{-3} \text{ с}^{-1}$, $E_{\text{ГЛСР}}$ 1,0 (бумага, 0,05M TEAB, pH 7,5). Спектр $^1\text{H-NMR}$ (δ , м. д., D_2O): 5,42 (дд, 1H, H-1, $J_{1,2}$ 3,5 Гц, $J_{1,2}$ 7,5 Гц).

Таким образом, в случае абеквозы фосфорилирование тетрабензилпирофосфатом приводит к получению только α -фосфата, а не к смеси α - и β -аномеров, как и в случае обычных гексоз [3].

При действии дифенилхлорфосфата на Li-алкоголят соединения (IV) вместо ожидаемого фосфотриэфира (V) образуется 2,4-ди-O-бензоил- α -D-ксило-гексопиранозилхлорид с выходом 72%. Следовательно, этот фосфорилирующий реагент в данном случае неприменим.

Пирофосфатный синтез проводили аналогично методике [6]. Моно-(метилтри-*n*-октиламмониевую) соль цитидин-5'-фосфата (8 мкмоль) активировали дифенилхлорфосфатом и к выделенному дифенилпирофосфатному производному прибавляли раствор 11 мкмоль триэтиламмониевой соли абеквозилфосфата (VI) в 250 мкл абс. DMF и 250 мкл абс. пиридина. Через 16 ч при 20° С выпавший осадок пирофосфата (I) отделяли центрифугированием. Выход 3,3 мкмоль. Надосадочную жидкость разбавляли метанолом до 20 мл, разделяли на колонке с DE-52 (OAc-, Whatman, Англия) в линейном градиенте NH_4OAc в метаполе (0—0,38M, по 50 мл) и обессоливали на колонке с TSK-40 (TSK, Япония), в результате чего выделили 0,9 мкмоль соединения (I) и 3,9 мкмоль не вступающего в реакцию абеквозилфосфата (VI). Общий выход пирофосфата (I) 4,2 мкмоль (53%), $E_{\text{ГЛСР}}$ 0,79, $R_{\text{CDP-Glc}}$ 1,36 (бумага, EtOH — 1 M NH_4OAc pH 7,5), 5:2; лит. [7] $R_{\text{CDP-Glc}}$ 1,40, λ_{max} (H_2O) 271 нм, соотношение цитидин — $P_{\text{общ}}$ — $P_{\text{к.т}}$ — абеквоза 1,04:2,15:1,15:1 (теор. 1:2:1:1). $P_{\text{общ}}$ и $P_{\text{к.т}}$ определяли как указано в работах [8, 9] соответственно, абеквозу — после гидролиза соединения (I) 1 и. HCl (100° С, 5 мин) цветной реакцией [10] с тиобарбитуровой кислотой.

ЛИТЕРАТУРА

1. Gabriel O. Meth. Enzymol., 1982, v. 83, p. 332—353.
2. Antoniakis K. Bull. Soc. chim. France, 1965, v. 7, p. 2112—2117.
3. Уткина Н. С., Данилов Л. Л., Шубаев В. Н. Биооргани. химия, 1986, т. 12, № 10, с. 1372—1378.
4. Siewert G., Westphal O. Liebigs Ann. Chem., 1968, B. 720, S. 171—176.

5. Бакиновский Л. В., Гомуля А. Р., Байрамова Н. Э., Кочетков Н. К. Биоорг. химия, 1984, т. 10, № 1, с. 79-87.
6. Letters R., Michelson A. M. Bull. Soc. chim. biol., 1963, v. 45, № 12, p. 1353-1361.
7. Osborn M. J., Cynkin M. A., Gilbert J. M., Müller L., Singh M. Meth. Enzymol., 1972, v. 28, p. 583-601.
8. Danilov L. L., Chojnacki T. FEBS Lett., 1981, v. 131, № 2, p. 310-312.
9. Danilov L. L., Maltsev S. D., Shibaev V. N., Kochetkov N. K. Carbohydr. Res., 1981, v. 88, p. 203-211.
10. Ashwell G. Meth. Enzymol., 1966, v. 8, p. 91.

Поступило в редакцию
20.V.1986

CHEMICAL SYNTHESIS OF CYTIDINE DIPHOSPHATE ABEQUOSE

UTKINA N. S., DANILOV L. L., SHIBAEV V. N.

*N. D. Zelinsky Institute of Organic Chemistry, Academy of Sciences
of the USSR, Moscow*

α -Abequosyl phosphate was prepared by reaction of lithium salt of 2,4-di-O-benzoyl-3,6-dideoxy-D-xylo-hexopyranose with tetrabenzyl pyrophosphate and deprotection of the phosphotriester obtained. Cytidine diphosphate abequose was synthesized through interaction of P¹-diphenyl-P²-(cytidine-5')-pyrophosphate with abequosyl phosphate.