



УДК 577.112.853.057

СИНТЕЗ О-(2-АЦЕТАМИДО-2-ДЕЗОКСИ- D-ГЛЮКОПИРАНУРОНОЗ-3-ИЛ)-D-ЛАКТОИЛ-L-АЛАНИЛ- D-ИЗОГЛУТАМИНА

Земляков А. Е., Курьянов В. О., Чирва В. Я., Хорлин А. Я*

Симферопольский государственный университет им. М. В. Фрунзе;

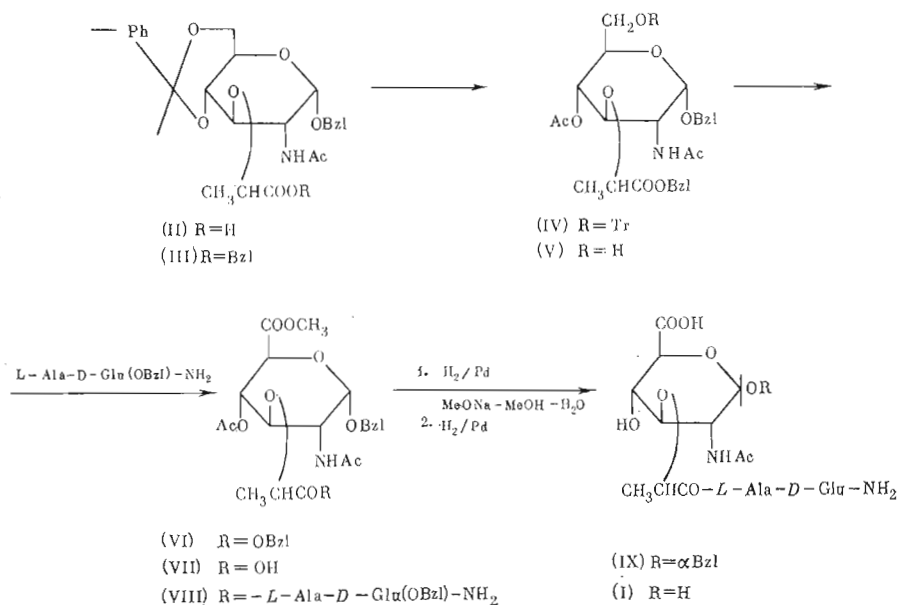
*Институт биоорганической химии им. М. М. Шемякина Академии наук СССР,
Москва

Исходя из бензилового эфира α -бензил-4-О-ацетил-N-ацетилмурамовой кислоты, полученного из бензилового эфира α -бензил-4,6-О-бензилиден-N-ацетилмурамовой кислоты, осуществлен синтез О-(2-ацетамидо-2-дезоксид-D-глюкопирануроноз-3-ил)-D-лактоил-L-аланил-D-изоглутамина.

N-Ацетилмурамоил-L-аланил-D-изоглутамин (мурамоилдипептид, МДП) является минимальным фрагментом пептидогликана клеточных стенок бактерий, сохраняющим иммуноадаптивную активность, поэтому его производные широко исследуются в последние два десятилетия (см. обзоры [1, 2]). Из углеводных аналогов МДП можно выделить хорошо изученные и обладающие высокой биологической активностью С-6-замещенные мурамоилдипептиды. Описан синтез широкого ряда ацильных [3—6], ациламинных [7], тиольных и тиоацильных [8] производных. Во всех этих соединениях у С-6-атома углеводной части сохраняется близкое электронное строение ($-\text{CH}_2-\text{X}-\text{R}$, где $\text{X}=\text{O}, \text{S}, \text{NH}$). Аналоги МДП с большей степенью окисления С-6-атома неизвестны.

В настоящей работе мы сообщаем о получении О-(2-ацетамидо-2-дезоксид-D-глюкопирануроноз-3-ил)-D-лактоил-L-аланил-D-изоглутамина (I) — аналога МДП, у которого первичная гидроксильная группа окислена до карбоксильной. Такое соединение представляет интерес для изучения взаимосвязи между строением и биологической активностью в ряду производных МДП. Кроме того, это вещество может служить исходным соединением для получения новых аналогов мурамоилдипептида путем дальнейших модификаций карбоксильной группы моносахарида.

Синтез гликопептида (I) осуществлен следующим образом (см. схему):



Соединение	C1	C2	C3	C4	C5	C6
(IX)	97,73	54,45	80,11	70,74	73,45	176,22 *
GlcNAc α Me [13]	98,6	54,2	71,9	70,4	72,2	61,4
α МДП [1]	91,0	53,8	79,5	69,2	71,6	60,7

* Отнесение неоднозначно.

Исходным соединением послужил бензиловый эфир α -бензил-4,6-О-бензилиден-N-ацетилмурамовой кислоты (III), который был получен путем бензилирования легкодоступной защищенной мурамовой кислоты (II) хлористым бензилом в присутствии гидрида натрия. Использование в этой реакции в качестве растворителя диметилформамида (DMF) вместо тетрагидрофурана (ср. [9]) значительно упростило синтез и повысило выход эфира (III). Удаление бензилиденовой защиты, последующее тритилирование HOCH₂-группы и ацетилирование гидроксильной группы у C-4 проводили как описано в работе [9], в результате получен тритиловый эфир (IV). Его обработка разбавленной уксусной кислотой [9] давала продукт детритилирования (V) с низким выходом, тогда как использование перхлората пиридиния в метаноле [10] позволило повысить его выход почти до количественного. Окисление HOCH₂-группы у соединения (V) проводили хромовым ангидридом в описанных условиях [11]; полученную урюновую кислоту метилировали диазометаном и метилуронат (VI) очищали колоночной хроматографией. В ^1H -ЯМР-спектре соединения (VI) наблюдаются сигналы протонов метоксикарбонильной, двух ацетильных и двух бензильных групп, а также протонов лактильного остатка, что согласуется с его строением (см. «Экспериментальную часть»).

При каталитическом гидрогенолизе бензинового эфира (VI) легко достигается селективное удаление сложноэфирной бензильной защиты [12]. В результате кислота (VII) получена с количественным выходом. Конденсацию полученного соединения (VII) с бензиловым эфиром L-аланил-D-изоглутамина проводили в DMF с использованием N-оксисулцинимида и N,N'-дициклогексилкарбодиимида; защищенный моносахариддипептид (VIII) был получен с выходом 79%. Его структура подтверждена спектром ^1H -ЯМР, в котором присутствовали сигналы протонов O- и N-ацетильных, метоксикарбонильной, двух бензильных и двух метильных (лактильного остатка и L-аланина) групп (см. «Экспериментальную часть»).

Прямое деацетилирование соединения (VIII) по Земплеру или триэтиламино в метаноле приводило к трудноразделяемой смеси продуктов. Поэтому операцию удаления защит проводили ступенчато: сначала селективно каталитическим гидрогенолизом расщепляли бензилоксикарбонильную группу в остатке изоглутамина, а затем омыляли сложноэфирные O-ацетильную и метоксикарбонильную группы метилатом натрия. ^{13}C -ЯМР-спектр полученного в результате такой обработки бензилгликозида (IX) подтверждает его строение (см. таблицу). Последующий гидрогенолиз α -бензилгликозида (IX) приводит к целевому моносахариддипептиду (I). Структура последнего подтверждена спектром ^1H -ЯМР (см. «Экспериментальную часть»). Результаты биологических испытаний гликопептида (I) будут опубликованы в отдельном сообщении.

Экспериментальная часть

Температуры плавления определяли на приборе Boetius (ГДР), оптическое вращение при 22°C — на поляриметре Perkin — Elmer 141 (США). Спектры ^1H -ЯМР получены на приборах Varian XL-100 (США) и Bruker WM-250 (ФРГ), внутренний стандарт — Me₄Si. Спектр ^{13}C -ЯМР снят на спектрометре Bruker WM-250 с рабочей частотой по углероду

производных N-ацетилглюкозамина и соединения (IX)

Lac		Ala		Glu-NH ₂				Растворитель
C _α	C _β	C _α	C _β	C _α	C _β	C _γ	C _δ	
78,18	19,66	50,77	17,82	53,82	28,11	31,35	176,50 *	C ² H ₅ O ² H 2H ₂ O 2H ₂ O
77,7	18,7	49,7	17,0	52,1	26,0	30,1	176,6	

62,89 МГц, внутренний стандарт — CH₃OH (49,6 м. д. от Me₄Si). ИК-спектры записаны на спектрофотометре Specord IR-75 (ГДР) (таблетки ВКг). ТСХ проводили на пластинках Silufol UV₂₅₄ (Kavalier, ЧССР) и Kieselgel 60F-254 (Merck, ФРГ). Колоночную хроматографию осуществляли на промытом силикагеле L 100—250 мкм (Chemapol, ЧССР). Данные элементного анализа для новых соединений близки к расчетным значениям.

Бензил-2-ацетамидо-3-О-[D-1'-(бензилоксикарбонил)этил]-4,6-О-бензилиден-2-дезоксид-α-D-глюкопиранозид (III). К раствору 6,0 г (13,2 ммоль) бензил-2-ацетамидо-4,6-О-бензилиден-2-дезоксид-3-О-(D-1'-карбокситил)-α-D-глюкопиранозид [14] в 30 мл DMF при перемешивании небольшими порциями добавляли 0,79 г (26,4 ммоль) 80% суспензии гидрида натрия в масле и через 1 ч 2,3 мл (19,8 ммоль) хлористого бензила. Через 12 ч к реакционной смеси приливали 100 мл смеси эфир — гексан (9 : 1), осадок отфильтровывали и кристаллизовали из хлороформа. Фильтрат и маточный раствор объединяли, упаривали. Остаток разбавляли водой и вещество извлекали хлороформом. Органический слой трижды промывали водой до pH 7, сушили Na₂SO₄, упаривали и остаток кристаллизовали из эфира. Выход 6,65 г (92%); т. пл. 180—182° С; [α]_D +104° (с 0,9; хлороформ). Лит. данные [9]: т. пл. 178—179° С; [α]_D²⁰ +109° (хлороформ).

Бензил-2-ацетамидо-4-О-ацетил-3-О-[D-1'-(бензилоксикарбонил)этил]-2-дезоксид-α-D-глюкопиранозид (V). К раствору 1,76 г (2,4 ммоль) бензил-2-ацетамидо-4-О-ацетил-3-О-[D-1'-(бензилоксикарбонил)этил]-2-дезоксид-6-О-третил-α-D-глюкопиранозид (IV) [9] в смеси 17,6 мл метанола и 5,3 мл нитрометана добавляли 0,91 г (4,8 ммоль) перхлората пиридиния и нагревали при 50—55° С до завершения реакции (контроль ТСХ). Реакционную смесь упаривали и остаток хроматографировали на колонке, элюируя вещество хлороформом, а затем смесью хлороформ — этанол (30 : 1). Выход 1,16 г (97%); т. пл. 127—130° С (эфир); [α]_D +116° (с 0,9; хлороформ), ИК (ν, см⁻¹): 3285 (NH, OH); 1730 и 1225 (сл. эфир); 1640 и 1545 (амид); 740 и 685 (аром.). Лит. данные [9]: т. пл. 130—132° С; [α]_D²⁵ +116° (хлороформ).

Метил {бензил-2-ацетамидо-4-О-ацетил-3-О-[D-1'-(бензилоксикарбонил)этил]-2-дезоксид-α-D-глюкопиранозид} уронат (VI). К раствору 1,10 г (2,2 ммоль) производного (V) в 19 мл ацетона при перемешивании и 0° С добавляли порциями 2,2 мл раствора 0,52 г (5,2 ммоль) хромового ангидрида в 3,5 М серной кислоте и реакционную смесь выдерживали 10 мин при той же температуре и 50 мин при 20° С. Реакционную смесь разбавляли водой (50 мл) и вещество извлекали хлороформом (3 × 50 мл). Экстракт промывали водой (3 × 10 мл), сушили Na₂SO₄ и упаривали. Остаток растворяли в метаноле и добавляли эфирный раствор диазометана до устойчивой желтой окраски. Раствор упаривали и остаток хроматографировали на колонке (элюент — хлороформ). Выход 0,76 г (62%); т.пл. 102—105° С (эфир); [α]_D +93° (с 0,9; хлороформ); ИК (ν, см⁻¹): 3280 (NH); 1760 и 1240 (сл. эфир); 1650 и 1560 (амид); 730 и 700 (аром.). ¹H-ЯМР (250 МГц, C²HCl₃): 1,38 (3H, д, J_{CH₃, CH} 6,9 Гц, CH₃CH), 1,98 (3H, с, AcN), 2,07 (3H, с, AcO), 3,72 (3H, с, COOCH₃), 4,36 (1H, к, CHCH₃), 4,55 и 4,70 (2H, 2д, J_{gem} 11,8 Гц, OCH₂Ph), 5,14 и 5,25 (2H, 2д,

$J_{\text{гем}}$ 11,8 Гц, COOCH_2Ph), 5,55д (1Н, д, $J_{1,2}$ 2,7 Гц, 1-Н), 7,25 и 7,35 (10Н, 2с, $2\text{C}_6\text{H}_5$).

Бензиловый эфир *O*-[метил(бензил-2-ацетамидо-4-*O*-ацетил-2-дезоксид- α -*D*-глюкопиранозид-3-ил)уронат]-*D*-лактоил-*L*-аланил-*D*-изоглутамина (VIII). В раствор 0,42 г (0,76 ммоль) соединения (VI) в 10 мл метанола добавили 0,2 г 10% Pd/C и проводили гидрогенолиз в течение 1 ч при 20° С. Затем катализатор отфильтровывали и промывали на фильтре метанолом. Растворитель упаривали, а остаток растворяли в хлороформе и фильтровали через слой силикагеля. После упаривания растворителя кислоту (VII) количественно (0,35 г) осаждали эфиром. К раствору 280 мг (0,6 ммоль) кислоты (VII) в 5 мл DMF добавляли при перемешивании 75 мг (0,65 ммоль) *N*-оксисукцинимид и 135 мг (0,65 ммоль) *N,N'*-дициклогексилкарбодимида. Через 2 ч выпавший осадок дициклогексимочевины отфильтровывали. К фильтрату прибавляли 265 мг (0,65 ммоль) трифторацетата бензилового эфира *L*-аланил-*D*-изоглутамина [15] и 0,1 мл триэтиламина. По окончании реакции (контроль ТСХ) вещество осаждали эфиром и хроматографировали на колонке (элюент: хлороформ \rightarrow хлороформ — этанол, 20 : 1). Выход 360 мг (79%); т. пл. 230—231° С; $[\alpha]_D^{+94}$ (с 0,6; уксусная кислота); ИК (ν , см^{-1}): 3400 (NH_2), 3285 (NH), 1750, 1740 и 1250 (сл. эфир), 1680, 1645 и 1550 (амид); 730 и 695 (аром.); ^1H -ЯМР (100 МГц; C^2HCl_3): 1,27 и 1,39 (6Н, 2д, $J_{\text{CH}_3, \text{CH}}$ 7 Гц; 2 CH_3CH), 1,86 (3 Н, с, AcN), 2,06 (3Н, с, AcO), 2,47 (2Н, т, γCH_2), 3,74 с (3Н, с, COOCH_3), 4,47 и 4,73 (2Н, 2д; $J_{\text{гем}}$ 12 Гц, OCH_2Ph), 5,07 (2Н, с, COOCH_2Ph); 7,28 и 7,30 (10Н, с, 2 C_6H_5).

O-(2-Ацетамидо-2-дезоксид-*D*-глюкопиранураноз-3-ил)-*D*-лактоил-*L*-аланил-*D*-изоглутамин (I). Раствор 300 мг (0,4 ммоль) защищенного аналога мурамоилпептида (VIII) в 5 мл 90% уксусной кислоты в присутствии 100 мг 10% Pd/C подвергали в течение 1 ч гидрогенолизу при 20° С. Катализатор отфильтровывали, промывали на фильтре 90% уксусной кислотой, фильтрат упаривали досуха. Остаток растворяли в 5 мл метанола и добавляли 1 М раствор метилата натрия в метаноле до pH 9. После окончания реакции (контроль ТСХ) раствор нейтрализовали катионитом КУ-2 (H^+ -форма). Катионит отделяли, промывали на фильтре метанолом. Объединенные фильтраты упаривали, а остаток хроматографировали на колонке (элюент: ацетон \rightarrow этанол). Выход α -бензилгликозида (IX) 200 мг (80%). ^{13}C -ЯМР: 17,82 (C_β Ala), 19,66 (C_β Lac), 22,83 (CH_3CO), 28,11 (C_β Glu-NH $_2$), 31,35 (C_γ Glu-NH $_2$), 50,77 (C_α Ala), 53,82 (C_α Glu-NH $_2$); 54,45 (C-2); 70,74 (C-4); 72,83 (CH_2 -Ph); 73,45 (C-5); 78,18 (C_α Lac); 80,11 (C-3); 97,73 (C-1); 128,97; 129,39; 129,45; 138,55 (C_6H_5); 173,4—176,5 (C-6 и CO). Гидрогенолиз 100 мг (0,16 ммоль) гликозидурановой кислоты в 5 мл 90% этанола проводили при 20° С в присутствии 70 мг 10% Pd/C. Через 24 ч катализатор отфильтровывали, промывали 90% этанолом, фильтрат упаривали. Остаток хроматографировали на колонке (элюент: ацетон \rightarrow этанол), очищенное вещество растворяли в воде и лиофилизировали. Выход 60 мг (70%), белый гигроскопичный порошок. $[\alpha]_D$ (равновесие —138° (с 0,8; вода). ^1H -ЯМР (250 МГц, $^2\text{H}_2\text{O}$): 1,43 и 1,46 (6Н, 2д, $J_{\text{CH}_3, \text{CH}}$ 6,9 и 7,1 Гц, $2\text{CH}_3\text{CH}$), 2,02 (3Н, с, AcN), 2,07 и 2,24 (2Н, с, βCH_2), 2,50 (2Н, $J_{\beta, \gamma}$ 7,1 Гц, т, γCH_2), 4,27—4,45 (3Н, м, 3CH).

ЛИТЕРАТУРА

1. Lefrancier P., Lederer E. Progr. Chem. Org. Natur. Products, 1981, v. 40, p. 1—47.
2. Adam A., Petit J.-F., Lefrancier P., Lederer E. Mol. and Cell. Biochem., 1981, v. 41, p. 27—47.
3. Kusumoto S., Okada S., Yamamoto K., Shiba T. Bull. Chem. Soc. Japan, 1978, v. 51, № 7, p. 2122—2126.
4. Kusumoto S., Inage M., Shiba T., Azuma I., Yamamura I., Tetrahedron Lett., 1978, № 49, p. 4899—4902.
5. Durette P. L., Dorn C. P., Friedman A., Schlabach A. J. Med. Chem., 1981, v. 25, № 9, p. 1028—1033.
6. Fukuda T., Kobayashi S., Yukimasa H., Imada I., Fujino M., Azuma I., Yamamura Y. Chem. and Pharm. Bull., 1981, v. 29, № 8, p. 2215—2221.
7. Hasegawa A., Okumura H., Kiso M., Azuma I., Yamamura Y. Agric. Biol. Chem., 1980, v. 44, № 6, p. 1309—1313.

8. Hasegawa A., Seki E., Hioki M., Kiso M., Azuma I. Carbohydr. Res., 1984, v. 129, p. 271—277.
9. Osawa T., Sinaij P., Halford M., Jeanloz R. W. Biochemistry, 1969, v. 8, № 8, p. 3369—3375.
10. Кочетков Н. К., Дмитриев Б. А., Байрамова Н. Э., Николаев А. В. Изв. АН СССР. Сер. хим., 1978, № 3, с. 652—656.
11. Kovač P., Alföldi J., Košik M. Chem. zvesti, 1974, v. 28, № 6, p. 820—832.
12. Хартунг В. Х., Симонов Р. В кн.: Органические реакции. Сб. 7. М.: ИЛ, 1956, с. 327—408.
13. Шапков А. С., Евстигнеев А. Ю., Деревицкая В. А. Биоорган. химия, 1978, т. 4, № 11, с. 1495—1505.
14. Flowers H. M., Jeanloz R. W. J. Org. Chem., 1963, v. 28, № 11, p. 2983—2992.
15. Ростовцева Л. И., Андропова Т. М., Малькова В. П., Сорокина И. Б., Иванов В. Т. Биоорган. химия, 1981, т. 7, № 12, с. 1843—1858.

Поступила в редакцию
18.X.1985

**SYNTHESIS OF O-(2-ACETAMIDO-2-DEOXY-D-GLUCOPYRANURONOS-3-YL)-
D-LACTOYL-L-ALANYL-D-ISOGLUTAMINE**

ZEMLYAKOV A. E., KURYANOV V. O., CHIRVA V. Ya., KHORLIN A. Ya.*

*M. V. Frunze Simferopol State University, Simferopol;
*M. M. Shemyakin Institute of Bioorganic Chemistry, Academy
of Sciences of the USSR, Moscow*

Starting from α -benzyl-4,6-O-benzylidene-N-acetylmuramic acid benzyl ester the synthesis of O-(2-acetamido-2-deoxy-D-glucopyranuronos-3-yl)-D-lactoyl-L-alanyl-D-isoglutamine has been accomplished.